

La nutrición y alimentación en piscicultura



FERNANDO SANZ
(Coordinador)

La nutrición y alimentación en piscicultura



FERNANDO SANZ

(Coordinador)

**SALVADOR ZAMORA NAVARRO Y VERA CRUZ RUBIO FERNÁNDEZ
MIGUEL JOVER CERDÁ
LIDIA ESTHER ROBAINA ROBAINA
COVADONGA RODRÍGUEZ Y ANTONIO LORENZO Y VIRGINIA MARTÍN
MANUEL GARCÍA GALLEGO Y ANA SANZ RUS
M.^a CARMEN HIDALGO JIMÉNEZ Y AMALIA E. MORALES HERNÁNDEZ
NINA COOLSAET
RAÚL ANDRÉS GRIJALVO
M. YÚFERA
ROSA VÁZQUEZ GÓMEZ
JOSÉ MIGUEL CERDÁ REVERTER
VERA CRUZ RUBIO FERNÁNDEZ
MADRID, J. A., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J. Y MARTÍNEZ, F. J.
JUAN BALD, OIHANA SOLAUN Y ANGEL BORJA**

**FUNDACIÓN OBSERVATORIO ESPAÑOL DE ACUICULTURA
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE Y MEDIO RURAL Y MARINO**

MADRID, 2009

Reservados todos los derechos por la legislación en materia de Propiedad Intelectual.

Las noticias, asertos y opiniones contenidos en esta obra son de la exclusiva responsabilidad del autor o autores. La editorial, por su parte, sólo se hace responsable del interés científico de sus publicaciones.

Catálogo general de publicaciones oficiales:

<http://www.060.es>

Serie:

**Publicaciones Científicas y Tecnológicas
de la Fundación Observatorio Español de Acuicultura**



© Fundación Observatorio Español de Acuicultura

© CSIC

© Fernando Sanz

ISBN: 978-84-00-08841-5

NIPO: 472-09-112-2

Depósito Legal: M-27383-2009

Diseño y maquetación: DiScript Preimpresión, S. L.

ÍNDICE

1. LA DIGESTIÓN EN LOS PECES	15
1.1. ANATOMÍA DEL TRACTO DIGESTIVO	18
1.1.1. Cavity oral-Cavity faríngea (Cavity bucofaríngea)	18
1.1.2. Digestivo anterior	19
1.1.3. Digestivo medio o yeyuno	22
1.1.4. Digestivo distal o posterior o ileon	22
1.1.5. Glándulas asociadas	22
1.2. FUNCIONES GENERALES	27
1.2.1. Cavity bucofaríngea	27
1.2.2. Esófago	29
1.2.3. Estómago	30
1.2.4. Intestino	31
1.3. FUNCIONES MOLECULARES	32
1.3.1. Digestión en el estómago	32
1.3.1.1. Enzimas proteolíticas	32
1.3.1.2. Enzimas no proteolíticas	33
1.3.2. Digestión en el intestino	33
1.3.2.1. Secreciones biliares	33
1.3.2.2. Secreciones enzimáticas pancreáticas	34
1.3.2.3. Secreciones enzimáticas intestinales	37
1.4. ABSORCIÓN	38
1.4.1. Absorción de nutrientes	38
1.4.1.1. Absorción por endocitosis	39
1.4.1.2. Absorción por difusión o transporte activo	39
1.4.2. Absorción de los lípidos	40
1.4.3. Absorción de los carbohidratos	41
1.4.4. Absorción de las proteínas	41
1.5. MÉTODOS DE MEDIDA DE LA DIGESTIÓN	41
BIBLIOGRAFÍA	44



2. LA ENERGÍA EN LA NUTRICIÓN DE LOS PECES	47
2.1. PRINCIPIOS BÁSICOS: ORIGEN Y DESTINO DE LA ENERGÍA EN LOS PECES	49
2.2. METABOLISMO ENERGÉTICO	50
2.3. DESTINO DE LA ENERGÍA DEL ALIMENTO: EB, ED, EM, EN	52
2.4. VALORES ENERGÉTICOS DEL ALIMENTO: DIGESTIBILIDAD DE LA ENERGÍA	55
2.5. PÉRDIDAS ENERGÉTICAS POR EXCRECIÓN	58
2.6. PÉRDIDAS POR INCREMENTO CALÓRICO	59
2.7. RETENCIÓN DE LA ENERGÍA	61
2.8. NIVELES ENERGÉTICOS DE LOS PIENSOS Y NECESIDADES DE ENERGÍA	62
2.9. ENERGÍA DE MANTENIMIENTO	72
2.10. ENERGÍA PARA CRECIMIENTO: RETENCIÓN DE ENERGÍA CORPORAL Y EFICIENCIA	76
2.11. FORMULACIÓN DE PIENSOS: TASA DE INGESTIÓN E ÍNDICE DE CONVERSIÓN ECONÓMICO	80
2.12. RESUMEN Y CONCLUSIONES	83
BIBLIOGRAFÍA	84
3. PROTEÍNAS EN DIETAS PARA PECES	89
3.1. INTRODUCCIÓN	91
3.2. LAS PROTEÍNAS EN LOS PIENSOS PARA PECES: PRINCIPIOS BÁSICOS DE SU UTILIZACIÓN	93
3.3. REQUERIMIENTOS CUANTITATIVOS Y CUALITATIVOS DE PROTEÍNAS Y AMINOÁCIDOS. FACTORES QUE AFECTAN AL REQUERIMIENTO	96
3.4. EVOLUCIÓN DE LA METODOLOGÍA APLICADA EN LAS DETERMINACIONES CUANTITATIVA Y CUALITATIVA DE PROTEÍNAS Y AMINOÁCIDOS	103
3.5. INGREDIENTES PROTEICOS EN PIENSOS PARA PECES. ALTERNATIVAS A LA HARINA DE PESCADO	115
3.5.1. Harinas vegetales en dietas para peces	117
3.5.1.1. Algas en dietas para acuicultura	122
3.5.2. Productos y subproductos de la pesca	125



3.6. PROTEÍNAS DIETÉTICAS Y CALIDAD DE FILETE.....	132
BIBLIOGRAFÍA	135
4. NUTRICIÓN LIPÍDICA.....	151
CONSIDERACIONES GENERALES.....	156
4.1. ESTRUCTURA DE LOS LÍPIDOS.....	157
4.2. FUNCIONES DE LOS LÍPIDOS	165
4.2.1. Función energética.....	165
4.2.2. Función estructural.....	166
4.2.3. Precursores de eicosanoides	168
4.2.4. Reguladores de la expresión génica.....	173
4.2.5. Mediadores de otras funciones celulares.....	177
4.3. DIGESTIÓN, ABSORCIÓN, TRANSPORTE Y METABOLISMO DE LOS LÍPIDOS.....	178
4.3.1. Digestión, absorción y transporte	178
4.3.2. Metabolismo de los lípidos. Obtención de n-3 y n-6 HUFA a partir de sus precursores C18 PUFA	182
4.4. REQUERIMIENTOS LIPÍDICOS	185
4.4.1. Información útil para evaluar los requerimientos nutricionales de lípidos y ácidos grasos.....	186
4.4.2. Niveles y proporciones dietarias óptimas de lípidos	188
4.4.3. Niveles y proporciones dietarias óptimas de ácidos grasos poliinsaturados n-3 y n-6	193
4.4.3.1. Requerimientos lipídicos de peces marinos	194
4.4.3.2. Requerimientos lipídicos de peces dulceacuícolas.....	209
4.4.4. Niveles y proporciones dietarias óptimas de fosfolípidos.....	218
4.5. IMPORTANCIA DE LOS LÍPIDOS EN LA RESPUESTA A CAMBIOS DE TEMPERATURA Y SALINIDAD	222
4.6. FUENTES DE LÍPIDOS EN PISCICULTURA. BÚSQUEDA DE FUENTES ALTERNATIVAS AL ACEITE DE PESCADO	227
4.7. ALGUNOS GRUPOS DE INVESTIGACIÓN ESPECIALISTAS EN NUTRICIÓN LIPÍDICA DE PECES	231
AGRADECIMIENTOS	234
BIBLIOGRAFÍA	234



5. LOS HIDRATOS DE CARBONO EN LA ALIMENTACIÓN DE LOS PECES.....	275
5.1. LOS HIDRATOS DE CARBONO EN LA NUTRICIÓN ANIMAL	278
5.2. ¿QUÉ SON LOS HIDRATOS DE CARBONO?	279
5.3. UTILIZACIÓN DIGESTIVA DE LOS HIDRATOS DE CARBONO POR LOS PECES.....	284
5.3.1. Enzimas involucradas en la hidrólisis de los hidratos de carbono	284
5.3.2. Transporte	292
5.3.3. Absorción.....	294
5.4. METABOLISMO DE LOS HIDRATOS DE CARBONO	297
5.4.1. Rutas metabólicas principales.....	297
5.4.1.1. Síntesis de glucógeno.....	298
5.4.1.2. Movilización del glucógeno	298
5.4.1.3. Glucolisis.....	298
5.4.1.4. Oxidación intramitochondrial	299
5.4.1.5. Ruta de las pentosas-fosfato.....	300
5.4.1.6. Gluconeogénesis	300
5.4.2. Mecanismos de control	301
5.4.3. Metabolismo muscular	304
5.4.4. Sobre la pretendida «intolerancia» de los peces a la glucosa	308
5.5. FUENTES DE HC Y NIVELES ACONSEJABLES DE INCORPORACIÓN EN LOS PIENSOS PARA PECES	312
5.6. CONCLUSIÓN.....	325
REFERENCIAS	326
6. VITAMINAS Y MINERALES.....	329
6.1. VITAMINAS	332
6.1.1. Dietas experimentales y formas de inclusión de vitaminas	332
6.1.2. Vitaminas hidrosolubles.....	333
6.1.2.1. Tiamina.....	334
6.1.2.2. Riboflavina	338
6.1.2.3. Piridoxina (Vitamina B ₆).....	341
6.1.2.4. Ácido Pantoténico	343
6.1.2.5. Niacina.....	345
6.1.2.6. Biotina	347
6.1.2.7. Ácido fólico (Folacina)	349



6.1.2.8. Vitamina B ₁₂	351
6.1.2.9. Ácido ascórbico (Vitamina C).....	353
6.1.2.10. Inositol	359
6.1.2.11. Colina	361
6.1.3. Vitaminas liposolubles	362
6.1.3.1. Vitamina A	363
6.1.3.2. Vitamina D	366
6.1.3.3. Vitamina E.....	369
6.1.3.4. Vitamina K	373
6.1.4. Aspectos ontogénicos de las necesidades de vitaminas en los peces	375
6.1.5. Las vitaminas y su relación con la resistencia a enfermedades	376
6.2. MINERALES	379
6.2.1. Introducción	379
6.2.2. Minerales esenciales para peces.....	381
6.2.2.1. Calcio y Fósforo	381
6.2.2.2. Magnesio.....	385
6.2.2.3. Sodio, Potasio y Cloro	386
6.2.2.4. Hierro	388
6.2.2.5. Cobre	390
6.2.2.6. Manganeseo.....	391
6.2.2.7. Yodo.....	392
6.2.2.8. Cinc.....	393
6.2.2.9. Selenio.....	395
6.2.3. Interacciones entre vitaminas, minerales y la composición de la dieta en peces	397
BIBLIOGRAFÍA	402
7. FORMULACIÓN, INGREDIENTES Y PIENSOS, ADITIVOS, FACTORES ANTINUTRITIVOS, SOSTENIBILIDAD	407
7.1. FORMULACIÓN.....	409
7.1.1. Calidad física del pienso.....	409
7.1.2. Sostenibilidad	410
7.1.3. Seguridad alimentaria.....	411
7.1.4. Mercado, consumidor	411
7.1.5. Calidad óptima del producto final	411
7.1.6. Economía	412



7.2. INGREDIENTES	412
7.2.1. Materias primas de origen animal	413
7.2.1.1. Harina de pescado	413
7.2.1.2. Aceite de pescado	416
7.2.1.3. Otros (sub)productos de pescado	418
7.2.1.4. Harina de sangre	418
7.2.1.5. Productos de soja	419
7.2.1.6. Maíz gluten	420
7.2.1.7. Productos de colza	421
7.2.1.8. Harina de girasol	422
7.2.1.9. Guisantes	422
7.2.1.10. Habas	423
7.2.1.11. Aceites vegetales	424
7.3. ADITIVOS	425
7.3.1. Minerales	425
7.3.2. Vitaminas	425
7.3.3. Pigmentos	426
7.3.4. Antioxidantes	426
7.4. FACTORES ANTINUTRITIVOS	427
7.4.1. Inhibidores de tripsina	428
7.4.2. Ácido fítico	429
7.4.3. Fitohemagglutininas	430
7.4.4. Gossipol	430
7.4.5. Ácido ciclopropenóico	430
7.4.6. Glucosinolatos	431
7.4.7. Saponinas	431
7.5. SOSTENIBILIDAD	432
REFERENCIAS	434
8. SEGURIDAD ALIMENTARIA EN LA ALIMENTACIÓN ANIMAL, ACUICULTURA	437
8.1. INTRODUCCIÓN	439
8.2. COMPUESTOS ORGÁNICOS	440
8.2.1. Dioxinas	440



8.2.2. Furanos.....	445
8.2.3. PCB's.....	446
8.2.4. «Retardantes de llama bromados» (Brominated flame retardants, BFR's).....	448
8.2.5. Hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs).....	449
8.2.6. Plaguicidas.....	450
8.2.6.1. Aldrin/dieldrin.....	452
8.2.6.2. Canfecloro (toxafeno).....	452
8.2.6.3. Clordan.....	454
8.2.6.4. DDT-DDE-DDD.....	454
8.2.6.5. Endosulfán.....	455
8.2.6.6. Endrin.....	456
8.2.6.7. Heptacloro.....	456
8.2.6.8. Hexaclorociclohexano.....	457
8.2.6.9. Hexaclorociclobenceno.....	458
8.3. IONES Y ELEMENTOS.....	459
8.3.1. Arsénico.....	459
8.3.2. Cadmio.....	461
8.3.3. Flúor.....	462
8.3.4. Mercurio.....	463
8.3.5. Plomo.....	464
8.3.6. Nitritos.....	465
8.4. MICOTOXINAS.....	465
8.4.1. Aflatoxinas.....	468
8.4.2. Ocratoxina.....	469
8.4.3. Tricotrecenos.....	472
8.4.3.1. Deoxinivalenol.....	473
8.4.3.2. Toxina T-2.....	473
8.4.4. Zearalenona.....	474
8.4.5. Fumonisinás.....	475
8.4.6. Patulina.....	476
8.4.7. Cornezuelo del centeno.....	477
BIBLIOGRAFÍA.....	478



9. LA ALIMENTACIÓN DURANTE LA ETAPA LARVARIA EN PECES. DESDE LA APERTURA DE LA BOCA HASTA EL FINAL DE LA METAMORFOSIS	481
9.1. INTRODUCCIÓN	483
9.2. ONTOGENIA MORFOLÓGICA Y FUNCIONAL DEL SISTEMA DIGESTIVO	486
9.2.1. Desarrollo ontogénico del sistema digestivo de peces marinos	488
9.2.1.1. La bucofaringe	490
9.2.1.2. El esófago	490
9.2.1.3. El estómago	492
9.2.1.4. El intestino	493
9.2.1.5. Las glándulas digestivas	494
9.2.2. Funcionalidad y capacidad digestiva	495
9.3. COMPORTAMIENTO ALIMENTARIO	499
9.3.1. El inicio de la alimentación, la transición de la alimentación endotrófica a exotrófica	499
9.3.2. La predación, la captura e ingestión de presas	501
9.3.3. El coste energético y el crecimiento	504
9.4. ALIMENTO VIVO	506
9.4.1. Microalgas	507
9.4.2. Rotíferos	508
9.4.3. Artemia	510
9.5. ALIMENTO INERTE	512
9.6. CONSIDERACIONES GENERALES SOBRE LOS MÉTODOS DE ALIMENTACIÓN DURANTE LA CRÍA LARVARIA DE PECES	518
BIBLIOGRAFÍA	522
10. NUTRICIÓN Y REPRODUCCIÓN	531
10.1. INTRODUCCIÓN	533
10.2. REPRODUCCIÓN: CONCEPTOS BÁSICOS	535
10.2.1. Generalidades	535
10.2.2. Fisiología de la reproducción en peces	535
10.2.3. Modelos de desarrollo reproductivo	540
10.2.3.1. Desarrollo de los gametos	540
10.2.3.2. Desove o puesta	544
10.2.4. Reproducción en cultivo	545



10.2.4.1. El medio de cultivo.....	546
10.2.4.2. Puntos críticos en la reproducción	546
10.2.4.3. Tratamiento hormonal.....	549
10.2.4.4. Manipulación medioambiental	550
10.3. BIOENERGÉTICA	550
10.3.1. Balance energético en la reproducción	552
10.4. EFECTO DE LA NUTRICIÓN DE LOS REPRODUCTORES EN LA REPRODUCCIÓN DE PECES	554
10.4.1. Efecto de la restricción de alimento	555
10.4.2. Efecto de la nutrición en la fecundidad de reproductores de peces	556
10.4.3. Efecto de la nutrición de reproductores en la fertilización.....	559
10.4.4. Efecto de la nutrición de reproductores sobre el desarrollo embrionario.....	560
10.4.5. Efecto de la nutrición de los reproductores en la calidad de la larva	563
10.5. DISTRIBUCIÓN DE LA NUTRICIÓN DE REPRODUCTORES	564
10.6. INGREDIENTES DE ALTO VALOR EN LAS DIETAS DE REPRODUCTORES	564
10.7. PRÁCTICAS DE ALIMENTACIÓN DE REPRODUCTORES	566
10.8. RACIÓN	568
10.9. REPRODUCCIÓN Y ALIMENTACIÓN EN LA DORADA	569
10.10. REPRODUCCIÓN Y ALIMENTACIÓN EN LA LUBINA.....	576
10.11. REPRODUCCIÓN Y ALIMENTACIÓN EN LENGUADO	579
BIBLIOGRAFÍA	582
11. CONTROL NEURAL DE LA INGESTA EN PECES.....	585
11.1. IMPORTANCIA DE LA INGESTA EN ACUICULTURA	587
11.2. REGULACIÓN DE LA INGESTA	594
11.3. CEREBRO E INGESTA	600
11.4. SISTEMAS NEURONALES IMPLICADOS EN LA REGULACIÓN DE LA INGESTA.....	607
11.4.1. Sistemas orexigénicos	607
11.4.1.1. Péptidos de la Familia del Neuropeptido Y (NPY).....	607
11.4.1.2. Galanina	609



11.4.1.3.	Hormona Estimuladora de los Melanocitos (MCH)	611
11.4.1.4.	Orexina o Hipocretina.....	613
11.4.1.5.	Péptidos opiáceos	614
11.4.2.	Sistemas anorexigénicos	615
11.4.2.1.	Factor liberador de la corticotropina (CRF)	615
11.4.2.2.	Trascrito Regulado por la Cocaína y la Anfetamina (CART).....	616
11.4.3.	Sistemas duales (anorexigénicos/orexigénicos)	618
11.4.3.1.	Melanocortinas	618
11.4.4.	Sistema periférico y regulación a corto plazo	621
11.4.4.1.	Colecistoquinina/gastrina	622
11.4.4.2.	Bombesina/GRP.....	624
11.4.4.3.	Grelina.....	625
11.4.4.4.	GLP-1/Glucagón.....	627
11.4.5.	Sistema periférico y regulación a largo plazo	628
11.4.5.1.	Leptina.....	628
11.4.5.2.	Insulina	631
11.5.	CONCLUSIONES.....	633
11.6.	AGRADECIMIENTOS.....	633
	BIBLIOGRAFÍA	634
12.	INTERACCIONES ENTRE LOS FACTORES AMBIENTALES Y LA INGESTA DE ALIMENTO	649
12.1.	FACTORES ABIÓTICOS	653
12.1.1.	Iluminación	653
12.1.2.	Temperatura	659
12.1.3.	Otros factores físicos	662
12.1.4.	Factores químicos	664
12.2.	FACTORES BIÓTICOS	670
12.2.1.	Estructura social	671
12.2.2.	Densidad de cultivo.....	671
12.2.3.	Predadores.....	673
12.2.4.	Perturbaciones humanas	674
12.2.5.	Disponibilidad de presas (alimento): Alimentación	676



CONCLUSIÓN	677
BIBLIOGRAFÍA	678
13. ALIMENTACIÓN EN PISCICULTURA.....	695
13.1. INTRODUCCIÓN.....	698
13.2. CUÁNDO ALIMENTAR.....	699
13.2.1. Ritmos de alimentación	700
13.2.1.1. Ritmos diarios	700
13.2.1.2. Ritmos mareales y lunares de alimentación	703
13.2.1.3. Ritmos anuales.....	704
13.2.2. El alimento como sincronizador de los ritmos	706
13.2.2.1. Actividad anticipatoria al alimento.....	706
13.2.2.2. Variables que muestran actividad anticipatoria al alimento	709
13.2.2.3. Modelos para explicar la actividad anticipatoria al alimento ...	709
13.2.2.4. Estímulo sincronizador de la actividad anticipatoria.....	710
13.2.2.5. Utilidad práctica de la actividad anticipatoria	711
13.3. ¿CÓMO ALIMENTAR?.....	711
13.3.1. Sistemas de alimentación	711
13.3.2. Registro del alimento no consumido	720
13.3.3. Estrategias de alimentación	721
13.3.4. Efecto del sistema de alimentación sobre el crecimiento y la eficacia alimentaria	722
13.3.5. Estrategias de alimentación en relación con el tipo de instalación ...	730
13.3.5.1. Esteros	730
13.3.5.2. Tanques en tierra.....	731
13.3.5.3. Jaulas flotantes	732
13.4. ¿CUÁNTO ALIMENTO?.....	733
13.5. ¿QUÉ TIPO DE ALIMENTO?.....	738
13.5.1. Comportamiento alimentario y preferencias dietarias de los peces	740
13.5.2. Autoselección de macronutrientes en peces	741
13.5.3. ¿Defienden los peces la dieta autoseleccionada?	744
13.5.4. Diseño de dietas	745
AGRADECIMIENTOS	748
BIBLIOGRAFÍA	748



14. LOS IMPACTOS DE LA ACUICULTURA: MINIMIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN	755
14.1. INTRODUCCIÓN	758
14.2. IMPACTOS PRODUCIDOS POR LOS CULTIVOS	765
14.2.1. Las estructuras flotantes	766
14.2.2. La especie cultivada	767
14.2.2.1. Moluscos	767
14.2.2.2. Peces	769
14.2.3. La producción de biodepósitos	770
14.2.4. El tráfico de barcos	779
14.3. MINIMIZACIÓN DE IMPACTOS Y GESTIÓN AMBIENTAL	779
14.3.1. Protocolo para la identificación de zonas adecuadas para la instalación de jaulas de cultivo en el mar	780
14.3.2. Protocolo para la gestión medioambiental de las instalaciones de acuicultura en jaulas	784
14.3.3. Programa de vigilancia ambiental	786
14.3.4. Promoción y fomento de los sistemas de gestión medioambiental en el sector acuícola	787
REFERENCIAS	794

1

LA DIGESTIÓN EN LOS PECES



LA DIGESTIÓN EN LOS PECES

Dr. D. Salvador Zamora Navarro
Dra. Dña. Vera Cruz Rubio Fernández

Facultad de Biología. Universidad de Murcia

Resumen

El término nutrición incluye varias fases consecutivas: (1) comportamiento alimentario e ingesta de alimento; (2) digestión y absorción de los nutrientes; (3) metabolismo y retención de los nutrientes y (4) excreción de productos de deshecho.

En el presente capítulo nos ceñiremos a describir de forma generalista la anatomía del tracto digestivo, así como los fenómenos de digestión, absorción y digestibilidad de los nutrientes en peces, ya que los procesos de comportamiento alimentario e ingesta de alimento (Capítulos XII-XIV), digestión, absorción, transporte, metabolismo y deposición de los nutrientes (Capítulos III-V) serán profusamente detallados en capítulos posteriores.

Summary

The term nutrition includes several consecutive phases: (1) feeding behavior and food intake; (2) digestion and absorption of nutrients; (3) nutrient metabolism (4) excretion of wastage.

Present chapter will be focused to describe in generalist fashion the anatomy of the digestive tract, as well as digestion, absorption and digestibility of the nutrients phenomena in fish, since the processes of feeding behavior and food intake (XII-XIV Chapters), digestion, absorption, transport, metabolism and deposition of nutrients (Chapters III-V) they will be profusely detailed in afterwards chapters.



1.1. ANATOMÍA DEL TRACTO DIGESTIVO

El tracto digestivo de los peces, al igual que acontece en otras clases de vertebrados presenta una gran diversidad. En general el aparato digestivo es una estructura tubular que comienza en la boca y termina en el ano, en la cual se pueden establecer cuatro zonas diferenciadas (del comienzo al final): cavidad oral (bucal) que se encuentra asociada a la cavidad faríngea o branquial; digestivo anterior compuesto por el esófago, estómago y píloro; digestivo medio, la porción de mayor longitud, que incluye los ciegos pilóricos; y el digestivo posterior, cuya parte final es el ano (Figura 1). A continuación se van a detallar estas estructuras de forma general si bien hay numerosas excepciones, ya que si bien la anatomía del tracto digestivo es bastante homogénea en las familias de peces primitivos, en las familias más evolucionadas estas estructuras presentan una gran plasticidad dependiendo de los hábitos alimentarios de las especies.

1.1.1. Cavidad oral-Cavidad faríngea (Cavidad bucofaríngea)

Es el aparato de captación de agua y alimento. En los peces su función es compleja debido a la presencia de las branquias, ya que hay una coordinación entre las mandíbulas, el techo de la boca, los arcos branquiales y el opérculo. En cuanto a la posición de la boca puede ser inferior, tener prognatismo superior o inferior, ser terminal, subterminal o protráctil.

Los peces carecen de paladar blando y no todas las especies poseen dientes, pero cuando están presentes raramente son utilizados para la masticación, aunque hay especies que los utilizan con dicho fin. Así los dientes bucales, maxilares, linguales y vomerales se utilizan para capturar y mantener a las presas, los dientes faríngeos y los asociados con las agallas se utilizan para la filtración. Cuando están presentes los dientes, estos pueden estar insertados en la mandíbula en un alveolo dental (Acrodontes) o pueden estar insertados en tejido conectivo (Plurodontes), pudiendo estar localizados en casi cualquier superficie de la cavidad orobranquial. Dependiendo de la clase los peces pueden carecer de mandíbula o tener mandíbulas móviles, pero en general carecen de músculos en labios, carrillos y lengua, la cual muestra poca

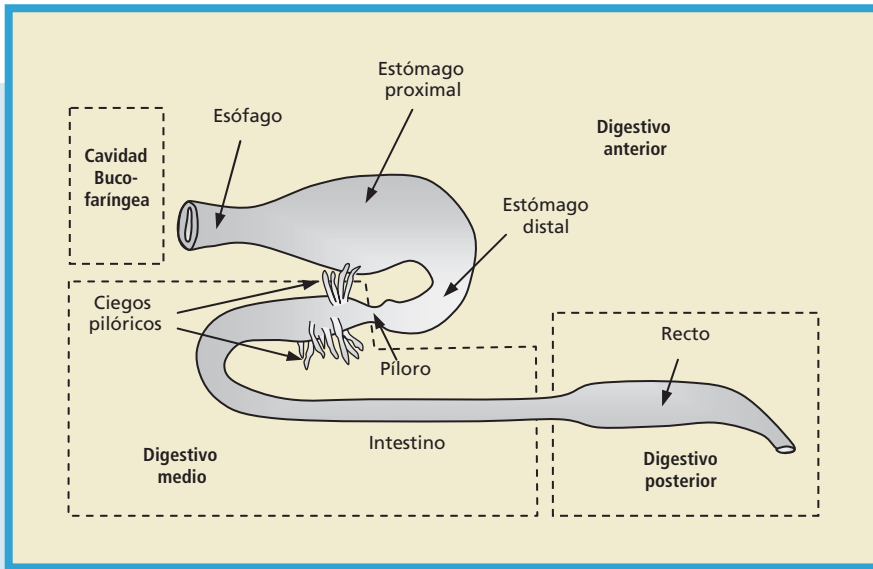


FIGURA 1. Esquema del tracto digestivo de un pez provisto de estómago.

movilidad. Los peces carecen de glándulas salivares en la boca, pero poseen papilas gustativas dentro de la cavidad bucal.

La cavidad orobranquial de los peces muestra una amplia variedad de adaptaciones para la captura, clasificación y trituración del alimento. Los dientes utilizados para capturar, desgarrar o triturar el alimento, están presentes en muchas especies. Estos pueden consistir en dientes afilados para la captura del alimento o para pastar algas unidas a rocas o coral.

Poseen branquias modificadas, las branquiespinas, provistas de proyecciones que sirven como una criba para prevenir el paso de comida a las branquias como consecuencia del flujo continuo de agua desde la boca a las branquias. Estas pueden espaciarse bastante, ser gruesas, cortas y fuertes en los peces que comen presas grandes o alternatively pueden ser finas numerosas y largas, formando una fina malla en las especies micrófagas.

1.1.2. Digestivo anterior

Esófago. Siempre es corto, amplio y recto y esta formado por musculatura estriada, lo que posibilita la posterior regurgitación del alimento si

no es de la talla, textura o sabor adecuados. Está revestido por un epitelio escamoso formado por múltiples capas provistas de numerosas células mucosas, diferentes de las que presentan el estómago o intestino. Los peces de agua dulce poseen un **esfínter cardiaco** entre el esófago y el estómago, mientras que los peces de agua salada carecen de él. Esta diferencia parece estar vinculada a la osmoregulación, mientras que los peces de agua salada deben beber continuamente para mantener el equilibrio osmótico, los peces de agua dulce deben minimizar la entrada de agua. En algunas especies el segmento posterior del esófago contiene glándulas.

Estómago. En ocasiones el estómago está ausente, como los ciclostomos y ciprínidos y en las larvas nunca está presente. En algunas familias la ausencia de estómago se circunscribe únicamente a ciertos géneros o especies. En general los peces sin estómago son micrófagos o herbívoros, si bien algunas especies son carnívoras y tienen unos dientes faríngeos bien desarrollados para la trituration del alimento.

El estómago puede poseer formas muy diversas, desde un tubo simple hasta un saco bien diferenciado (Figura 2). Puede estar doblado formando una U, Y o J y normalmente se separa del intestino por el **esfínter pilórico** o una válvula. Se puede clasificar como rectilíneo, cuando no se aprecian diferencias entre el esófago y estómago; sifonal, cuando posee porción cardial y pilórica, y por último cecal, cuando presenta fondo de saco ciego.

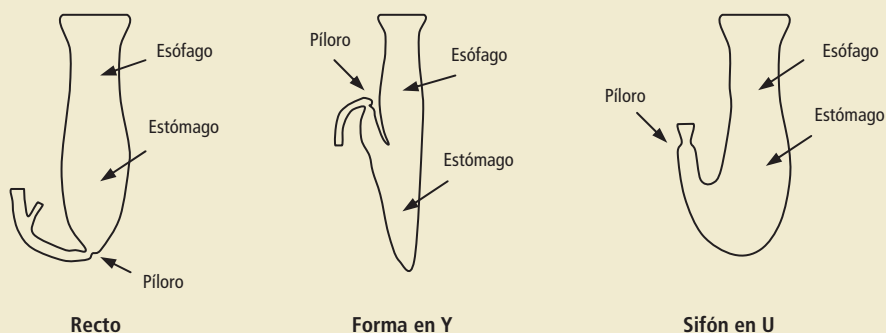


FIGURA 2. Esquema mostrando las principales formas de estómagos.



El estómago está formado predominantemente por fibras musculares longitudinales que le permiten una gran capacidad de distensión. El epitelio es endodérmico y hay numerosas vellosidades revestidas de células secretoras que producen proenzimas, ácido clorhídrico, hormonas o mucus. Normalmente las células secretoras de mucus se encuentran sólo en la parte distal. Así mismo la musculatura circular del estómago puede estar bien desarrollada en algunas especies, donde unida a un revestimiento epitelial duro, proporciona una función similar a la de la molleja de las aves. En la zona de unión entre el estómago y el intestino puede aparecer un esfínter de musculatura circular, una membrana mucosa con pliegues, o ambos.

Píloro. Hay algunas especies herbívoras en las que el píloro forma un órgano diferenciado con paredes resistentes rodeadas por una musculatura circular muy fina. En estas especies el estómago ha perdido su función secretora.

Se continua con el **intestino**, el cual carece de asas intestinales. La longitud intestinal puede variar desde relativamente corto y directo hasta largo y con una disposición en espirales y bucles. La longitud no está necesariamente correlacionada con los hábitos alimentarios, pero tiende a ser más largo en las especies herbívoras y especialmente en peces que ingieren grandes cantidades de barro indigestible o material vegetal. Externamente es muy difícil diferenciar las distintas partes del intestino, ya que carece de diferencias anatómicas en su trayectoria, si bien las diferencias histológicas y funcionales son patentes.

Intestino proximal o anterior o duodeno. En las especies pertenecientes a todos los grupos de peces, salvo los mixinos y los teleósteos, la superficie de las capas mucosa y submucosa del intestino está incrementada por pliegues, formando una protuberancia de varios diseños, la válvula espiral. En general la **válvula espiral** está presente en peces con un intestino corto y directo y usualmente en aquellos en los que el estómago es pequeño o está ausente. Los pliegues se proyectan dentro del lumen intestinal y varían en su número de giros. En algunas especies deja un espacio libre para el paso directo del bolo alimenticio, mientras que en otras contacta en el centro formando una estructura a modo de pieza perforada o pliegues doblados en el centro para formar una estructura cónica. Esta adaptación única entre los vertebrados



sirve tanto para retrasar el paso de la digesta, almacenando temporalmente el alimento, como para aumentar la superficie de absorción. Otra adaptación del tracto intestinal superior, única entre los vertebrados, aparece en un amplio rango de peces que tienen estómago. Consiste en unos divertículos terminales en la parte proximal denominados **apéndices o ciegos pilóricos**, que aumentan la superficie del intestino incrementando su eficacia digestiva y sobre todo absorptiva. Pueden variar en tamaño y forma desde pequeñas evaginaciones de la pared intestinal a estructuras tubulares, ramificadas o similares a mechones. Su número puede variar desde cero hasta varias decenas, centenas o casi un millar. Están revestidos con células similares a las del resto de la pared intestinal, y su presencia no parece estar correlacionada con la longitud del tracto intestinal o con los hábitos alimentarios.

La mucosa intestinal posee pseudovellosidades que incrementan la superficie intestinal aproximadamente veinte veces. En dichas pseudovellosidades se pueden encontrar células absorbentes, mucosas y enterocitos. Los enterocitos poseen a su vez microvellosidades que incrementan la superficie unas veinte veces.

1.1.3. Digestivo medio o yeyuno

Algunos autores incluyen los ciegos pilóricos dentro de esta porción intestinal. Se puede diferenciar del intestino anterior porque los enterocitos poseen numerosas invaginaciones en la base de las microvellosidades, así como vacuolas de gran tamaño.

1.1.4. Digestivo distal o posterior o ileon

Normalmente esta porción es muy corta, presentando a veces una zona preanal o recto que se abre al exterior en el **ano**, salvo en algunos casos excepcionales en los que aparece una **cloaca**, que es una cámara común a las aperturas anal y urogenital. Los enterocitos tienen microvellosidades muy cortas y presentan un número elevado de mitocondrias.

1.1.5. Glándulas asociadas

Hígado. Está más desarrollado en los peces que en otros vertebrados. Tiene forma piramidal, con dos lóbulos bien diferenciados



(aunque algunos autores consideran una característica de los peces la ausencia de lóbulos). Se encuentra situado en una cavidad celónica (sin diafragma). Desemboca en el intestino y puede presentar o no vesícula biliar.

Páncreas. En general, salvo excepciones como los elasmobranquios, los dipnoos y algún caso más, en los peces no constituye un órgano discreto, sino que puede aparecer como una agrupación difusa de células rodeando el intestino anterior y los ciegos, en otros casos puede formar un «hepatopáncreas» por interpenetración de los órganos adyacentes, o puede no existir. Las secreciones enzimáticas que produce fluyen fuera a través del conducto pancreático.

Los peces constituyen la clase más primitiva de vertebrados, mostrando rasgos arcaicos, como la ausencia en algunas especies de dientes mandibulares, la ausencia de estómago, y la falta de diferenciación en intestino delgado y grueso, etc. A continuación vamos a detallar algunas de las características anatómicas especiales que presentan algunos grupos taxonómicos de peces.

Los peces más antiguos son los **Agnatos**, entre los que se encuentran las lampreas y los mixinos.

Lampreas (Orden *Petromyzoniformes*). En la actualidad podemos encontrar aproximadamente 40 especies. Carecen de mandíbulas, presentando discos bucales que difieren anatómicamente dependiendo de la especie. Su esófago es ciliado, así como el intestino, que presenta válvula espiral. Carecen de estómago.

Mixinos (Orden *Myxiniiformes*). Hasta la actualidad han llegado 50 especies. Están desprovistos de mandíbulas, caracterizándose por presentar unos barbillones carnosos alrededor de la boca, así como una lengua dentada con la que perforan el cuerpo de los peces, devorando su carne y vísceras. Se alimentan de noche consumiendo invertebrados que viven cerca del fondo y peces principalmente muertos, enfermos o atrapados en redes. Su esófago es ciliado y carecen de estómago.

Elasmobranquios (Subclase *Elasmobranchii*). Son peces condriktios o cartilaginosos (ej. tiburones y rayas). Se conocen aproximadamente 800 especies. Son peces muy primitivos que poseen un tracto digestivo muy específico formado por un esófago con epitelio ciliado, un estómago bien diferenciado, usualmente con forma de sifón en U, seguido



de un intestino normal a continuación del cual aparece un intestino con una única estructura, la válvula espiral. El segmento intestinal terminal tiene una capa más espesa de músculo circular. Presentan una cloaca en la parte final del intestino posterior. Los tiburones poseen filas de dientes afilados insertados en las mandíbulas que son reemplazados con una periodicidad que varía según la especie entre 9-12 días a 1-4 veces al año. Normalmente sólo son utilizadas al mismo tiempo una o dos filas de dientes, que son reemplazados de atrás hacia delante. En algún caso excepcional los juegos superiores e inferiores de dientes se reemplazan como unidades completas que son tragadas por el animal, pero la mayoría de los tiburones simplemente pierden sus dientes que van al fondo oceánico. Las rayas tienen baterías de dientes aplastados que les sirven para aplastar y moler moluscos y crustáceos, aunque alguna especie, como el picón (*Raja oxyrhynchus*) puede poseer entre 32 a 42 filas de dientes agudos en la mandíbula inferior.

Holocéfalos (Subclase *Holocephali*). Son las quimeras, de las cuales sobreviven aproximadamente 25 especies. Acordes con su dieta variada, a base de estrellas de mar, cangrejos, quisquillas y moluscos, poseen unas curiosas placas dentales trituradoras de larga duración que recuerdan los incisivos de los conejos.

Dipnoos (Subclase *Dipneustii*). En la actualidad sobreviven 6 especies. Poseen placas dentales superiores e inferiores apareadas con las que aplastan y trituran pequeños invertebrados y grandes cantidades de vegetales. Su digestivo es simple y ciliado, carente de estómago y *caecum* hepático, carecen de separación valvular entre el intestino superior y medio pero poseen válvula espiral.

Condrósteos (Grupo *Chondrostei*). Sobreviven unas 25 especies. Al igual que los peces de la subclase *Brachiopterygii*, están provistos de espiráculo y válvula espiral. Son peces muy primitivos, provistos de un estómago bien diferenciado con forma de sifón en U y un intestino provisto de válvula espiral. Los condrósteos poseen cuatro barbillones lisos situados dorsalmente a la boca que utilizan, junto con los electrorreceptores de la nariz, para encontrar sus presas, principalmente invertebrados que encuentran y sacan al exterior con la nariz, succionándolos con la boca protráctil desprovista de dientes. Las especies de mayor tamaño pueden incluir en su dieta peces, moluscos, cangrejos y



gusanos poliquetos. Otras especies filtran plancton con sus branquiespinas.

Holósteos (Grupo *Holostei*). Sólo quedan 8 especies supervivientes. Tienen una válvula espiral reducida en el intestino.

Teleósteos (Grupo *Teleostei*). Constituyen el 96 % de los peces que sobreviven en la actualidad. Presentan cavidades bucofaríngeas especialmente adaptadas a su comportamiento alimentario, tanto para la captura como para el mantenimiento y clasificación del alimento.

Los peces herbívoros habitualmente tienen un hocico corto, romo con una dentadura muy densa que forma un borde segador, raspador, excavador e incluso de cepillo, pudiendo poseer sistemas masticatorios especiales. Varias familias de teleósteos inferiores, como las especies micrófagas o macrófagas están provistas de bolsillos faríngeos, en los cuales colectan algas cuando pastan, para la posterior trituración antes de la deglución. Son los órganos epibranquiales, situados a ambos lados de la cavidad que pueden consistir en sacos simples, como en el caso de los consumidores de macroplancton, o en elaborados conductos enrollados en espiral como en los consumidores de microplancton. Los peces herbívoros suelen poseer branquiespinas finas y abundantes.

Los peces carnívoros pueden clasificarse a su vez en comedores de plancton, comedores de invertebrados bénticos y piscívoros. Los planctívoros por excelencia son los clupeiformes, como las sardinas, anchoas y arenques (*Sardina pilchardus*, *Engraulis encrasicolus* y *Clupea harengus*), los cuales se pueden clasificar como filtradores facultativos, ya que también se pueden alimentar de presas pequeñas. Los clupeiformes succionan el agua que pasa a través de las branquias, cribando el alimento con las branquiespinas, aunque en otras especies el mecanismo es diferente, abren la boca y los opérculos y el agua atraviesa las branquias. Los peces planctívoros carecen de mandíbulas extensibles. Los que se alimentan de invertebrados bénticos pueden tener dientes cónicos afilados para capturar las presas y evitar que se les escapen, triturándolas posteriormente con los dientes faríngeos, evitando de esta manera que las partículas de alimento puedan obstruir las branquias, dificultando la respiración. En otras especies encontramos bocas estrechas, provistas de dietes largos y curvos, o poseer mandíbulas bucales o faríngeas poderosas. Las especies piscívoras tienen a menudo bocas



grandes, con dientes bien desarrollados que evitan el escape de las presas. Dependiendo de la especie pueden tener bocas extensibles, como por ejemplo la mojarra (*Gerres cinereus*), o carecer de ellas como la trucha alpina (*Salvelinus alpinus*), la cual para aumentar su capacidad bucal abre los opérculos y desciende la cavidad oral. Otro ejemplo es el caso de los ciprínidos que sólo tienen dientes faríngeos sobre la mandíbula inferior y un plato masticatorio sobre la mandíbula superior, que utilizan para romper el alimento duro o mantener y deglutir presas. La lengua suele carecer de músculos, permaneciendo inmóvil en la base de la cavidad bucal, pero existe excepciones, así hay especies que tienen una lengua móvil provista de dientes, y otras, como el pez arquero (*Toxotes jaculatrix*), que utiliza la lengua musculada para generar chorros de agua para derivar y capturar insectos.

Los teleósteos normalmente tienen un digestivo complejo, con un esófago de paredes gruesas distensibles, especialmente en el caso de los piscívoros, que usualmente es corto y raramente está ciliado salvo en el caso de la perca. Normalmente está recubierto de papilas gustativas y células mucosas. Las branquiespinas se sitúan a ambos lados del esófago, dirigiendo el alimento hacia el tubo digestivo. El estómago puede ser directo con una luz ensanchada, como en el lucio (*Esox lucius*); tener forma de sifón en U con una luz ensanchada, como en la trucha de río (*Salmo fario*), Coregonus, Clupea; o forma de Y, como en el caso de la anguila (*Anguilla anguilla*), Alosa, el bacalao, la perca oceánica, que presentan una bolsa ciega dirigida caudalmente que surge de la curvatura, formando el tallo de la Y; o pueden carecer de estómago como sucede en los ciprínidos, gobidos, escáridos, blennies, etc. El estómago puede tener una musculatura circular bien desarrollada, como por ejemplo los mújoles (*Mugil sp.*). Los ciprínidos carecen de estómago y píloro, el digestivo anterior está compuesto por el esófago y un intestino anterior hasta la apertura del conducto biliar. En general el intestino presenta ciegos pilóricos y sólo raramente poseen válvula espiral. En muchos teleósteos está presente una válvula ileorectal, así como un septo anuloespiral de músculo circular y epitelio glandular que se encuentra en el intestino superior de la trucha. La longitud total de intestino varía entre diferentes especies, relacionándose al parecer con los hábitos alimentarios del animal, así los peces herbívoros tienen



un intestino largo y enrollado, con una relación longitud intestinal total respecto de la longitud corporal de aproximadamente el doble frente a la mitad de los carnívoros o el quintuple de los planctívoros. En las especies que el intestino es largo normalmente se repliega sobre si mismo tomando diversas formas que pueden ser en S, inversamente enrollado o en hélice (Figura 3).

1.2. FUNCIONES GENERALES

En el apartado anterior se han descrito las diferencias anatómicas que presentan los peces, estas diferencias responden a diferentes cometidos, normalmente relacionados con los hábitos alimentarios del animal, si bien atañen a funciones generales que son las que vamos a detallar a continuación.

1.2.1. Cavidad bucofaríngea

El proceso digestivo comienza en la boca y la cavidad faríngea donde existe un solapamiento entre los procesos de captura y de comienzo de la digestión, concretamente la reducción del tamaño de la presa y la separación del material indigestible del alimento.

La principal función digestiva de la boca es la ingestión del alimento y agua, mediante la acción coordinada de las mandíbulas, la lengua,

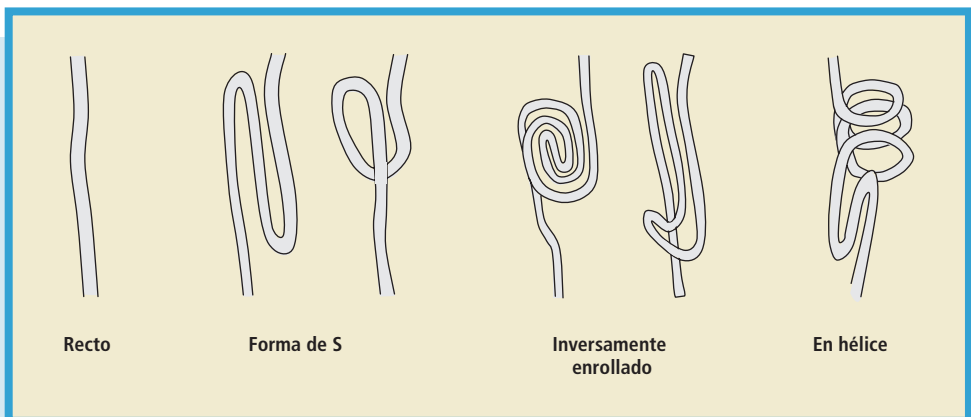


FIGURA 3. Esquema mostrando las disposiciones intestinales más comunes.



el techo de la boca, los arcos branquiales y los opérculos. Como ya se ha indicado con anterioridad, cuando existen los dientes mandibulares estos normalmente tienen la función de captura y mantenimiento de la presa, no se utilizan como aparato de masticación, aunque existen excepciones. En general se puede decir que los diétes bucales, maxilares, linguales o vomerinos se utilizan para capturar y mantener las presas, mientras que los dientes faríngeos y los asociados con las branquias se utilizan para la filtración y el encauzamiento del alimento hacia el interior del estómago. Entre las excepciones podemos encontrar la mayoría de los Cipriniformes, que poseen dientes faríngeos que utilizan como aparato primario de masticación, aunque muchos grupos de peces muestran una cierta capacidad trituradora en alguna de las partes de las branquias, así por ejemplo, puede aparecer una musculatura muy desarrollada en la fila inferior de las branquias que mueven dos juegos de dientes que pulverizan el alimento antes de su deglución, aumentando la superficie celular de contacto para que puedan actuar las enzimas digestivas.

La faringe se encuentra situada en la parte posterior de la cavidad bucal. Es una cavidad menos dilatada que la boca, que no presenta una diferenciación patente por lo que se habla de cavidad bucofaríngea. Su función, al igual que la de la boca, es la captura y trituración de los alimentos. En las mandíbulas faríngeas es donde se inicia el proceso de la digestión, ya que sirven para triturar el alimento en porciones más pequeñas. Los dientes faríngeos se encuentran situados en el quinto arco branquial, que carece de branquias, pueden tener forma redondeada, molariforme, como en el caso de las especies que consumen moluscos bénticos y gran cantidad de material vegetal, o ser cónicos o alargados, como en los peces que consumen larvas de insectos y crustáceos. En las especies que se alimentan fundamentalmente con algas aparecen placas faríngeas, que rompen las paredes celulares, o bordes estrechos cortantes provistos de dientes con los que deshilachan las algas. En general los peces que poseen estos mecanismos de trituración del alimento en las mandíbulas faríngeas carecen de estómago, pasando el alimento directamente al intestino.

Como ya se indicó, los peces carecen de glándulas salivares, pero muchos de los peces que mastican el alimento, con los dientes farín-



geos o estructuras similares, secretan mucus, lo cual supone una ventaja para las especies que ingieren alimento abrasivo. Dicho mucus no se puede equiparar a la saliva ya que carece de actividad enzimática. La cavidad bucofaríngea, además, posee en su interior papilas gustativas, implicadas en la percepción del sabor de los alimentos, aunque también se pueden encontrar en gran cantidad en el epitelio de la cabeza y de todo el cuerpo.

1.2.2. Esófago

El esófago, en muchos casos, es una vía de paso corta, ancha, muscular entre la faringe y el estómago. La musculatura suele ser muy ancha pero posee una gran capacidad de dilatación, que permite deglutir presas, en ocasiones todavía vivas, de gran tamaño. La musculatura del esófago en los peces es total o parcialmente estriada y se contrae voluntariamente, lo que permite a los peces regurgitar el alimento no deseado. Su función fundamental es controlar la ingesta de alimento y agua, por lo que normalmente está recubierto de algunas papilas gustativas junto con células mucosas que facilitan el tránsito del alimento, secretando mucus que actúa como lubricante. El esófago carece de secreción enzimática, aunque en algunas especies se ha descrito la existencia de células secretoras similares a las gástricas en el esófago posterior.

En general la musculatura esofágica de las especies de agua dulce es más larga que la de los peces marinos, presumiblemente para poder expulsar la mayor cantidad posible de agua procedente del alimento, pero una vez más existen excepciones, como la de las anguilas que posee un esófago relativamente largo, estrecho y que actúa durante la migración para diluir el agua salada ingerida antes de que alcance el estómago.

A ambos lados del esófago se localizan los arcos branquiales, que en coordinación con las branquiespinas actúan como un filtro que deja pasar el agua y orientan el alimento hacia el estómago. Ambas estructuras están involucradas en la fase inicial de la digestión, ya que sirven para cortar y agregar las partículas de alimento antes de que pasen al esófago, y de ahí al estómago e intestino.

En la zona de unión entre el esófago y el estómago de los peces de agua dulce es usual la presencia del esfínter cardiaco, estando ausente



en los peces de agua salada. Su función parece ser la de regular la entrada de agua en los peces de agua dulce, minimizando su ingesta.

1.2.3. Estómago

El estómago sirve como un lugar de almacenamiento y mezclado de los alimentos y es donde comienza su digestión química gracias a las potentes secreciones gástricas (ácidos y enzimas) que se liberan en él.

Es la porción más dilatada del tracto digestivo, y presenta una gran capacidad de distensión, permitiendo albergar gran cantidad de alimento, dependiendo de las necesidades de las especies. Los peces que ingieren barro u otras partículas pequeñas, en el caso de necesitar la presencia de estómago, sólo precisan un estómago pequeño, mientras que los que ingieren presas grandes requieren estómagos amplios (normalmente en forma de Y), con una gran capacidad de distensión que le permita estirarse fácilmente conforme se precise y que produzca poca perturbación de las zonas de unión con el mesenterio u otros órganos.

La forma más común es la sigmoide, con una porción cardíaca descendente y una porción pilórica ascendente en la zona más próxima al intestino, aunque como ya se he indicado con anterioridad existen otras formas de estómagos (Figura 2). En algunas especies de peces herbívoros el estómago puede estar provisto de una fuerte musculatura circular, dando lugar a un estómago similar a una molleja, donde el alimento es molido. Los peces que tienen este tipo de estómago tienen un pH neutro y un intestino relativamente largo.

Independientemente de su forma, el recubrimiento interno del estómago es un epitelio columnar típico, rico en glándulas gástricas secretoras de ácido clorhídrico y enzimas como la pepsina, además de células secretoras de hormonas o de mucus, situándose este último tipo exclusivamente en la zona distal o pilórica.

La pepsina es la enzima gástrica predominante en todos los vertebrados, incluyendo los peces. Su función es transformar las proteínas de gran tamaño en polipéptidos y péptidos. Su pH óptimo para alcanzar la máxima actividad proteolítica varía de 1,1 a 4 en las diferentes especies de peces en las que se ha estudiado. En los peces herbívoros también podemos encontrar una lisis ácida, que libera el contenido



de las células de algunas algas de una forma tan eficiente como la trituración.

El transporte del alimento desde el estómago al intestino es controlado por un esfínter muscular, el píloro, cuya función se supone similar a la de los vertebrados superiores, prevenir el retroceso del alimento desde el intestino. En algunas especies el píloro está ausente, pudiendo desarrollar su función los músculos cercanos del estómago, mientras que en los peces que carecen de estómago es el esfínter esofágico el encargado de prevenir el retroceso del alimento.

1.2.4. Intestino

En el intestino anterior y medio tiene lugar la mayor parte de la digestión química y la absorción de los nutrientes. Como ya se ha señalado, la demarcación entre las diferentes porciones del intestino a menudo es mínima en términos anatómicos (en algunas especies aparecen diferencias en el diámetro o coloración) pero en términos histológicos están marcadamente diferenciadas (ver apartado 1), además de que la presencia de células secretoras en el digestivo posterior es menor, con excepción de las células mucosas.

En términos de absorción de nutrientes se presuponen iguales, ya que el riego sanguíneo es comparable, con la salvedad de que la absorción de los lípidos tiene lugar primordialmente en el intestino anterior o duodeno y primera porción del intestino medio, mientras que la absorción de las proteínas se realiza en la porción distal del intestino medio o yeyuno. El intestino distal o recto tiene poca capacidad de absorción, asumiéndose que desempeña un papel esencial en la absorción selectiva de iones minerales y, por tanto, en la osmorregulación.

En general se puede afirmar que los ciegos pilóricos o apéndices pilóricos tienen la misma estructura, contenido enzimático y funciones que la parte superior del digestivo medio, constituyendo un recurso para incrementar la superficie digestiva y absorptiva. Pero en algunas especies herbívoras de aguas calidas puede aparecer una microflora que sintetiza activamente vitaminas, e incluso puede estar presente una microflora celulolítica. Estas enzimas digieren las proteínas, lípidos y carbohidratos del alimento.



El digestivo anterior y medio son ligeramente alcalinos y contiene enzimas procedentes del páncreas, de las células secretoras de la pared intestinal, de la microflora gastrointestinal, así como bilis procedente de la vesícula biliar.

El alimento se transporta a lo largo del tracto digestivo mediante una onda viajera de contracción del las capas circular y longitudinal del músculo de la pared del digestivo, mecanismo que se conoce como **peristalsis**. Numerosos estudios demuestran la existencia de una red neural que controla la peristalsis en el intestino, estando estimulada por drogas colinérgicas e inhibida por adrenérgicas. El esófago y el estómago también están inervados extrínsecamente por las ramas del nervio vago.

1.3. FUNCIONES MOLECULARES

Dado que los peces carecen de secreciones enzimáticas en la boca, en ella sólo tiene lugar una digestión mecánica, produciéndose la digestión química en el estómago e intestino. A continuación, para evitar redundancias, vamos a profundizar someramente en el proceso de la digestión química, ya que en capítulos posteriores (Capítulos III-V) se detallará exhaustivamente la digestión de las proteínas, lípidos y carbohidratos.

1.3.1. Digestión en el estómago

Como ya hemos indicado en la mayoría de las especies el estómago está recubierto de células que secretan ácidos, concretamente el ácido clorhídrico (HCl). En ayunas el pH del fluido gástrico es aproximadamente neutro, pero la presencia de alimento induce la secreción de HCl, haciendo que el pH disminuya, dependiendo de la especie, hasta valores que oscilan entre 1,1 y 4, aproximadamente. El ácido clorhídrico *per se* puede producir una hidrólisis de los alimentos, además de contribuir a la digestión enzimática al proporcionar el pH óptimo para la actividad de las enzimas secretadas por el estómago.

1.3.1.1. Enzimas proteolíticas

En el estómago de los peces tiene lugar una importante actividad proteolítica, gracias a la acción de proteasas secretadas por las células glandulares del estómago. En las especies estudiadas hasta ahora la



proteasa más frecuente es la pepsina, u otras moléculas con una actividad análoga a la de la pepsina. La pepsina se secreta en forma de pepsinógeno (forma inactiva) y es activada por la presencia de un medio ácido, gracias al ácido clorhídrico. Es una endopeptidasa que hidroliza enlaces peptídicos produciendo peptonas y polipéptidos. Existen diferencias de actividad específica, de temperatura óptima y pH óptimo de actuación entre las pepsinas de diferentes especies.

La pepsina no es una enzima esencial para la digestión de las proteínas, como prueba su ausencia en las especies que carecen de estómago.

1.3.1.2. Enzimas no proteolíticas

En ciertos peces se ha detectado una actividad de naturaleza no proteolítica en su jugo gástrico. En peces que se alimentan de crustáceos provistos de un caparazón de quitina, se ha detectado la presencia de quitinasas, que rompen el exoesqueleto, probablemente para facilitar la posterior digestión intestinal y/o evitar un posible bloqueo del tracto digestivo como consecuencia de los pedazos del caparazón. Además se ha determinado que la absorción de la N-acetil-glucosamina resultante de la acción de las quitinasas, por la pared intestinal es más rápida que la de la glucosa.

El pH óptimo para la actividad de las quitinasas es aproximadamente 4,5-5,1, pero es capaz de mantener su funcionalidad a pH comprendidos entre 2-3, como los que se encuentran en el estómago.

1.3.2. Digestión en el intestino

En el intestino es donde tienen lugar la mayoría de los procesos químicos que concluyen en la digestión total de los alimentos. Dichos procesos químicos se producen gracias a la acción de diferentes enzimas cuya secreción procede de la pared intestinal o de las glándulas anejas (páncreas e hígado).

1.3.2.1. Secreciones biliares

La bilis se produce en el hígado y se acumula en la vesícula biliar, salvo en un número reducido de especies que carecen de ella. Facilita la digestión de los lípidos, gracias a una facilitación de la acción de las



lipasas, mediante el aporte de sales biliares y compuestos tensioactivos, capaces de emulsionar los lípidos. En algunas especies los ácidos biliares, presentes en la bilis, son los encargados de realizar dicha función.

Otra función primordial de la bilis es regular el pH del intestino. El pH en el intestino anterior es prácticamente neutro, mientras que en el intestino posterior es alcalino. Esta situación varía en el intestino anterior debido a la llegada de la digesta ácida, por lo que es patente la necesidad de algún mecanismo que proporcione las condiciones alcalinas (pH 7 a 10), a las que actúan óptimamente las enzimas intestinales, especialmente las proteolíticas. Estas condiciones alcalinas se obtienen gracias a la secreción de bicarbonato por el páncreas y de bilis.

1.3.2.2. Secreciones enzimáticas pancreáticas

El páncreas produce una gran diversidad de enzimas que digieren proteínas (proteasas), los carbohidratos (glucosidasas) y los lípidos (lipasas).

1.3.2.2.1. Proteasas

Las proteasas (tripsina, quimotripsina, collagenasa y elastasa) pertenecientes a la familia de las serin-proteasas, son secretadas por el páncreas en forma de zimógenos, formas inactivas, que son activados en el interior del intestino mediante la acción de la enteroquinasa, una enzima secretada por la pared intestinal, y tripsina, evitando así que ataque a tejidos propios antes de su liberación. Estas enzimas poseen el mismo sitio catalítico de acción, que contiene una serina, complementando su actuación por su elevada especificidad de sustrato, ya que dependiendo de la secuencia aminoacídica de la cadena peptídica la hidrólisis producen aminoácidos libres o péptidos de diverso tamaño que serán terminados de hidrolizar por la pepsina. Así las endopeptidasas atacan las uniones internas que se sitúan a lo largo de las cadenas polipéptidicas, mientras que las exopeptidasas (aminopeptidasas, di- y tripeptidasas) hidrolizan las uniones terminales, liberando aminoácidos.

Tripsina. Es una endopeptidasa que en los peces presenta una gran semejanza estructural y funcional con la de los vertebrados. Se secreta en forma de tripsinógeno que es activado a tripsina en el interior del lumen intestinal por la acción de una enteroquinasa. Su sustrato son proteínas y péptidos de gran tamaño que hidroliza para producir pépti-



CUADRO 1.
Principales enzimas digestivas secretadas por los peces.

	Enzima	Substrato	Origen	Hidroliza uniones	Órgano	Producto	Especie
Proteasas	Pepsina	Proteínas	Estómago	Internas NH ₂	Estómago	Péptidos	Con estómago
	Tripsina	Proteínas/péptidos	Páncreas	Internas C-Arg/Lys	Intestino	Péptidos	Todas
	Quimotripsina	Proteínas/péptidos	Páncreas	Internas C-aa aromáticos	Intestino	Péptidos	Todas
	Elastasa	Proteínas	Páncreas	Internas aa alifáticos	Intestino	Péptidos	Carnívoras
	Colagenasa	Proteínas	Páncreas	Internas	Intestino	Péptidos	Carnívoras
Peptidasas	Carboxipeptidasa A	Proteínas/péptidos	Páncreas	Externas aa	Intestino	Péptidos/Aa	Todas
	Carboxipeptidasa B	Proteínas/péptidos	Páncreas	Externas Arg/Lys	Intestino	Péptidos/Aa	Todas
	Aminopeptidasas	Proteínas/péptidos	Intestino	Externas N-terminal	Intestino	Péptidos/Aa	Todas
	Di-/Tripeptidasas	Di-/tripéptidos	Intestino	Externas N-terminal	Intestino	Aa	Todas
Lipasas	Pancreática	Triacilglicéridos	Páncreas	Externas glicerol-éster	Intestino	FFA, β-MG	Todas
	No específica	Triacilglicéridos	Páncreas	Ext/Int. Éster-carboxilo	Intestino	FFA	Todas
	Esterasas	Ésteres	Páncreas	Externas/Internas	Intestino	FFA, alcoholes	Todas
	Fosfolipasas	Fosfolípidos	Intestino	Internas Éster-acilo	Intestino	FFA	Todas
Glucosidasas	Amilasa	Almidón	Páncreas	Interna α1→4	Intestino	Disacáridos	Todas
	Quitinasa	Quitina	Pánc./FD	Interna β1→4	Intestino	N-acetil-glucosamina	(1)
	Celulasa	Celulosa	FD	Interna β1→4	Intestino	Monosacáridos	(2)
	Disacaridasas	Disacáridos	Intestino	Variable	Intestino	Monosacáridos	Todas

Abreviaturas: Aa, aminoácidos; FFA, ácidos grasos libres; MG, monoglicéridos; Pánc., Páncreas; FD, microflora digestiva.

(1) Especies que ingieren usualmente insectos y crustáceos; (2) Especies que consumen usualmente vegetales.

dos de menor tamaño. Su sitio de actividad proteolítica son las uniones internas de péptidos en los que la fracción carboxílica (COOH) es proporcionada por aminoácidos básicos como la arginina o la lisina.

El pH óptimo para su actividad es ligeramente básico, pH 8-9 dependiendo de la especie y su temperatura óptima es entre 30-40 °C, temperaturas ligeramente superiores la inactivan rápidamente.

La presencia de pequeñas cantidades de tripsina en el intestino catalizan la liberación de las endopeptidasas pancreáticas restantes, así como de una exopeptidasa pancreática, la carboxipeptidasa. Su función como activador enzimático hace de la tripsina una enzima clave en la digestión de las proteínas.

Quimotripsina. Se origina por acción de la tripsina sobre el quimiotripsinógeno. Su substrato son proteínas y péptidos de gran tamaño



que hidroliza para producir péptidos de menor tamaño. Es selectiva para los enlaces contiguos al extremo carboxílico de las cadenas laterales de aminoácidos aromáticos como la tirosina, triptófano y fenilalanina y de grandes residuos hidrofóbicos como la metionina. Por lo que hidroliza un mayor número de uniones que la tripsina.

Elastasa. Es otra endopeptidasa, serin-proteasa, que se secreta en forma de proelastasa (zimogeno), y es activada por la tripsina originando la elastasa. Su especificidad está dirigida hacia las cadenas laterales más pequeñas sin carga de los aminoácidos alifáticos.

Es una enzima que no se encuentra en todas las especies de peces y que actúa sobre la elastina, una proteína fibrosa de las arterias y ligamentos que es resistente a otras proteasas. También es capaz de hidrolizar insulina, ribonucleasas y algunas proteínas de origen microbiano. Su pH óptimo de actuación es superior a 9.

Colagenasa. Hidroliza las proteínas fibrosas del tejido conectivo, colageno, presente mayoritariamente en la piel, tendones y huesos, por lo que es una enzima ausente en las especies herbívoras y presente en las carnívoras.

Carboxipeptidasas. Son secretadas como procarboxipeptidasas y activadas por la tripsina. Son exopeptidasas que catalizan la hidrólisis de enlaces carboxilo terminales. Su sustrato son proteínas y péptidos de gran tamaño que hidrolizan para producir péptidos de pequeño tamaño y aminoácidos libres. Hay diferentes tipos de carboxilasa: la carboxipeptidasa A hidroliza prácticamente todos los enlaces péptidicos con grupo carboxilo terminal, producto de la acción de la quimiotripsina; mientras que la carboxipeptidasa B separa sólo los restos carboxilo terminales de arginina o de lisina, consecuencia de la digestión realizada por la tripsina.

1.3.2.2.2. Lipasas

En el tracto digestivo de los peces se ha detectado la presencia de varias lipasas: la lipasa pancreática o «lipasa específica», común a otros vertebrados; una lipasa no-específica y fosfolipasas.

Lipasa pancreática. Es una glicerol-éster-hidrolasa. Es la única enzima secretada por el páncreas en su forma activa, ya que precisa de la existencia de otra molécula, la colipasa, para ejercer su acción hidrolítica. En general las lipasas precisan que los lípidos se encuentren en



una interfase lípido-agua para poder ejercer su acción. En el intestino las sales biliares emulsionan finamente los lípidos, incrementando su superficie por la disminución de la tensión superficial. De esta manera se favorece la unión a los lípidos de la colipasa, la cual posee un sitio específico de unión para la lipasa, que se une hidrolizando los enlaces glicerol-éster de las posiciones C_1 y C_3 y da lugar a dos moléculas de ácidos grasos y una molécula de β -monoglicérido. Esta enzima también puede hidrolizar monoésteres pero a una tasa mucho más lenta.

Lipasa no específica. Es una hidrolasa que es activada por las sales biliares y digiere lípidos neutros catalizando la hidrólisis de las uniones éster-carboxilo, pero también hidroliza otras grasas dietarias como los ésteres de colesterol. Su pH óptimo de actuación varía entre 7,7-8,3.

La lipasa no específica compite con la lipasa pancreática por la digestión de los lípidos, pudiendo la primera liberar los ácidos grasos no separados por la lipasa pancreática (C_2 del triglicérido), así como hidrolizar más eficazmente las ceras.

Esterasas. Son lipasas que pueden hidrolizar triacilgliceridos y monoésteres de colesterol, liberando ácidos grasos.

1.3.2.2.3. Glucosidasas

Los carbohidratos de la dieta (glucógeno de origen animal, almidón y celulosa de origen vegetal y la quitina procedente de los artrópodos) son digeridos por las amilasas producidas principalmente en el páncreas, dando lugar a oligosacáridos que a su vez son digeridos por otras glucosidasas y disacaridasas secretadas por el páncreas y las células intestinales produciendo monosacáridos que son absorbidos por la pared intestinal. La celulasa es secretada por la microflora y digiere la celulosa, mientras que la quitinasa que digiere la quitina es producida por el páncreas y probablemente por la microflora intestinal, en las especie que ingieren fundamentalmente materia vegetal o crustáceos e insectos, respectivamente.

El pH óptimo de actuación de las glucosidasas oscila entre 7 y 10 dependiendo de la enzima que se trate y de la especie en cuestión.

1.3.2.3. Secreciones enzimáticas intestinales

Las células del borde en cepillo del intestino también secretan diferentes enzimas que digieren los diferentes macronutrientes del alimento.



Aminopeptidasas, di- y tripeptidasas. Funcionan como exopeptidasas, que hidrolizan el extremo amino-terminal produciendo aminoácidos libres que son absorbidos por la pared intestinal. El sustrato de las aminopeptidasas son proteínas y polipéptidos que hidrolizan originando polipéptidos de diverso tamaño, así como aminoácidos libres. Las di- y tripeptidasas hidrolizan los extremos N-terminal de dipéptidos y tripéptidos, respectivamente, liberando aminoácidos libres.

Fosfolípasa A2. Es secretada por las células intestinales en forma de proenzima (zimógeno) y es activada por la proteólisis trípica. Cataliza la hidrólisis de ésteres de ácidos grasos en la posición 2 de los fosfoacilglicéridos y producen ácidos grasos libres y lisofosfolípidos. Es una enzima que sólo es activa en presencia de sales biliares.

Glucosidasas. Se secretan diferentes enzimas dependiendo de la especie como la maltasa (β -glucosidasa), isomaltasa, trealasa y sacarasa. Estas enzimas hidrolizan los disacáridos produciendo monosacáridos que son absorbidos por la pared intestinal.

La concentración de todas estas enzimas varía dependiendo de los hábitos alimentarios de los peces, así en los herbívoros y omnívoros los niveles de amilasas tienden a ser superiores que en los carnívoros; en carnívoros la concentración de pepsina es mayor, pero la concentración de proteasas es menor; mientras que en los herbívoros y detritívoros la concentración de tripsina y quimiotripsina es mayor, pero la pepsina está a niveles muy bajos o está ausente. En general podemos afirmar que, entre las especies especializadas en una dieta concreta existen diferencias patentes en la presencia, concentración y actividad enzimática, pudiendo no existir determinadas enzimas o tener una actividad muy reducida, mientras que en los peces no especializados, que se alimentan con diferentes tipos de dietas, podemos encontrar una mayor diversidad de enzimas.

1.4. ABSORCIÓN

1.4.1. Absorción de nutrientes

La absorción de los nutrientes desde la luz intestinal hasta el citosol de los enterocitos y las vesículas sanguíneas puede ocurrir principalmente mediante dos procesos diferentes: (1) absorción de partículas o



macromoléculas mediada por receptores y (2) absorción de pequeñas moléculas mediante difusión simple, facilitada o transporte activo.

1.4.1.1. Absorción por endocitosis

Las invaginaciones situadas en la base de las microvellosidades de los enterocitos desempeñan el papel de receptores a través de los cuales las moléculas proteicas pasan al interior del citosol de los enterocitos sin perder sus propiedades funcionales. Algunas de estas moléculas pueden sufrir un proceso de digestión intracelular dentro de vacuolas. Las moléculas sin digerir abandonan el enterocito a través de la pared vasolateral y alcanzan la lámina propia.

1.4.1.2. Absorción por difusión o transporte activo

Difusión simple. Cuando la sustancia es lipófila se transporta directamente a través de la membrana gracias a la presencia de un gradiente de concentración, no implicando por tanto gasto energético. Por el contrario cuando la molécula es hidrosoluble, raramente se transporta por difusión simple, ya que requiere la presencia de proteínas transportadoras que le faciliten dicho transporte. El número de puntos por los que las sustancias pueden atravesar la membrana mediante difusión simple es ilimitado, aumentando la velocidad de entrada con el aumento de la concentración.

Tanto la **difusión facilitada** como el **transporte activo** requieren de la presencia de un gradiente de concentración y ambos son mediados por moléculas proteicas transportadoras insertadas en la bicapa lipídica de la membrana.

Difusión facilitada. Siempre se produce a favor de un gradiente de concentración, por lo que no necesita energía. La proteína transportadora capta la sustancia en la luz intestinal, modifica su conformación y la introduce al citosol del enterocito. Al principio la relación concentración-velocidad es lineal, saturándose posteriormente debido a que la cantidad de proteína transportadora es limitada, comenzando a saturarse cuando nos acercamos al límite de proteína transportadora. Es muy específico, tanto que reconoce la diferencia entre D- glucosa y L-glucosa. Es un tipo de transporte inhibible puesto que para cada sustancia a transportar hay una serie de sustancias que inhiben



el transporte. La sustancia a transportar se separa de la proteína transportadora por dos motivos: (1) porque hay poca sustancia en el interior celular o (2) porque el cambio de conformación de la proteína hace que disminuya su afinidad por la sustancia.

Transporte activo. Tiene lugar en contra del gradiente de concentración con gasto energético acoplado. El transporte de los nutrientes desde la luz intestinal hasta el citosol del enterocito realmente es un co-transporte de la molécula orgánica y un ión sodio (Na^+), este último sigue un gradiente decreciente que mantiene la concentración intracelular de sodio baja gracias a la acción de una bomba de sodio localizada en la base de la membrana. La bomba empuja fuera iones a través del compartimento interno, utilizando energía proporcionada por la hidrólisis de ATP. Un ejemplo es el transporte intestinal de glucosa: la proteína transportadora capta la glucosa en la luz intestinal, donde su concentración es muy baja. Para captar glucosa la proteína transportadora debe activarse, utilizando para ello el sodio, que tiende a entrar en el citosol gracias a la baja concentración de sodio que hay en el enterocito. Una vez que se une el sodio a la proteína, cambia su conformación y aparece un centro activo que se une a glucosa. La proteína transportadora con el sodio y la glucosa unidos sufre otro cambio conformacional y transloca el sodio y la glucosa al interior celular, primero libera el sodio y pierde la afinidad por la glucosa, liberando la glucosa. Es una cinética típica de saturación. De esta manera la glucosa y los aminoácidos son acumulados en el citosol, a pesar del gradiente creciente. Posteriormente son difundidos a través de un gradiente decreciente a través de la pared vasolateral celular por difusión facilitada. La conjunción de estos mecanismos de difusión facilitada y de transporte activo también aseguran la absorción de una gran cantidad de péptidos en forma de mono-, di- y tripéptidos.

El transporte activo siempre va unido al transporte de sodio y requiere energía pero no de forma directa, ya que se ha visto que puede durar unos milisegundos después de bloquear la entrada de ATP.

1.4.2. Absorción de los lípidos

Los ácidos grasos y los monoacilglicerol se absorben de forma pasiva cuando las micelas que los contienen (agregados moleculares de pequeño tamaño) contactan con el borde en cepillo de los enterocitos,



con la ayuda de las sales biliares que son liberadas a la luz intestinal. Los ácidos grasos de cadena corta se absorben directamente sin la presencia de sales biliares.

1.4.3. Absorción de los carbohidratos

Tiene lugar mediante un transporte activo secundario unido a cotransporte de sodio, en el cual las proteínas transportadoras son saturables y específicas para la estructura concreta del monosacárido, por ejemplo, glucosa, fructosa, etc.

1.4.4. Absorción de las proteínas

En los peces las proteínas pueden ser absorbidas como aminoácidos libres, péptidos, o como proteínas completas, por lo que los mecanismos de absorción son variables. Los aminoácidos se absorben al igual que los monosacáridos mediante transporte activo unido a cotransporte de sodio, con proteínas transportadoras específicas para la estructura del aminoácido. Los di- y tripéptidos son absorbidos por los enterocitos mediante transporte activo unido al cotransporte de protones. Los péptidos de gran tamaño, así como las proteínas intactas, pueden ser absorbidos por los enterocitos mediante pinocitosis o pasar directamente a la sangre mediante una ruta paracelular.

1.5. MÉTODOS DE MEDIDA DE LA DIGESTIÓN

El valor nutritivo de los alimentos no sólo depende de su contenido nutricional, sino que también depende de la capacidad que tenga el animal para digerirlos y absorberlos, ya que parte de los nutrientes no son absorbidos por la mucosa intestinal y son eliminados a través de las heces.

Los coeficientes de digestibilidad permiten cuantificar la digestibilidad, esto es, la cantidad de nutrientes absorbidos por el animal a partir de los nutrientes ingeridos. Para un mismo alimento se puede calcular el coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) y el coeficiente de di-



gestibilidad verdadera (CDV), cuyas formulas aparecen especificadas a continuación:

$$CDA = \frac{\text{Nutrientes ingeridos} - \text{Nutrientes en heces}}{\text{Nutrientes ingeridos}} \times 100$$
$$CDV = \frac{\text{Nutrientes ingeridos} - (\text{Nutrientes en heces} - \text{Fracción endógena})}{\text{Nutrientes ingeridos}} \times 100$$

El CDA depende del estado fisiológico de animal y de la tasa de ingesta, permitiendo en teoría conocer la capacidad del pez para retener o utilizar el alimento. Por el contrario el CDV depende principalmente del tipo de dieta y de la capacidad para digerirla del pez, permitiendo determinar la adecuación de dicha dieta para proporcionarle los nutrientes que precisa.

La medida de la digestibilidad requiere conocer la ingesta, la emisión fecal y determinar la fracción endógena. Dada la dificultad que conlleva el conocimiento de la fracción endógena en los peces, y que la diferencia entre la CDA y la CDV tiene poco impacto práctico en la acuicultura, normalmente el coeficiente que se utiliza es el CDA.

Dichas medidas pueden realizarse de forma directa o indirecta:

Método directo. Requiere el conocer todo el alimento ingerido y todas las heces producidas durante una o más comidas. Para determinar dichas cantidades se pueden utilizar cámaras metabólicas adaptadas, que permiten separar la fracción cuantitativa de la excreción de las agallas, urinaria y fecal (Smith, 1971; Smith *et al.*, 1980) u otros sistemas que permitan la recolección de todas las heces producidas. La utilización de cámaras metabólicas está fuertemente criticada, ya que su empleo implica la inmovilización de los peces, así como la alimentación forzada, de manera que el estrés al que están sometidos los animales, no sólo es reprochable, sino que compromete la utilización del alimento por parte del animal. Lo usual es que se desconozca la cantidad total de alimento y ello, unido al hecho de que recolectar la cantidad total de heces producidas es impracticable en la mayoría de las ocasiones, conduce a que se suela utilizar el método indirecto.

Método indirecto. No requiere medir toda la cantidad de alimento consumido o de heces producidas y presenta la ventaja añadida de que los peces pueden consumir el alimento de forma voluntaria, preservando el bienestar de los animales y desapareciendo la posible



interferencia debida al estrés. Dadas sus ventajas este método ha sido utilizado por numerosos autores para determinar los coeficientes de digestibilidad para la energía, proteína, carbohidratos, lípidos y materia seca en diversas especies de peces.

El método consiste en la utilización de marcadores que deben ser absolutamente inertes, carentes de ningún tipo de efecto comportamental o fisiológico en el animal, no metabolizables y no absorbibles, que no interfieran con los procesos digestivos, como la absorción, secreción, y tiempo de tránsito intestinal y que sean fáciles de medir, que se añaden a la dieta y que dadas sus propiedades aparecen intactos en las heces.

El marcador utilizado clásicamente para los estudios de digestibilidad en peces es el óxido de cromo, Cr_2O_3 , que se incorpora a la dieta en una tasa de 0,5-2 %. Pero existen otros marcadores que se utilizan, o se han utilizado, en los experimentos de digestibilidad de peces como son las cuentas de cristal, partículas de hierro, óxido de titanio, n-alcanos, celitas, cenizas insolubles en ácido, lignina, radioisótopos (^{125}I o ^{131}I), carbonato de bario, itrio, etc.

La fórmula que se utiliza para calcular la digestibilidad de la materia seca mediante estos métodos indirectos es la siguiente:

$$\text{CDA (\%)} = 100 - \left[100 \times \frac{\% \text{ marcador en alimento}}{\% \text{ marcador en heces}} \right]$$

mientras que para calcular la digestibilidad de un nutriente concreto se utiliza la siguiente fórmula:

$$\text{CDA (\%)} = 100 - \left[100 \times \frac{\% \text{ marcador en alimento}}{\% \text{ marcador en heces}} \times \frac{\% \text{ nutriente en alimento}}{\% \text{ nutriente en heces}} \right]$$

Cualquiera que sea el método a emplear para determinar la digestibilidad la recolección de las heces debe de realizarse rápidamente, para prevenir la pérdida de los nutrientes solubles que permanecen en las heces, ya que podría inducir a estimas incorrectas de la digestibilidad. Así, por ejemplo, parte del nitrógeno que se excreta en las heces se encuentra en estado líquido, por lo que podría lixiviarse desde las heces al agua antes de su recogida. Para evitar la lixiviación en las décadas de los 60-70, se procedía a la disección quirúrgica del recto, a la aspiración anal de las heces o se ejercía presión en el abdomen de los animales. Mediante



estás técnicas, además de los problemas éticos que pueda plantearnos, surgían problemas metodológicos, ya que no sólo se recogían heces, sino que también se recogían secreciones urinarias, genitales, y además las «heces» recogidas no se correspondían con heces verdaderas, ya que en la parte final del intestino medio, como se ha comentado en el apartado 2.4 se absorben proteínas, por lo que las «heces» recogidas no se ajustaban a un proceso digestivo completo. Afortunadamente en los años 80 se diseñaron sistemas de colección de heces, el sistema «Guelph» de sedimentación en columna y el sistema «Choubert o St. Pée» de filtración en cinturón, que permiten una recolección continua y aseguran un tiempo mínimo de contacto de las heces con el agua, separando las heces. Posteriormente se han realizado numerosas modificaciones y adaptaciones a los sistemas de estabulación de peces.

Una vez recogidas las heces, se realiza el análisis del pienso y de las heces, estimando la concentración de nutrientes y marcador y se calcula la digestibilidad de los nutrientes empleando las formulas anteriormente indicadas.

BIBLIOGRAFÍA

- BONE, Q., MARSHALL, N. B., and J. H. S. BLAXER, 1995 *Biology of fishes*. Blackie Academic & Profesional-Chapman & Hall, Suffolk.
- CAMACHO, I., MURILLO, A., VARELA, G., MOREIRAS-VARELA, O., and S. ZAMORA, 1975 La utilización nutritiva de la proteína en peces: una técnica para su determinación experimental. *Cuad. C. Biol.* 4: 57-70.
- CARDENETE HERNÁNDEZ, G., 1999 Nutrición proteica en peces, pp. 27-42 in *Acuicultura: cultivo y alimentación de peces*, edited by S. Zamora Navarro, F.J., Martínez López and F. Pérez Llamas. Serv. Public. Universidad de Murcia, Cartagena, Murcia.
- CARDENETE, G., GARCÍA, M., and S. Zamora, 1986 Relación proteína/energía en las dietas para truchas. I.- Efecto sobre el crecimiento y diversos índices biométricos. *Ars Pharmaceutica XXVII-2*: 119-128.
- CARDENETE, G., GARCÍA, M., and S. ZAMORA, 1986 Relación proteína/energía en las dietas para truchas. II.- Efecto sobre la composición de distintas fracciones corporales. *Ars Pharmaceutica XXVII-2*: 238-246.
- Committee on Animal Nutrition, Board on Agriculture, National Research Council, 1993. *Nutrient requirements of fish*. National Academy Press, Washington, D.C.



- GARCÍA, M., MORATA, P., CARDENETE, G., and S. ZAMORA, 1977 Estudio de la glucemia basal y en respuesta a la comida en la trucha. XVI Cong. N. Esp. Ciencias Fisiológicas. Bellaterra, Barcelona.
- GARCÍA, M., ZAMORA, S., and M. A. LÓPEZ, 1981 The influence of partial replacement of protein by fat in the diet on protein utilization by the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Comp. Biochem. Physiol. 68B: 457-460.
- GARCÍA, M., CARDENETE, G., and S. ZAMORA, 1984 Efecto de la presencia de almidón en una dieta para truchas sobre la utilización de la proteína de las misma. XX Cong. N. Soc. Esp. Ciencias Fisiologicas. Murcia.
- GUILLAUME, J., and CHOUBERT, G., 2001 Digestive physiology and nutrient digestibility in fishes, pp. 27-58 in Nutrition and feeding of fish and crustaceans, edited by J. Guillaume, S. Kaushik, P. Bergot and R. Métailler. Springer-Praxis Publishing, Chichester.
- GROPP, J. M., and A. G. J. TACON, 1994 Report of the EIFAC Workshop on methodology for determination of nutrient requirements in fish. EIFAC Occasional Paper 29, FAO, Rome.
- HIDALGO, F., and ALLIOT, E., 1987 La digestion en los peces, pp. 85-122 in Nutrición en Acuicultura vol 1, edited by J. Espinosa de los Monteros and U. Labarta. FEUGA, Madrid.
- HIGUERA, M. DE LA, MURILLO, A., VARELA, G., and S. ZAMORA, 1977 The influence of high dietary fat levels on protein utilization by the trout (*Salmo Gairdneri*). Comp. Biochem. Physiol. 56A: 37-41.
- HIGUERA, M. DE LA, ZAMORA, S., MATAIX, F.J., and G. VARELA, 1979 Utilización nutritiva de dietas adicionadas de grasa en la trucha (*Salmo Gairdneri*). An. Inst. Invest. Veterin. XXV: 285-300.
- HORN, M. H., 1998 Feeding and digestion, pp. 43-64 in The Physiology of fishes, edited by D. H. Evans. CRC Press LLC, Boca Raton.
- JOBLING, M., 2001 Feed composition and analysis, pp. 1-24 in Food Intake in Fish, edited by D. Houlihan, T. Boujard and M. Jobling. Blackwell Science, Cornwall.
- SANZ RUS, A., and G. CARDENETE HERNÁNDEZ, 2001 Nutrición proteica en los peces. Perspectivas de futuro, pp. 47-56 in Acuicultura II: cultivo y alimentación de peces, edited by S. Zamora and F.J. Martínez López. Serv. Public. Universidad de Murcia, Cartagena, Murcia.
- STEVENS, C. E., 1998. Comparative physiology of the vertebrate digestive system. Cambridge University Press, Cambridge.
- SMITH, R. R., 1971 A method for determination of digestibility and metabolizable energy of feedstuffs for finfish. Prog. Fish-Cult. 33: 132-134.



- SMITH, L. S., 1980. Digestion in teleost fish, pp. 3-17 in Aquaculture development and coordination programme. Fish feed technology. Project reports, FAO, Washington, D.C. (<http://www.fao.org/docrep/X5738E/x5738e00.htm#Contents>)
- SMITH, R. R., Peterson, M. C., and A. C. Alfred, 1980 The effect of leaching on apparent digestion coefficients in determining digestibility and metabolizable energy of feedstuffs for salmonids. *Prog. Fish-Cult.* 42: 195-199.
- SMITH, L.S., 1989 Digestive functions in teleost fishes, pp. 331-421 in *Fish Nutrition*, 2nd ed, edited by J. E. Halver. Academic Press, San Diego.
- ZAMORA, S., and ECHEVARRIA, G., 1987 Los hidratos de carbono en la nutrición en peces, pp. 167-196 in *Nutrición en Acuicultura vol 2*, edited by J. Espinosa de los Monteros and U. Labarta. FEUGA, Madrid.
- ZAMORA, S., and F. PÉREZ LLAMAS, 1993 Requerimientos de energía y glúcidos en los peces, pp. 227-244 in *Acuicultura Marina: Fundamentos biológicos y tecnológicos de producción*, edited by F. Castelló Orvay. Publicacions Universitat de Barcelona, Barcelona.
- ZAMORA NAVARRO, S., and V. C. RUBIO FERNÁNDEZ, 2006 Requerimientos energéticos de los peces teleósteos, pp. 155-180 in *Acuicultura III: cultivo y alimentación de peces* edited by S. Zamora Navarro, F.J. Martínez López and V.C. Rubio Fernández. Serv. Public. Universidad de Murcia, Murcia.

2

LA ENERGÍA EN LA NUTRICIÓN DE LOS PECES



LA ENERGÍA EN LA NUTRICIÓN DE LOS PECES

Miguel Jover Cerdá

Universidad Politécnica de Valencia

2.1. PRINCIPIOS BÁSICOS: ORIGEN Y DESTINO DE LA ENERGÍA EN LOS PECES

Los peces necesitan energía para su actividad diaria y para la reposición y crecimiento de sus tejidos corporales. Dicha energía la consiguen a través de los alimentos mediante la oxidación de la fracción orgánica, constituida por proteínas, grasas y carbohidratos.

No obstante, parte de la energía ingerida no puede ser aprovechada, pues se pierde durante el proceso de digestión y metabolismo, bien como desechos orgánicos, heces y amoníaco, o como calor, siendo el resto retenido en forma de tejidos corporales.

Las necesidades energéticas dependen del estado fisiológico del pez y de las condiciones ambientales, fundamentalmente de la temperatura que determina el nivel de actividad y el crecimiento, pero en cualquier caso, los peces tienen unas menores necesidades energéticas que el resto de animales de granja debido a que:

- no necesitan emplear energía para el mantenimiento de su temperatura corporal por su carácter poiquilotermo
- la excreción nitrogenada en forma de amonio fundamentalmente, en vez de urea o ácido úrico, reduce las pérdidas
- el mantenimiento de la posición corporal y el desplazamiento en el medio acuático requiere un menor gasto de energía



La obtención de energía a partir del alimento requiere, en primer lugar, su digestión para disgregar los sustratos energéticos en moléculas simples que puedan ser absorbidas:

- proteína → aminoácidos
- lípidos → ácidos grasos y glicerol
- carbohidratos → pentosas y hexosas

Estas moléculas pueden ser incorporadas a la estructura corporal como proteína o depósitos de grasa, mediante procesos anabólicos, o bien destinados a la obtención de energía, mediante procesos catabólicos.

2.2. METABOLISMO ENERGÉTICO

Para transformar la energía química contenida en los enlaces de los sustratos digestivos en energía disponible para los procesos anabólicos, tales sustratos deben ser oxidados a nivel celular en el ciclo de los «ácidos tricarboxílicos o de Krebs» y en la «cadena respiratoria», obteniéndose moléculas de ATP ricas en energía (Figura 1).

Los aminoácidos deben ser previamente desaminados y convertidos en un α -cetoácido antes de ser incorporados al ciclo de Krebs o derivados a la neoglucogénesis. Cada aminoácido se incorpora en un punto diferente del ciclo o bien como piruvato o acetil-CoA.

Los lípidos son descompuestos en glicerol, que se transforma en piruvato, y en los ácidos grasos, que son convertidos mediante β -oxidación, en acetil-CoA.

Los hidratos de carbono se convierten en piruvato y acetil-CoA, y son incorporados en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos. El ciclo de las pentosas también se presenta en los peces.

En los peces carnívoros, son los aminoácidos y los ácidos grasos los principales sustratos energéticos, mientras que los carbohidratos son peor utilizados.

La energía que no se fija en forma de ATP es disipada en forma de calor, siendo conocida como «actividad o tasa metabólica», la cual se puede medir por calorimetría directa o estimar indirectamente por el consumo de oxígeno, considerando que por cada miligramo de

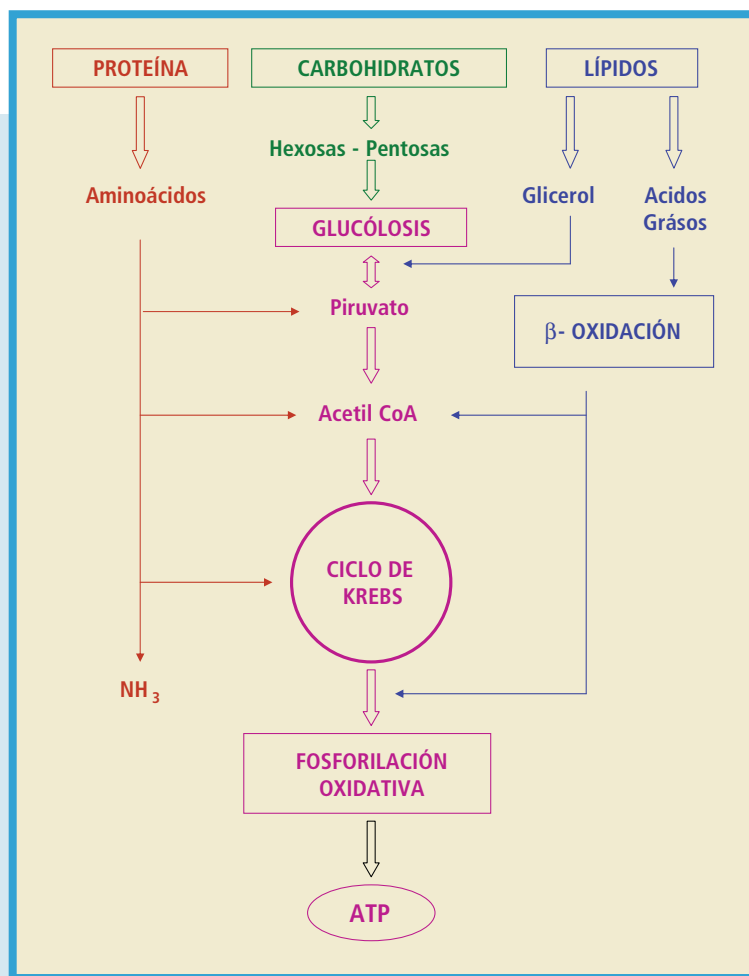


FIGURA 1.

Procesos de oxidación de proteína, lípidos y carbohidratos

oxígeno se obtienen entre 13 y 14 julios, en ausencia de procesos anaerobios.

Se establecen varios niveles de actividad metabólica en función de la actividad de los peces:

- *Metabolismo basal*: actividad metabólica de un pez aislado, en reposo y oscuridad.



- *Metabolismo de rutina o estándar*: tasa metabólica de un grupo de peces en condiciones normales, pero en ayuno.
- *Metabolismo de actividad I*: actividad metabólica de peces alimentados y con libertad para moverse.
- *Metabolismo de actividad II*: tasa metabólica de peces sometidos a intensos esfuerzos

La tasa metabólica depende fundamentalmente de la temperatura y del tamaño de los peces. A medida que aumenta la temperatura se incrementa la actividad metabólica basal hasta llegar al límite letal, por lo que la determinación de la actividad metabólica debe realizarse en el rango de temperatura óptima para cada especie.

Por otra parte, al aumentar el peso corporal (P) se reduce la tasa metabólica (Q) siguiendo una relación exponencial de la forma $Q = P^k$. El valor del exponente «k» se denomina «peso metabólico» en nutrición animal y oscila entre 0.75 y 0.85.

2.3. DESTINO DE LA ENERGÍA DEL ALIMENTO: EB, ED, EM, EN

La energía química contenida en un alimento se conoce como «energía bruta» (EB) y puede determinarse directamente en una bomba calorimétrica midiendo su calor de combustión, o estimarse a partir de los niveles de proteína, lípidos y carbohidratos y de sus respectivos coeficientes oxalóricos, 23.6, 39.5 y 17.2 kJ/g (NRC, 1993).

Únicamente parte de esta energía bruta del alimento es utilizable por los peces para su crecimiento, pues existen una serie de pérdidas (Figura 2) recogidas por Kaushik y Medale (1994) y Cho (1997).

En primer lugar, una porción de esta energía bruta no es aprovechable ya que se pierde durante los procesos de digestión en forma de «energía fecal» (Eh), resultando la «energía digestible» (ED):

$$ED = EB - Eh$$

Para determinar la energía digestible es necesario estimar la «digestibilidad» del alimento mediante ensayos de digestibilidad, en los que se cuantifica la cantidad de energía contenida en las heces. Para ello hay que medir su calor de combustión o bien determinar la diges-

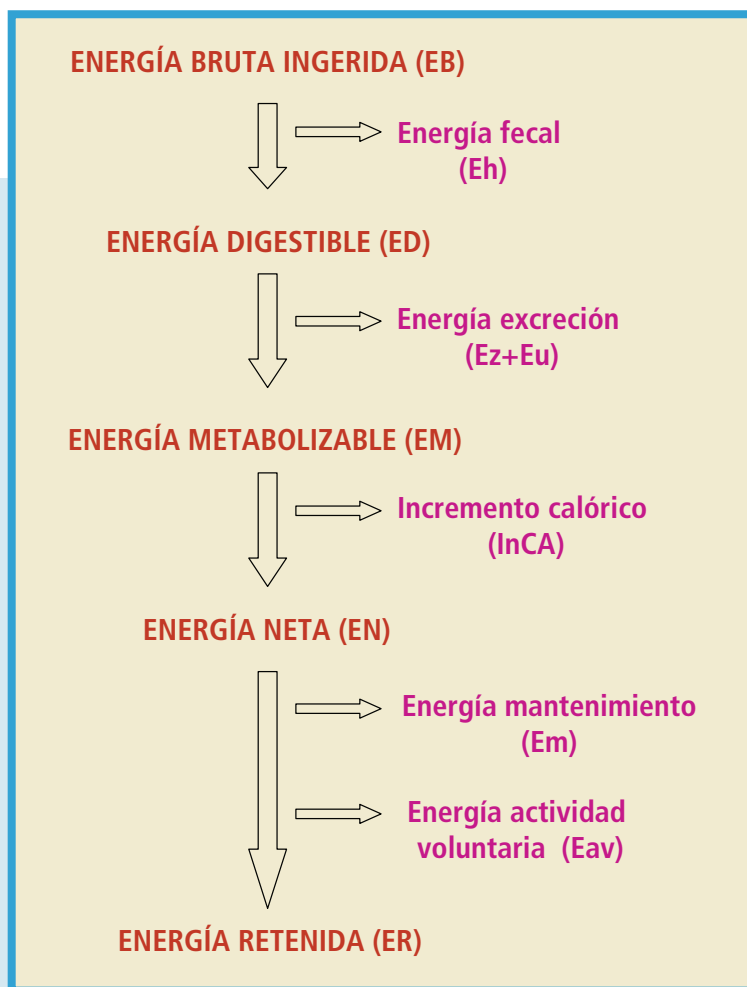


FIGURA 2. Distribución de la energía ingerida.

tibilidad de la proteína, lípidos y carbohidratos y aplicarlas sobre los coeficientes oxi-calóricos de la energía bruta.

La digestibilidad depende, tanto del alimento como de la especie, por lo que es necesario realizar ensayos de digestibilidad para cada especie.

Los alimentos empleados en acuicultura son altamente digestibles, pues se emplean mayoritariamente fuentes de proteína y lípidos, ya



que los carbohidratos son peor digeridos por los peces carnívoros, oscilando la digestibilidad de la energía bruta entre 70 y 90 %.

A su vez, una parte de la energía digestible no es utilizable, pues se pierde en forma de los productos de excreción nitrogenada (Ee), amoníaco fundamentalmente y también urea, tanto a través de las branquias (Ez) como del riñón (Eu), de forma que la energía resultante es la «energía metabolizable» (EM):

$$EM = ED - Ee = ED - (Ez + Eu)$$

Para determinar la energía excretada es necesario analizar la concentración de amonio y urea en el agua, lo que plantea dificultades técnicas.

Por otra parte, los procesos digestivos y metabólicos asociados a la ingestión de alimento suponen un gasto de energía, denominada «acción dinámica específica» o «incremento calórico del alimento» (InCA), que habría que restar a la energía metabolizable para obtener la «energía neta»:

$$EN = EM - \text{InCA}$$

Los factores que contribuyen al incremento calórico tienen tres orígenes, los procesos de digestión y absorción (ECd), los procesos de transformación de los sustratos y su retención como tejidos (ECr) y los procesos de formación y excreción de los desechos metabólicos (ECe). De ellos, el más importante es el gasto asociado a la desaminación de los aminoácidos, por lo que los alimentos ricos en proteína originan unos mayores valores de InCA.

$$\text{InCA} = \text{ECd} + \text{ECr} + \text{ECe}$$

La energía neta es la energía utilizable por los peces para el mantenimiento del organismo (Em), la actividad voluntaria (Eav) y el incremento de tejidos o retención (ER), muscular en la fase de crecimiento, o gonadal en la fase de reproducción.

La «energía de mantenimiento» (Em) es la empleada en el metabolismo basal (ECmb), que incluye los procesos de respiración, circulación, regulación iónica, renovación, etc; en la actividad involuntaria de reposo o tono muscular (ECar), que es muy pequeña en el medio acuático; y en la regulación de la temperatura corporal (ECT), nula en los peces homeotermos. Estos menores gastos, hacen que la energía



de mantenimiento en los peces resulte de 10 a 20 veces menor que en animales homeotermos.

$$Em = ECmb + ECar + ECt$$

La tasa metabólica basal es una aproximación a las necesidades de mantenimiento de los peces, aunque debido a la dificultad de manejar peces individuales en inmovilidad y oscuridad, las necesidades de mantenimiento se suelen estimar mediante la tasa metabólica estándar.

La energía empleada en la actividad voluntaria (E_{av}) depende del nivel de natación y de la velocidad del agua en los estanques o jaulas, y de la competencia por el alimento o los fenómenos de dominancia, y también de la especie, pues los peces planos tienen un menor gasto.

Al final, la «energía retenida» (ER) resultaría ser la realmente disponible para la producción acuícola, pues se traduce en un incremento tisular:

$$ER = EN - (Em + E_{av})$$

En resumen, la energía retenida se obtendría al restar a la energía bruta del alimento todas las pérdidas digestivas y metabólicas, resultando un valor de entre 20 y 40 % (Figura 3):

$$\begin{aligned} ER &= EB - [E_h + E_e + InCA + Em + E_{av}] = \\ &= EB - [E_h + (E_z + E_u) + (ECd + ECr + ECe) + (ECmb + ECar + ECt) + E_{av}] \end{aligned}$$

2.4. VALORES ENERGÉTICOS DEL ALIMENTO: DIGESTIBILIDAD DE LA ENERGÍA

La energía bruta contenida en los alimentos depende de los niveles de compuestos orgánicos, principalmente de la proteína y de los lípidos. Las tablas de composición de los alimentos ofrecen una información genérica con valores medias para cada ingrediente (NRC, 1993).

Los alimentos más energéticos son aquellos que contienen elevados niveles de proteína y lípidos, es decir, las harinas de carne y pescado, harinas de semillas oleaginosas y evidentemente los aceites, tanto animales como vegetales (Cuadro 1).

La energía digestible depende de la especie, en el caso de la trucha, existen numerosos datos (Cho y Kaushik, 1990; NRC, 1993), pero para las restantes especies, los valores de ED están publicados en diversos trabajos de investigación.

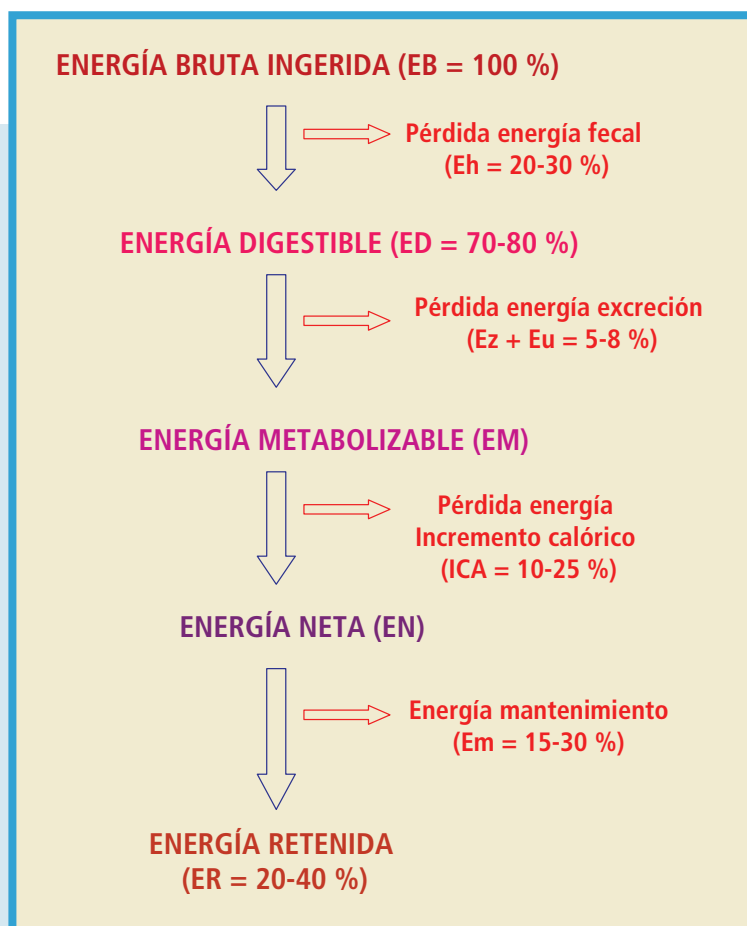


FIGURA 3.
Distribución de la energía ingerida en la trucha
(Kaushik y Medale, 1994).

En cuanto a la digestibilidad de la energía bruta en piensos completos, Lanari *et al.* (1995) citaron valores de 90 % para la trucha con dietas de alta energía. Azevedo *et al.* (1998) encontraron un efecto de la temperatura sobre la digestibilidad de la energía, que fue de un 85 % a 15 °C y de un 74 % a 6 °C. El nivel de ingestión en trucha no tuvo ningún efecto en la digestibilidad (Storebakken *et al.*, 1991), pero sí en dorada (Fernández *et al.*, 1998).



CUADRO 1.

Composición nutritiva de algunos ingredientes empleados en la fabricación de piensos acuícolas (NRC, 1993)

Alimento	Código	PB (%)	GB (%)	CHO (%)	FB (%)	CE (%)	EB (kJ/g)	ED (kJ/g) Trucha	ED (kJ/g) Dorada ⁽¹⁾
Harina sangre	5-00-381	89,2	0,7	6,8	1,0	2,3	22,5	17,9	18,7
Gluten maíz	5-28-242	60,4	1,8	34,2	1,5	2,1	20,8	17,8	—
Harina pescado azul	5-02-000	72,0	8,4	8,6	0,6	10,4	21,8	18,2	17,4
H. pescado blanco	5-02-025	62,3	5,0	10,9	0,5	21,3	18,6	13,4	
Harina carne	5-09-323	55,6	8,7	6,4	2,3	27,0	17,7	13,3	13,8
Harina de soja	5-04-597	38,0	18,0	34,5	5,0	4,5	22,0	15,9	—
Torta de soja	5-04-604	44,0	1,1	41,3	7,3	6,3	17,9	—	12,9
Torta girasol	5-04-739	45,5	2,9	32,1	12	7,5	17,4	—	—
Trigo	4-05-268	12,9	1,7	81,3	2,5	1,6	17,7	10,0	15,6
Aceite pescado	7-08-048	—	—	—	100	—	39,5	—	—
Aceite soja	4-07-983	—	—	—	100	—	39,5	—	—

⁽¹⁾ Lupatsch *et al.* (1997).

Lupatsch *et al.* (1997) determinaron la digestibilidad de dietas con diferentes ingredientes pero similares niveles nutritivos y energéticos en la lubina y obtuvieron mayores digestibilidades energéticas con dietas a base de ingredientes de origen animal, 79-86 %, frente a las que incluían torta de soja, 71-77 %, debido a una menor digestibilidad de la fracción lipídica y sobre todo de los carbohidratos.

Santinha *et al.* (1996, 1999) han estudiado la digestibilidad de dietas con diferentes niveles nutritivos en dorada, obteniendo coeficientes de digestibilidad de la energía del orden de 79-81 % para dietas con una energía bruta de 20-21 MJ/Kg, y de 87-90 % para dietas de 22-23 MJ/Kg, lo que demuestra la mayor eficiencia de las dietas de alta energía también en esta especie.

La energía digestible de un pienso se puede estimar en función de los niveles de proteína, lípidos y carbohidratos, a partir de valores de los coeficientes oxi-calóricos, obtenidos para cada especie (Cuadro 2).



CUADRO 2.

Coeficientes oxicalóricos de la energía digestible para algunas especies.

Especie	Autores	kJ ED /g Proteína	kJ ED/g Lípidos	kJ ED/g Carbohidratos
Trucha	Lanari <i>et al.</i> (1995)	20,4	37,1	15,2
Salmón	Hillestad <i>et al.</i> (1999)	20,9	35,1	11,0
Lubina	Ballestrazzi y Lanari (1996)	21,2	34,0	14,8
Dorada	Lupatsch <i>et al.</i> (1997)	19,8	36,0	13,3

2.5. PÉRDIDAS ENERGÉTICAS POR EXCRECIÓN

Una vez que el pez ha absorbido la fracción digestible del alimento, no toda la energía digestible puede ser utilizada para satisfacer las necesidades de mantenimiento y producción, pues hay una serie de pérdidas debidas a los procesos de excreción nitrogenada, y al incremento calórico asociado a la alimentación. Respecto a las primeras, hay que considerar que el pez obtiene la energía necesaria de los sustratos orgánicos ingeridos, lípidos, carbohidratos y proteína, pero la energía que sobrepasa las necesidades es almacenada como lípidos corporales, para lo cual, los carbohidratos que no son utilizados para obtener energía son convertidos en grasa. Asimismo, la proteína que no es utilizada para crecimiento muscular es utilizada para obtener energía, y el exceso es reconvertido también en lípidos corporales, para lo cual los aminoácidos deben ser desaminados, y el amoníaco excretado, pues su acumulación en el organismo resulta tóxica.

La cantidad de nitrógeno excretado puede llegar a ser importante, del orden del 40% del nitrógeno ingerido (Cuadro 3) siendo la mayor parte eliminado en forma de amoníaco (85%) y urea (15%).

No obstante, la energía perdida en tales productos de excreción es muy pequeña, del orden de 3-5 % de la energía digestible ingerida (Cuadro 4), pudiendo ser calculada mediante los valores equivalentes de energía para el amoníaco y la urea de 24.9 y 23.1 kJ/g N respectivamente, propuestos por Elliot y Davidson (citados por Cho y Kaushik, 1990).



CUADRO 3.

Excreción de nitrógeno en varias especies (Dosdat *et al.*, 1996).

ESPECIE	Peso (g)	Excreción Amonio (mg N/kg/d)	Excreción Urea (mg N/kg/d)	Producción Total N (μ g /kg/d/mgN)	N exc / N ing (%)
Trucha arco-iris	10	355	52	367	37
Lubina	10	454	69	480	44
Dorada	10	412	60	398	40
Rodaballo	10	244	60	258	26
Trucha arco-iris	100	152	22	409	41
Lubina	100	152	23	408	41
Dorada	100	108	15	372	37
Rodaballo	100	74	21	266	26

CUADRO 4.

Estimación de la energía excretada en varias especies (a partir de Dosdat *et al.*, 1996).

ESPECIE	PESO (g)	Energía Amonio (kj/kg/d)	Energía Urea (kj/kg/d)	Energía Total excretada (kj/kg/d)	Energía exc. / Energía ingerida (%)
Trucha arco-iris	10	8,8	1,2	10,0	3,6
Lubina	10	11,3	1,6	12,9	5,0
Dorada	10	10,3	1,4	11,6	4,2
Rodaballo	10	6,1	1,4	7,5	2,7
Trucha arco-iris	100	3,8	0,5	4,3	4,7
Lubina	100	3,8	0,5	4,3	4,7
Dorada	100	2,7	0,3	3,0	3,6
Rodaballo	100	1,8	0,5	2,3	2,9

2.6. PÉRDIDAS POR INCREMENTO CALÓRICO

El incremento de la tasa metabólica de los peces tras la ingestión de alimento, respecto a la situación de ayuno o prealimentación, es conocido como «incremento calórico», y se determina generalmente por diferencia en el consumo de oxígeno de peces en ayunas y alimentados. Como ya se ha comentado anteriormente el principal proceso digestivo-metabólico que contribuye al incremento calórico es la eliminación del grupo amino de los aminoácidos y su excreción; no



obstante, en el caso de los peces, este valor es más pequeño que en el resto de animales, debido a que el principal producto de la excreción nitrogenada es el amoníaco que no requiere energía para ser eliminado, suponiendo un 10-15 % de la energía ingerida, frente al 30 % en los animales terrestres.

A partir de los modelos de consumo de oxígeno obtenidos por Lemarie *et al.* (1992) se ha estimado el InCA de la dorada de diferentes pesos para distintas temperaturas (Figura 4).

Se observa que la temperatura tiene un efecto positivo sobre el incremento calórico, mostrado también para truchas, 12 y 24 kJ/kg/d a 7.5 y 15 °C respectivamente (Cho y Kaushik, 1990), y en doradas, 25 y 45 kJ/kg/d a 20 y 28 °C (Requena *et al.*, 1997).

Asimismo, el aumento de la ingestión de alimento, o del contenido en proteína, origina un mayor incremento calórico, 34 y 39 kJ/kg/d para truchas con un pienso de 40 y 60% de proteína (Cho y Kaushik, 1990).

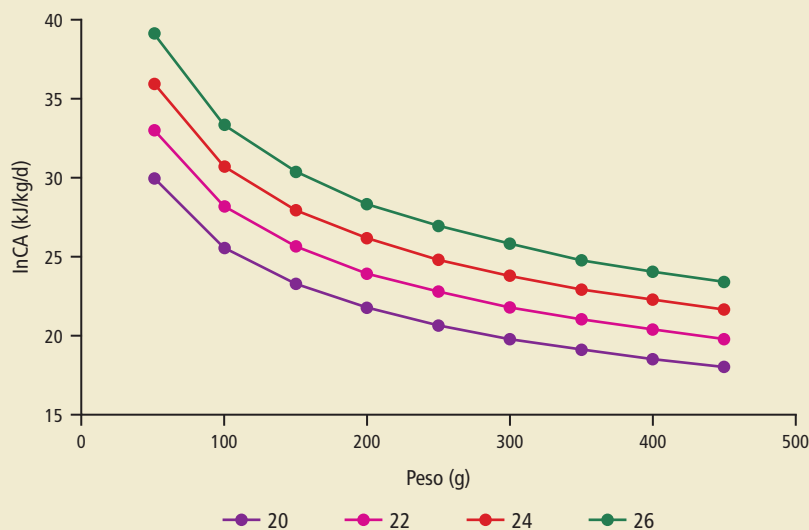


FIGURA 4.

Valores de Incremento Calórico para la dorada
(elaboración propia a partir de Lemarie *et al.*, 1992).



En este sentido, a partir de los datos de Guinea y Fernández (1997) se ha encontrado una relación múltiple que relaciona el incremento calórico (InCA) de doradas de entre 37 y 100 g con la tasa de alimentación (TA) y la temperatura (T):

$$\text{InCA} = 79,7 + 27,6 \cdot \text{TA} - 8,5 \cdot T + 0,23 \cdot T^2 \text{ (kJ/kg/d) (R}^2 = 86\%)$$

Los valores del InCA suponen un 10-15 % de la energía ingerida en trucha (Cho y Kaushik, 1991) y entre 15 y 25 % en dorada (Guinea y Fernández, 1997).

2.7. RETENCIÓN DE LA ENERGÍA

Algunas de las pérdidas de energía son difíciles de determinar, por lo que resulta más fácil determinar directamente la energía retenida en los peces a través de la composición energética del crecimiento, bien mediante la combustión del tejido corporal (inicial y final) en una bomba calorimétrica o mediante el análisis del contenido en proteína y grasa corporal y su transformación en energía mediante los coeficientes oxalóricos de la EB.

La eficacia en la retención de energía puede determinarse comparando esta retención con la energía ingerida, siendo este un índice ampliamente utilizado en los estudios de nutrición de peces, que depende tanto del estado fisiológico del pez como del contenido energético del alimento (Cuadro 5).

En el caso de los peces en fase de crecimiento, la energía retenida queda almacena en los enlaces moleculares de la proteína y la grasa.

CUADRO 5.

Retención energética obtenida por diferentes autores en varias especies.

Referencia	Especie	Peso (g)	ED (MJ/kg)	Retención (%)
Lanari y col. (1995)	Trucha	175-335	22,6	59
Azevedo <i>et al.</i> (2004)	Trucha	268-1313	21,6	41
Azevedo <i>et al.</i> (2004)	Salmón	456-1250	21,9	38
Lanari y Dí Agaro (2000)	Lubina	128-252	19,7	38
Lanari <i>et al.</i> (1999)	Lubina	91-341	20,6	37
Moñino <i>et al.</i> (2002)	Dorada	24-417	20,8	44
Bromley (1980)	Rodaballo	3-8	19,4	29



Evidentemente la retención de energía supone un incremento de peso, pero para estimar aquella en función de éste es necesario determinar la fracción proteica y lipídica del crecimiento, pues su contenido energético es claramente diferente. La cantidad de energía depositada en el tejido graso es del orden de 31 kJ/g, mientras que en el tejido muscular es tan solo de 6 kJ/g (Cho, 1987).

Desde un punto de vista productivo, lo interesante es que la retención de energía se realice mayoritariamente en forma de proteína, pues ello supone un mayor crecimiento en peso por unidad de energía que en forma de lípidos, ya que por cada gramo de proteína retenida se retiene más de 3 gramos de agua. Cuando la ingestión de energía supera la capacidad de crecimiento el pez, se produce una acumulación de energía en forma de depósito graso, poco eficiente desde el punto de vista del crecimiento y con un posible efecto negativo sobre la calidad de la carne.

La energía que no ha sido retenida, se ha perdido en los diferentes procesos digestivos y metabólicos, se trata de la energía contenida en las heces y productos de excreción nitrogenada, de la energía gastada como calor, y la energía empleada en el movimiento voluntario.

2.8. NIVELES ENERGÉTICOS DE LOS PIENSOS Y NECESIDADES DE ENERGÍA

Las necesidades energéticas en acuicultura han sido frecuentemente confundidas con el óptimo contenido energético del alimento, expresado en mega-julios por kilogramo de alimento (MJ/Kg), y en ocasiones con la relación proteína/energía, expresada en gramos de proteína por mega-julio de energía (g/MJ).

Las necesidades energéticas reales de los peces deben ser definidas como la cantidad de energía que debe ingerir un pez para optimizar su producción (crecimiento, índice de conversión, rentabilidad, etc.), y deberían ser expresadas en kilojulios de energía por kilogramo de pez y día.

Tradicionalmente, los investigadores han intentado determinar los niveles óptimos de energía en los piensos para las diferentes especies de peces (Cuadros 6, 7, 8 y 9), y para ello han estudiado



el crecimiento y la eficiencia nutritiva de diferentes grupos de peces alimentados con piensos que contenían diferentes niveles energéticos mediante análisis de la varianza, para establecer el mínimo contenido de energía que producía el mejor crecimiento e índice de conversión.

Algunos de los datos disponibles para trucha y salmón (Cuadro 6) parecen indicar la conveniencia de emplear piensos con altos contenidos en energía, del orden de 21-23 MJ/kg, con relaciones proteína/energía de entre 18-20 g/MJ.

En la lubina (Cuadro 7), los niveles de energía que originaron un mejor crecimiento estuvieron entre 20 y 21 MJ/kg, pero con relaciones proteína/energía superiores, del orden de 20-21 g/MJ.

En el caso de la dorada (Cuadro 8), los resultados muestran unos niveles óptimos de energía de 18-19 MJ/kg, con unas elevadas relaciones proteína/energía 24-25 g/MJ para peces juveniles, mientras que para ejemplares mayores los mejores niveles energéticos fueron de 20-23 MJ/kg con relaciones proteína/energía menores 18-21 g/MJ.

CUADRO 6.

Niveles óptimos de energía digestible y relación proteína/energía para trucha y salmón.

Especie (Peso in-Peso fin) Referencia	E.D. (MJ/Kg pienso)	PD/ED (g / MJ)	TCI (%/d)	ICA
Trucha arco-iris (175-336 g) Lanari <i>et al.</i> (1995)	22,6	16,3	1,03 a	0,94 a
	23,0	17,2	1,07 a	0,90 b
	23,2	18,2	1,15 b	0,84 c
Trucha arco-iris (43-278 g) Green <i>et al.</i> (2002)	16,7	26,0	1,48 a	0,92 a
	18,9	22,7	1,57 b	0,89 ab
	21,2	20,1	1,65 c	0,87 b
Trucha arco-iris (268-1313g) Azevedo <i>et al.</i> (2004)	21,2	22,5	0,56	1,23
	21,5	19,9	0,56	1,26
	21,6	18,0	0,58	1,26
	21,9	16,5	0,57	1,26
Salmón Atlántico (1500-2920 g) Einen y Roem (1997)	23,1	14,1	0,65 b	0,97
	22,2	16,4	0,69 ab	0,91
	21,6	18,8	0,75 a	0,89
	20,7	21,9	0,67 ab	0,88
Salmón Atlántico (456-1272 g) Azevedo <i>et al.</i> (2004)	21,2	22,5	0,42	1,03
	21,5	19,9	0,43	1,04
	21,6	18,0	0,42	1,07
	21,9	16,5	0,43	1,05



CUADRO 7.

Niveles óptimos de energía digestible y relación proteína/energía para la lubina.

Especie (Peso in-Peso fin) Referencia	E.D. (MJ/Kg pienso)	PD/ED (g / MJ)	TCI (%/d)	ICA
Lubina (6-25 g) Peres y Oliva-Teles (1999)	20,2	23,2	2,23	1,22 b
	21,1	21,9	2,29	1,12 b
	22,3	20,9	2,39	1,18 b
	23,6	19,7	2,16	1,61 a
Lubina (68-152 g) Lanari y Dí Agaro (2000)	18,6	21,8	0,84 b	1,47 a
	19,7	20,5	0,98 a	1,40 a
	22,6	19,0	0,92 a	1,22 b
Lubina (128-252 g) Lanari y Dí Agaro (2000)	18,6	21,8	0,76	1,48 a
	19,7	20,5	0,79	1,36 b
	22,6	19,0	0,74	1,36 b
Lubina (91-341 g) Lanari et al. (1999)	18,2	23,3	0,53 b	2,38
	19,4	21,7	0,54 b	2,17
	20,6	20,1	0,59 a	2,13

CUADRO 8.

Niveles óptimos de energía digestible y relación proteína/energía para la dorada.

Especie (Peso in-Peso fin) Referencia	E.D. (MJ/Kg pienso)	PD/ED (g / MJ)	TCI (%/d)	ICA
Dorada (25-95 g) Lupatsch <i>et al.</i> (2001a)	17,1	21,9	1,19	1,61
	18,1	25,2	1,33	1,35
	18,2	20,7	1,39	1,27
	19,4	28,2	1,41	1,23
Dorada (32-110 g) Lupatsch <i>et al.</i> (2001a)	18,9	24,3	1,30	1,26
	19,6	21,5	1,33	1,22
	20,4	19,1	1,24	1,33
	20,6	17,9	1,24	1,23
	21,6	15,7	1,19	1,27
Dorada (42-145 g) Santinha <i>et al.</i> (1999)	19,4	22,6	1,65	1,56 c
	21,2	20,8	1,61	1,26 a
	20,3	24,1	1,67	1,41 b
	21,2	22,5	1,67	1,26 a
Dorada (105-170 g) Ekman <i>et al.</i> (2002)	19,1	21,8	1,28 b	1,40 b
	19,9	20,6	1,37 a	1,20 a
	20,4	20,5	1,40 a	1,20 a
	21,2	19,9	1,42 a	1,20 a
	21,8	19,6	1,55 a	1,15 a
	22,8	18,6	1,48 a	1,08 a
Dorada (70-400 g) ⁽¹⁾ Vergara <i>et al.</i> (1999)	18,6	21,5	0,94 b	1,41-1,54
	20,4	19,5	0,98 a	1,41-1,54
	21,3	19,0	0,97 a	1,41-1,54
Dorada (24-417 g) ⁽¹⁾ Moñino <i>et al.</i> (2002)	15,9	23,8	1,17 b	2,21 c
	16,8	23,5	1,17 b	1,78 b
	17,4	21,2	1,16 b	1,64 b
	23,1	18,2	1,25 a	1,38 a

⁽¹⁾ ED y PD calculada con datos de la Tabla 1.



En el rodaballo, los datos disponibles indican que los niveles de energía óptimos son menores que para el resto de especies, de entre 15 y 18 MJ/kg, pero con elevadas relaciones proteína/energía, de 31-34 g/MJ.

CUADRO 9.

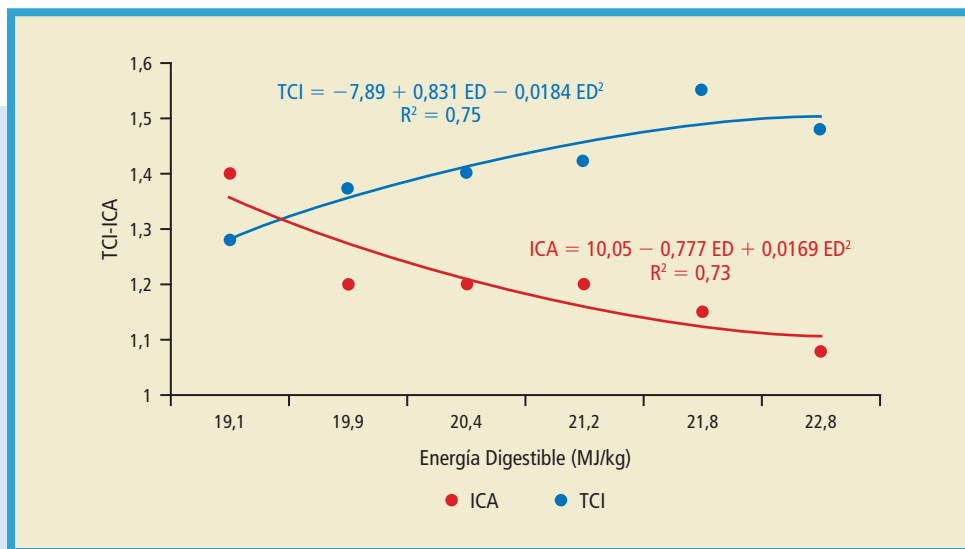
Niveles óptimos de energía digestible y relación proteína/energía para el rodaballo.

Especie (Peso in-Peso fin) Referencia	E.D. (MJ/Kg pienso)	PD/ED (g / MJ)	TCI (%/d)	ICA
Rodaballo (202-467 g) ⁽¹⁾	17,1	24,2	0,84	—
Saether y Jobling (2001)	19,0	21,9	0,84	—
Rodaballo (90-155 g) ⁽¹⁾	14,8	18,7	0,55 a	2,17 a
Lee <i>et al.</i> (2003)	14,8	22,9	0,94 ab	1,38 ab
	14,9	27,7	0,88 ab	1,28 bc
	15,0	31,6	1,32 b	0,92 d
	15,2	36,1	1,21 b	0,98 cd
Rodaballo (47-75 g) ⁽¹⁾	14,6	36,3	1,51 ab	0,90 a
Cho <i>et al.</i> (2005)	16,5	32,1	1,83 a	0,99 a
	15,6	37,6	1,08 b	1,25 b
	17,8	33,9	1,87 a	0,76 a
	16,4	38,3	1,50 ab	0,88 a
	18,5	34,1	1,60 a	0,83 a

⁽¹⁾ ED y PD calculada a partir de CDA de Fournier *et al.* (2004).

La utilización de técnicas estadísticas de análisis de la varianza para estimar los óptimos niveles de nutrientes ha sido criticada por Shearer (2000). Por ejemplo, el nivel óptimo de energía digestible para la dorada sería de 19,9 MJ/kg según los datos de Ekmann *et al.* (2002), pues el nivel inferior ensayado da peores resultados, mientras los niveles superiores no son estadísticamente diferentes, como se muestra en el Cuadro 8. No obstante, cuando se analizan los datos mediante regresiones cuadráticas (Figura 5) es posible determinar los niveles energéticos óptimos derivando e igualando a cero las ecuaciones obtenidas, que para el caso anterior sería de 22,6 y 23,0 MJ/kg para la máxima TCI y mínimo ICA, respectivamente.

Para determinar el óptimo nivel energético considerando el crecimiento y la eficacia nutritiva globalmente, es necesario llevar a cabo un análisis económico dando un valor de mercado a los peces y al alimento consumido, como ha desarrollado recientemente Martínez-Llorens *et al.* (2007 a,b) a través del denominado «índice de beneficio económico».

**FIGURA 5.**

Determinación del óptimo nivel energético mediante regresiones cuadráticas en la dorada (Elaboración propia a partir de Ekmann *et al.*, 2002).

En la actualidad, los piensos disponibles en el mercado presentan un amplio intervalo de niveles de energía, entre 15,6-22,7 MJ/kg, y de relaciones proteína/energía, de 22,6-16,6 g/MJ, para las diferentes especies.

El interés de utilizar piensos con altos niveles de energía es debido a la mejora que se obtiene en el índice de conversión del alimento, como puede comprobarse en la Figura 6, elaborada a partir de los resultados de diferentes autores con la dorada (Cuadro 8), debido a la menor ración diaria de las dietas ricas en energía. No obstante, para que los piensos con altos niveles de energía no originen peces grasos, es necesario que la relación proteína energía sea óptima, y que la tasa de alimentación sea la adecuada.

A este respecto, tan importante como el contenido energético de un pienso, es el nivel de ingestión de energía, que está determinado por la tasa de alimentación, pues resulta evidente que una misma ingestión energética puede conseguirse con diferentes alimentos que contengan distinto nivel de energía, variando la tasa de alimentación (Cuadro 10).

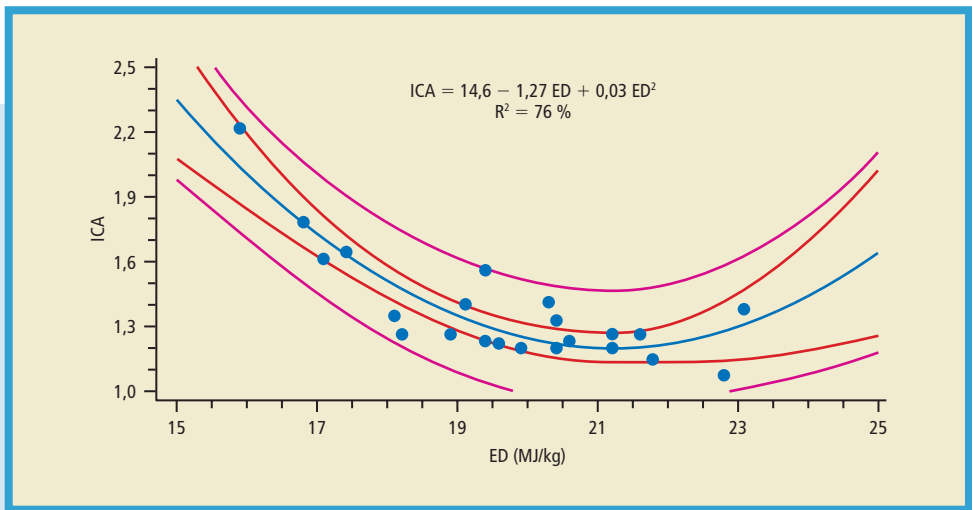


FIGURA 6.

Efecto de la energía del pienso en el índice de conversión de la dorada.

CUADRO 10.

Tasas de alimentación e ingestión de energía.

Nivel Energía Pienso (MJ/Kg pienso)	Tasa de Alimentación (Kg pienso/100kg peces/día)	Ingestión de Energía (MJ/100Kg peces/día)
16	1,375	22,0
18	1,220	22,0
20	1,100	22,0
22	1,000	22,0

Por otra parte, muchos de los ensayos para determinar los óptimos niveles de energía en los piensos se realizan mediante pruebas con alimentación «a saciedad aparente», por lo que la eficiencia nutritiva se podría reducir al existir una «sobrealimentación» que no mejora el crecimiento. No obstante, el incremento de las tasas de alimentación puede ser beneficioso en algunas situaciones, pero su interés debe valorarse mediante un análisis económico que pondere la tasa de crecimiento y el índice de conversión (Jover *et al.*, 2003b).

Está ampliamente demostrada la regulación energética de la ingestión en los peces, de forma que la ingestión voluntaria de alimento se



reduce a medida que aumenta el contenido energético del mismo con el fin de mantener la ingestión de energía. Así, en el Cuadro 11 se presentan algunos resultados en lubina y dorada alimentadas con piensos que contenían niveles energéticos crecientes, los cuales no originaron diferencias en el crecimiento, debido al incremento de ingestión de los piensos menos energéticos.

CUADRO 11.

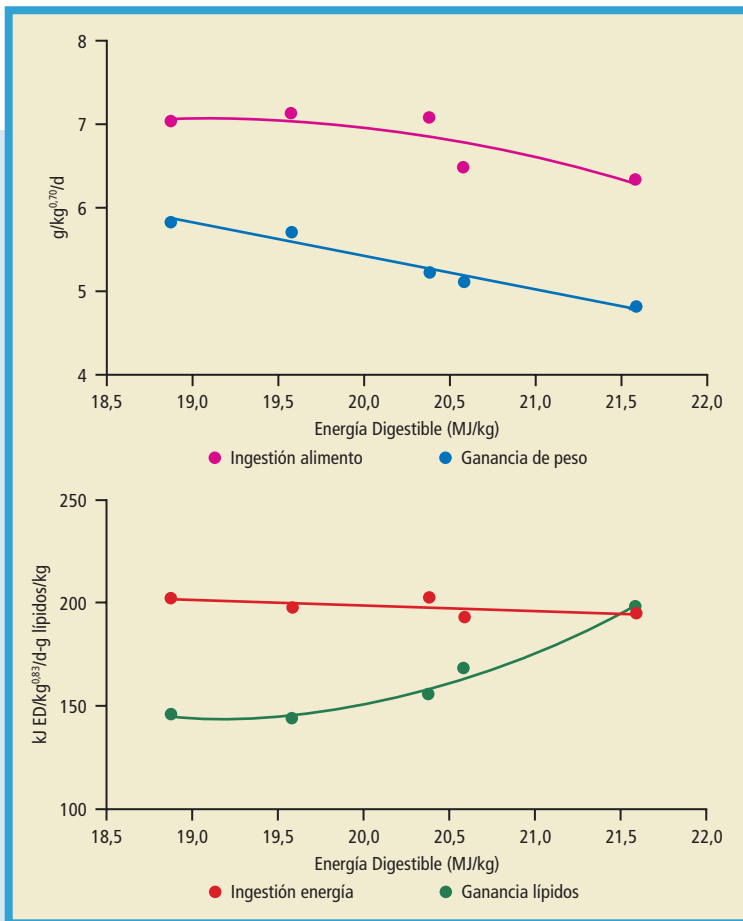
Regulación energética de la ingestión de alimento en la lubina alimentada ad libitum (calculado a partir de Boujard *et al.*, 2004) y en la dorada alimentada a saciedad (Gómez, 2006).

Energía Digestible alimento (MJ/kg)	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Tasa alimentación diaria (%/d)	Tasa ingestión energía (MJ/100 kg/d)	Retención Energía (%)
LUBINA					
19,9	233	441	0,96	19,1	47,7
22,7	240	453	0,86	19,5	51,1
25,0	250	482	0,77	19,2	53,5
DORADA					
17,8	45	362	1,37 a	29,2	36,6
20,5	43	355	1,24 b	30,4	34,2

No obstante, en algunos trabajos se han obtenido resultados contradictorios, sin que aparezcan diferencias en los niveles de ingestión de piensos con diferentes contenidos en energía (Velazquez *et al.*, 2006).

Asimismo, Lupatsch *et al.* (2001a) obtuvieron una relación inversa entre la ingestión de alimento y el contenido energético de piensos en la dorada para mantener la ingestión de energía, pero ello originó una reducción en la ingestión de proteína en los piensos más energéticos (Cuadro 12), que provocó un menor crecimiento y un aumento del engrasamiento (Figura 7), lo que demuestra la gran importancia de la relación proteína/energía para garantizar una adecuada ingestión de proteína y un buen crecimiento.

El mayor engrasamiento de los peces al ser alimentados con piensos de alta energía también ha sido puesto de manifiesto por Moñino *et al.* (2002), pues doradas alimentadas hasta peso comercial con piensos que contenían 23,1 MJ/kg presentaron un contenido lipídico corporal

**FIGURA 7.**

Regulación energética de la ingestión, crecimiento y engrasamiento en la dorada (Lupatsch *et al.*, 2001a).

de 49 % (en materia seca), frente a 41 % de las doradas alimentadas con 16,8 MJ/kg.

Los altos niveles de engrasamiento corporal pueden reducir la calidad final del pescado, por lo que habría que plantear estrategias alimentarias de finalización, bien con piensos pobres en grasa, o mediante ayuno. A este respecto, Grigorakis y Alexis (2005) estudiaron el efecto del ayuno final en doradas de tamaño comercial, y observaron una reducción de



CUADRO 12.

Regulación energética de la ingestión de alimento en la dorada alimentada a saciedad (estimado a partir de Lupastch *et al.*, 2001a).

Energía Digestible alimento (MJ/kg)	Ganancia de peso (g/kg ^{0.7} /d)	Ingestión alimento (g/kg ^{0.7} /d)	Ingestión energía (kJ/kg ^{0.83} /d)	Ingestión proteína (g/kg ^{0.70} /d)	Ganancia lípidos (g/kg)
18,9	6,1	7,30	215	3,40	158
19,6	6,0	7,40	210	3,15	156
20,4	5,5	7,35	215	2,85	168
20,6	5,4	6,75	205	2,50	180
21,6	5,1	6,60	207	2,25	210

los lípidos musculares desde la primera semana de ayuno, y de la grasa perivisceral tras dos semanas. Esta estrategia de ayuno puede ser interesante en épocas invernales de bajo crecimiento, pero durante el verano sería más conveniente la utilización de piensos con bajos niveles de energía, aunque son necesarios datos en condiciones de producción y realizar una valoración económica de las posibles estrategias.

Asumiendo que los peces regulan su ingestión en función de las necesidades energéticas, se podrían dar tres casos en función del valor de la relación proteína/energía:

1. Si la relación proteína/energía es elevada, los peces podrían ingerir un exceso de proteína, que supondría una mayor excreción de nitrógeno y por tanto unas mayores pérdidas por incremento calórico (InCA) y un mayor coste de la alimentación.
2. Si la relación proteína/energía es baja, los peces detendrían la ingestión sin ingerir la suficiente proteína, lo que originaría un peor crecimiento y un engrasamiento debido al exceso de energía.
3. Si la relación proteína/energía es la adecuada, tanto la ingestión de proteína como de energía sería la adecuada, optimizándose el crecimiento. Por ello, cuando se diseñan piensos de alta energía debería incrementarse también el contenido proteico y ajustar la tasa de ingestión.

Por tanto, el establecimiento de las necesidades óptimas de energía para los peces no puede llevarse a cabo sin considerar también las necesidades proteicas, pues de lo contrario el crecimiento se vería



afectado y los valores determinados de energía no serían adecuados para optimizar el crecimiento.

La evidencia de que las necesidades energéticas de los peces, y de los niveles óptimos de energía y de la relación proteína/energía, no están correctamente determinadas, se puede comprobar a nivel práctico analizando los diferentes piensos comerciales disponibles en el mercado, y calculando las ingestiones energéticas en función del contenido en energía del pienso y de la tasa de alimentación, las cuales resultan diferentes en todos ellos (Jover y col., 2003a). Las necesidades energéticas de un pez, para un peso y una temperatura determinada, son únicas, mientras que existen tantas ingestiones energéticas como piensos comerciales.

Recientemente, Bailey y Alanärä (2006) han propuesto un método alternativo para estimar las necesidades energéticas, definiendo las necesidades de energía digestible (NED) como la energía que deben ingerir los peces, expresadas en mega-julios, por cada kilogramo de ganancia de peso vivo, de forma que la energía diaria se determinaría multiplicando NED por el incremento de peso esperado. Estos autores han recopilado gran cantidad de datos bibliográficos (171 trabajos científicos con diferentes especies), calculando las NED para máximo crecimiento (Cuadro 13).

Estos autores solo encontraron un efecto significativo del peso en la NED para la trucha y el salmón, debido probablemente a los escasos datos disponibles para el rodaballo, lubina y dorada. Tampoco encontraron ningún efecto significativo de la temperatura sobre las necesida-

CUADRO 13.

Estimación de las necesidades energéticas expresadas en NED (MJ ED/Kg de pez) en diferentes especies (Bailey y Alanärä, 2006).

Especie	N.º	N.E.D. (MJ/Kg pez)	Rango N.E.D.	Modelo N.E.D.-Peso
Trucha arco-iris	26	14,5	12,0-17,0	$10,58 + 0,80 \ln P$
Salmón	24	16,2	12,3-21,3	$10,77 + 1,05 \ln P$
Rodaballo	8	15,8	13,1-18,0	–
Lubina	15	22,3	19,7-26,2	–
Dorada	8	22,0	18,4-26,0	–



des NED, aunque existen unas claras diferencias entre las especies de aguas frías (trucha, salmón y rodaballo), frente a las de aguas cálidas (lubina y dorada), debido según los autores al mayor coste energético de la vida en aguas cálidas.

Este sistema es una primera aproximación al establecimiento de las necesidades energéticas de los peces, pero la determinación de las NED para óptimo crecimiento adolece de los mismos problemas comentados para la determinación de los óptimos niveles de energía en el pienso.

Por tanto, las necesidades energéticas de los peces deben venir expresadas en «kilojulios por kilogramo de peso y día», al igual que se hace en el resto de especies ganaderas, y no como nivel óptimo en el pienso. Los trabajos de Cho y Bureau (1998), Kaushik (1998) plantearon un modelo bioenergético para determinar las necesidades de los peces, y los trabajos posteriores de Lupatsch *et al.* (1998; 2001 a,b; 2003 a,b), Watanabe *et al.* (2000) y recientemente Jauralde *et al.* (2006) abordan la determinación de las necesidades energéticas de mantenimiento y de crecimiento estudiando la retención energética en peces alimentados con cantidades crecientes de energía, determinando las óptimas tasas de alimentación óptima y relación proteína/energía, a partir de las cuales se pueden diseñar y formular los piensos.

2.9. ENERGÍA DE MANTENIMIENTO

Las necesidades de mantenimiento se pueden definir como la cantidad de energía necesaria para mantener las funciones básicas del organismo en condiciones de crecimiento nulo, es decir sin ganancia ni pérdida de peso. En una primera aproximación, las necesidades de mantenimiento se han estimado a partir de la «tasa metabólica basal» mediante el consumo de oxígeno, o de las pérdidas de energía corporal, en periodos de ayuno. Guinea y Fernández (1997) estudiaron las tasas metabólicas de doradas de diferentes pesos (P) y temperaturas (T), y obtuvieron unos consumos de oxígeno en ayuno (COAy) de entre 70 y 160 mg O₂/kg/h para temperaturas de entre 16 y 31 °C y pesos entre 37 y 100 g, lo que supone un consumo de energía de entre 23 y



53 MJ/kg; a partir de los resultados de estos autores se ha modelizado la tasa metabólica mediante la siguiente regresión lineal múltiple:

$$\text{COAy (mg/kg/h)} = -143 + 7,3 \cdot P - 0,36 \cdot P \cdot T + 0,59 \cdot T^2$$

Lemarie *et al.* (1992) han modelizado el consumo de oxígeno en condiciones de ayuno para la lubina y dorada, pudiéndose considerar una aproximación a la tasa metabólica estándar:

$$\text{Lubina: COAy (mg/kg/h)} = 7,52 \cdot P^{-0,23} \cdot T^{0,813} (1-700 \text{ g y } 10-30 \text{ °C})$$

$$\text{Dorada: COAy (mg/kg/h)} = 155,6 \cdot P^{-0,287} \cdot 10^{0,024 \cdot T} (1-550 \text{ g y } 10-25 \text{ °C})$$

En la Figura 8 se han representado dichas tasas metabólicas de ayuno para la dorada (kJ/kg/d), en la que puede observarse la reducción de tales tasas al aumentar el peso de los ejemplares, y el efecto positivo de la temperatura.

Para salmónidos, Cho y Bureau (1998) estimaron las necesidades energéticas de mantenimiento a partir de la producción de calor durante el ayuno:

$$\text{NEMAy} = [21,04 + 3,26T - 0,05T^2] P^{0,824} \text{ (kJ/pez/d)}$$

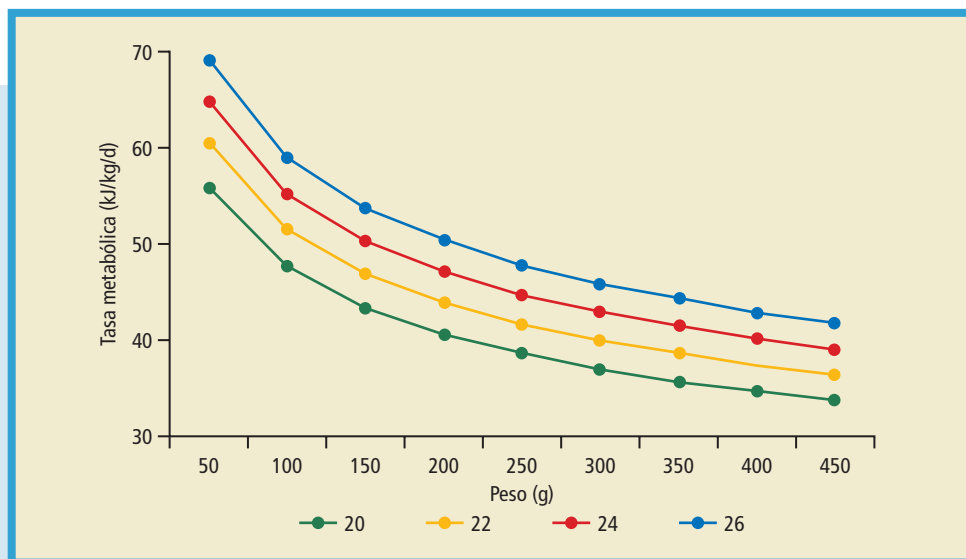


FIGURA 8.

Tasa metabólica de la dorada de diferentes pesos en condiciones de ayuno (elaboración propia a partir de Lemarie *et al.*, 1992).



La estimación de las necesidades de mantenimiento en condiciones de ayuno estaría subvalorada, pues no consideran la eficiencia de transformación de los alimentos en sustratos metabólicos, es decir el incremento de calor correspondiente, por lo que el método más adecuado para valorarlas consiste en determinar directamente la ingestión de energía que mantiene el peso de los peces, sin pérdida ni ganancia, como han propuesto Médale y Guillaume (2004).

En primer lugar, es necesario considerar el concepto del «peso metabólico», pues la ganancia o pérdida de proteína o energía en los peces no se relaciona directamente con el peso del pez, sino con el peso en kilogramos elevado a un exponente, que se conoce en nutrición animal como peso metabólico. Los valores del peso metabólico de la energía han sido estimados para algunas especies, 0,82 en trucha (Cho y Bureau, 1998), 0,79 y 0,82 en lubina y dorada respectivamente (Lupatsch *et al.*, 2003a,b).

Para determinar la ingestión de energía que mantiene el peso de los peces, sin pérdidas ni ganancia, es necesario ensayar diferentes niveles de alimentación en lotes de peces y establecer la relación matemática entre energía ingerida y energía retenida, siempre referida a peso metabólico. Generalmente se obtiene una relación lineal, de forma que el punto de corte con la energía retenida nula indica las necesidades de mantenimiento (Figura 9).

Las necesidades energéticas de mantenimiento (NEm) han sido determinadas en dorada y lubina por Lupatsch *et al.* (2001a,b; 2003a,b) siguiendo este sistema, habiendo obtenido un modelo de regresión múltiple para estimar dichas necesidades en función de la temperatura (T) y el peso (P):

$$\text{Dorada: NEm} = 16,6 e^{0,055T} P^{0,82} \text{ (kJ/pez/d)}$$

$$\text{Lubina: NEm} = 17,4 e^{0,047T} P^{0,79} \text{ (kJ/pez/d)}$$

Asimismo, estos autores han determinado las pérdidas de energía en condiciones de ayuno (PEAy) para dorada y lubina, en función del peso (P) y la temperatura (T) usando regresiones exponenciales, que resultan efectivamente menores que las anteriores necesidades de mantenimiento, pues la obtención de energía a partir de los tejidos corporales es más eficiente que a partir del alimento, debido a las pérdidas por incremento calórico asociadas a la ingestión:

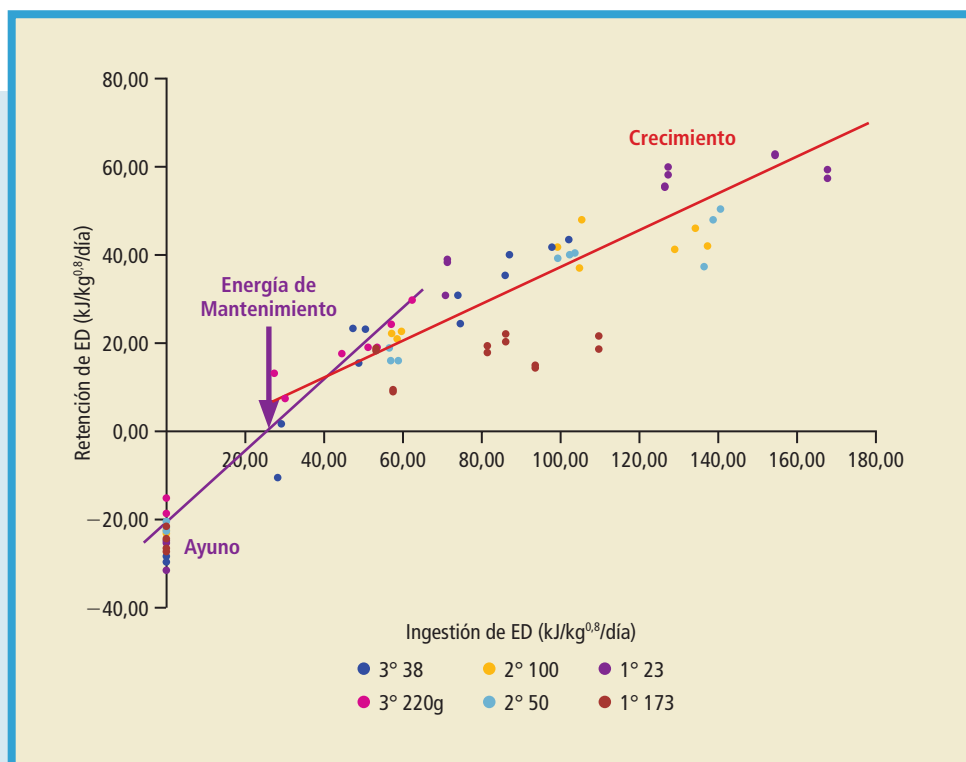


FIGURA 9.

Eficiencia en la retención de la energía ingerida por la dorada (Jauralde y Jover, datos sin publicar).

$$\text{Dorada: PEAy} = 11,6 e^{0,055T} p^{0,82} \text{ (kJ/pez/d)}$$

$$\text{Lubina: PEAy} = 12,2 e^{0,047T} p^{0,79} \text{ (kJ/pez/d)}$$

En la Figura 10 se han representado las necesidades energéticas de mantenimiento estimadas mediante la metodología de Lupatsch *et al.* (2003a) para la dorada, en la que se constata que las necesidades de energía para mantenimiento son mayores cuando aumenta la temperatura del agua, debido al incremento general del metabolismo, y menores al aumentar el peso de los peces.

En el rodaballo no existen estudios energéticos completos, pues únicamente Bromley (1980) estimó las necesidades energéticas de mantenimiento de alevines de 2.5 g determinando la ingestión de

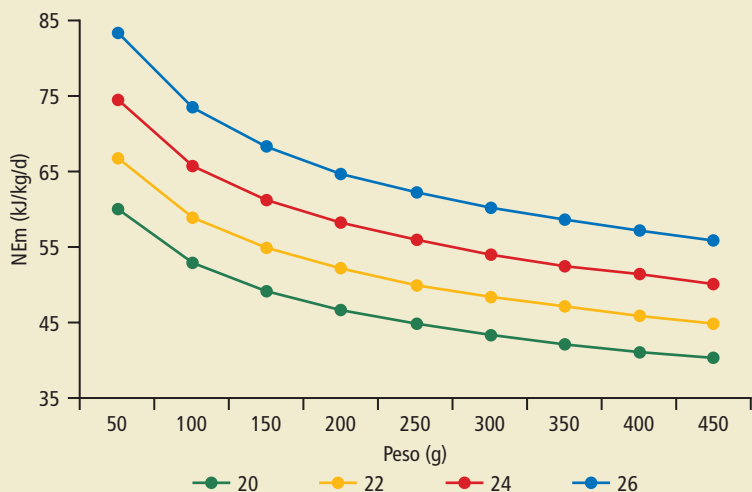


FIGURA 10.

Necesidades de energía para mantenimiento de la dorada de diferentes pesos y temperatura (elaboración propia a partir de Lupatsch *et al.*, 2003a).

energía que no produce ni ganancia ni pérdida de peso, siendo de 84 kJ/kg/d.

2.10. ENERGÍA PARA CRECIMIENTO: RETENCIÓN DE ENERGÍA CORPORAL Y EFICIENCIA

Para estimar las necesidades energéticas de crecimiento de los peces es necesario considerar la energía depositada en forma de crecimiento de los tejidos corporales, es decir la energía retenida, y su eficiencia respecto a la energía digestible ingerida, que se determina como la pendiente de la recta en el tramo de crecimiento (Figura 8).

En primer lugar, la estimación del crecimiento requiere disponer de un modelo contrastado que considere el efecto de la temperatura.

Cho y Bureau (1998) y Kaushik (1998) proponen el empleo del denominado «coeficiente térmico de crecimiento» (CTC):

$$CTC = (\text{Peso final}^{1/3} - \text{Peso inicial}^{1/3}) / \text{Suma grados-día}$$



Conocido el CTC de una especie en unas condiciones determinadas, se puede calcular el peso final de los peces para un periodo determinado calculando la suma de grados efectivos-día esperados:

$$\text{Peso final} = [(\text{CTC} \times \text{Suma grados-día}) + \text{Peso inicial}^{1/3}]^3$$

Kaushik (1998) propone unos valores medios para diferentes especies (Cuadro 14), pero Mayer *et al.* (2005) han obtenido valores de $\text{CTC} = 0,00172$ para la dorada en el litoral del Levante mediterráneo considerando la temperatura efectiva de crecimiento ($>12^\circ\text{C}$). Conociendo el valor del CTC, se puede estimar el peso final de los peces en función de la suma de temperaturas en el periodo considerado.

CUADRO 14.

Valores del coeficiente térmico de crecimiento (CTC)
para diferentes especies (Kaushik, 1998).

Especie	CTC ($\times 10^{-3}$)	Rango ($\times 10^{-3}$)
Trucha arcoiris	1,62	1,52 – 1,73
Salmón atlántico	1,95	1,60 – 2,02
Rodaballo	0,99	0,68 – 1,19
Lubina	0,667	0,56 – 0,86
Dorada	0,869	0,66 – 1,00

Asimismo, Lupatsch *et al.* (2003 a,b) han propuesto unos modelos exponenciales para la ganancia de peso (GP) en la dorada y lubina, en función de la temperatura (T) y el peso (P), válidos para un rango de temperaturas de entre 20 y 25 $^\circ\text{C}$:

$$\text{Dorada: GP (g/pez/día)} = 0,0240 e^{0,060T} P^{0,514}$$

$$\text{Lubina: GP (g/pez/día)} = 0,0196 e^{0,065T} P^{0,517}$$

La energía corporal retenida ha sido determinada por Lupatsch *et al.* (2003b) en función del peso corporal (Cuadro 15).

Asimismo, Lupatsch *et al.* (1998) obtuvieron dos eficiencias de aprovechamiento de la energía en la dorada, una para mantenimiento en la zona de ayuno y otra para crecimiento, 0.72 y 0.46 respectivamente, pero posteriormente proponen un único valor de 0.67 (Lupatsch *et al.*, 2003a).



CUADRO 15.

Composición corporal de dorada y lubina (Lupatsch *et al.*, 2003b).

Especie	Dorada	Lubina
Proteína (g/Kg)	176	171
Lípidos (g/Kg)	43,3 P(g) ^{0,243}	173,8 P(kg) ^{0,177}
Energía (MJ/Kg)	4,66 P(g) ^{0,139}	10,68 P(kg) ^{0,098}

A partir del crecimiento y de la energía retenida esperados para cada tamaño, y de la eficiencia, es posible determinar la energía a ingerir, es decir las necesidades de energía para crecimiento.

No obstante, la energía puede ser retenida en forma de proteína o grasa corporal, cuyas eficiencias, kp y kl, son diferentes, por lo que las necesidades de crecimiento se podrían expresar como:

$$\text{NED crec} = [\text{E proteica retenida (kJ/kg}^{0,8}\text{/d)} / \text{kp} + \text{E lipídica retenida (kJ/kg}^{0,8}\text{/d)} / \text{kl}]$$

Lupatsch *et al.*, (2003a) han estimado los coeficientes globales de eficacia para dorada y lubina, y los correspondientes a proteína y lípidos (Cuadro 16).

CUADRO 16.

Estimación de los coeficientes de eficacia energética en diferentes especies (Lupatsch *et al.*, 2003b).

Especie	K	Kp	Kl
Lubina	0,69	0,53	0,90
Dorada	0,66	0,53	0,76

Siguiendo el modelo factorial desarrollado por Lupatsch *et al.* (2003 a,b) se han estimado las necesidades energéticas para doradas de diferentes tamaños en dos condiciones de temperatura (Cuadro 17), en la que se puede comprobar como la energía necesaria por pez y día aumenta con el tamaño de los peces, pero disminuye al expresarla por kilogramo de peces. Asimismo, las necesidades son mayores a medida que aumenta la temperatura debido a las mayores necesidades de mantenimiento y el mayor crecimiento.

Siguiendo esta metodología se han calculado las necesidades totales de energía para la dorada de diferentes pesos a distintas temperaturas (Figura 11).



CUADRO 17.

Estimación de las necesidades energéticas de la dorada
(Elaboración propia a partir de Lupatsch *et al.*, 2003a,b).

Temperatura °(°C)	20			25		
Peso de la dorada (g)	25	75	250	25	75	250
Crecimiento diario (g/pez/día)	0,417	0,733	1,361	0,563	0,990	1,837
Energía Mantenimiento (kJ/pez/día)	2,422	5,962	16,001	3,188	7,849	21,066
Energía Crecimiento (kJ/pez/día)	4,535	9,292	20,395	6,121	12,542	27,531
Necesidades Energía (kJ/pez/día)	6,956	15,253	36,396	9,309	20,391	48,596
Necesidades Energía (kJ/kg/día)	278,3	203,4	145,6	372,4	271,9	194,4

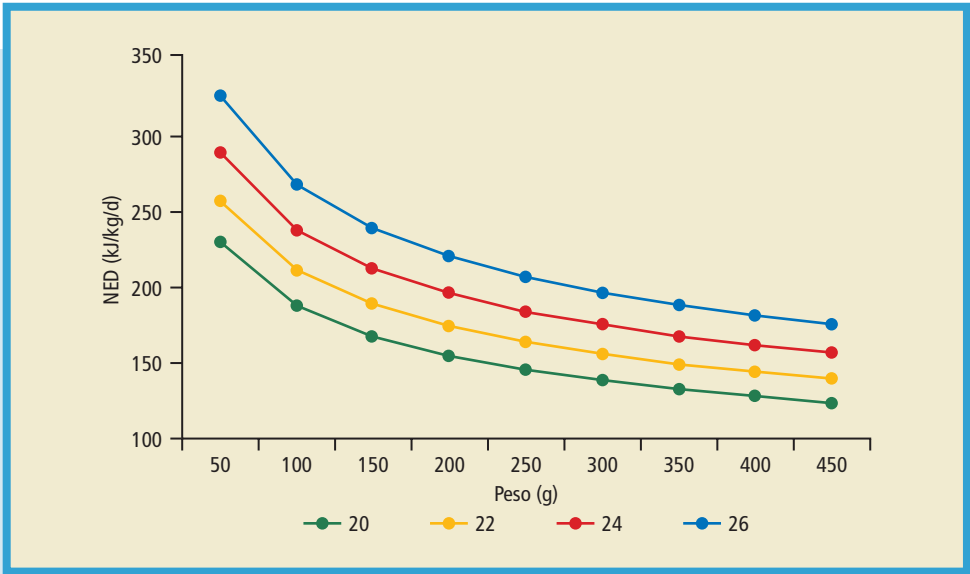


FIGURA 11.

Necesidades de energía para crecimiento de la dorada de diferentes pesos y temperatura (elaboración propia a partir de Lupatsch *et al.*, 2003a,b).

En el caso de los salmónidos, además del modelo bioenergético inicial propuesto por Cho y Bureau (1998), Rodehutschord y Pfeffer (1999) han estimado las necesidades energéticas de la trucha empleando un método de regresión múltiple a partir de datos de diversos experimentos de crecimiento con piensos que contenían diversos niveles de ener-



gía digestible, y temperaturas de entre 12 y 17 °C, encontrando un efecto del nivel lipídico (NL) de los piensos:

$$\text{NED (kJ/d)} = 1,31 \text{ P (g)} 0,43 + \text{ER (kJ/d)} / [0,66(1 + 0,000652\text{NL(g/kg)})]$$

Estos autores proponen otro modelo en el que consideran la diferente proporción de energía retenida como proteína y grasa, considerando una eficiencia de retención de la energía lipídica de 0,90:

$$\text{NED (kJ/d)} = 1,37 \text{ P (g)} 0,43 + \text{ERp (kJ/d)} / 0,54 + \text{ERI (kJ/d)} / 0,90$$

Asimismo, Ballestrazzi y Rainis (2000) estudiaron el crecimiento y eficacia nutritiva en lubinas con tasas de alimentación crecientes incluyendo ayuno, pero no calcularon las necesidades de mantenimiento ni de crecimiento. Storebakken *et al.* (1991) tampoco lo hicieron en truchas, pero Kaushik y Médale (1994) las recalcularon posteriormente en 270-320 kJ/kg/día.

2.11. FORMULACIÓN DE PIENSOS: TASA DE INGESTIÓN E ÍNDICE DE CONVERSIÓN ECONÓMICO

A partir de las necesidades totales de energía para cada peso y temperatura, y fijando un determinado nivel energético (18, 20 y 22 kJ/g por ejemplo), es posible establecer la cantidad de pienso que deben ingerir los peces para satisfacer tales necesidades energéticas (Cuadros 18 y 19), es decir se puede estimar la tasa de alimentación diaria óptima.

Si se calculan las necesidades de proteína (para cada uno de los tres niveles de energía) siguiendo el mismo método, es posible determinar el contenido proteico del pienso para que ingiriendo la tasa de alimentación se cubran tales necesidades. A partir de la ingestión diaria de cada pienso y el crecimiento diario (exactamente igual para los tres piensos) se puede determinar el índice de conversión esperado.

Puede comprobarse que para cada situación de peso y temperatura pueden diseñarse diversos piensos que hagan crecer a los peces de igual manera, pero en función del contenido energético se obtiene una tasa de alimentación distinta que origina un distinto índice de conversión, menor a medida que aumenta la energía del pienso.

**CUADRO 18.**

Diseño de piensos óptimos para la dorada en base a las necesidades energéticas y proteicas a 20 °C (Elaboración propia a partir de Lupatsch *et al.*, 2003a,b).

Peso dorada (g)	25			75			250		
Necesidades Energía (kJ/kg/día)	278,3			203,4			145,6		
Crecimiento (g/kg/d)	16,7			9,8			5,4		
Energía pienso (kJ/g)	18	20	22	18	20	22	18	20	22
Ingestión pienso (g/kg/d)	15,5	13,9	12,6	11,3	10,2	9,2	8,1	7,3	6,6
Necesidades Proteína (g/kg/d)	8,1			5,0			3,0		
Nivel proteico pienso (g/Kg)	525	583	642	443	493	542	368	409	450
Relación proteína / energía (g/MJ)	29,2	29,2	29,2	24,6	24,6	24,6	20,5	20,5	20,5
ICA esperado	0,93	0,83	0,76	1,16	1,04	0,95	1,49	1,34	1,22

CUADRO 19.

Diseño de piensos óptimos para la dorada en base a las necesidades energéticas y proteicas a 25 °C (Elaboración propia a partir de Lupatsch *et al.*, 2003a,b).

Peso dorada (g)	25			75			250		
Necesidades Energía (kJ/kg/día)	372,4			271,9			194,4		
Crecimiento (g/kg/d)	22,5			13,2			7,3		
Energía pienso (kJ/g)	18	20	22	18	20	22	18	20	22
Ingestión pienso (g/kg/d)	20,7	18,6	16,9	15,1	13,6	12,4	10,8	9,7	8,8
Necesidades Proteína (g/kg/d)	10,3			6,3			3,7		
Nivel proteico pienso (g/Kg)	498	553	609	416	463	509	342	380	418
Relación proteína / energía (g/MJ)	27,7	27,7	27,7	23,1	23,1	23,1	19,0	19,0	19,0
ICA esperado	0,92	0,83	0,75	1,14	1,03	0,94	1,47	1,32	1,20

A la vista de los Cuadros 18 y 19, se deduce la conveniencia de disponer de diferentes piensos a lo largo del ciclo de producción, tanto en función del peso de los peces, como de las temperaturas del agua, pues una misma dorada de 250 g requiere un pienso con una relación proteína/energía de 20 g/MJ a 20 °C y de 19 g/MJ a 25 °C. Esto supone una complicación logística evidente, pero también una mejora en la eficiencia que habría que valorar.

Para determinar el pienso óptimo en cada situación es necesario calcular el precio del pienso, y determinar el índice de conversión económico, pero para ello hay que formular los piensos.



Una vez determinados los niveles de proteína y energía hay que pasar a la fase de formulación del pienso, que consiste en establecer las cantidades de un conjunto de ingredientes cuya mezcla consiga los niveles de los nutrientes requeridos.

Para conseguir altos niveles de energía en el pienso hay que emplear elevados niveles de lípidos y para alcanzar altos niveles de proteína hay que emplear elevados niveles de ingredientes proteicos. La adecuada formulación de piensos para peces, requiere un amplio conocimiento de los niveles máximos de inclusión de diferentes fuentes proteicas y lipídicas alternativas a la harina y aceite de pescado, asunto sobre el que se han publicado numerosos trabajos durante los últimos años, algunos de los cuales incluyen la componente económica y de análisis sensorial de la carne del pescado al alcanzar el peso comercial (Martínez-Llorens *et al.*, 2007 a,b).

En el Cuadro 20 se presentan varias una alternativa de formulación para los piensos de doradas de 250 g a 25 °C obtenidos en el Cuadro 19.

En el Cuadro 21 se ha calculado el coste de los piensos anteriores considerando el precio unitario de los diferentes ingredientes, pudiéndose comprobar el incremento del mismo a medida que aumenta el

CUADRO 20.

Formulación de piensos con diferente contenido energético para doradas de 250 g a 25 °C (Elaboración propia).

Ingrediente (g/kg)	34/18	38/20	42/22
Harina pescado	402	461	426
Gluten trigo	0	0	180
Torta soja	200	250	100
Trigo	236	57	0
Aceite de pescado	76	111	142
Aceite de soja	76	111	142
Mezcla Vit-Min	10	10	10
Proteína digestible (g/kg)	342	380	418
Energía digestible (MJ/kg)	18	20	22
Relación proteína / energía (g/MJ)	19,0	19,0	19,0
Lípidos (%)	19,8	26,9	32,7
Carbohidratos (%)	25,7	14,4	7,0



contenido energético del pienso. El menor índice de conversión de los piensos más energéticos no es suficiente para compensar su mayor precio, por lo que el mejor índice de conversión económico se obtiene para los piensos con menor contenido en energía, en este caso con 18 MJ/kg. Evidentemente, la variación de los precios de las materias primas puede hacer variar el índice de conversión económico.

CUADRO 21.

Resultados económicos de la alimentación de doradas de 250 g a 25 °C con piensos de diferente contenido energético (Elaboración propia).

Ingrediente (g/kg)	34/18	38/20	42/22
Precio (€/kg pienso)	0,715	0,799	0,884
Índice Conversión	1,47	1,32	1,20
Índice Conversión Económico (€/kg pez)	1,051	1,057	1,063

No obstante, la utilización de piensos con bajo nivel energético, 18 MJ/kg, cuya tasa de alimentación diaria es mayor, obliga a tener que gastar una mayor cantidad de pienso, un 11 % más respecto del pienso con 20 MJ/kg, o un 23 % más respecto al 22 MJ/kg, lo que supondría una mayor necesidad de personal y tiempo en la distribución del alimento.

2.12. RESUMEN Y CONCLUSIONES

La correcta determinación de las necesidades energéticas (y también proteicas) de los piensos acuícolas es fundamental para optimizar la alimentación de los peces, reducir los costes de producción y obtener un producto final de calidad.

Para ello es necesario determinar las necesidades de mantenimiento, que dependen de la temperatura del agua, y las necesidades de crecimiento en función de la velocidad de crecimiento de los peces, y por tanto de la temperatura, y de la composición corporal. En la actualidad, únicamente se han estudiado en profundidad las necesidades energéticas de la dorada, pero en condiciones de laboratorio y con temperaturas superiores a 20 °C, por lo que sería muy interesante



determinar las necesidades a temperaturas inferiores, y profundizar en las necesidades de crecimiento en condiciones de producción, tanto de la dorada como de otras especies de interés, como lubina y corvina.

El establecimiento de las necesidades energéticas se basa, por una parte en la estimación del aumento de peso, por lo que la mejora de los modelos de crecimiento es importante para estimar el crecimiento de los distintos lotes, y por otra en la composición corporal, lo que obliga a considerar y limitar los depósitos grasos en los peces para mejorar la calidad y reducir el coste del alimento.

Una vez determinadas las necesidades energéticas (y proteicas), hay que diseñar los piensos con unos niveles óptimos de nutrientes, y después formularlos, para lo cual es importante conocer los máximos niveles de sustitución de los diferentes ingredientes proteicos y lipídicos, y considerar su precio para establecer los óptimos niveles de inclusión.

BIBLIOGRAFÍA

- AZEVEDO, P.A., CHO, C.Y., LEESON S., and D.P. BUREAU. 1998. Effects of feeding level and water temperature on growth, nutrient and energy utilization and waste outputs of rainbow trout (*Onchorhynchus mikiss*). *Aquar. Living Resor.* 11: 227-238.
- AZEVEDO, P.A., LEESON, S., CHO, C.Y., and D.P. BUREAU. 2004. Growth and feed utilization of large rainbow trout (*Onchorhynchus mikiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared in freshwater: diet and species effectys, and responses over time. *Aquaculture Nutrition* 10: 401-411.
- BAILEY, J., and A. ALANĂRĂ. 2006. Digestible energy need (DEN) of selected farmed fish species. *Aquaculture* 251: 438-455.
- BALLESTRAZZI, R., and D. LANARI. 1996. Growth, body composition and nutrient retention efficiency of growing sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 139: 101-108.
- BALLESTRAZZI, R., and S. RAINIS. 2000. Prestazione produttiva di branzino (*Dicentrarchus labrax*) allevato a regimi termici diversi. *Rivista Italiana di Acquacoltura* 35: 147-164.
- BOUJARD, T., GÉLINEAU, A., COVÈS, D., CORRAZE, G., DUTTO G., GASSET, E., and S. KAUSHIK. 2004. Regulation of feed intake, growth, nutrient and energy utilization in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed high fat diets. *Aquaculture* 231: 529-545.



- BROMLEY, P.J. 1980. Effect of dietary protein, lipid and energy content on the growth of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture* 19: 359-369.
- CHO, Y. 1987. La energía en la nutrición de los peces, pp 197-236 en *Nutrición en Acuicultura* (Tomo II), editado por J. Espinosa de los Monteros y U. Labarta. CAYCIT, Madrid.
- CHO, C.Y., and D. BUREAU. 1998. Development of bioenergetic models and the Fish-PrFEQ software to estimate production, feeding ration and waste output in aquaculture. *Aquatic Living Resources* 11: 199-210.
- CHO, Y., and S. KAUSHIK. 1990. Nutritional energetics in fish: energy and protein utilization in rainbow trout (*Onchorhynchus mikiss*). *World Review of Nutrition and Dietetics* 61: 132-172.
- CHO, S.H., LEE, S.M., LEE, S.M., and J.H. LEE. 2005. Effect of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) reared under optimum salinity and temperature conditions. *Aquaculture Nutrition* 11: 225-240.
- DOSDAT, A., SERVAIS, F., MÉTAILLER, R., HUELVAN, C., and F. DESBRUYÈRES. 1996. Comparison of nitrogenous losses in five teleost fish species. *Aquaculture* 141: 107-127.
- EINEN, O., and A.J. ROEM. 1997. Dietary protein/energy ratios for Atlantic salmon in relation to fish size: growth, feed utilization and slaughter quality. *Aquaculture Nutrition* 3: 115-126.
- EKMANN, K.S., HOLM, J., and P.B. PEDERSEN. 2002. Dietary lipid level for gilthead sea bream. Effects on apparent digestibility, growth, protein retention and proximate composition. 10th International Symposium on Nutrition and Feeding in Fish, Rhodes, Greece, June 2002.
- FERNÁNDEZ F., MIQUEL A.G., GUINEA, J., and R. MARTÍNEZ. 1998. Digestion and digestibility in gilthead sea bream (*Sparus aurata*): the effect of diet composition and ration size. *Aquaculture*, 166: 67-84.
- FOURNIER, V., HUELVAN C., and E. DESBRUYERES. 2004. Incorporation of a mixture of plant feedstuffs as substitute for fish meal in diets of juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture* 236: 451-465.
- GÓMEZ, J.A. 2006. Contribución al estudio de estrategias de alimentación en dorada. (*Sparus aurata*). Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- GRENN, J.A., HARDY, R.W., and E.L. BRANNON. 2002. Effects of dietary phosphorous and lipid level on utilization and excretion of phosphorous and nitrogen by rainbow trout (*Onchorhynchus mikiss*). 1. Laboratory-scale study. *Aquaculture Nutrition* 8: 279-290.
- GRIGORAKIS K., and M.N. ALEXIS. 2005. Effects of fasting on the meat quality and fat deposition of commercial-size farmed gilthead sea bream



- (*Sparus aurata*) fed different dietary regimes. *Aquaculture Nutrition* 11: 341-344.
- GUINEA, J., and F. FERNÁNDEZ. 1997. Effect of feeding frequency, feeding level and temperature on energy metabolism in *Sparus aurata*. *Aquaculture* 148: 125-142.
- HILLESTAD, M., JOHSEN, F., AUSTRENG, E., and T. ÅSGARD. 1998. Long-term effects of dietary fat level and feeding rate on growth, feed utilization and carcass quality of Atlantic salmon. *Aquaculture Nutrition* 4: 89-97.
- JAUVALDE I., TOMAS A., MARTÍNEZ S., ESPERT J., MOLINO A., and M. JOVER. 2006. Energy and protein requirements of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). XII International Symposium on Fish Nutrition and Feeding. Biarritz (Francia). Book of Abstracts: 238.
- JOVER M., GÓMEZ J., ASTURIANO J., PÉREZ L., y A. TOMAS. 2003a. Análisis crítico de las tasas de alimentación de piensos comerciales en dorada. IX Congreso Nacional de Acuicultura. Cádiz. Libro de Resúmenes 492.
- JOVER M., MARTÍNEZ J., MOÑINO A., GÓMEZ J.A., MARTÍNEZ S., VILLAPLANA J., ASTURIANO J. y L. PÉREZ. 2003b. Análisis económico del crecimiento de la dorada en jaulas marinas con diferentes tasas de alimentación. IX Congreso Nacional de Acuicultura. Cádiz. Libro de Resúmenes 496-497.
- KAUSHIK, S.J. 1998. Nutritional bioenergetics and estimation of waste production in non-salmonids. *Aquatic Living Resources* 11: 211-217.
- KAUSHIK, S.J., and F. MEDALE. 1994. Energy requirements, utilizations and dietary supply to salmonids. *Aquaculture* 124: 81-97.
- LANARI, D., and E. DÍ AGARO. 2000. Influence of dietary energy content on the voluntary feed intake of sea bass (*Dicentrarchus labrax*). III Workshop of the COST 827 Action of Voluntary Feed Intake by Fish. Maratea, Potenza (Italy), June 2000.
- LANARI, D., DÍ AGARO, E., and R. BALLESTRAZZI. 1995. Effect of dietary DP/DE ratio on apparent digestibility, growth and nitrogen and phosphorous retention in rainbow trout, *Onchorhynchus mikiss*. *Aquaculture Nutrition* 1: 105-110.
- LANARI, D., POLI, B.M., BALLESTRAZZI, R., LUPI, P., DÍ AGARO, E., and M. MECCATI. 1999. The effects of dietary fat and NFE levels on growing European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Growth rate, body and fillet composition, carcass traits and nutrient retention efficiency. *Aquaculture* 179: 351-364.
- LEE, J.K., CHO, S.H., PARK, S.U., KIM, K.D., and S.M. LEE. 2003. Dietary protein requirements for young turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture Nutrition* 9: 283-286.
- LEMARIE, G., GASSET, E., CAM, D., and LA FONCHAIS. 1992. Modelisation de la consommation en oxygene du loup (*Dicentrarchus labrax*) et de la daurade (*Sparus aurata*). *Ichthyophysiological Acta* 15: 55-69.



- LUPATSCH, I., KISSIL, G.W.M., SKLAN, D., and E. PFEFFER. 1997. Apparent digestibility coefficients of feed ingredients and their predictability in compound diets for gilthead sea bream, *Sparus aurata*. Aquaculture Nutrition 3: 81-89.
- LUPATSCH, I., KISSIL, G.W.M., SKLAN, D., and E. PFEFFER. 1998. Energy and protein requirements for maintenance in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture Nutrition 4: 165-173.
- LUPATSCH, I., KISSIL, G.W.M., SKLAN, D., and E. PFEFFER. 2001a. Effects of varying dietary and energy supply on growth, body composition and protein utilization in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture Nutrition 7: 71-80.
- LUPATSCH, I., KISSIL, G.W.M., and D. SKLAN. 2001b. Optimization of feeding regimes for European sea bass *Dicentrarchus labrax*: a factorial approach. Aquaculture 202: 289-302.
- LUPATSCH, I., KISSIL, G.W.M., and D. SKLAN. 2003a. Defining energy and protein requirements of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) to optimize feeds and feeding regimes. The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh 55: 243-257.
- LUPATSCH, I., KISSIL, G.W.M., and D. SKLAN. 2003b. Comparison of energy and protein efficiency among three species gilthead sea bream (*Sparus aurata*), European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and white grouper (*Epinephelus aeneus*): energy expenditure for protein and lipid deposition. Aquaculture 225: 175-189.
- MAYER, P., ESTRUCH, V.D., y M. JOVER. 2005. Modelo descriptivo basado en la regresión cuantil para el análisis del crecimiento de la dorada (*Sparus aurata*) en jaulas marinas. X Congreso Nacional de Acuicultura. Gandía. Libro de Resúmenes 84-85.
- MARTÍNEZ-LLORENS, S., TOMÁS, A., MOÑINO, A., PLA, P., and M. JOVER. 2007a. Effects of dietary soybean oil concentration on growth, nutrient utilization and muscle fatty acids composition of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture Research 38: 76-81.
- MARTÍNEZ-LLORENS, S., MOÑINO, A.V., TOMÁS, A., PLA, M., and M. JOVER. 2007b. Soybean meal as partial dietary replacement for fish meal in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) diets: Effects on growth, nutritive efficiency and body composition. Aquaculture Research 38: 82-90.
- MÉDALE, F., and F. GUILLAUME. 2004. Nutrición energética, pp 89-11 en Nutrición y alimentación de peces y crustáceos editado por J. Guillaume, S. Kaushik, P. Bergot, R. Metailler. Mundi-Prensa, Madrid.
- MOÑINO, A., TOMÁS, A., FERNÁNDEZ, M., LÁZARO, R., PÉREZ, L., ESPINÓS, F.J., TIANA, A., and M. JOVER. 2002. Estudio del crecimiento, del aprovechamiento nutritivo y de la productividad económica de la dorada *Sparus aurata*, alimentada



- con piensos comerciales de diferente contenido en proteína y lípidos. Boletín Instituto Español de Oceanografía 18: 275-280.
- N.R.C. 1993. Nutrient requirements of fish. Ed. National Academy Press, Washington.
- PERES, H., and A. OLIVA-TELES. 1999. Effect of dietary lipid levels on growth performance and feed utilization by European sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture 179: 325-334.
- REQUENA, A., FERNÁNDEZ-BORRAS, J., and J. PLANAS. 1997. The effects of a temperature rise on oxygen consumption and energy budget in gilthead sea bream. Aquaculture International 5: 415-426.
- RODEHUTSCORD, M., and R. PFEFFER. 1999. Maintenance requirements for digestible energy and efficiency of utilisation of digestible energy for retention in rainbow trout, *Onchorhynchus mikiss*. Aquaculture 179: 95-107.
- SAETHER, B.S., and M. JOBLING. 2001. Fat content in turbot feed: influence on feed intake, growth and body composition. Aquaculture Nutrition 32: 451-458.
- SANTINHA, P.J.M., G., GOMES, E.F.S., and J.O. COIMBRA. 1996. Effects of protein level of the diet on digestibility and growth of gilthead sea bream, *Sparus aurata*. Aquaculture Nutrition 2: 81-87.
- SANTINHA, P.J.M., MEDALE, F., CORRAZE, G., and E.F.S. GOMES. 1999. Effects of the dietary protein : lipid ratio on growth and nutrient utilization in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture Nutrition 5: 147-156.
- SHEARER, K.D. 2000. Experimental design, statistical analysis and modelling of dietary nutrient requirement studies for fish: a critical review. Aquaculture Nutrition 6: 91-102.
- STOREBAKKEN, T., HUNG, S.S.O., CALVERT, C.C., and E.M. PLISETSKAYA. 1991. Nutrient partitioning in rainbow trout at different feeding rates. Aquaculture 96: 191-203.
- VELÁQUEZ, M., ZAMORA S., and F.J. MARTÍNEZ. 2006. Effect of dietary energy on gilthead sea bream (*Sparus aurata*) feeding behaviour and nutritional use of the diet. Aquaculture Nutrition 12: 127-133.
- VERGARA, J.M., LÓPEZ-CALERO, G., ROBAINA, L., CABALLERO, M.J., MONTERO, D., IZQUIERDO, M., and A. AKSNES. 1999. Growth, feed utilization and body lipid content of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fed increasing lipid levels and fish meal of different quality. Aquaculture 179: 35-44.
- WATANABE, K., HARA, Y., URA, K., YADA, T., KIRON, V., SATOH, S., and T. WATANABE. 2000. Energy and protein requirements for maximum growth and maintenance of bodyweight of yellowtail. Fisheries Science 66: 884-893.

3

PROTEÍNAS EN DIETAS PARA PECES



PROTEÍNAS EN DIETAS PARA PECES

L. Robaina y D. Schuchardt

Grupo de Investigación en Acuicultura
(ICCM-ULPGC)

3.1. INTRODUCCIÓN

Las estimaciones de crecimiento de la acuicultura en los últimos años (Basurco y Abellán, 1999; FAO, 2002; Miranda-Avalos, 2003; FAO, 2004), vienen quedando en su mayoría por debajo de los valores reales observados, manteniendo un ritmo de crecimiento anual por encima del 9 % en las últimas décadas y representando en la actualidad más del 30 % de la producción total de peces, crustáceos y moluscos. Si se considera únicamente el pescado para el consumo humano, la acuicultura adquiere una mayor importancia ya que para el año 2030 probablemente menos de la mitad del pescado consumido procederá de capturas de pesca (Europa Azul, 2000; FAO, 2004), siendo necesarios 40 mil toneladas más para mantener el consumo per cápita necesario (FAO, 2005). Este potencial de desarrollo de la acuicultura como medio de producción de proteína de elevada calidad enfrenta a esta actividad a grandes desafíos: mayores producciones con menores costos, optimización del uso de los recursos y conservación del medio ambiente. La expansión rápida de la acuicultura debe alcanzarse mediante un modelo de acuicultura que aplique principios ecológicos y utilice una planificación racional que permita ampliar su impacto social y económico.

En acuicultura, la mayoría de las especies cultivadas en el mundo corresponden a especies omnívoras, ciprínidos y cíclidos, caracterizados por unas bajas necesidades de proteínas en su dieta; el cultivo de este tipo de especies tiene una gran tradición en países de África y Asia representando una importante fuente de proteínas de alta calidad para una gran parte de la población. Por el contrario, en la mayor parte de

los países desarrollados la acuicultura se caracteriza por la producción de especies mayoritariamente carnívoras con necesidades proteicas elevadas, por encima del 35-40 % de la dieta.

Las dietas usadas en la producción de peces contienen proporciones de proteína altamente variables en cantidad y calidad dependiendo de las especies y condiciones de cultivo. Los ingredientes proteicos sufren una creciente demanda global aparejada a incrementos casi continuos de precio. En la actualidad el cultivo de peces carnívoros, crustáceos y en menor medida de peces omnívoros y herbívoros continua siendo dependiente del suministro de productos de las pesquerías, tanto en forma de harinas y aceites como directamente de peces enteros o descartes. La producción total estimada de piensos compuestos para acuicultura en el año 2004 estuvo en torno a los 22 mmT (Fig. 1. Adaptada de A. Tacon, comunicación personal).

Resulta importante por tanto considerar todas estas necesidades proteicas en el contexto de la relevancia de las mismas desde el punto de vista de la sostenibilidad de la acuicultura como factor económico emergente.

Mejoras relacionadas con la fisiología nutricional de las diferentes especies de cultivo y con las tecnologías de producción tanto de

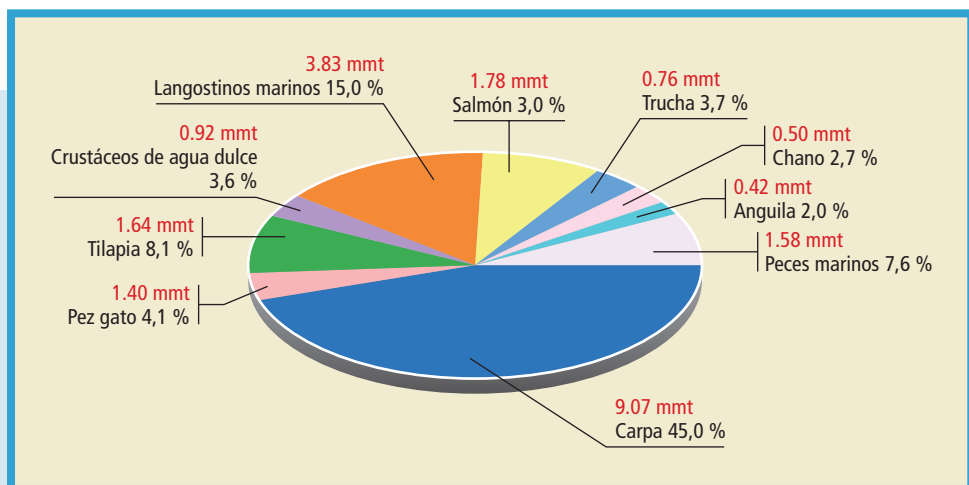


FIGURA 1.

Producción total estimada de piensos compuestos (22.3 mmT en peso seco) para las principales especies de cultivo en 2004. Adaptada de A. Tacon, Comunicación personal.



ingredientes como de piensos y peces, unido todo ello a aspectos socio-económicos, vienen forzando la utilización en las dietas de ingredientes alternativos más baratos, en algunos casos con mayor contenido proteico, y siempre orientados a un apropiado uso metabólico y energético de la proteína contenida en los mismos.

3.2. LAS PROTEÍNAS EN LOS PIENSOS PARA PECES: PRINCIPIOS BÁSICOS DE SU UTILIZACIÓN

Diferentes especies de peces difieren en su capacidad a la hora de digerir y utilizar distintos ingredientes proteicos; diferencias anatómicas y funcionales del tracto gastrointestinal y órganos asociados son los responsables de ello.

Los peces consumen proteínas para obtener aminoácidos. Cuando las proteínas son hidrolizadas el pez obtiene aminoácidos libres que son el producto final de la digestión de la proteína (NRC, 1993), los cuales son absorbidos del tracto gastrointestinal y distribuidos por la sangre a los diferentes órganos y tejidos donde son usados para la síntesis de nuevas proteínas. En los procesos de digestión y absorción de la proteína se requiere la producción de enzimas que regulan todo el proceso de digestión. Así pues, en el estómago, la pepsina gástrica permite que las proteínas se hidrolicen a polipéptidos, oligopéptidos y pequeñas fracciones de aminoácidos. El páncreas libera proteasas pancreáticas que permiten la obtención del 30 % de los oligopéptidos y el 70 % de los aminoácidos. Las células intestinales, mediante aminopeptidasas, catalizan la hidrólisis de péptidos que contienen un pequeño número de aminoácidos, los cuales se hidrolizarán en el citoplasma de la célula mediante la acción de peptidasas intracelulares. Para que éste proceso aporte el máximo rendimiento, tiene que haber una buena actividad hepática y pancreática así como digestiva. Los aminoácidos asimilados son transportados por el sistema circulatorio a los diferentes órganos y tejidos, y al hígado a través del sistema porta-hepático, donde serán usados para sintetizar nuevas proteínas; o pasarán al sistema sanguíneo donde se unirán a otros aminoácidos y por el catabolismo de tejidos se producirá energía para la síntesis de

proteína y otros compuestos nitrogenados; conjunto de reacciones metabólicas que conducen a la síntesis endógena de proteínas con actividad fisiológica y a la producción de energía (Halver, 1980; Murai *et al.*, 1987; Weatherley y Gill, 1987; Deurenberg y Schutz, 1995; Houlihan *et al.*, 2002). Los aminoácidos en exceso son degradados en grupos Keto-ácidos (esqueletos de carbono) y amonio. Los Keto-ácidos pueden ser posteriormente usados para la síntesis de lípidos (lipogénesis), carbohidratos (glucogénesis), y también de aminoácidos no esenciales (Weatherley y Gill, 1987; Hepher, 1988). El producto final del catabolismo de las proteínas, amonio principalmente, es eliminado por el pez a través de las branquias (60 %-90 %), siendo el resto excretado por la orina, heces fecales y a través de la piel (Walton, 1987). La siguiente figura resume las rutas metabólicas de los aminoácidos en los peces (Fig. 2).

Los peces precisan por tanto un aporte continuado de proteínas o aminoácidos que son utilizados en procesos de síntesis o degradación «turn-over proteico». El equilibrio dinámico de las proteínas

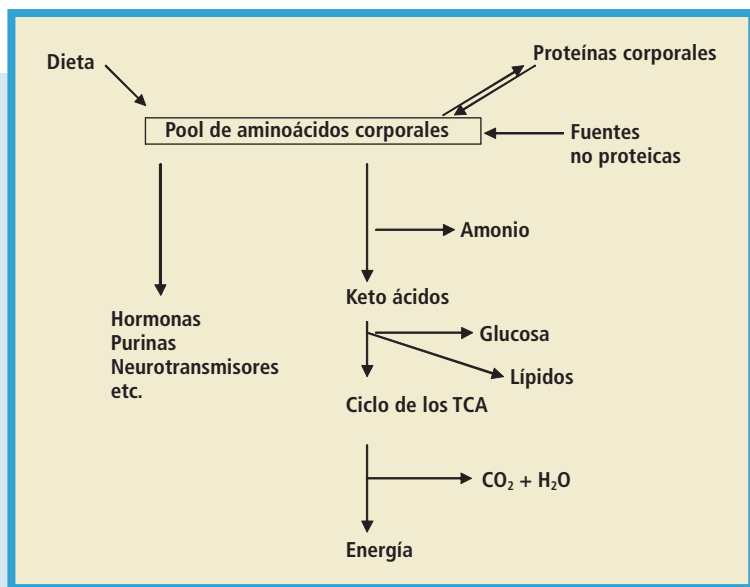


FIGURA 2.
Rutas del metabolismo de aminoácidos en peces.



corporales se logra mediante estos dos procesos, siendo la diferencia entre ellos utilizada para medir el ciclo de las proteínas. Estudios de síntesis de proteína en los peces demuestran que la cantidad de proteína sintetizada por tejidos no musculares es dos veces mayor que la sintetizada por el músculo (Fauconneau, 1985); según este mismo autor en el músculo del pez, que representa de un 40 % a 60 % del peso corporal, se lleva a cabo la mayor parte de la degradación proteica, con niveles bajos del ciclo de proteína comparada con los demás tejidos, como ocurre en los mamíferos aunque de forma menos acusada.

La mayor proporción de N y P de las dietas provienen de los ingredientes proteicos. Cuando se incrementa la proporción de proteína dietética por encima de las necesidades del organismo, se produce un aumento de las excreciones de nitrógeno al medio, incrementándose igualmente los requerimientos de oxígeno disuelto porque la eficiencia con la cual la energía es usada disminuye (Bureau *et al.*, 2003). De igual forma, las excreciones de fósforo al medio se ven afectadas por una pobre utilización de la proteína.

La toxicidad de los componentes nitrogenados excretados por los peces constituye unos de los factores más limitantes de la acuicultura intensiva, por lo que diferentes mecanismos encaminadas a la reducción de los mismos se han venido evaluando con mayor o menor éxito en las distintas especies: mejoras en el manejo del alimento y adaptación del mismo a hábitos horarios específicos, mejoras en la digestibilidad de los ingredientes, adaptaciones a las necesidades de proteína y energía según especies y condiciones de cultivo. En agua de mar el nitrógeno es más limitante para el crecimiento algal que el fósforo (Storebakken *et al.*, 1999). Actualmente, las dietas para la producción de trucha tamaño ración en agua dulce en Chile son formuladas con altos niveles de proteína y con 15 a 25 % de grasa, intentando obtener una baja excreción de fósforo para limitar la contaminación de los cuerpos de agua dulce; cuando las mismas especies son criadas en agua de mar para alcanzar más de 3 Kg de peso el contenido dietético de grasa puede exceder el 30 % y el rango de concentración de proteína variar de 35 a 40 % (A. Borquez, comunicación personal).



3.3. REQUERIMIENTOS CUANTITATIVOS Y CUALITATIVOS DE PROTEÍNAS Y AMINOÁCIDOS. FACTORES QUE AFECTAN AL REQUERIMIENTO

Las proteínas son el constituyente mayoritario de células y tejidos (65-75 % en peso seco), por tanto un continuo aporte de las mismas o de sus productos de hidrólisis, los aminoácidos, es necesario en las dietas bien para la generación de nuevas proteínas o para el reemplazo de las ya existentes. Una ingesta proteica inadecuada conlleva una reducción o cese del crecimiento y una pérdida de peso de los organismos, a consecuencia de la utilización de proteína de tejidos menos vitales para el mantenimiento de aquellos más vitales (Wilson, 2002). En caso contrario, un aporte excesivo de proteínas o la inclusión de proteínas inadecuadas en el pienso implica el que sólo una parte de la misma podrá ser utilizada en la generación de nuevas proteínas y el resto catabolizada para dar lugar a carbohidratos o grasas, o para producir energía (NRC, 1983; Wilson y Halver, 1986; Halver, 1989; Wilson, 1989). De esta forma cualquier desequilibrio, tanto cuantitativo como cualitativo, sobre las necesidades proteicas específicas supone un gasto energético extra necesario para el metabolismo del mismo. El exceso de proteína ingerida puede ser almacenada en los tejidos en forma de ácidos grasos o glucógeno, dependiendo del destino y estructura de la proteína (Houlihan *et al.*, 2002). La Tabla 1 muestra un resumen de resultados de requerimientos proteicos cuantitativos en diferentes especies de peces (en Schuchardt, 2005).

El nivel óptimo de proteína en la dietas para peces está influenciado por *diferentes factores*: la especie, calidad de la proteína (digestibilidad, perfil de aminoácidos, procesado), relación proteína/energía, estado fisiológico del pez (tamaño, edad, reproducción), parámetros ambientales (temperatura del agua, época del año, etc.), diferencias genéticas y nivel de ingesta de alimento (Jauncey y Ross, 1982; Cho *et al.*, 1985; NRC, 1993; Barletta, 2003). Mediante el ajuste de la dieta a todos estos factores se puede optimizar el uso de este macro-nutriente que afecta la economía de la producción (Barletta, 2003).

En relación al *tamaño del animal* es comúnmente aceptado que peces pequeños precisan un mayor aporte proteico para un máximo



TABLA 1.
Requerimientos cuantitativos de proteínas para diferentes especies de peces*.

Nombre común	Nombre científico	Fuente Proteica	(%) Proteína	Referencia
Anguila americana	Anguilla rostrata	Caseína	47	Tibbetts <i>et al.</i> , (1999),(2000)
			48,3	Tibbetts <i>et al.</i> , (1998)
Anguila japonesa	Anguilla japonica	Caseína y aminoácidos	44,5	Nose y Arai (1972)
Asian redtail catfish	Mystus nemurus		60	Eguia <i>et al.</i> , (2000)
Ayu	Plecoglossus altivelis altivelis	Harina de pescado blanco	37	Arai y Nose (1983)
Bacalao	Gadus morhua	Caseína	48-60	Lall y Nanton (2002)
Bacalao Japonés	Hexagrammos otakii		45	Lee y Lee (1996)
Barbo de java	Barbonymus gonionotus	Caseína, harina de pescado y harina de sangre	35	Wee y Ngamsnae (1987)
Bighead carp	Aristichthys nobilis	Harina de pescado	30	Corazón y Reyes (1991)
Black porgy	Sparus macrocephalus	Caseína	45	Xu <i>et al.</i> , (1991)
Blue tilapia	Oreochromis aureus	Caseína y albúmina de huevo	34	Winfree y Stickney (1981)
Brycon orbygnianus	Brycon orbygnianus	Caseína y harina de pescado	37,5	Fracalossi y Do Carmo e Sa (2001)
Cabrilla de roca	Paralabrax maculatofasciatus	Harina de pescado	45	Velez-Angua (2001)
		Harinas de pescado y harina de calamar	45	Alvarez-González <i>et al.</i> , (2001)
Carpa común	Cyprinus carpio	Caseína	31-38	Ogino y Saito (1970); Takeuchi <i>et al.</i> , (1979)
			35-45	Omar <i>et al.</i> , (1986)
			35-50	Ogino (1980)
Carpin	Carassius auratus	Harina de pescado y caseína	29	Lochmann y Phillips (1994)
Catla	Catla catla	Caseína	30-35	Seenappa y Devaraj (1995)
Chano	Chanos chanos	Caseína	40	Lim <i>et al.</i> , (1978)
			45-55	Wang (2000)
Cherne americano	Morone chrysops	Caseína y harina de pescado	41	Rudacille y Kohler (1998)
Chevron snakehead	Channa striata	Harina de pescado	40	Samantaray y Mohanty (1997)
Cobia	Rachycentron canadum	Caseína	37	Her <i>et al.</i> , (2001)
			44,5	Chou <i>et al.</i> , (2001)
Corvinón ocelado	Sciaenops ocellatus	Caseína y harina de pescado	35-44	Daniels y Robinson (1986)
			44	Thoman <i>et al.</i> , 1999
Dentón	Dentex dentex	Harina de pescado blanco	49,3	Tibaldi <i>et al.</i> , (1996)
			50	Cardenete <i>et al.</i> , (1999)
			54	Cardenete <i>et al.</i> , (1999)
Dorada	Sparus aurata	Caseína, concentrado de proteína de pescado	40	Sabaut y Luquet (1973)
		Harina de pescado	55	Vergara <i>et al.</i> , (1996a)
		Harina de pescado	40	Alliot y Pastoureaud (1984)
Eglefino	Melanogrammus aeglefinus	Harina de pescado y caseína	49,9	Kim <i>et al.</i> , (2001)



Nombre común	Nombre científico	Fuente Proteica	(%) Proteína	Referencia
			53,8	Kim y Lall (2001)
Gigant snakehead	Channa micropeltes	Harina de pescado	52	Wee y Tacon (1982)
Golden shiner	Notemigonus crysoleucas	Harina de pescado y caseína	29	Lochmann y Phillips (1994)
Híbrido de pez gato	Clarias macrocephalus x C. Gariepinus	Harina de pescado	40	Jantrarotai <i>et al.</i> , (1996); Giri <i>et al.</i> , (2003)
Heterobranchus bidorsalis	Heterobranchus bidorsalis	Harina de pescado y caseína	42,5	Eyo (1996)
			40	Fagbenro <i>et al.</i> , (1992)
Lenguado del pacífico	Paralichthys olivaceus	Harina de pescado blanco y caseína	46,4-51,2	Kim <i>et al.</i> , (2002)
			50	Lee <i>et al.</i> , (2000)
			60	Bai <i>et al.</i> , (2001)
			52,78	Zhang <i>et al.</i> , (1998)
Lenok	Brachymystax lenok	Harina de pescado blanco	43-44	Lee <i>et al.</i> , (2001)
Lubina	Dicentrarchus labrax	Harina de pescado y caseína	50	Alliot y Pastoureaud(1984)
Lubina estriada	Morone saxatilis	Harina de pescado y proteínas de soja	47	Millikin (1983)
Mero de pintas naranjas	Epinephelus coioides	Harina de pescado	40-50	Teng <i>et al.</i> , (1978)
Mero malabárico	Epinephelus malabaricus	Músculo de pescado	40	Teng <i>et al.</i> , (1978)
Mudfish	Clarias anguillaris	Harina de pescado y harina de sangre	40	Madu y Tumba (1989)
Murray cod	Maccullochella peelii	Harina de pescado	50	Gunasekera <i>et al.</i> , (2000)
Pámpano amarillo	Trachinotus carolinus	Harina de pescado blanco y caseína	45	Lazo <i>et al.</i> , (1998)
Pardete	Mugil cephalus	Caseína	26	El-Dahhar (2001)
		Caseína y harina de pescado desengrasada	24	Papaparaskeva-Papoutsoglou y Alexis (1986)
Pargo japonés	Pagrus major	Caseína	55	Yone (1976)
			52	Takeuchi <i>et al.</i> , (1991)
Perca americana	Micropterus salmoides	Caseína y concentrado de proteína de pescado	40	Anderson <i>et al.</i> , (1981)
			37	Brecka <i>et al.</i> , (1996)
			47	Tidwell <i>et al.</i> , (1996)
			39,9-40,8	Anderson <i>et al.</i> , (1981)
Perca gigante	Lates calcarifer	Harina de pescado	45-55	Wang (2000)
			40-45	Wong y Chou (1989)
Perca de río	Perca fluviatilis	Caseína	36,8-43,6	Fiogbe <i>et al.</i> , (1996)
Pez gato del canal	Ictalurus punctatus	Proteína de huevo entero	32-36	Garling y Wilson (1976)
Redlip mollet	Liza haematocheila	Caseína	40-45	Yoshimatsu <i>et al.</i> , (1992)
			35	Yoshimatsu <i>et al.</i> , (1992)
Redhead cichlid	Cichlasoma synspilum	Harina de pescado	40,81	Olvera-Novoa y Gasca-Leyva (1996)
Redbelly tilapia	Tilapia zillii	Caseína	35-40	Teshima <i>et al.</i> , (1978)



Nombre común	Nombre científico	Fuente Proteica	(%) Proteína	Referencia
		Caseína	35	Mazid <i>et al.</i> , (1979)
Rock bream	Oplegnathus fasciatus	Caseína	45	Ikeda <i>et al.</i> , (1988)
Rodaballo	Scophthalmus maximus		69,8	Caceres-Martinez <i>et al.</i> , (1984)
			42	Bromley (1980)
Rohu	Labeo rohita	Caseína	38	Mazid <i>et al.</i> , (1987)
Sábalo americano	Alosa sapidissima	Caseína	40-50	Murai <i>et al.</i> , (1979)
Salmón	Salmo salar	Caseína y gelatina	45	Lall y Bishop (1977)
Salmón chinock	Oncorhynchus tshawytscha	Caseína, gelatina y aminoácidos	40	De Long <i>et al.</i> , (1958)
			46	Silver <i>et al.</i> , (1993)
			37-40	Fagbenro <i>et al.</i> , (1992)
Salmón chum	Oncorhynchus keta	Caseína	40	Zeitoun <i>et al.</i> , (1974)
			38-43	Akiyama <i>et al.</i> , (1981)
Salmón rojo	Oncorhynchus nerka	Caseína, gelatina y aminoácidos	45	Halver <i>et al.</i> , (1964)
Seriola	Seriola dumerilii	Harina de pescado	50	Jover <i>et al.</i> , (1999)
Seriola coreana	Seriola quinqueradiata	Harina de pescado	55	Takeda <i>et al.</i> , (1975)
			52	Masumoto <i>et al.</i> , (1998)
Sigano zapatero	Siganus sutor	Caseína y harina de pescado	34	Okoth <i>et al.</i> , (1995)
Silver perch	Bidyanus bidyanus	Harina de pescado	28	Allan <i>et al.</i> , (2001)
			24,8	Harpaz <i>et al.</i> , (2001)
Smallmouth bass	Micropterus dolomieu	Caseína, concentrado de proteína de pescado	42,3-45,2	Anderson <i>et al.</i> , (1981)
Snakehead	Channa argus argus	Harina de pescado	52	Wee y Tacon (1982)
Solla	Pleuronectes platessa	Músculo de bacalao	50	Cowey <i>et al.</i> , (1972)
Southern catfish	Silurus meridionalis	Harina de pescado blanco	47-51	Zhang <i>et al.</i> , (2000)
Spotted green pufferfish	Tetraodon nigroviridis	Caseína	50	Kanazawa <i>et al.</i> , (1980)
Stinging catfish	Heteropneustes fossilis	Caseína	27,73-35,43	Akand <i>et al.</i> , (1989)
Takifugu obscurus	Takifugu obscurus	Caseína	50	Bai <i>et al.</i> , (1999)
Tilapia del Nilo	Oreochromis niloticus	Caseína	30	Wang <i>et al.</i> , (1985)
			40	Hafedh (1999)
Torafugu	Fugu rubripes	Caseína	50	Kanazawa <i>et al.</i> , (1980)
Trucha alpina	Salvelinus alpinus		37-42	Gurure <i>et al.</i> , (1995)
Trucha arcoiris	Oncorhynchus mykiss	Harina de pescado, caseína, gelatina, y aminoácidos	40	Satia (1974); Kim <i>et al.</i> , (1991)
			35-50	Ogino (1980)
		Harina de pescado	37-41	Gulbrandsen y Utne (1977)
Trucha de río	Salmo trutta	Caseína	53-57	Arzel <i>et al.</i> , (1995)
Walking catfish	Clarias batrachus	Caseína	30	Wiang (1987)
			30	Chatiyangwongse y Chaupohuk (1982)

*Referencias bibliográficas en Schuchardt, 2005.



crecimiento que peces mayores (Cho *et al.*, 1985; NRC, 1993). Estudios realizados en pez gato muestran que las larvas requieren 40 % de proteína, los alevines 30 %-35 %, y los adultos entre 25 % y 35 % (Page y Andrews, 1973; NRC., 1977). Satia (1978), observó que el requerimiento de proteína de la trucha arcoiris disminuyó un 10 % (50 % a 40 %) después de 6-8 semanas de alimentación. Wilson y Halver (1986), han obtenido resultados similares con salmónidos, carpas y tilapias. Según NRC (1993), los requerimientos de proteína como proporción de la dieta disminuyen según el pez llega a su maduración sexual. Este fenómeno está asociado con una disminución en síntesis proteica corporal a medida que el pez se desarrolla, con una tasa de crecimiento menor en los peces adultos (Fauconneau, 1985).

En el caso de la *relación temperatura-requerimiento proteico*, aunque con ciertas discrepancias en diferentes trabajos, por lo general se acepta el hecho de que al ser los peces poiquilotermos, esto hace que el metabolismo se vea influenciado por la temperatura. Según Barletta (2003), incrementos de la temperatura del agua hace que se acelere el metabolismo basal y el crecimiento de los peces aumentando su requerimiento proteico. Esta relación temperatura-necesidades proteicas ha sido ampliamente evaluada en diferentes especies. Así, De Long *et al.* (1958) encontraron que el requerimiento proteico para el salmón del atlántico se incrementaba de un 40 % a un 55 % para una temperatura de 8 °C y 15 °C, respectivamente. De igual forma, Millikin (1983) encontró requerimientos de proteína en la lubina estriada (*Morone saxatilis*) de 47 % a 20 °C y de 55 % a 24 °C. Barletta (2003), sugiere que este mayor requerimiento proteico, por el incremento de temperatura, se debe a un aumento de la secreción del nitrógeno endógeno debido a un mayor catabolismo de este nutriente; sin embargo, otros autores no encuentran esta relación tan directa. Por lo general, tanto la alimentación como el crecimiento se incrementan en paralelo según aumenta la temperatura del agua, aunque la tasa de crecimiento puede incrementarse más rápido por una mejora de la conversión alimenticia (NRC, 1993). Varios autores (Slinger *et al.*, 1977; Meade *et al.*, 1983; Goolish y Adelman, 1984) obtuvieron resultados contradictorios a los ya mencionados, y Cho *et al.* (1985) sugirieron que los requerimientos de proteína de los peces están poco influenciados por la



temperatura, siempre que los peces se encuentren dentro de su rango normal de temperatura. En el caso de la trucha arco iris por ejemplo, el requerimiento de proteínas encontrado es de 35 % tanto a 9 °C como a 18 °C NRC (1993).

Por otro lado y de forma general, disminuciones en la *tasa alimenticia* incrementan el contenido óptimo de proteína en la dieta para una máxima retención de la misma, como ha sido documentado en el caso de la trucha arco iris (Cho *et al.*, 1976). Para tilapia del Nilo, el máximo crecimiento se obtuvo con un 25 % de proteína en la dieta cuando la tasa alimenticia fue de 3,5 % peso corporal/día; con una tasa de alimentación de 2,9 % peso corporal/día el nivel óptimo de proteína subió a 30 % (Wang *et al.*, 1985). Por lo general, la intensificación de los sistemas productivos tiende a influir negativamente en la utilización proteica, no sólo por las pérdidas de alimento, sino también por una peor utilización del mismo; la digestibilidad de la proteína bruta disminuye un 3 % cuando aumenta un 1 % la ración diaria en la trucha arco iris (NRC, 1993).

La *energía de la dieta* es también un factor determinante de los requerimientos de proteína de los peces, siendo importante por tanto encontrar la *relación de proteína/energía* (P/E) que maximice el crecimiento para cada especie y condiciones específicas de cultivo. Numerosos trabajos en las últimas décadas hacen referencia a esta relación, encontrándose diferencias considerables tanto inter como intraespecíficas, lo que refleja la gran cantidad de factores que influyen sobre ella. Desde hace bastante tiempo se conoce que, en general, los requerimientos de proteína en los peces por unidad de energía (digerible o metabolizable) está por encima de 20 Kj/g, mayor al de los animales terrestres (Cho y Kaushik, 1985). En el caso de la trucha arco iris por ejemplo, Ringrose (1971) observó que esta especie necesitaba 7,5 kcal de energía metabólica por cada gramo de proteína en la dieta; trabajos posteriores con esta misma especie muestran un mejor aprovechamiento energético de la proteína mediante la alimentación con dietas de alta energía en relación al porcentaje de proteína dietética (Barletta, 2003).

La evidencia del uso de las proteínas dietéticas como una importante fuente de energía ha sido estudiada exhaustivamente por Cowey (1979, 1980), relacionando los requerimientos proteicos altos con un bajo requerimiento energético por parte de los peces. Un porcentaje alto de



las proteínas ingeridas es rápidamente catabolizada por el pez, especialmente cuando hay un desequilibrio en el porcentaje de nutrientes no proteicos presentes en la dieta (Cho *et al.*, 1985; Walton, 1987; Shepherd y Bromage, 1988). Ante el derroche que supone, tanto desde el punto de vista nutricional como económico, la utilización de la proteína dietética con fines energéticos, parece más indicado usar los lípidos o carbohidratos con este fin en lugar de las proteínas, lo que se conoce como efecto ahorrador de la proteína, «*Protein sparing effect*» (Jauncey y Ross, 1982). Con esto se consigue disminuir las proporciones de proteína en la dietas a los niveles necesarios únicamente para el crecimiento reduciendo así los costes del alimento (Houlihan *et al.*, 2002).

El efecto ahorrador de la proteína por lípidos en las dietas para peces aparece más ampliamente documentado que por los carbohidratos, debido a que un gran número de las especies que se cultivan de manera intensiva son de hábitos alimenticios carnívoros, con baja capacidad de utilización de la glucosa. Para el caso de la sustitución por lípidos, si bien diferentes especies responden de diferente forma, en muchos casos el nivel óptimo de proteína efectivamente puede ser reducido sin que se vean afectados parámetros productivos de la dieta y de crecimiento de los animales. Sin embargo, en muchas otras ocasiones este incremento lipídico en la dieta, o bien afecta negativamente a los parámetros productivos (Yone *et al.*, 1971; Machiels y Henken, 1985; Daniels y Robinson, 1986), o produce una excesiva deposición de grasas en el pez (Cowey *et al.*, 1975; Alliot *et al.*, 1979). En experiencias llevadas a cabo con la trucha arco iris, incrementos de lípidos en la dieta de 15 % a 18 % permite reducir la proteína de 45 % a 35 % sin efectos negativos en el crecimiento (Takeuchi *et al.*, 1978; Watanabe *et al.*, 1979). Igualmente, en dietas para rodaballo se ha logrado sustituir 1/3 de la proteína de la dieta por lípidos (Bromley, 1980). Con la lubina estriada la reducción conseguida ha sido de un 50 % a un 45 % de la proteína al incrementar el nivel de lípidos de 14 a 17 % (Berger y Halver, 1987); y con la seriola coreana se logró bajar de un 57 % a un 53 % con incrementos de lípidos similares, 15 % a 17 % (Takeda *et al.*, 1975; Shimeno *et al.*, 1980, 1985); en juveniles de perca *Sander lucioperca* los mejores resultados se obtuvieron para el mayor contenido de lípidos (17 %), a los dos niveles proteicos ensayados (47 % y 53 %) (Schulz *et al.*, 2008). Sin embargo, con el lenguado y la lubina europea,



el incremento de lípidos proporcionó algún efecto ahorrador, pero a expensas de un incremento de las reservas de grasa en el pez (Cowey *et al.*, 1975; Alliot *et al.*, 1979). Otras especies por el contrario, muestran una disminución del crecimiento a consecuencia del incremento de los niveles de lípidos en la dieta entre ellas se encuentra el bocinegro o pargo (*Pagrus pagrus*). En juveniles de esta especie se empleó un análisis factorial de dos vías para evaluar el efecto de las proteínas y lípidos por separado sobre el peso de los animales, y las interacciones entre ambos nutrientes cuando se incrementaban los niveles tanto de proteína como de lípidos en el alimento de 45 a 55 % y 10 a 20 %, respectivamente. Los resultados de estos análisis indicaron un efecto por separado, tanto de las proteínas como de los lípidos sobre el peso medio final, siendo la relación positiva en el primer caso y negativa en el último; la interacción encontrada para ambos nutrientes fue de 0,076 (Tabla 2) (Schuchardt *et al.*, 2008).

3.4. EVOLUCIÓN DE LA METODOLOGÍA APLICADA EN LAS DETERMINACIONES CUANTITATIVA Y CUALITATIVA DE PROTEÍNAS Y AMINOÁCIDOS

El requerimiento óptimo de proteína ha sido definido como «la mínima cantidad de proteína dietética, expresada en porcentaje de la dieta,

TABLA 2.

Efecto del incremento de proteínas y lípidos en dietas para juveniles de bocinegro. Análisis ANOVA factorial de dos vías (lípidos y proteínas dietéticos frente al peso medio final) (Schuchardt *et al.*, 2008).

Proteína en dieta (%)	Peso final (g)	P = 0,0000
45	59,42 ^a	
50	69,27 ^b	
55	66,63 ^b	
Lípidos en dieta (%)		P = 0,0000
10	64,97 ^{ab}	
15	67,39 ^b	
20	62,95 ^a	

Interacciones entre los niveles de lípidos y proteínas P = 0,0760.



necesaria para abastecer los requerimientos suficientes de aminoácidos y lograr el máximo crecimiento» (NRC., 1983; Pandia y Vivekanandan, 1985; NRC, 1993). El crecimiento es el criterio mayoritariamente empleado para valorar el nivel de proteína dietética necesaria para el pez o el requerimiento cuantitativo de proteína (De Long *et al.*, 1958; Hepher, 1988). Cowey y Sargent (1979) sugirieron que es mejor expresar el nivel óptimo de proteína de la dieta en términos de la proporción de energía que esta proteína aporta al animal; sin embargo, una gran proporción de los aminoácidos de la dieta no son usados por el pez con propósitos anabólicos, sino como fuente de energía. Posteriormente, Weatherley y Gill (1987) definieron el requerimiento proteico como el nivel de proteína en la dieta que tiende a maximizar simultáneamente el crecimiento y la deposición proteica; estos autores indicaron además que el requerimiento de proteína debería ser expresado basándose en el peso ganado (gramos de proteína ingerida / Kg de peso ganado).

Los primeros estudios sobre requerimientos de proteína y aminoácidos en peces se remontan a los años 50-60 del siglo pasado en salmón chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*), por John E. Halver y colaboradores. En estos primeros estudios la dieta test utilizada se formuló con un 70 % de aminoácidos cristalinos en base al perfil proteico del huevo entero de gallina, de la proteína del huevo de salmón y de la proteína del saco vitelino de larvas de salmón recién eclosionadas. Los mejores resultados se obtuvieron para el perfil de aminoácidos contenido en la proteína del huevo entero de gallina, con mejores tasas de crecimiento y conversión del alimento en un período de 12 semanas (Halver, 1957). En trabajos posteriores, y utilizando como base este perfil proteico, estos mismos autores diseñaron experiencias con el objeto de establecer las necesidades cualitativas de cada uno de los aminoácidos, también en salmón chinook (Halver *et al.*, 1957). Basados en estos estudios se establecieron los primeros pasos determinantes en la selección de aquellos 10 aminoácidos esenciales en las dietas para salmón chinook y que han sido posteriormente corroborados en otras especies: arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina.

Para asegurar un aporte óptimo al organismo, los aminoácidos esenciales y no esenciales deben hallarse en una determinada proporción



relativa. Si ciertos aminoácidos se encuentran presentes en exceso en esta relación, se originan trastornos metabólicos (desequilibrio de aminoácidos) que, en casos extremos, pueden incluso ocasionar estados de toxicidad (Bergner y Kretz, 1969 en Steffens, 1989).

Determinar los requerimientos de aminoácidos y la proporción necesaria de cada uno resulta complicado, puesto que existen interacciones entre ellos, así como con otros compuestos. De los aminoácidos, la cistina se puede formar metabólicamente a partir de la metionina, y la fenilalanina se puede convertir en tirosina; observándose que aproximadamente un 50 % de la tirosina puede ser sustituida por fenilalanina, mientras que un 40 %-60 % de la cistina puede serlo por la metionina y no afectar al crecimiento (Millikin, 1982; Harding *et al.*, 1977; Kim *et al.*, 1984; NRC, 1993; Houlihan *et al.*, 2002). Según Wilson (1986), los peces tienen un requerimiento para el conjunto total de los aminoácidos sulfurados, y éste se corresponde con el requerimiento de metionina (NRC, 1993). Los requerimientos de aminoácidos sulfurados pueden variar con las distintas especies; por ejemplo, el salmón chinook y la dorada requieren valores altos de aminoácidos sulfurados (alrededor de un 4 % de la proteína), mientras que el pez gato solo requiere un 2,3 % de la proteína, el resto de los peces estudiados requieren aproximadamente un 3 %. Los requerimientos totales de los 10 aminoácidos esenciales han sido establecidos para un pequeño número de especies de peces (Tabla 6).

Durante muchos años ha resultado controvertida la conveniencia de la inclusión de aminoácidos en forma libre en las dietas para compensar deficiencias dietéticas de uno o varios de ellos, atendiendo a un peor aprovechamiento de los mismos por una más rápida absorción de los aminoácidos libres, respecto al resto contenido en los ingredientes proteicos de las fórmulas. En la actualidad los aminoácidos en forma libre siguen siendo utilizados en diferentes experiencias para la determinación de los requerimientos tanto de crecimiento como de mantenimiento (Luo *et al.*, 2005); sin embargo cobra cada vez más adeptos la utilización de aminoácidos recubiertos, con agar por ejemplo como indicaron Mambrini y Kaushik (1994), lo que asegura el aporte deseado de los mismos obviando posibles problemas de absorción y optimizando su uso para la ganancia de proteína corporal (Fournier *et al.*,



TABLA 6.

Especies para los que el requerimiento total de los aminoácidos esenciales ha sido determinado empíricamente (En Schuchardt, 2005)*.

Nombre común	Especie	Autor
Anguila japonesa	Anguilla japonica	Nose y Arai, 1973; Zhu y Wang, 1998
Chano	Chanos chanos	Jauncey y Ross, 1982; Lovell, 1989; Borlongan, 1991; Borlongan, 1992; Coloso <i>et al.</i> , 1992; Borlongan y Coloso, 1993
Carpa común	Cyprinus carpio	Nose, 1979; Dabrowski, 1981; Dabrowski., 1983; Ogino, 1989; Viola <i>et al.</i> , 1994; Yamamoto <i>et al.</i> , 1998
Catla	Catla catla	Ravi y Devaraj, 1991
Dorada	Sparus aurata	Luquet y Sabaut, 1974; Kaushik, 1998; Conceição <i>et al.</i> , 2003; Gomez-Requeni <i>et al.</i> , 2003
Pargo japonés	Pagrus major	Lopez-Alvarado y Kanazawa, 1993; Lopez-Alvarado y Kanazawa, 1995; Zhao <i>et al.</i> , 1995; Chatzifotis <i>et al.</i> , 1996; Forster y Ogata, 1998; Yamamoto <i>et al.</i> , 1998
Esturión blanco	Acipenser transmontanus	Ng y Hung, 1995; Ng <i>et al.</i> , 1996
Halibut	Hippoglossus hippoglossus	Kim y Lall, 2000
Salmón chum	Oncorhynchus keta	Akiyama <i>et al.</i> , 1985; Skiyama <i>et al.</i> , 1985; Akiyama, 1987
Lubina	Dicentrarchus labrax	Metailler <i>et al.</i> , 1973; Thebault <i>et al.</i> , 1985; Tibaldi y Lanari, 1991; Tibaldi <i>et al.</i> , 1993; Tibaldi <i>et al.</i> , 1994; Kaushik, 1998; Tibaldi y Tulli 1999
Lubina estriada	Morone saxatilis	Brown y Griffin, 1992; Keembiyehetty y Gatlin, 1993; Griffin <i>et al.</i> , 1994; Small y Soares, 1998; Small, 1999; Small y Soares, 1999
Pez gato del canal	Ictalurus punctatus	Wilson <i>et al.</i> , 1977; Harding <i>et al.</i> , 1977; Wilson <i>et al.</i> , 1978; Wilson <i>et al.</i> , 1980; Robinson <i>et al.</i> , 1980a; Robinson <i>et al.</i> , 1980b; Robinson <i>et al.</i> , 1981; Wilson y Poe, 1985; Buentello y Gatlin, 1998; Li y Robinson, 1998; Buentello y Gatlin, 2000),
Rodaballo	Psetta maxima	Kaushik, 1998
Salmón chinock	Oncorhynchus tshawytscha	Halver <i>et al.</i> , 1958; Halver <i>et al.</i> , 1959; De Long <i>et al.</i> , 1962; Chance <i>et al.</i> , 1964; Halver, 1965; Klein y Halver, 1970
Tilapia del nilo	Oreochromis niloticus	Santiago, 1986; Santiago y Lovell, 1988; Viola <i>et al.</i> , 1994; Yong <i>et al.</i> , 1998
Tilapia de Mazanbique	Oreochromis mossambicus	Garber, 1994
Trucha arcoiris	Oncorhynchus mykiss	Kaushik, 1979; Kaushik y Luquet, 1979; Kim y Kayes, 1982; Walton <i>et al.</i> , 1982; Dabrowski, 1983; Kim <i>et al.</i> , 1983; Ketola, 1983; Poston y Rumsey, 1983; Rumsey <i>et al.</i> , 1983; Kim <i>et al.</i> , 1984; Walton <i>et al.</i> , 1984a; Walton <i>et al.</i> , 1984b; Basseres, 1986; Walton <i>et al.</i> , 1986; Kim <i>et al.</i> , 1987; Cho <i>et al.</i> , 1989; Ketola, 1983; Ogino, 1989; Cowey <i>et al.</i> , 1992; Kim <i>et al.</i> , 1992; Garzon <i>et al.</i> , 1994; Kim, 1997; Kaczanowski y Beamish, 1996; Rodehutscord <i>et al.</i> , 1997; Yamamoto <i>et al.</i> , 1998

*Referencias en Schuchardt, 2005.



2002; Rollin *et al.*, 2003, 2006; Bodin *et al.*, 2008). Según demostraron Rollin *et al.* (2003) en dietas para alevines de salmón, una mezcla de aminoácidos cristalinos puede ser eficientemente usada bajo condiciones específicas: perfil de AA que simule el de la proteína de harina de pescado, AA recubiertos con agar, acostumbrar a los animales a la dieta enriquecida con los AA, etc.

En cuanto a la proteína o aminoácidos de referencia para el establecimiento de los requerimientos, a partir de la década de los 70-80 del siglo pasado, los requerimientos son definidos a partir de la alimentación de los animales con dietas equilibradas conteniendo distintos niveles de una proteína de alta calidad (ver tabla 1). De acuerdo con el NRC (1993), tanto para los aminoácidos esenciales (EAA) como para los no esenciales (NEAA), se acepta el perfil de aminoácidos de la harina de pescado de alta calidad como idóneo para cubrir los requerimientos de los peces. Posteriormente, Mambrini y Kaushik (1995) basados en la observación previa de que el requerimiento de aminoácidos esenciales en ciertas especies se correlaciona con el perfil de esos mismos aminoácidos en el cuerpo entero del animal (Wilson y Poe, 1985), usaron un análisis factorial para la comparación de los datos sobre la composición de aminoácidos esenciales existentes en la literatura. Según estos autores, la composición en aminoácidos del cuerpo entero es muy similar entre diferentes especies de peces; en la misma línea observaron que aunque los perfiles de aminoácidos de diferentes tejidos son diferentes, los perfiles de un mismo tipo de tejido se mantienen similares entre diferentes especies y se ven afectados en muy poca medida por factores como la temperatura, la tasa de alimentación y el tamaño del animal. Ambas consideraciones se aplican actualmente para estimar de forma rápida y a menor costo las necesidades de aminoácidos en diferentes especies.

Diferentes métodos se han ido aplicando con el objeto de estimar los requerimientos de aminoácidos a partir de los datos de composición del cuerpo entero o el filete. Entre ellos, y basado en el «*concepto de proteína ideal*» (existe una correlación directa entre el perfil de aminoácidos del cuerpo entero del animal y sus requerimientos dietéticos), se usa frecuentemente la relación contenido en aminoácido esencial / total de aminoácidos esenciales (EAA/TEAA). Según este método, co-



nocido el requerimiento de un único aminoácido esencial se puede establecer el requerimiento de todos los demás mediante las correlaciones entre ellos y el perfil del animal (Moon y Gatlin, 1991). En esta línea se han hecho estimaciones del requerimiento de aminoácidos esenciales en diferentes especies y tejidos en base a la composición relativa de la lisina, basados en que la lisina suele ser el primer aminoácido limitante en las dietas. Se ha comprobado la homogeneidad de los requerimientos estimados de esta forma y los evaluados de forma empírica en diferentes trabajos; recientemente por ejemplo en la lubina asiática (en Glencross, 2006). En la utilización de la relación (EAA/TEAA), las etapas de crecimiento y temperatura del agua no afectan la evaluación de los valores absolutos de los requerimientos de aminoácidos (Oohara *et al.*, 1998).

Para la definición de los requerimientos se empezó utilizando una estrategia experimental consistente en la evaluación de niveles crecientes de un aminoácido test incluido en una dieta basal deficiente en ese aminoácido concreto a evaluar («*graded supplementation technique*»). Se confecciona entonces una regresión simple «*dosis-respuesta*» entre los niveles dietéticos del aminoácido test y el crecimiento de los animales, obteniéndose a continuación el requerimiento de proteína o aminoácido mediante un análisis estadístico gráfico «Línea quebrada» («*Broken line*»), o de una *curva polinomial de segundo grado* (Zeitoun *et al.*, 1976).

La mayor parte de los diseños experimentales más recientes siguen utilizando este tipo de metodología en la que ha ido aumentando el número de índices aplicados frente al contenido proteico de las dietas, observándose además una progresiva inclinación a la definición de requerimientos expresados en base al uso digestivo tanto para las proteínas como para los aminoácidos. En muchos de los trabajos para determinaciones de requerimientos proteicos se siguen utilizando dietas isoenergéticas en las que se varía el contenido proteico; sin embargo, esas mismas fórmulas referidas a energía digerible dejarían probablemente de ser isoenergéticas, de tal forma que aquellas dietas con mayor contenido proteico representarían también para el animal dietas con un mayor contenido energético disponible. En diferentes estudios con lubina asiática *Lates calçifer* (Williams y Barlow, 1999; Williams



et al., 2003), encontraron una clara respuesta positiva de los animales frente a niveles crecientes de proteína así como de P/E, sugiriendo que la energía digestible de la dieta y el tamaño de los animales son factores claves en la determinación de los requerimientos proteicos.

Ejemplos recientes los tenemos en Lee *et al.*, (2003), que aplican el método simple de variar la concentración proteica para un nivel fijo de lípidos (10 %) para la obtención del requerimiento proteico en juveniles de rodaballo de 89g de peso; para la determinación usaron 5 dietas isoenergéticas ajustadas con aceite de hígado de calamar y dextrina, en las que los valores calóricos de los nutrientes fueron calculados de forma teórica. Estos autores aplican el método «*broken line*» usando como respuesta los g de peso ganado y establecen el requerimiento de proteínas en 49,4 %, corroborando además este valor mediante los resultados de eficacia proteica, retención de la proteína y composición de los animales. Igualmente, Shahidul y Tanaka (2004), usaron esta misma metodología para la obtención del requerimiento proteico en ciprínidos, *Tor putitora* de 12 g de peso, cultivados en estanques en tierra; en este caso se utilizan 6 dietas isoenergéticas (20 kJ/g; 25 % a 50 % de proteína) formuladas con harina de pescado como principal fuente proteica (además de soja y mostaza), y dextrina y α -celulosa para el ajuste energético, evaluando diferentes parámetros productivos (SGR, FCR, PER, ER, composición corporal, kg de producción/ha), y definiendo el requerimiento (45,3 %) en último término mediante la aplicación de una curva dosis-respuesta con el peso ganado como variable. Martínez-Palacios *et al.* (2007) y Mohanta *et al.* (2008) utilizan el análisis de regresión, en el primer caso con el peso diario ganado en juveniles de una especie zooplantófaga mejicana (*Menidia estor*), y en el segundo con el SGR en alevines del barbo plateado (*Puntius gonionotus*). Schuchardt *et al.* (2008) han establecido igualmente los niveles óptimos de proteína y proteína/energía en dietas para bocinegro mediante la aplicación de una regresión lineal o curvilínea según la respuesta observada para diferentes parámetros, peso ganado y PER (Fig. 3 y 4.).

Este tipo de estrategia para la definición de los requerimientos cuenta con una serie de inconvenientes entre los que destacan: 1) posibles problemas respecto a la idoneidad de los tratamientos estadísticos emplea-

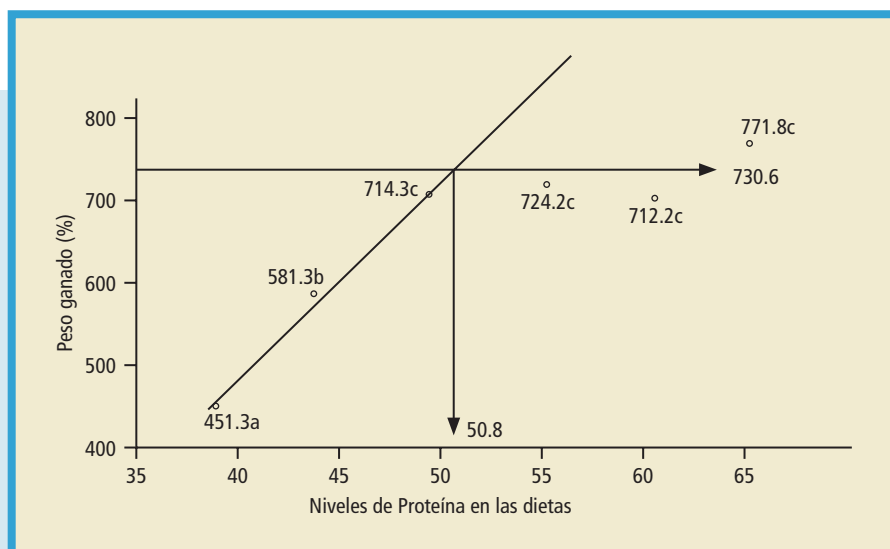


FIGURA 3.

Aplicación del método de la línea quebrada realizada con el peso ganado (%) y los niveles de proteína en la dieta en bocinegros (*Pagrus pagrus*) de 2 g de peso.

dos; 2) aproximación más o menos correcta al punto de rotura o inflexión de la curva de respuesta; 3) se pueden crear desequilibrios de aminoácidos al incluirse en las dietas niveles crecientes de un solo aminoácido.

Algunos de los trabajos más recientes (Bodin *et al.*, 2008) proponen las siguientes modificaciones para mejorar la aplicabilidad de la técnica de dosis-respuesta para el caso del requerimiento de treonina en trucha y salmón Atlántico: 1) elevar el número de niveles a evaluar como mínimo a 10 para asegurar una buena descripción de la curva; 2) basar la composición de la dieta en el perfil de aminoácidos tanto esenciales como no esenciales del cuerpo entero del animal; 3) Para mantener el nivel de N en las dietas, compensar los incrementos de los aminoácidos test con una mezcla de AA no esenciales; 4) Calcular los requerimientos absolutos de aminoácidos (mg/kg MBW por día; MBW=metabolic body weight); 5) Utilizar curvas de regresión entre la ingesta del aminoácido test y la acumulación corporal del mismo.

Debido a todos estos problemas explicados, se plantean técnicas alternativas para la definición del requerimiento, como aquellas basadas en el

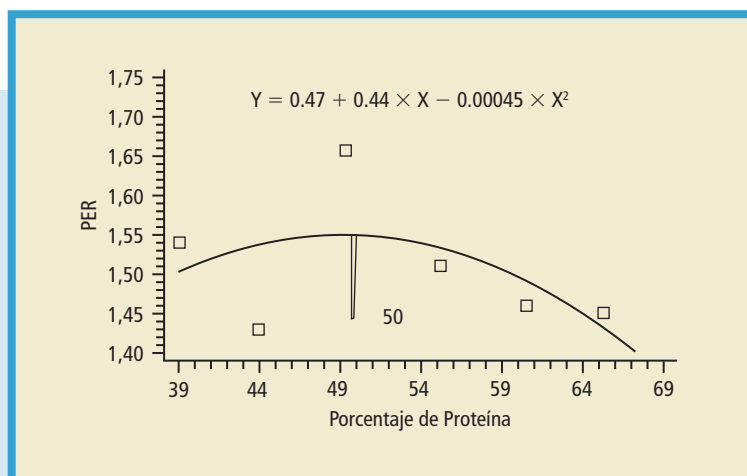


FIGURA 4.

Regresión polinomial entre el PER y los niveles de proteína en la dieta.

«*principio de dilución*» para el que se define la deposición proteica como una función de la ingesta del primer aminoácido limitante sin que existan niveles gradados en la dieta. Una técnica desarrollada en esta línea se muestra en Liebert y Benkendorff (2007), quienes determinaron el requerimiento de lisina mediante un modelo no lineal de utilización de N; las ecuaciones del modelo se proponen para el caso de que no existiendo otro factor limitante en la dieta, la retención de nitrógeno corporal observada (NR) será una función de la ingesta de N (NI) y de la calidad de la proteína de la dieta.

Otro tipo de técnicas recientes aplican métodos iterativos, basados en la identificación del requerimiento para un nutriente específico relativo a la energía dietética ingerida, sujeto a la eficiencia de la utilización de ese nutriente específico y satisfacción de sus requerimientos de mantenimiento. De esta forma, nutrientes ampliamente relacionados pueden ser evaluados de manera conjunta en relación a diferentes parámetros energéticos. Es el caso de la determinación del requerimiento de proteína y lisina en la lubina asiática para diferentes tamaños de animales (Glencross, 2003; en Glencross 2006), basada en los parámetros de demanda energética, eficiencia de utilización de nutrientes y demanda de alimento, donde se observa la naturaleza multifacética del requerimiento de esos nutrientes (Tabla 3).



TABLA 3.

Determinación iterativa del requerimiento de proteína y lisina en la lubina asiática (adaptada de Glencross *et al.*, 2006).

Peso (g)	10	50	100	500	1000	2000
15 MJ DE en dieta						
FCR	0.67	0.84	0.94	1.21	1.36	1.54
Ingesta/día (%)	4.9	2.7	2.1	1.2	1.0	0.8
DP (g/kg dieta)	560	460	420	340	310	280
15 MJ DE en dieta						
FCR	0.67	0.84	0.94	1.21	1.36	1.54
Ingesta/día (%)	4.9	2.7	2.1	1.2	1.0	0.8
Lisina digestible (g/kg dieta)	35	28	26	21	19	18
17 MJ DE en dieta						
FCR	0.59	0.74	0.83	1.07	1.20	1.36
Ingesta/día (%)	4.3	2.4	1.9	1.1	0.8	0.7
DP (g/kg dieta)	630	520	480	390	350	320
17 MJ DE en dieta						
FCR	0.59	0.74	0.83	1.07	1.20	1.36
Ingesta/día (%)	4.3	2.4	1.9	1.1	0.8	0.7
Lisina digestible (g/kg dieta)	39	32	30	24	22	20

Por tanto, si bien se viene haciendo hincapié desde hace ya bastantes años en la conveniencia de homogeneización de la metodología a la hora de evaluar requerimientos nutritivos, podemos comprobar que en la actualidad continúa siendo difícil la comparación de resultados entre diferentes trabajos. Un claro y reciente ejemplo de ello lo tenemos en Luo *et al.* (2004), donde se usaron 6 dietas isoenergéticas para la determinación del requerimiento proteico en juveniles de *Epinephelus coioides* (10g de peso inicial) cultivado en jaulas flotantes. En este caso las dietas variaron en el contenido tanto proteico como lipídico y se formularon con harina de pescado y caseína (1,35:1 g/g) como fuentes proteicas, aceite de pescado y lecitina de soja como fuentes lipídicas y dextrina como única fuente de carbohidratos. Para la definición del requerimiento, estos autores utilizan el análisis de regresión entre los valores del SGR y los niveles de proteína en dieta, estableciendo el requerimiento óptimo de proteína en un 48 % de la fórmula. La com-



paración de este resultado con otros previos de especies muy próximas (40 % de proteína, Teng *et al.*, 1978; 50,2 % de proteína, Shiau y Lan, 1996), muestra diferencias en los valores obtenidos debidos en gran parte a las diferencias en las fórmulas utilizadas.

A modo de resumen de todo lo expuesto en este apartado, en la mayoría de los trabajos para la definición de requerimientos nutritivos se utiliza el modelo experimental de modificación de una única variable «*one variable at time*» (OVAT), manteniendo el resto aproximadamente constante (técnica de niveles de suplementación y aplicación de curvas dosis-respuesta). Sobre la base de este tipo de diseño experimental se han venido implementando, en los últimos años, modificaciones que permiten una mejor aproximación para la definición del requerimiento. Sin embargo, aún con estas implementaciones se continúan observando resultados controvertidos, a consecuencia principalmente de las limitaciones de estos modelos experimentales que no permiten contemplar entre otras cosas las interacciones entre ingredientes en una fórmula dada. Actualmente además, y debido principalmente a la rapidez con que las mejoras tecnológicas influyen sobre la eficiencia de utilización de ingredientes, la formulación de dietas óptimas de forma más rápida y eficiente es un desafío con el que se enfrenta la producción de acuicultura en sistemas intensivos. Por este motivo, se tiende cada vez más a utilizar modelizaciones matemáticas que permitan el manejo de múltiples variables al mismo tiempo.

En esta nueva línea «progresista», y extrapolando diseños de nutrición usados en animales terrestres, «*mixture desing*» (Moon y Spencer, 1974; Cornell, 1990) o «*Geometric Framework*»(GF) (Simpson y Raubenheimer, 1997), se vienen realizando trabajos más o menos complicados matemáticamente en diferentes especies de peces. En el primero de los casos «*mixture desing*», basado en la interrelación entre ingredientes en las dietas, la formulación se realiza mediante una mezcla simple de los mismos, representándose gráficamente sobre el espacio de los puntos de esa mezcla un diferente número de respuestas variables. Un ejemplo reciente de este tipo de diseño experimental (Hamre y Mangor-Jensen, 2006), utiliza una mezcla de 3 componentes (proteínas, lípidos y carbohidratos, expresados en pesos seco de la dieta) con el objeto de optimizar el contenido dietético en macro-

nutrientes en dietas para bacalao (*Gadus morhua*) de entre 4 y 6 g. De acuerdo con las hipótesis del método los 3 nutrientes (variables) se podrán variar de forma simultánea, continua y sistemática dentro de unos límites establecidos. Para la determinación de los requerimientos aproximados se utilizan en esta experiencia 21 dietas de las cuales 20 se ensayaron con única réplica, y la restante se suministró a 4 tanques (réplicas) que servirá para la obtención de una medida de las variaciones por tanque. En la figura 5 se muestra gráficamente el diseño experimental. Para los animales de menos de 4 g de peso, los resultados obtenidos muestran requerimientos en dieta de menos de 62 % de proteína, y entre 15 y 20 % de lípidos; los carbohidratos a los niveles usados (0-15 % en peso seco) no tuvieron efectos negativos en los peces.

Este tipo de diseños de mezcla, si bien contempla de forma adicional la interrelación entre nutrientes/ingredientes, no considera sin embargo la respuesta de ingesta de los animales frente a las mezclas utilizadas. Surge entonces el segundo tipo, «*Geometric Framework*»,

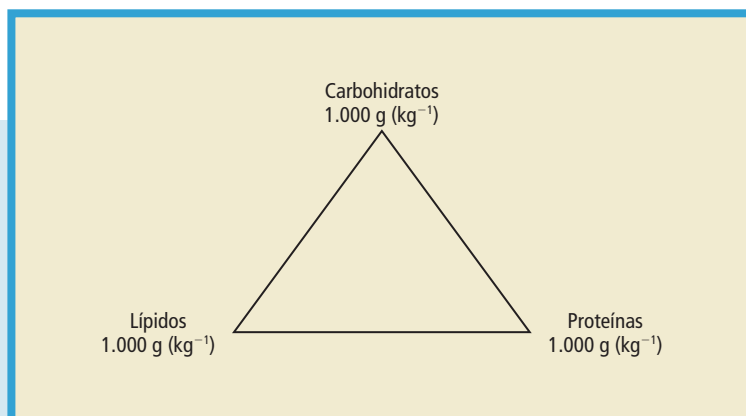


FIGURA 5.

Diseño experimental de una mezcla de 3 componentes. Cada uno de los componentes puede ser incluido entre 0 y 1.000 g, y cada una de las dietas podrá tener infinitud de combinaciones limitadas en una pequeña área del triángulo en base a los rangos más o menos esperados para cada uno de los componentes (adaptada de Hamre y Mangor-Jensen, 2006).



como una aproximación complementaria ante esta problemática en la que lo que se usa como base para la construcción espacial es la ingesta y el crecimiento más que la composición de la dietas, de tal forma que los animales pasen a ser el foco de atención de las respuestas más que las dietas en si mismas; las dietas serían representadas en este caso como vectores definidos por la mezcla de nutrientes contenida en cada una de ellas.

Si bien ampliamente utilizados en animales terrestres, son escasos sin embargo los trabajos existentes de aplicación de este tipo de modelos en nutrición de peces. Ejemplos recientes los tenemos en Simpson y Raubenheimer (2001), autores que han ido un poco más allá aplicando la combinación de ambos tipos de modelización con el objetivo de reanalizar/comprobar los resultados de estudios previos en *Coregonus lavaretus* usando para ello un total de 18 dietas evaluadas empíricamente (Ruohonen *et al.*, 2007).

Si se consiguiera definir de esta forma la respuesta de los peces para los macronutrientes, podría por ejemplo utilizarse en la evaluación de fuentes alternativas para los ingredientes dietéticos de forma rápida, fijando por ejemplo en una primera fase el contenido de los macronutrientes de la dieta y aplicando luego 2 ó 3 ejes, cada una de los cuales podría representar una fuente proteica.

3.5. INGREDIENTES PROTEICOS EN PIENSOS PARA PECES. ALTERNATIVAS A LA HARINA DE PESCADO

La producción de harina de pescado sigue estancada en las dos últimas décadas en torno a los 6-8 millones de toneladas, soportando sin embargo incrementos progresivos en su demanda. Por poner un ejemplo, en Chile (A. Bórquez, comunicación personal), cuatro especies pelágicas son las capturadas y destinadas a la elaboración de harina de pescado (Tabla 1), estableciendo la Subsecretaría de Pesca cuotas anuales de pesca para algunos de estos recursos (jurel desde 1999/2000 y sardina desde 2002); la caballa la cual no está sometida a ninguna cuota ha ido sostenidamente incrementando su captura.

**TABLA 1.**

Total de captura de especies pelágicas usada para fabricación de harina de pescado en Chile (Fuente, Sernapesca 2005; en Borquez, 2008).

Recurso	2004	2003	2002	2001
Anchoveta	1.700	750	1.500	850
Jurel	1.360	1.380	1.440	1.650
Sardina	329	274	310	325
Caballa	522	510	323	290
Total de captura	3.911	2.914	3.573	3.115

Tomando como referencia estos datos de partida, a los que se han ido sumando otros igualmente importantes relacionados con la utilización de las dietas y en general con la sostenibilidad del sector acuícola, los estudios basados con la inclusión de ingredientes alternativos en los piensos para peces se han hecho más relevantes en los últimos años; más aún si tenemos en cuenta el potencial y necesidad de desarrollo del sector.

En el caso de la harina de pescado, desde finales de los 90 se viene observando una estabilización en el consumo de harina de pescado por la acuicultura en alrededor de una tercera parte (2-2.5 mmT) de la producción mundial de esta harina, a pesar del rápido crecimiento de este sector, más del 365 % desde 1986, (Fig. 6) (Kristofersson y Anderson, 2006). Parece por tanto que se viene haciendo una utilización más efectiva de la harina de pescado, o que está siendo sustituida en los piensos por otros ingredientes proteicos.

Innumerables trabajos experimentales hacen referencia a la utilización de ingredientes proteicos alternativos de muy diverso origen y calidad en piensos para peces. Debido a esta gran cantidad de trabajos en el presente capítulo se muestra de forma resumida la utilización de dos tipos de ingredientes, harinas vegetales y productos y subproductos de la pesca, por los motivos que se indican: para el primero de los casos, la producción de ingredientes vegetales se está viendo favorecida por el continuo desarrollo de nuevas tecnologías en la producción de los mismos y de sus subproductos; en el segundo caso por la necesidad de buscar alternativas viables a los desechos de la pesca o incluso

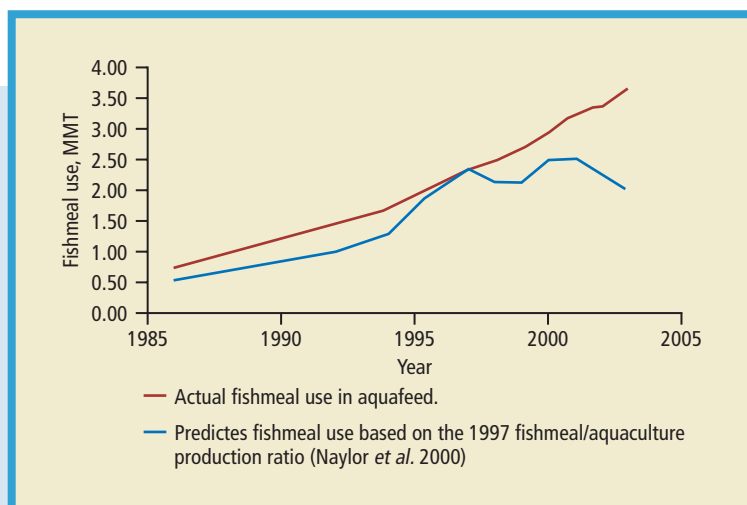


FIGURA 6.

Datos estimados frente a los reales en el uso de harina de pescado en acuicultura (en Kristofersson y Anderson, 2006).

de abrir nuevos tipos de pesquerías, lo que promueve la aparición en el mercado de ingredientes con posibilidad de inclusión en los piensos.

Interesa reseñar desde el punto de vista metodológico que desde hace unos años, y sea cual sea el tipo de ingrediente alternativo a evaluar, se le ha dado especial énfasis al hecho de que los máximos niveles de inclusión en dieta no van a depender únicamente de la calidad del propio ingrediente sino del ingrediente/es a sustituir. En la figura (Fig. 7, adaptada de Kissil *et al.*, 1997) se muestra como cambian las posibilidades de sustitución de un concentrado de colza utilizando una harina de pescado de alta calidad frente a otra estándar.

3.5.1. Harinas vegetales en dietas para peces

Existe un gran número de trabajos en los que se demuestra la posibilidad de la sustitución parcial de harina de pescado de la dieta sin que ello afecte al crecimiento ni al rendimiento productivo del pienso en diferentes especies de peces (Alexis *et al.*, 1985; De la Higuera *et al.*, 1988; Moyano *et al.*, 1992; Gomes *et al.*, 1995; Robaina *et al.*, 1995, 1998, 1999; Hardy, 1996; Carter & Hauler, 2000; Glencross

Experiencias con concentrado proteico de colza				
Kissil et al., 1997		RESULTADOS		
		% Prot. Subst.	SGR	F CR
Fish weight	→ 2.6 g	0	3.24a	1.10a
P/L	→ 45/13	26	3.09a	1.15ab
		39	2.86b	1.25b
		53	2.48c	1.48c
Norse LT94	→ 39		3.31a	1.07a

FIGURA 7.
Resultados de experiencias con concentrado proteico de colza (adaptada de Kissil *et al.*, 1997).

et al., 2003a; Jobling, 2004; Shafaeipour *et al.*, 2008). Diferentes especies muestran distinta capacidad para la utilización dietética de las proteínas cuando son evaluadas individualmente respecto a una dieta control basada en harina de pescado. Especies de agua dulce presentan buenos resultados de crecimiento, supervivencia y rendimiento del pienso con proteínas vegetales a niveles de sustitución del 80 % e incluso 100 % en algunos de los casos (Watanabe *et al.*, 1993; Gomes *et al.*, 1995; Kaushik *et al.*, 1995); las especies de agua salada permiten por lo general menores tasas de sustitución (Robaina *et al.*, 1995; Nengas *et al.*, 1996; Alexis, 1997; El-Kerdawy & Salama, 1997; Glencross *et al.*, 2003c).

Se ha demostrado en diferentes experiencias que mayores niveles de sustitución son posibles mediante el uso de mezclas de ingredientes frente a la utilización de los mismos de manera individual (Shimeno *et al.*, 1993; Watanabe *et al.*, 1993; Akiyama *et al.*, 1995; Kaushik *et al.*, 2004). En trucha se ha llegado a reemplazar el 100 % de la harina de pescado por harinas vegetales y una mezcla de aminoácidos sin que se afecte al crecimiento (Rodehutscord *et al.*, 1995). En la lubina europea (Kaushik *et al.*, 2004) consiguieron buenos resultados de crecimiento y retención de nitrógeno con sólo un 5 % de harina de pescado en la dieta, observándose sin embargo que los animales incrementaron de manera significativa su contenido graso (15,6 %), en comparación



con una dieta control con harina de pescado. Igualmente en la dorada europea, la sustitución de un 40 % de la harina de pescado por una mezcla de harinas vegetales ocasionó una acumulación de lípidos en los animales (Robaina *et al.*, datos no publicados). Para el salmón niveles de sustitución por encima del 80 % por harinas vegetales han resultado en reducciones en la ingesta y en el crecimiento (Sveier *et al.*, 2001); sin embargo niveles próximos al 100 % se han conseguido más recientemente mediante la adición de aminoácidos cristalinos, junto con un 5 % de hidrolizado de proteína de pescado y un atrayente (Espe *et al.*, 2006). Este incremento creciente de la inclusión de vegetales en piensos para peces y su efecto en la calidad y composición corporal de los animales está siendo investigado en los últimos años en relación a la calidad de los mismos.

Entre los principales factores que limitan el uso de las materias primas vegetales en los piensos para peces están sus *características nutricionales*, problemas de *digestibilidad* en muchos de los casos, y contenido en *antinutrientes*. Las harinas vegetales presentan normalmente deficiencias en uno o más aminoácidos esenciales para los peces, lo que fácilmente puede resultar en un desequilibrio de aminoácidos, reducción del crecimiento de los animales y utilización de la proteína dietética ocasionando mayores descargas de nitrógeno al medio. El uso digestivo de los vegetales puede mejorarse mediante tratamientos tecnológicos usuales en el procesado: descascarado, extrusión o cocción (Allan y Booth, 2004; Glencross *et al.*, 2007). En cuanto a la presencia de antinutrientes y posibles mecanismos de eliminación, estos aparecen ampliamente referidos en infinidad de publicaciones que han sido recopiladas entre otros por Francis *et al.* (2001). Una relación de factores antinutricionales presentes en algunos de los ingredientes usados normalmente en los piensos se muestra en la tabla siguiente (Tabla 4).

Entre todos los vegetales, la soja (*Glycine maxima*) es la fuente proteica vegetal más ampliamente utilizada en la sustitución de la harina de pescado en piensos para acuicultura. Los motivos para ello se basan en un alto contenido proteico, por encima del 45 %, elevada disponibilidad a lo largo del año y bajo nivel de fósforo. Sin embargo, los derivados de la soja son de las materias primas vegetales con mayor



TABLA 4.

Relación de factores antinutritivos en algunos ingredientes vegetales
(en A. Borquez 2008, tomado de Glencross *et al.*, 2002).

Factor Antinutricional	Soja (a)	Lupino (b)	Canola	Arvejas
Alcaloides (mg/Kg MS)	10	200	n.d.	n.d.
Glucocinolatos (mol/Kg MS)	n.d.	n.d.	9000	n.d.
Lecitinas (diluciones)	n.d.	n.d.	n.d.	4
Oligosacaridos (g/Kg MS)	60	50	30	35
Fitatos (g/Kg MS)	15	5	40	5
Inhibidor proteasas (g/Kg MS)	3,1	0,2	n.d.	2,9
Saponinas (g/Kg MS)	5000	573	n.d.	n.d.
Taninos totales (g/Kg MS)	n.d.	n.d.	1,8	3,7

n.d.: no determinado; (a) Harina descascarada y desengrasada; (b) Harina semilla entera de *L. angustifolius*.

contenido en componentes antinutricionales, conteniendo por ejemplo aproximadamente un 30 % carbohidratos indigestibles (Refstie *et al.*, 2000), y al menos cinco inhibidores de la tripsina (Adelizi *et al.*, 1988). El procesamiento de la soja para producir las diferentes harinas y concentrados proteicos correspondientes mejora significativamente el valor nutritivo de la misma; así la digestibilidad de la proteína y del P contenidos en la soja sometida a tratamientos con calor es mayor que en la soja desengrasada cuando se incluye en dietas para la lubina asiática (McMeniman, 1998).

Tanto en el caso del N como del P, la inclusión de harinas vegetales repercutirá en los desechos producidos de estos nutrientes atendiendo principalmente a la calidad de las harinas, la forma en que estos nutrientes aparezcan contenidos en ellas, la especie y tamaño de animales para los que se utilicen y las condiciones en que estos se cultiven. En el caso del N, aunque normalmente los patrones de excreción se mantienen para una misma especie tras la adición de harinas vegetales, los totales excretados sí que se verán afectados. Variaciones en los niveles de excreción de amonio al medio en doradas alimentados con niveles crecientes de harina de algas y subproductos de destilería se muestra en la Fig. 8; asimismo, en esta misma experiencia se obtuvieron niveles de amonio plasmáticos post-alimento relacionados con la excretas observadas (Robaina *et al.*, datos no publicados).

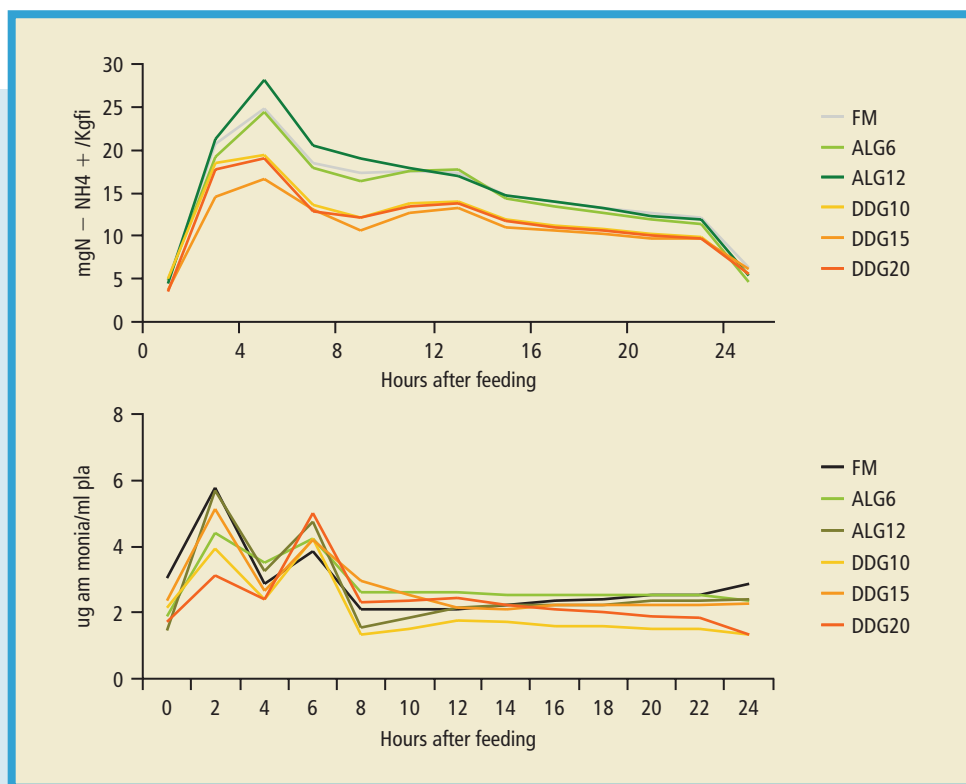


FIGURA 8.

Excreción post-alimento de amonio en doradas alimentadas con harina de algas (6 y 12 % del total de la proteína) y granos de destilado (10, 15 y 20 % del total de la proteína) en comparación con una dieta control (HP) (Robaina *et al.*, datos no publicados).

El tipo de procesado utilizado en la producción del alimento es otro factor a considerar que influye en los niveles de excreción originados cuando se incluyen vegetales en la dieta (Robaina *et al.*, 1999) (Tabla 5).

Por último, la adición en la dietas de ácido cítrico o complejos minerales mejora en algunas especies las retenciones de N y P reduciendo la eliminación de estos nutrientes al medio. Si bien el papel de estos compuestos sobre la biodisponibilidad de minerales en animales terrestres ha sido ampliamente estudiada, el potencial de estos compuestos en los peces aparece referido en un pequeño número de trabajos. En

TABLA 5.

Ingesta de nitrógeno y desechos fecales y metabólicos en lubina europea alimentada con pienso peletizado (P) y extrusionado (E) con y sin gluten de trigo (0 y 30 %) (Robaina *et al.*, 1999).

	E0	P0	E30	P30
N intake, mg kg ⁻¹ d ⁻¹	609 ± 46	657 ± 31	749 ± 67	821 ± 70
Fecal losses, mg kg ⁻¹ d ⁻¹	47 ± 3	50 ± 2	34 ± 3	35 ± 3
N-NH41 excretion (mg kg ⁻¹ d ⁻¹)	209 ± 19 ^a	285 ± 82 ^b	291 ± 16 ^b	389 ± 52 ^c
N-NH41 excretion (%N intake)	(34 %)	(43 %)	(39 %)	(47 %)

uno de los más recientes, Sarker *et al.* (2007), comprobaron una mejor respuesta para el ácido cítrico en el crecimiento, la conversión del alimento y la retención tanto de N como de P en dietas con ingredientes vegetales, frente a la adición de P inorgánico, estableciéndose como idóneo un 1 % de inclusión.

3.5.1.1. Algas en dietas para acuicultura

Existe un significativo número de estudios en los que se incluyen diferentes tipos de algas en dietas para peces, tanto microalgas (Atack *et al.*, 1979; Appler, 1985; Nemetipour *et al.*, 1990; Nandeesha *et al.*, 2001), como macroalgas (Nakagawa y Kasahara, 1986; Nakagawa *et al.*, 1987; Yone *et al.*, 1986; Satoh *et al.*, 1987; Nakagawa *et al.*, 1997). A modo de resumen de estos primeros trabajos con inclusión dietética de algas en diferentes especies de peces, podrían ser destacados los siguientes efectos: incremento significativo en las tasas de crecimiento y utilización del alimento (Yone *et al.*, 1986; El Sayed, 1994; Mustafa *et al.*, 1994; Mustafa y Nakagawa, 1995), mejoras en la asimilación de proteínas (Yone *et al.*, 1986; Nakagawa *et al.*, 1997), efecto positivo sobre metabolismo lipídico (Nakagawa y Kasahara, 1986; Nakagawa *et al.*, 1987; Robin y Vincent, 2003), mejoras en la coloración (Gouveia *et al.*, 2003), incremento de la función hepática (Nematipour *et al.*, 1987; Nakagawa *et al.*, 1995), mejoras en la respuesta al estrés (Nakagawa *et al.*, 1997) e incrementos en la resistencia a enfermedades (Satoh *et al.*, 1987). Aparte, y desde el punto de vista tecnológico, a las algas se les atribuye un importante efecto aglutinante durante el procesamiento del alimento (Hashim y Mat Saat, 1992).



En la actualidad, a los beneficios nutritivos que promueven las algas se unen mejoras en las tecnologías de producción a gran escala e incremento del contenido proteico de las mismas, lo que hace de esta materia prima un ingrediente novedoso que recibe creciente atención en la formulación de piensos para acuicultura. Las macroalgas vienen utilizándose en diferentes trabajos como organismos fijadores (biofiltradores) de nutrientes en los efluentes de las granjas acuícolas, con lo que se consigue, no sólo, incrementar su contenido proteico, sino además reducir las excreciones de los sistemas de producción al medio (Lahaye *et al.*, 1995; Pinchetti *et al.*, 1998).

La respuesta frente a la inclusión de algas en el alimento es especie-específica, con efectos beneficiosos en general para bajos niveles de incorporación en las fórmulas, aunque en algunas especies determinadas como la tilapia se haya logrado incluir a niveles de hasta un 75 % de la proteína dietética (El Sayed *et al.*, 1994). En estudios recientes con lubina europea de 4,7g (Valente *et al.*, 2006), encontraron buenos resultados de crecimiento, utilización de nutrientes y composición de los animales con una pequeña adición de tres especies de algas; así, las algas *Gracilaria bursa-pastoris* y *Ulva rigida* pueden ser incluidas hasta un 10 % de la fórmula y *Gracilaria cornea* únicamente hasta un 5 %; para estos niveles de incorporación estos autores no encontraron efecto sobre la palatabilidad de las dietas.

Uno de los efectos descritos a nivel fisiológico (Yone *et al.*, 1986), muestra que la inclusión de algas en dietas para la dorada japonesa provoca un retraso en la absorción de carbohidratos y proteínas, produciendo de esta forma una utilización más efectiva de los nutrientes, con lo que se consiguen mejores tasas de crecimiento y eficiencia nutritiva del pienso. Al objeto de comprobar este tipo de respuesta, se llevó a cabo en la dorada europea una experiencia en la que los peces fueron alimentados con una dieta control con harina y aceite de pescado, frente a otra dieta conteniendo un subproducto de algas (28 % de proteína) procedente de la extracción de agar y compuesto principalmente por *Gellidium spp.*, que fue incluido en una pequeña proporción en la dieta (6 % de la proteína total) atendiendo a experiencias previas con esta misma especie (Fernández-Vaquero *et al.*, 2000). Tras 24 horas de inanición, los peces se alimentaron en una sola toma a primera hora

de la mañana, siendo sacrificados a diferentes horas (0, 4, 6, 8, 10 y 24) tras la alimentación, para la observación de los tejidos digestivos y hepáticos. Efectivamente se comprueba que existe en el caso de los lípidos un retraso en la absorción, con picos máximos de absorción de los mismos caracterizados por la presencia de numerosas vacuolas lipídicas en el epitelio intestinal entre 4 y 6 horas tras la alimentación para los peces del tratamiento control, y 2-3 horas más tarde para los peces alimentados con algas, con un pico máximo en este caso a las 8 horas que se prolongó incluso hasta 24 horas tras la alimentación (Fig. 9) (Fernández-Vaquero *et al.*, 2001).

Si bien aún con problemas de costo para su inclusión en las dietas comerciales, la espirulina es una de las microalgas más utilizadas en peces, con niveles de incorporación normalmente superiores debido a su elevado contenido proteico. Actualmente se producen diferentes productos y subproductos de esta microalga con relaciones calidad-precio

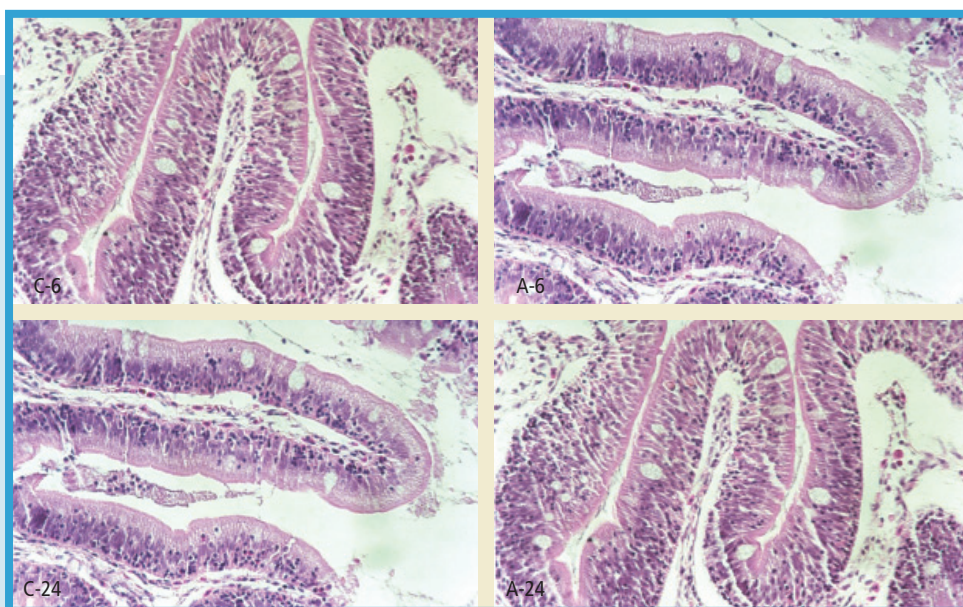


FIGURA 9.

Tejido digestivo en doradas alimentadas con un pienso control (C) y otro de algas (A) a las 6 y 24 h tras la alimentación (Fernández-Vaquero *et al.*, 2001).



que empiezan a ser competitivos. Nandeesha *et al.*, (1998), sustituyeron un 25, 50, 75 y 100 % de la proteína de pescado por proteína de espirulina en dietas para carpa (*Cyprinus carpio*), con mejoras en el crecimiento, la digestibilidad y la retención proteica para todos los niveles; así mismo, no encontraron efectos sobre la calidad tanto en filetes crudos como cocidos. En ese mismo año y en dietas para tilapia Olvera-Novoa *et al.* (1998), mostraron como únicamente niveles de sustitución de hasta un 40 % de la proteína de pescado por proteína de espirulina son recomendables. Más recientemente, en dietas para esturión *Acipenser baeri*, Palmegiano *et al.* (2005), encontraron que la espirulina mejoró significativamente el crecimiento, el FCR y el PER cuando se incorporó en proporciones del 40, 50 y 60 % en el alimento, con los mejores resultados para el 50 % de inclusión; incrementos significativos de ácidos grasos MUFA y PUFA en los filetes se obtuvieron por la ingesta de todos los niveles dietéticos de espirulina ensayados.

Aunque bien detallado en humanos y animales terrestres, son muy pocos los trabajos que relacionan el uso de espirulina (*S. plantensis*) en peces con su efecto inmunomodulador. Duncan y Klesius (1996) encontraron una mejora de la inmunidad no específica en pez gato (*Ictalurus punctatus*). Posteriormente, Hironobu *et al.*, (2006) encontraron una potenciación del sistema inmune en carpas (*Cyprinus carpio*) de 100 g de peso tras la alimentación con una suspensión de espirulina seca disuelta en suero fisiológico; 0,1 ml de esta suspensión se administró oralmente mediante entubado a razón de 1, 10 y 25 mg/pez evaluándose diferentes parámetros en los días 1, 3 y 5 tras la ingesta. Entre otros factores, los resultados muestran una mejora de la respuesta fagocítica y la producción de anión superóxido en las células fagocíticas del riñón; la expresión de los genes de la interleukina (IL)-1 α y factor de necrosis tumoral también incrementó en los peces alimentados con espirulina.

3.5.2. Productos y subproductos de la pesca

El mercado de las harinas de pescado presenta diferentes calidades y precios debido a las diferencias en la frescura, tipo de producto utilizado y condiciones de procesado. La *calidad de la harina de pescado* vendrá definida mayormente por su contenido en nutrientes, la digestibilidad



de los mismos y la cantidad de productos de degradación de las proteínas (aminas biogénicas) que contenga. A groso modo se puede hablar por tanto de harinas de pescado de alta calidad, calidad estándar y baja calidad, que influirán de manera distinta en las respuestas productivas de los animales (Pike, 1993, Moksness *et al.*, 1995). En este sentido, las harinas de pescado de calidad baja o estándar podrían ser consideradas como ingredientes alternativos a la de alta calidad, harinas de referencia en la evaluación de requerimientos nutricionales.

El efecto de la inclusión dietética de dos calidades de harinas de pescado «high and low» y de una mezcla (50 %) de las mismas se evaluó en piensos para dorada (Aksnes *et al.*, 1997). Todos los grupos mostraron similares tasas de crecimiento y diferencias en la eficacia alimenticia, peores para la dieta con baja calidad de harina de pescado. Se encontró una correlación significativa entre SGR y FE y los valores de digestibilidad de la proteína y contenido en cadaverina y putrescina; las ecuaciones de regresión obtenidas por esos autores se muestran a continuación:

$$\text{SGR} = -0.22 + 0.013 \text{ X true protein digestibility mink } (P < 0.01)$$

$$\text{SGR} = 1.10 - 0.26 \text{ X cadaverine } (P < 0.01)$$

$$\text{SGR} = 1.02 - 0.003 \text{ X putrescine } (P < 0.01)$$

$$\text{FE} = -0.29 + 0.0104 \text{ X true protein digestibility mink } (P < 0.05)$$

$$\text{FE} = 0.74 - 0.20 \text{ X cadaverine } (P < 0.05)$$

$$\text{FE} = 0.67 - 0.002 \text{ X putrescine } (P < 0.01)$$

La inclusión en dietas para dorada de harina de pescado de baja calidad con niveles crecientes de lípidos (Fig. 10) mejora la utilización de la dieta y la retención de P en los peces (Vergara *et al.*, 1999); según estos autores, la calidad de la harina de pescado presenta una influencia creciente en la retención de P conforme disminuye el nivel de lípidos de la dieta.

La valoración conjunta de los resultados anteriores con otros de una experiencia de digestibilidad paralela (Garavito *et al.*, 1999) permite mostrar las siguientes figuras que relacionan la calidad de la harina para un bajo nivel de lípidos y la alta calidad de harina para distinto contenido en lípidos, con los valores de retención y excreción de P (Fig. 11).

Si bien se observan disminuciones de la excreción de P al medio mediante las combinaciones adecuadas de calidad de harinas de pes-

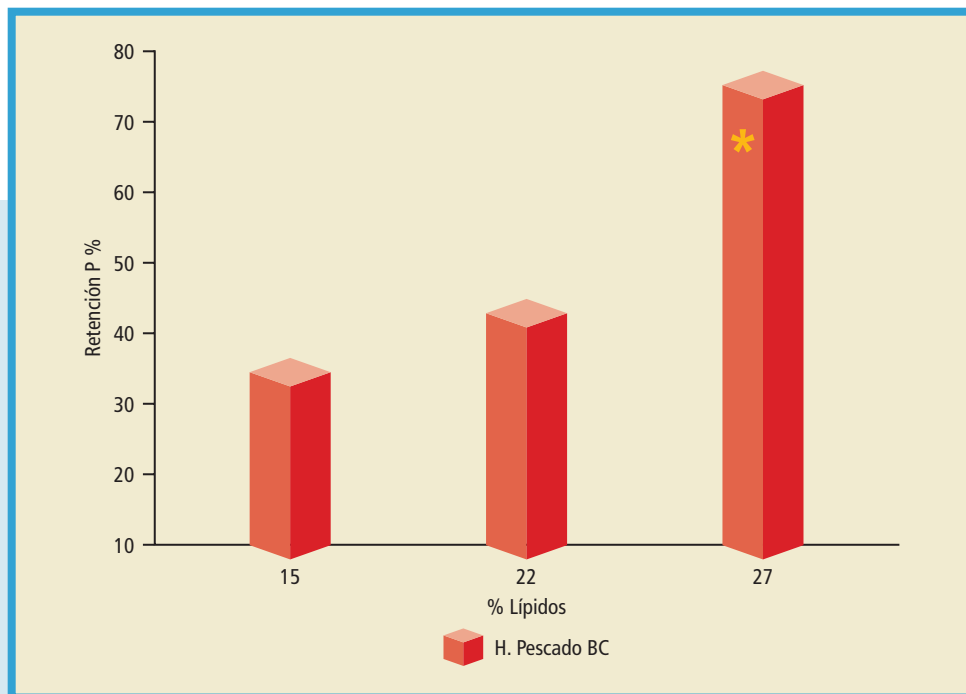


FIGURA 10.

cado y porcentaje de lípidos, la reducción de fósforo de las harinas de pescado y/o la inclusión de otras materias primas con menor contenido en P resultan esenciales para reducir las descargas de este nutriente al medio. Otro mecanismo de reducción consiste en la inclusión en dieta de compuestos asociados a la utilización P. Así por ejemplo, aunque en pocos trabajos en peces, se ha demostrado que la adición de una pequeña cantidad de ácido cítrico (AC) en dietas conteniendo una baja cantidad de harina de pescado (Hernández, 2005 en trucha) o una elevada inclusión de harinas vegetales (Sarker *et al.*, 2005 en dorada japonesa), permite ahorrar el P inorgánico adicional que sería necesario para cubrir las necesidades de los peces; se sugiere que el AC pueda liberar parte del fosfato tricálcico contenido en la harina de pescado, dando lugar a crecimientos y parámetros productivos comparables a los de una dieta con adición de P inorgánico o con un mayor contenido de harina de pescado. Pruebas con diferente porcentaje de inclusión

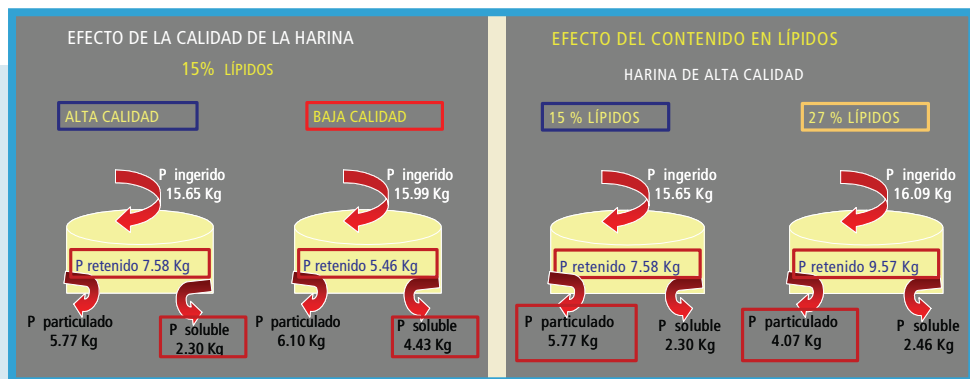


FIGURA 11.

Evaluación de la utilización de P en dietas para dorada formuladas con alta calidad de harina de pescado y diferente nivel de lípidos. Los datos corresponden a la producción de 1000 kg de peces con cada una de las dietas. (Robaina *et al.*, datos no publicados).

de AC en la dorada japonesa establecen como óptimo un 1 % de este compuesto para la mejora significativa de las excreciones de P y N al medio en esta especie (Sarker *et al.*, 2005)

Uno de los productos y subproductos de la pesca más utilizados en piensos para peces provienen del krill. Harinas de Krill, en sus diferentes calidades, han sido utilizadas en diferentes especies y a niveles de inclusión elevadas sin que se vean afectados el crecimiento y los parámetros productivos, siendo considerada de una calidad nutritiva comparable a la de la harina de pescado, con un contenido en proteína que ronda el 50 % y adecuado perfil de aminoácidos (Tabla 6).

Experiencias en bocinegro (*Pagrus pagrus*) muestran la idoneidad de su inclusión, a niveles del 15 % de la dieta para el krill no hidrolizado (Chebbaki, 2001) y de un 20 % para el krill hidrolizado (Schuchardt, 2005), resultando en el primero de los casos una mejor utilización de la proteína dietética con una menor acumulación de lípidos en el músculo por la ingesta de niveles crecientes de krill, y en el segundo unos mejores índices de conversión para un nivel bajo de lípidos (15 %) y una inclusión en dieta del 20 % de krill (aproximadamente un 25 % del total de la proteína). Este tipo de harinas, por su elevado contenido



TABLA 6.
Perfil de aminoácidos (g/100g proteína) de las harinas de krill
y de harina de pescado (en Schuchardt, 2005).

Aminoácidos	Harina de krill	Harina de pescado
Ácido Aspártico	11,0	9,0
Ácido Glutámico	13,8	13,6
Alanina	5,8	6,5
Arginina	6,7	6,1
Cistina	1,2	1,3
Fenilalanina	5,2	4,0
Glicina	4,8	6,5
Histidina	2,5	2,0
Isoleucina	5,0	4,3
Leucina	n.d.	7,8
Lisina	8,2	8,1
Metionina	4,0	3,1
Prolina	4,0	4,2
Serina	4,5	4,5
Tirosina	4,5	3,2
Treonina	4,7	4,4
Triptofano	n.d.	1,1
Valina	5,3	4,8

en pigmentos carotenoides (mayormente astaxantina, 3,3'-dihydroxy-4,4'-diketo- β -caroteno) resulta efectiva además en la deposición de los mismos en el músculo y la piel de los peces. En el caso del bocinegro, desde los 40-50 días de alimentación con harinas de krill se obtienen mejoras significativas en la coloración de la piel de los animales, con incrementos significativos de los valores de a^* (color rojo) y b^* (color amarillo) (Fig. 12).

Sin embargo, aparte de su alto contenido en cenizas totales que en muchos casos limita su nivel de inclusión en las dietas, la normativa europea (Council Directive, 1999) fija un nivel máximo de flúor en el alimento de 150 mg/kg dieta seca, lo que limita sobremanera la posibilidad de inclusión de krill, que incluye niveles de este compuesto de entre 1.000 y 6.000 mg/kg. La relación entre el contenido de flúor

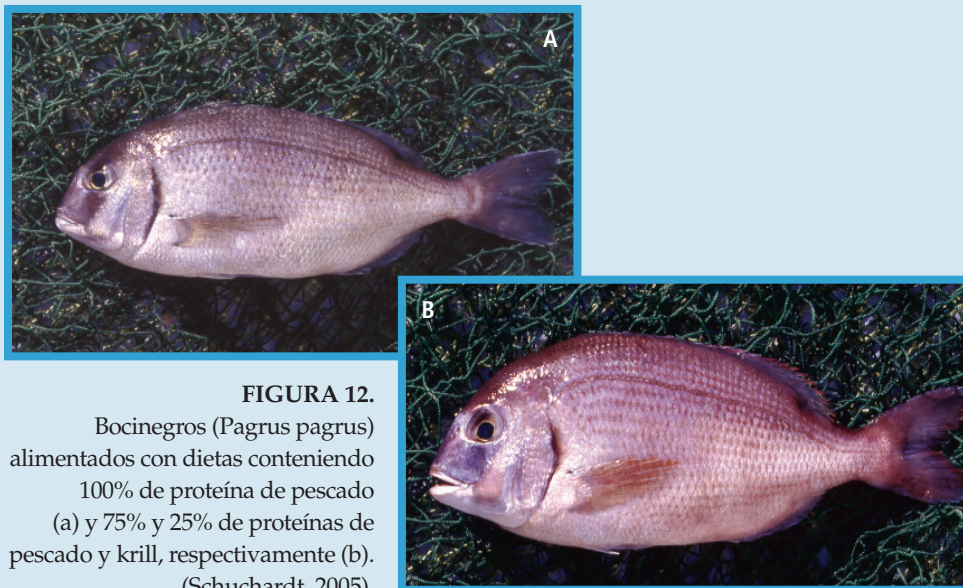


FIGURA 12.

Bocinegros (*Pagrus pagrus*) alimentados con dietas conteniendo 100% de proteína de pescado (a) y 75% y 25% de proteínas de pescado y krill, respectivamente (b). (Schuchardt, 2005).

en la dieta y en los tejidos parece diferenciarse entre especies de agua dulce, que necesitan acumular minerales, y especies de agua salada, que excretan los minerales en exceso para la regulación de su presión osmótica. Julshamn *et al.* (2004), en una experiencia con salmón Atlántico (*Salmo salar*) incluyeron niveles de harina de krill en dieta de 0-30 % a expensas de la harina de pescado, variando de esta forma los niveles de flúor entre 18 y 358 mg/kg; los resultados muestran que los niveles de flúor en tejidos y huesos no se vieron afectados por los niveles dietéticos del mismo. En el caso de especies de agua dulce y con un nivel superior de inclusión, 444 mg/kg de flúor, si bien se obtuvieron cantidades no detectables (<1mg/kg) en los tejidos blandos, no así en el tejido óseo dónde se obtuvieron cantidades muy superiores (2400 mg/kg), además de una reducción en el crecimiento de los animales (Yoshitomi *et al.*, 2006). La eliminación del exoesqueleto del krill permite la obtención de una harina con una cuarta parte del fluor contenido en la harina estándar. Yoshitomi *et al.* (2007) utilizaron esta harina mejorada como sustituto de la harina de pescado a diferentes niveles (0-100 %) en dietas para truchas de 4 g; se obtuvieron resul-



tados productivos comparables entre el control y todos los niveles de krill, siendo la dieta con 100 % krill la única que produjo valores detectables de flúor en el músculo y elevados en las vértebras.

Resultados en la misma línea se obtienen para las harinas de desechos de gambas y langostinos. Este tipo de harinas, con una cantidad inferior de la proteína (40 % proteína aproximadamente), presenta también un alto contenido en cenizas. En dietas con P/L (50/15, para bocinegros de 44 g de peso medio inicial), la inclusión de caparazones de gambas hasta un 16 % no mostró efectos negativos en el crecimiento y la conversión alimenticia (Kalinowski *et al.*, 2005). Para esta especie y este tipo de ingredientes que contienen pigmentos en la dieta, son necesarios tiempos de alimentación de 180 días para la obtención de diferencias significativas en el crecimiento, aunque 120 días serían suficientes desde el punto de vista de la coloración de la piel de los animales (Tabla 7) (Kalinowski *et al.*, 2007). En esta misma especie la alimentación con harinas de subproductos de gambas muestra menor deposición de lípidos y mayor de proteínas en los peces, aunque sin diferencias significativas con una dieta control (100 % proteína de pescado).

Harinas de cangrejo y sub-productos de las mismas han sido utilizadas con buenos resultados de crecimiento, eficacia alimenticia, índices de utilización de las proteínas y elevadas digestibilidades de la proteína y los lípidos dietéticos en diferentes especies de peces (Ellis y Reigh,

TABLA 7.

Crecimiento y utilización del alimento (media \pm SD) en bocinegros alimentados con harina de desechos de gambas durante diferentes tiempos (60, 120 y 180 días) previo al despesque. (Kalonowski *et al.*, 2007).

	Control	SM60	SM120	SM180
Peso inicial (g)	187.3 \pm 16.4	187.5 \pm 18.5	186.3 \pm 16.8	184.9 \pm 14.7
Peso final (g)	375.6 \pm 51.3a	399.2 \pm 59.5ab	407.6 \pm 37.9ab	437.4 \pm 58.3b
*Crecimiento (%)	100.3 \pm 6.5a	113.1 \pm 3.9ab	118.4 \pm 4.5ab	136.9 \pm 17.8b
**SGR	0.39 \pm 0.02a	0.42 \pm 0.01ab	0.44 \pm 0.01ab	0.48 \pm 0.04b
***FCR	2.5 \pm 0.3	2.1 \pm 0.1	2.2 \pm 0.3	2.1 \pm 0.2

*Crecimiento (%) = ((Peso final (g) – Peso inicial (g))/Peso inicial)*100.

**SGR = ((Ln peso final – Ln peso inicial)/ n.º días) \times 100.

***FCR = Ingesta (g)/Incremento de peso (g).



1991; Toppe *et al.*, 2006). Si bien no hay constancia de trabajos relacionados con este tipo de harinas y la coloración de los peces, el elevado contenido en ésteres de astaxantina (principalmente diésteres y en menor medida monoésteres) (Coral-Hinostroza y Bjerkeng, 2002), las muestran como posibles alternativas dietéticas para la adecuada coloración de la piel del bocinegro. En esta línea se vienen llevando a cabo en el último año diferentes ensayos en bocinegro en los que las fórmulas son ajustadas con harinas de cangrejo de diferente procedencia, agua dulce y agua salada, y diferentes calidades, productos y subproductos (40 % contenido proteico aproximadamente), en relación al aporte proteico y de pigmentos de estos ingredientes. Resultados preliminares muestran la idoneidad de estas materias primas hasta niveles de un 20 % de la proteína de la dieta con resultados comparables e incluso mejores en algunos de los casos respecto a un pienso control con 100 % de harina de pescado. Otros parámetros relacionados con la calidad y tiempo de vida útil del filete resultan también prometedores (Robaina y García Romero, datos no publicados).

3.6. PROTEÍNAS DIETÉTICAS Y CALIDAD DE FILETE

El valor nutritivo y las propiedades organolépticas son dos características que unidas a la frescura definen la percepción de la calidad de los peces por el consumidor. Las dos primeras son altamente dependientes de la composición química de los peces, que a su vez dependerá de parámetros intrínsecos del animal, factores ambientales y alimentación (Caggiano, 2000; Grigorakis, 2007).

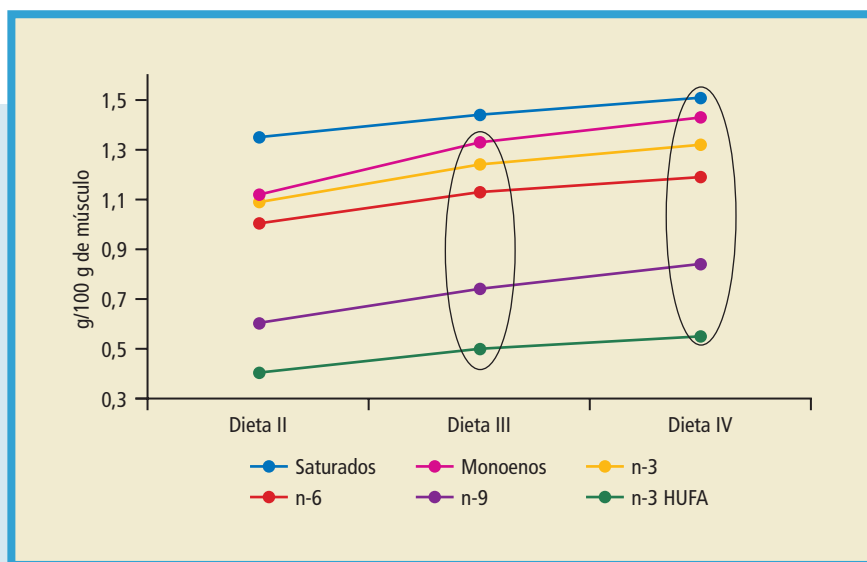
Las proteínas y los lípidos aparecen ampliamente relacionados a nivel metabólico en los peces, tal y como ocurre en otros animales (Sugano *et al.*, 1988; De Schrijver, 1990; Sugano y Koba, 1993). Así, si bien existe normalmente en los peces una clara relación entre los perfiles de ácidos grasos en dieta y músculo (Wagboo *et al.*, 1993; Bell *et al.*, 2002; Caballero *et al.*, 2002; Izquierdo *et al.*, 2003; De Francesco *et al.*, 2007), se ha encontrado que la cantidad y calidad de la proteína dietética afecta no sólo al metabolismo del nitrógeno, sino al metabolismo lipídico y a la acumulación y calidad de los lípidos en



los peces (Watanabe *et al.*, 1992; Shimeno *et al.*, 1993; Kaushik *et al.*, 1995; Robaina *et al.*, 1998; Robaina *et al.*, 1999; Resgot *et al.*, 1999; Lupatsch *et al.*, 2003). La proteína dietética se relaciona además con la textura (Johnston, 1999; Johnston *et al.*, 2002) y la susceptibilidad a la oxidación de los lípidos del músculo y por tanto con sus características organolépticas (Smith *et al.*, 1988; Viyakarn *et al.*, 1992; Kaushik *et al.*, 1995; Bjerkeng, *et al.*, 1997; López-Bote *et al.*, 2001).

Lupatsch *et al.* (2003), en un estudio con doradas y lubina sugieren la importancia de las proteínas dietéticas en la deposición de lípidos en el animal, condicionada a la eficiencia de utilización de la proteína y la cantidad de energía disponible de las dietas. La inclusión de harinas vegetales en los piensos condiciona igualmente la deposición de lípidos totales en los peces, tendiendo en muchos de los casos para niveles de inclusión altos a un aumento de los lípidos en diferentes tejidos (De Francesco *et al.*, 2007). Según esto, y en el filete por ejemplo, aunque el perfil graso de la dieta reflejará aquél de los ácidos grasos depositados cuando éstos son expresados en porcentaje del total de ácidos grasos; las figuras pueden cambiar notablemente cuando son expresados en peso de filete. Así por ejemplo, cuando doradas europeas son alimentadas con niveles de sustitución de hasta un 40 % de la harina de pescado por una mezcla de ingredientes vegetales, los resultados muestran una clara relación entre los ácidos grasos de las dieta y los filetes (% del total de ácidos grasos); esos mismos resultados expresados en base húmeda muestran una mayor cantidad de HUFAs, DHA y EPA en los peces alimentados con las harinas vegetales respecto a una dieta control con harina y aceite de pescado (Fig. 13). Esto mismo ocurre en el bocinegro (*Pagrus pagrus*). En esta última especie además se ha observado que los índices de trombogeneicidad y aterogeneicidad de los lípidos en los filetes reflejan aquellos de las dietas correspondientes, observándose una reducción de estos índices en los peces alimentados con dietas que incluyen harinas vegetales respecto a los que lo son con harina y aceite de pescado (Robaina *et al.*, en revisión).

La calidad nutritiva del filete por tanto, aparece fuertemente influenciada por la composición y cantidad de alimento consumido; las características sensoriales (olor, color, sabor, textura, etc.) sin embargo se ven influenciadas en pequeña medida por estos factores (Rasmus-

**FIGURA 13.**

Contenido en ácidos grasos de filete de doradas alimentadas con una dieta control (II) y dietas conteniendo proteínas vegetales en un 30 % (III) y un 40 % (IV) del total de la fórmula (las señales indican diferencias con la dieta control $P < 0.05$) (Robaina *et al.*, datos no publicados).

sen, 2001). En especies de salmónidos se ha encontrado que elevados niveles de inclusión de productos de soja modifican la calidad sensorial de los filetes, especialmente en el sabor, debido a la presencia en los mismos de lípidos solubles volátiles y compuesto fenólicos amargos, no volátiles y solubles en agua (Kaushik *et al.*, 1995). Igualmente en salmonidos no se encontró relación entre la calidad del filete y la proteína vegetal a bajos niveles de inclusión en dieta (Bjerkeng *et al.*, 1997), si bien los resultados van a depender de la cantidad de grasa total del pienso. En la dorada, Sánchez Lozano *et al.* (2007), no encontraron diferencias sensoriales (7 sesiones con 4 panelistas) para dietas conteniendo hasta un 24 % de harina de girasol; tampoco en la dorada y la lubina europea se encontraron diferencias significativas en la textura por la sustitución de la proteína de pescado por 35 % y 40 % de proteína de una mezcla de proteínas vegetales (Tabla 8) (Robaina *et al.*, datos no publicados).



TABLA 8.

Parámetros de textura analizados en dorada alimentadas con una dieta control y dietas con un 30 % y un 40 % de inclusión de proteínas vegetales*.

Parámetros de Textura	Dieta Control	30 % proteínas Vegetales	40 % proteínas vegetales
FRACTURABILIDAD	2150,23 ± 725,84 ^{ab}	2660,61 ± 961,82 ^a	2025,34 ± 668,22 ^b
DUREZA	3761,144 ± 1218,17 ^{ab}	4296,58 ± 1410,58 ^{ab}	3259,50 ± 1073,47 ^a
ELASTICIDAD	0,31 ± 0,04 ^b	0,34 ± 0,05 ^{ab}	0,36 ± 0,08 ^{ab}
COHESIVIDAD	5,84 ± 0,83	5,89 ± 0,91	5,45 ± 1,06
GOMOSIDAD	21465,21 ± 6040,45 ^{ab}	25558,47 ± 10211,13 ^a	17950,27 ± 6878,81 ^b
MASTICABILIDAD	6542,28 ± 1492,83 ^b	8207,29 ± 2376,05 ^a	6012,86 ± 1502,89 ^b
ADHESIVIDAD	-38,43 ± 13,75 ^b	-58,34 ± 21,99 ^a	-46,36 ± 16,15 ^{ab}
ELASTICIDAD AL 2º CORTE	0,08 ± 0,02	0,10 ± 0,06	0,09 ± 0,03

* Valores en una misma fila con diferente superíndice expresan diferencias significativas (P < 0.05).

La fuente de proteína dietética se ha visto que afecta además a la susceptibilidad a la peroxidación lipídica del músculo, tanto en especies de agua dulce como la trucha (*Oncorhynchus mykiss*), como en otras de agua salada como la lubina (*Dicentrarchus labrax*), pudiendo afectar en último término a la calidad y días de vida útil del filete (López-bote *et al.*, 2001). Estos autores probaron dietas isoproteicas en estas dos especies formuladas con cuatro ingredientes proteicos, harina de pescado, soja desengrasada, concentrado proteico de soja y gluten de maíz como ingredientes mayoritarios en cada una de ellas. Los resultados mostraron los mejores crecimientos para la dieta con harina de pescado y los peores para el gluten y el concentrado de soja, en ambas especies por igual sin que se viesen afectadas la composición corporal o la grasa intramuscular. Sin embargo, y bajo condiciones de peroxidación forzada, la dieta basal con harina de pescado produjo las tasas de peroxidación superior, frente a las inferiores observadas para la dieta de gluten y los intermedios de las dos sojas.

BIBLIOGRAFÍA

ADELIZI, PD., ROSATI, RR., WARNER, K., WU, YV., MUENCH, TR., WHITE, MR. and BROWN, PB., 1998. Evaluation of fish-meal free diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquacult. Nutr. 4, no. 4: 255-262.



- AKSNES, A., IZQUIERDO, M.S., ROBAINA, L., VERGARA, J.M. and MONTERO, D., 1997. Influence of fish meal quality and feed pellet on growth, feed efficiency and muscle composition in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 153: 251-261.
- AKIYAMA, T., UNUMA, T., YAMAMOTO, T., MARCOULI, P. and KISHI, S., 1995. Combinational use of malt protein flour and soybean meal as alternative protein sources of fish meal in fingerling rainbow trout diets. *Fisheries. Sci.* 61(5): 828-832.
- ALEXIS, M.N., 1997. Fish meal and oil replacers in Mediterranean marine fish diets. In Tacon, A., Basurco, B. (Eds.) *Feeding Tomorrow's Fish*, pp. 183-204.
- ALEXIS, M.N., PAPARAPARSKOVA-PAPOUTSOGLU, E. and THEOCHARI, V., 1985. Formulation of practical diets for rainbow trout (*Salmo gairdneri*) made by partial or complete substitution of fish meal by poultry by-products and certain plant by-products. *Aquaculture* 50: 61-73.
- ALLAN, G.L. and BOOTH, M.A., 2004. Effects of extrusion processing on digestibility of peas, lupins, canola meal and soybean meal in silver perch *Bidyanus bidyanus* (Mitchell) diets. *Aquaculture Research* 35: 981-991.
- ALLIOT, E., PASTOUREAUD, A. and NEDELEC, J., 1979. Étude de l'apport calorique et du rapport calorico-azote dans l'alimentation du bar, *Dicentrarchus labrax*. Influence sur la croissance et la composition corporelle. En: J.E. Halver and K. Tiews (Eds.). *Proc. World Symp. On Finfish Nutrition and Fish feeds Technology*. Hamburg, Berlin, pp 241-255.
- ATACK, T.H., JAUNCEY, K. and MATTI, A.J., 1979. The utilization of some single cell proteins by fingerling mirror carp (*Cyprinus carpio*) *Aquaculture* 18: 337-348.
- APPLER, H.N., 1985. Evaluation of *Hydrodictyon reticulatum* as protein source in feeds for *Oreochromis* (Tilapia) niloticus and *Tilapia zillii*. *Journal of Fish Biology* 27: 327-334.
- BARLETTA, L., 2003. Portal veterinaria, importancia de la proteína en los peces. <http://portal veterinaria.com.ar/print.php?artid=52>
- BASURCO, B. and ABELLAN, E., 1999. Finfish diversification in the context of Mediterranean marine fish farming development in Abellan, E., Basurco, B. (eds.), *Marine finfish diversification: Current situation and prospects in Mediterranean Aquaculture*. Cahiers Options Méditerranéennes, FAO, Études de recherche, 24B: 9-25.
- BELL, J.G., HENDERSON, R. J., TOCHER, D.R., MCGHEE, F., DICK, J.R., PORTER, A., SMULLEN, R. and SARGENT, J.R., 2002. Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects tissue fatty acid composition and hepatic fatty acid metabolism. *J. Nutr.* 132: 222-230.
- BERGNER, H. AND KRETZ, H.A., 1969. Verdauung, resorption, intermediarstoffwechsel bei landwirtschaftlichen Nutztieren. WEB Deutscher Landwirtschaftsverlag, Berlin.



- BERGER, A. and HALVER, J.E., 1987. Effect of dietary protein, lipid and carbohydrate content on the growth, feed efficiency and carcass composition of striped bass (*Morone saxatilis*) fingerlings. *Aquaculture and Fisheries Management* 18: 345-356.
- BJERKENG, B., FOLLING, M., LAGOCKI, S., STOREBAKKEN, T., OLLI, J.J. and ALSTED, N., 1997. Quality parameters of the flesh of atlantic salmon (*Salmo salar*) as affected by dietary fat content and full-fat soybean meal as a partial substitute for fish meal in the diet. *Aquaculture* 157: 63-82.
- BODIN, N., MAMBRINI, M., WAUTERS, J-B, ABBOUDI, T., OOGHE, W., LE BOULENGE, E., LARONDELLE, Y. and ROLLIN, X., 2008. Threonine requirement for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) at the fry stage are similar. *Aquaculture* 274: 353-365.
- BÓRQUEZ, A.S., 2008. Evaluación nutricional del lupino blanco (*Lupinus albus*) como fuente alternative de proteínas en dietas para salmónidos en Chile. PhD tesis. Universidad de Las Palmas de Gran canaria. pp. 191.
- BROMLEY, D.J., 1980. Effect of dietary protein, lipid and energy content on the growth of turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture* 19: 359-369.
- BUREAU, D.P. KAUSHIK, S.J. and CHO, C.Y., 2003. *Bioenergetics in Fish Nutrition* (Third Edition), pp. 1-59.
- CABALLERO, M.J., OBACH, A., ROSENBLUND, G., MONTERO, D., GISVOLD, M. and IZQUIERDO, M.S., 2002. Impact of different dietary sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 214: 253-271.
- CAGGIANO, M., 2000. Quality in harvesting and post-harvesting procedures-influence of quality. Fish freshness and quality assessment for sea bass and sea bream. *Cah. Options Mediterr.* 51: 55-61.
- CARTER, C.G. and HAULER, R.C., 2000. Fish meal replacement by plant meals in extruded feeds for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture* 185: 299-311.
- CHEBBAKI, K., 2001. Efecto de la nutrición sobre la coloración de la piel y la calidad del filete en bocinegro, *Pagrus pagrus*. Tesis de Máster. II International Master in Aquaculture, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, 93 pp.
- CHO, C.Y. and KAUSHIK, S.J., 1985. Effects of protein intake on metabolizable and net energy values of fish diets. En: C.B. Cowey, A.M. Mackie y J.G. Bell (Eds.). *Fish Feeding and Nutrition*. Academic Press. London, pp. 95-117.
- CHO, C.Y., SLINGER, S.I. and BAYLEY, H.S., 1976. Influence of level and types of dietary protein, and the level of feeding on feed utilization by rainbow trout. *J. Nutr.*, 106: 1547-1556.
- CHO, C.Y., COWEY, C.B. and WATANABE, T., 1985. *Finfish Nutrition in Asia. Methodological Approaches to Research and Development*. IDRC. Ottawa, pp 152.



- Council Directive, 1999. On the undesirable substance and production animal nutrition. J. Eur. Communit. Council Directive 29/EC, L115/32-L115/46.
- CORAL-HINOSTROZA, G.N. and BJERKENG, B., 2002. Astaxanthin from the red crab langostilla (*Pleuroncodes planipes*): optical R/S isomers and fatty acid moieties of astaxanthin esters. Comp. Bioch. And Physiol. Part B: Bioch. And Molecular Biol. 133(3): 437-444.
- CORNELL, J.A., 1990. Experiments with mixtures. Designs, Models and the Analysis of Mixture Data, 2nd ed. Wiley, New York. 632 pp.
- COWEY, C.B., 1979. Protein and amino acid requirements of finfish. In: J.E. Halver and K.Tiews (Eds.). Proc. World Symp. on Finfish Nutrition and Fish feed Technology, Hamburg 20-23 June, 1978. Voll, Berlin, 1: 3-16.
- COWEY, C.B., 1980. Protein metabolism in fish. In: P.J. Buttery y D.B. Lindsay (Eds.). Protein deposition in animals. Butterworths, London, pp. 271-288.
- COWEY, C.B. and SARGENT, J.R., 1979. Nutrition. En: Fish Physiology. W.S.Hoar, D.J. Randall and J.R. Brett (Eds.). Academic Press, 8: 1-786.
- COWEY, C.B., ADRON, J.W., BROWN, D.A. and SHANKS, A.M., 1975. Studies on the nutrition of marine flat fish. The metabolism of glucose by plaice (*Pleuronectes platessa*) and the effect of dietary energy source on protein utilization in plaice. Br J. Nutr. 33: 219-231.
- DANIELS, W.H., and ROBINSON, E.H., 1986. Protein to energy requirement of juvenile's red drum (*Sciaenops ocellatus*). Aquaculture, 53 (3-4), 243-252.
- DE FRANCESCO, M., PARISI, G., PÉREZ-SÁNCHEZ, J., GÓMEZ-RÉQUENI, P., MÉDALE, F., KAUSHIK, S.J., MECATTI, M., POLI, B.M., 2007. Effect of high level fish meal replacement by plant proteins in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) on growth and body/fillet quality traits. Aquac. Nutr. 13: 361-372.
- DE LA HIGUERA, M., GARCÍA-GALLEGO, M., SANZ, A., CARDENOTE, G., SUÁREZ, M.D. and Moyano, F.J., 1988. Evaluation of lupin seed meal as alternative protein source in feeding of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Aquaculture 71: 37-50.
- DE LONG, D.C., HALVER, J.E. and MERTZ, E.T., 1958. Nutrition of salmonoid fishes. VI. Protein requirements of chinook salmon at two water temperatures. J. Nutr. 65: 589-599.
- DE SCHRIJVER, R., 1990. Cholesterol metabolism in mature and immature rats fed animal and plant protein. J. Nutr. 120: 1624-1632.
- DEURENBERG, P. and SCHUTZ, Y., 1995. Body composition: overview of methods and future directions of research. Annals of Nutrition and Metabolism 39: 325-333.
- DUNCAN, P.L. and KLESIUS, P.H., 1996. Effects of feeding Spirulina on specific and nonspecific immune responses of channel catfish. J. Aquat. Anim. Health 8: 308-313.



- EL- KERDAWY, A. and SALAMA, A. 1997. Effect of dietary lipid sources on the growth and fatty acid composition of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Cah. Options Mediterr. 22: 235-242
- ELLIS, S.C. and REIGH, C., 1991. Effects of dietary lipid and carbohydrate levels on growth and body composition of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*. Aquaculture 97: 383-394.
- EL-SAYED, A.-F.M., 1994. Evaluation of soybean meal, Spirulina meal and chicken offal meal as protein sources for silver seabream (*Rhabdosargus sarba*) fingerlings. Aquaculture 127: 169-176.
- Europa Azul, 2000. Para el 2030, la acuicultura dominara los suministros de pescado., www.europa-azul.com/doc16.htm
- ESPE, M., LEMME, A., PETRI, A. and EL-MOWAFI, A., 2006. Can Atlantic salmon (*Salmo salar*) grow on diets devoid of fish meal?. Aquaculture 255: 255-262.
- F.A.O., 2002. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. FAO Viale delle Terme di Caracalla, 00100-Roma, Italia.
- F.A.O., 2004. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. FAO Viale delle Terme di Caracalla, 00100-Roma, Italia.
- F.A.O., 2005. FISHSTAT Plus: Universal software for fisheries statistical time series. Versión 2.3. FAO Fisheries Department, Fisheries Information, Data and Statistical Unit.
- FAUCONNEAU, B., 1985. Protein synthesis and protein deposition in fish. In: C.B. COWEY, A.M. MACKIE and J.G. BELL (Eds.). Nutrition and Feeding in Fish. Academic Press, London, pp. 17-45.
- FERNÁNDEZ-VAQUERO, A., ROBAINA, L., IZQUIERDO, M.S., CABALLERO, M.J., MONTERO, D. and VERGARA, J.M. 2000. Partial replacement of fish meal by corn distilled grains or an agar industry subproduct in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*). IX International Symposium On Nutrition & Feeding In Fish. Miyazaki, Japón, 21-25 de Mayo del 2000.
- FERNÁNDEZ VAQUERO, A., CABALLERO, M.J., ROBAINA, L., VERGARA, J.M., MONTERO, D. and IZQUIERDO, M.S., 2001. Estudio histológico comparado de la absorción de lípidos en doradas (*Sparus aurata*) alimentadas con harina de pescado y un subproducto de algas (*Gellidium spp.*). VIII Congreso Nacional De Acuicultura. Santander, España, 22-25 de mayo de 2001.
- FOURNIER, V., GOUILLOU, M.F., MÉTAILLER, R., VACHOT, C., GUEDES, M.J., TULLI, F., OLIVATELES, A., TIBALDI, E. and KAUSHIK, S.J., 2002. Protein and arginine requirements for maintenance and nitrogen gain in tour teleosts. Br. J. Nutr. 87: 459-469.
- FRANCIS, G., MAKAR, H.P.S. and BECKER, K., 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. Aquaculture 199: 197-227.



- GARAVOTE, O., L. ROBAINA, J.M. VERGARA, D. MONTERO and M.S. IZQUIERDO, 1999. Utilización de fósforo en alevines de dorada (*Sparus aurata*) alimentadas con dietas conteniendo diferente calidad de harina de pescado y distinto nivel de lípidos. VII Congreso Nacional de Acuicultura. Las Palmas de Gran Canaria, España, 19-21 de mayo de 1999.
- GLENCROSS, B., 2006. The nutritional management of barramundi, *Lates calcefer*, a review. Aquac. Nutr. 12: 291-309.
- GLENCROSS, B., CURNOW, J., HAWKINS, W. and FELSING, M., 2002. Evaluation of yellow lupin *Lupinus luteus* meal as an alternative protein resource in diets for sea-cage reared rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. J. World Aquacult. Soc. 33, no. 3: 287-296.
- GLENCROSS, B., HAWKINS, W. and CURNOW, J., 2003 a. Evaluation of canola oils as alternative lipid sources in diets for juvenile red seabream, *Pagrus auratus*. Aquac. Nutr. 9: 305-315.
- GLENCROSS, B., CURNOW, J., HAWKINS, W., KISSIL, G.W.M. and PETERSON, D., 2003b. Evaluation of the feed value of a transgenic strain of the narrow-leaf lupin (*Lupinus angustifolius*) in the diet of the marine fish, *Pagrus auratus*. Aquac. Nutr. 9: 197-206.
- GLENCROSS, B., HAWKINS, W., VEITCH, C., DODS, K., MCCAFFERTY, P. and HAULER, R., 2007. The influence of dehulling efficiency on the digestible value of lupin (*Lupinus angustifolius*) Kernel meal when fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquac. Nutr. 13: 462-470.
- GOMES, E.F., REMA, P., GOUVEIA, A. and OLIVA-TELES, A., 1995. Replacemet of fish meal by plant proteins in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effect of the quality of the fish meal based control diet on digestibility and nutrient balances. Water Science and Technology 31 (10): 205-211.
- GOOLISH, E.M. and ADELMAN, I.R., 1984. Effects of ration size and temperature on the growth of juvenile common carp, *Cyprinus carpio* L. Aquaculture 36: 27-35.
- GRIGORAKIS, K., 2007. Compositional and organoleptic quality of farmed and wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*.) and factors affecting it: A review. Aquaculture 272: 55-75.
- HALVER, J.E., 1957. Nutrition of salmonids fishes. 4. Water soluble vitamin requirements of chinook salmon. J. Nutr. 62: 225-243.
- HALVER, J.E., 1980. Protein and amino acid. Fish feed technology. Lectures presented at the FAO/UNDP Training course in Fish Feed Technology, held at the College of Fisheries, University of Washington, Seattle, Washington, USA.
- HALVER, J.E., 1989. Fish Nutrition, J.E. Halver (Eds.) Academic Press, Inc., pp., 198.



- HALVER, J.E., DELONG, D.C. and MERTZ, E.T., 1957. J. Nutr. 63, 63-95.
- HAMRE, K. and MANGOR-JENSEN, A., 2006. A multivariate approach to optimization of macronutrient composition in weaning diets for cod (*Gadus morhua*). Aquac. Nutr. 12: 15-24.
- HARDING, D.E., ALLEN, O.W. JR. and WILSON, R.P., 1977. Sulfur amino acid requirements of channel catfish: L-methionine and L-cystine. J. Nutr. 107: 2031-2035.
- HARDY, R.W., 1996. Alternate protein sources for salmon and trout diets. Animal Feed Science Technology 59: 71-80.
- HASHIM, R. and MAT SAAT, N.A., 1992. The utilization of seaweed meals as binding agents in pelleted feeds for snakehead (*Channa striatus*) fry and their effects on growth. Aquaculture 108: 299-308.
- HEPHER, B., 1988. Nutrition of pond fishes. University Press. Cambridge, p 388.
- HERNÁNDEZ, A., 2005. Studies on the development of low phosphorus loading diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. PhD thesis, Tokio University of Marine Science and Technology, Tokio, Japan.
- HIRONOBU WATANUKI, KAZUKI OTA, ASMI CITRA MALINA A.R. TASSAKKA, TOSHIMITSU KATO and MASAHIRO SAKAI, 2006. Immunostimulant effects of dietary *Spirulina platensis* on carp, *Cyprinus carpio*. Aquaculture 258: 157-163.
- HOULIHAN, D., BOUJARD, T. and JOBLING, M., 2002. Food intake in fish. Blackwell science Ltd, a Blackwell Publishing Company, oxford, UK, pp 418.
- IZQUIERDO, M.S., ROSENBLUND, G., ARANTZAMENDI, L., ROBAINA, L., MONTERO, D. and OBACH, A., 2003. Dietary lipid sources for sea bream and sea bass I: Growth performance, tissue composition and flesh quality. Aquac. Nutr. 9: 397-407.
- JAUNCEY, K. and ROSS, B., 1982. A guide to tilapia feeds and feeding. Institute of Aquaculture. Univ. of Stirling. Scotland, 111.
- JOBLING, M., 2004. «Finishing» feeds for carnivorous fish and the fatty acid dilution model. Aquac. Res. 35: 706-709.
- JOHNSTON, I.A., 1999. Muscle development and growth: potential implications for flesh quality in fish. Aquaculture 177: 99-115.
- JOHNSTON, I.A., MANTHRI, S., ALDERSON, R., CAMPBELL, P., MITCHELL, D., WHYTE, D., DINGWALL, A., NICKELL, D., SELKIRK, C. and ROBERTSON, B., 2002. Effects of dietary protein level on muscle cellularity and flesh quality in Atlantic salmon with particular reference to gaping. Aquaculture 210: 259-283.
- JULSHAMN, K., MALDE, M. K., BJORVATN K. and KROGEDAL P., 2004. Fluoride retention of Antarctic salmon (*Salmo salar*) fed krill meal. Aquac. Nutr. 10: 9-13.
- KALINOWSKI, C.T., ROBAINA, L.E., FERNÁNDEZ-PALACIOS, H., SCHUCHARDT, D. and IZQUIERDO, M.S., 2005. Effect of different carotenoid sources and their dietary levels



- on red porgy (*Pagrus pagrus*) growth and skin colour. *Aquaculture*. 244: 223-231.
- KALINOWSKI, T., M.S. IZQUIERDO, D. SCHUCHARDT, L.E. and ROBAINA, 2007. Dietary supplementation time with shrimp shell meal on red porgy (*Pagrus pagrus*) skin colour and carotenoid concentration. *Aquaculture* 272: 451-457.
- KAUSHIK, S.J., COVES, D., DUTTO, G., and BLANC, D., 2004. Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 239 (1-4), 391-404.
- KAUSHIK, S.J., CRAVEDI, J.P., LALLES, J.P., SUMPTER, J., FAUNCONNEAU, B. and LAROCHE, M., 1995. Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 133: 257-274.
- KAUSHIK, S.J., 2004. Fish oil replacement in aquafeeds. *Aqua Feeds: Formulation and Beyond* 1: 3-6.
- KIM, K.Y., KAYES, T.B. and AMUNDSON, C.H., 1984. Requirement for sulfur amino acids and utilization of D-Methionine by rainbow trout. *Fed. Pro. (Abstr)*, 43: 338.
- KISSIL, G.W., LUPATSCH, I., HIGGS, D.A. and HARDY, R.W., 1997. Preliminary evaluation of rapeseed protein concentrates as an alternative to fish meal in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Isr. J. Aquacult./Bamidgeh*, Vol. 49, no. 3: 135-143.
- KRISTOFERSSON, D. and ANDERSON, J.L., 2006. Is there a relationship between fisheries and farming? Interdependence of fisheries, animal production and aquaculture. *Marine Policy* 30: 721-725.
- LAHAYE, M., GOMEZ-PINCHETTI, J.L., RIO, M.J. and GARCIA-REINA, G., 1995. Natural decoloration, composition and increase in dietary fibre content of an edible marine algae, *Ulva rigida* (Chlorophyta) grown under different nitrogen conditions. *J. Sci. Food. Agric.* 68: 99-104.
- LEE, J.K., CHO, S.H., PARK, S.U., KIM, K.-D. and LEE, S.-M., 2003. Dietary protein requirement for young turbot (*Scophthalmus maximus*, L.). *Aquac. Nutr.* 9: 283-286.
- LIEBERT, F. and BENKENDORFF, K., 2007. Modelling of threonine and methionine requirements of *Oreochromis niloticus* due to principles of the dilution technique. *Aquac. Nutr.* 13: 397-406.
- LÓPEZ-BOTE, C.J., DIEZ, A., CORRAZE, G., ARZEL, J., ALVAREZ, M., DIAS, J., KAUSHIK, S.J. and BAUTISTA, J.M., 2001. Dietary protein source affects the susceptibility



- to lipid peroxidation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) muscle. *Animal Science* 73 (3):443-449.
- LUO, Z., LIU, Y.J., MAI, K.S., TIAN, L.X., LIU, D.H. and TAN, X.Y., 2004. Optimal dietary protein requirement of grouper *Epinephelus coioides* juveniles fed isoenergetic diets in floating net cages. *Aquac. Nutr.* 10: 247-252.
- LUO, Z., LIU, Y.J., MAI, K.S., TIAN, L.X., YANG, H.J., TAN, X.Y. and LIU, D.H., 2005. Dietary l-methionine requirement of juvenile grouper *Epinephelus coioides* at a constant dietary cystine level. *Aquaculture* 249: 409-418.
- LUPATSCHE, I., KISSIL, W.M. G. and SALAN, D., 2003. Comparisson of energy and protein efficiency among three fish species gilthead sea bream (*Sparus aurata*); European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and white grouper (*Epinephelus aeneus*): energy expenditure for protein and lipid deposition. *Aquaculture* 225: 175-189.
- MACHIELS, M.A.M. and HENKEN, A.M., 1985. Growth rates feed utilization and energy metabolism of the African catfish (*Clarias gariepinus*) as affected by dietary protein and energy content. *Aquaculture* 44: 271-284.
- MAMBRINI, M. and KAUSHIK, S.J., 1994. Partial replacement of dietary protein nitrogen with dispensable amino acids in diets of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Comp. Bioch. Physiol.*, 109A, no. 2: 469-477.
- MAMBRINI, M. and KAUSHIK, S.J., 1995. Indispensable amino acid requirements of fish: correspondence between quantitative data and amino acid profiles of tissue proteins. *Journal of Applied Ichthyology* 11: 240-247.
- MARTÍNEZ-PALACIOS, C.A., RÍOS-DURÁN, M.G., AMBRIZ-CERVANTES, L., JAUNCEY, K.J. and ROSS, L.G., 2007. Dietary protein requirement of juvenile Mexican Silverside (*Menidia estor* Jordan 1879), a stomachless zooplanktophagus fish. *Aquac. Nutr.* 13: 304-310.
- McMENIMAN, N., 1998. The apparent digestibility of feed ingredients based on stripping methods. In: *Fishmeal Replacement in Aquaculture Feeds for Barramundi* (Williams, K.C., ed.), pp. 46-70. Project 93/120-04, Final Report to Fisheries R&D Corporation, Canberra, Australia.
- MEADE, J.W., KRISSE, W.F. and ORT, T., 1983. Effect of temperature on production of tiger muskellunge in intensive culture. *Aquaculture* 32: 157-164.
- MILLIKIN, M.R., 1982. Effects of dietary protein concentration on growth feed efficiency and body composition of age-0 striped bass. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 111: 373-378.
- MILLIKIN, M.R., 1983. Interactive effects of dietary protein and lipid on growth and protein utilization of age-0 striped bass. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 112: 185.
- MIRANDA-AVALOS, F.J., 2003. ¿Estamos en los albores de una pesquería moderna? www.lista-oannes.rcp.net



- MOHANTA, K.N., MOHANTY, S.N., JENA, J.K. and SAHU, N.P., 2008. Protein requirement of silver barb, *Puntius gonionotus* fingerlings. *Aquac. Nutr.* 14: 143-152.
- MOKSNESS, E., ROSENBLUND and LIE, O., 1995. Effect of fish meal quality on growth of juvenile wolffish, *Anarhichas lupus*. *Aquac. Res.* 26: 109-115.
- MOON, P. and SPENCER, D.E., 1974. A geometry of nutrition. *J. Nutr.* 104: 1535-1542.
- MOON, H.Y. and GATLIN, D.M. III, 1991. Total sulfur amino acid requirement of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture* 95: 97-106.
- MOYANO, F.J., CARDENETE, G. and DE LA HIGUERA, M., 1992. Nutritive value of diets containing a high percentage of vegetable proteins for trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquat. Living Resour.* 5: 23-29.
- MURAI, T., OGATA, I., HIRASAWA, T., AKIYAMA, T. and NOSE, T., 1987. Portal absorption and hepatic uptake of amino acids in rainbow trout force fed complete diets containing casein or crystalline amino acids. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* 53: 1847-1859.
- MUSTAFA, M.G. and NAKAGAWA, H., 1995. Effects of algae meal as feed additive on growth, feed efficiency, and body composition in red sea bream. *Fisheries science Tokyo* 61, 25-28162.
- MUSTAFA, M.G., TAKEDA, T., UMINO, T., WAKAMATSU, S. and NAKAGAWA, H., 1994. Effects of *Ascophyllum* and *Spirulina* meal as feed additives on growth performance and feed utilization of red sea bream, *Pagrus major*. *J. Fac. Appl. Biol. Sci.* 33: 125-132.
- NAKAGAWA, H. and KASAHARA, S., 1986. Effect of *Ulva* meal supplement to diet on the lipid metabolism of red sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 52, 887-893.
- NAKAGAWA, H., KASAHARA, S. and SUGIYAMA, T., 1987. Effect of *Ulva* meal supplementation on lipid metabolism of black sea bream, *Acanthopagrus scheidt-geli* (Bleeker). *Aquaculture* 62(2): 109-121.
- NAKAGAWA, H., TAKEDA, T.A., TETSUYA, U., MUSTAFA, MdG. and YAMASHITA, H., 1995. Effects of feeding regime on biometric parameters and hepatic enzyme activities of young red sea bream, *Pagrus major*. *Applied Biological Science*, Higashi-Hiroshima 34, no. 2: 167-178.
- NAKAGAWA, H., UMINO, T. and TASAKA, Y., 1997. Usefulness of *Ascophyllum* meal as a feed additive for red sea bream, *Pagrus major*. *Aquaculture* 151 (1-4): 275-281.
- NANDEESHA, M.C., GANGADHAR, B., VARGHESE, T.J. and KESHAVANASH, P., 1998. Effects on feeding spirulina platensis on the growth, proximate composition and organoleptic quality of common carp, *Ciprinius carpio*, L. *Aquac. Research* 29: 305-312.



- NANDEESHA, M.C., GANGADHARA, B., MANISSERY, J. K. and VENKATARAMAN, L.V., 2001. Growth performance of two Indian major carps, catla (*Catla catla*) and rohu (*Labeo rohita*) fed diets containing different levels of *Spirulina platensis*. *BioresourceTechnology*, 80(2): 117-120.
- NEMATIPOUR, G.R., NAKAGAWA, H., NANBA, K., KASAHARA, S., TSUJIMURA, A. and AKIRA, A., 1987. Effect of Chlorella -extract supplement to diet on lipid accumulation of ayu. *Nippon Suisan Gakkaishi* 53: 1687-1692.
- NEMATIPOUR, G.R., NAKAGAWA, H. and OHYA, S., 1990. Effect of Chlorella -extract supplementation to diet on in vitro lipolysis in ayu. *Nippon Suisan Gakkaishi* 56(5): 777-782.
- NENGAS, I., ALEXIS, N.M. and DAVIES, S.J., 1996. Partial substitution of fish meal with soybean meal products and derivatives in diets for the gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquac. Res.* 27: 147-156.
- NRC, (National Research Council) 1977. Nutrient Requirement of Warm water Fishes. The National Academies Press. Washington, DC, 57.
- NRC, (National Research Council) 1983. Nutrient Requirements of coldwater Fishes and Shellfishes. The National Academies Press. Washington, DC, 63.
- NRC, (National Research Council) 1993. Nutrient Requirements of Fish. The National Academies Press. Washington, DC, 114.
- OLVERA-NOVOA, M.A., DOMÍNGUEZ-CEN, I.J., OLIVERA CASTILLO, L. and MARTÍNEZ-PALACIOS, C.A., 1998. Effects of the use of the microalga *Spirulina maxima* as fish meal replacements in diets for tilapia, *Oreochromis mossambicus*, Peters, fry. *Aquac. Res.* 29: 709-715.
- OOHARA, I., AKIYAMA, T. and YAMAMOTO, T., 1998. A/E ratio profiles of the essential amino acid requirements among various finfish species. *Nutrition and Technical Development of Aquaculture*: 85-94.
- PAGE, J.W. and ANDREWS, J.W., 1973. Interactions of dietary levels of protein and energy on channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *J. Nutr.* 103: 1339-1346.
- PALMEGIANO, G.B., AGRADI, E., FORNERIS, G., GAI, F., GASCO, L., RIGAMONTI, E., SICURO, B. and ZOCCARATO, I., 2005. Spirulina as a nutrient source in diets for growing sturgeon (*Acipenser baeri*). *Aquaculture Research* 36: 188-195.
- PANDIA, T.J. AND VIVEKANANDAN, E., 1985. Energetics of feeding and digestion. En: P. TYLER & P. CALOW (Eds). *Fish Energetic: New Perspectives*. Croom Helm, London, pp. 99-124.
- PIKE, L.H., 1993. Freshness of fish for fish meal effect on growth of salmon. In: Kaus-hik, S.J., Luquet, P. (Eds.), *Fish Nutrition in Practice*. INRA, Paris, pp. 843-846.
- PINCHETTI, J.L.G., FERNÁNDEZ, E.C., DIEZ, P.M. and REINA, G.G., 1998. Nitrogen availability influences the biochemical composition and photosynthesis of tank-cultivated *Ulva rigida* (Chlorophyta). *J. Appl. Phycol.* 10, 383-389.



- RASMUSSEN, R.S., 2001. Quality of farmed salmonids with emphasis on proximate composition, yield and sensory characteristics. *Aquac. res.* 32: 767-786.
- REFSTIE, S., KORSOEN, O.J., STOREBAKKEN, T., BAEVERFJORD, G., LEIN, I. and ROEM, A.J., 2000. Differing nutritional responses to dietary soybean meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 190: 49-63.
- REGOST, C., ARZEL, J. and KAUSHIK, S.J., 1999. Partial or total replacement of fish meal by corn gluten meal in diet for turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture* 180: 99-117.
- RINGROSE, R.C., 1971. Calorie to protein ratio for brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 28: 1113-1117.
- ROBAINA, L., IZQUIERDO, M.S., MOYANO, F.J., SOCORRO, J., VERGARA, J.M., MONTERO, D. and FERNANDEZ-PALACIOS, H., 1995. Soybean and lupin seed meals as protein sources in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*). Nutritional and histological implications. *Aquaculture* 130: 219-233.
- ROBAINA, L., IZQUIERDO, M.S., MOYANO, F.J., SOCORRO, J., VERGARA, J.M. and MONTERO, D., 1998. Increase of the dietary ratio n3/n6 fatty acids and addition of phosphorus improves liver histology alterations in gilthead seabream fed soybean meal based diets. *Aquaculture* 161: 281-293.
- ROBAINA, L., CORRAZE, G., AGUIRRE, P., BLANC, D., MELCION, J.P. and KAUSHIK, S., 1999. Digestibility, postprandial ammonia excretion and selected plasma metabolites in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed pelleted or extruded diets. *Aquaculture* 179 (1-4): 45-56.
- ROBBINS, K.R., NORTON, H.R. and BAKER, D.H., 1979. Estimation of nutrient requirements from growth data. *J. Nutr.* 109: 1710-1714.
- ROBIN, J.H. and VINCENT, B., 2003. Microparticulate diets as first food for gilthead sea bream larva (*Sparus aurata*): study of fatty acid incorporation. *Aquaculture* 225 (1-4): 463-474.
- RODEHUTSCORD, M., PACK, M., JACOBS, S. and PFEFFER, E., 1995. Amino acid requirement of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) 1. Development of the test diet. *J. Appl. Ichthyol.* Vol. 11, no. 3-4: 386-389.
- ROLLIN, X., MAMBRINI, M., ABBOUDI, T., LARONDELLE, Y. and KAUSHIK, S.J., 2003. The optimum dietary indispensable amino acid pattern for growing Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fry. *Br. J. Nutr.* 90: 865-876.
- ROLLIN, X., WAUTERS, J.B., BODIN, N., LARONDELLE, Y., OOGHE, W., WATHELET, B. and ABBOUDI, T., 2006. Maintenance threonine requirement and efficiency of its use for accretion of whole-body threonine and protein in Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) fry. *Br. J. Nutr.* 95: 234-245.



- RUOHENEN, K., SIMPSON, S.J. and RAUBENHEIMER, D., 2007. A new approach to diet optimization: A re-analysis using European whitefish (*Coregonus lavaretus*). *Aquaculture* 267: 147-156.
- SÁNCHEZ-LOZANO, N.B., TOMÁS, A., MARTÍNEZ-LLORENS, S., NOGALES, S., ESPERT, J., MOÑINO, A., PLA, M. and JOVER, M., 2007. Growth and economic profit of gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) fed sunflower meal. *Aquaculture* 272: 528-534.
- SARKER, Md. S.A., SATOH, S. and KIRON, V., 2005. Supplementation of citric acid and amino acid-chelated trace element to develop environment-friendly feed for red sea bream, *Pagrus major*. *Aquaculture* 248: 3-11.
- SARKER, Md. S.A., SATOH, S. and KIRON, V., 2007. Inclusion of citric acid and/or amino acid-chelated trace elements in alternate plant protein source diets affects growth and excretion of N and P in red sea bream *Pagrus major*. *Aquaculture* 262: 436-443.
- SATIA, B.P., 1978. Quantitative protein requirements of rainbow trout. *Prog. Fish-Cult.* 36: 80-85.
- SATOH, K-I., NAKAGAWA, H. and KASAHARA, S., 1987. Effect of Ulva meal supplementation on disease resistance of red sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi* 53(7): 1115-1120.
- SCHUCHARDT, D., 2005. Requerimientos nutricionales en bocinegro (*Pagrus pagrus*). Tesis doctoral, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, 244 pp.
- SCHUCHARDT, D., VERGARA, J.M., FERNÁNDEZ PALACIOS, H., KALINOWSKI, C.T., HERNÁNDEZ CRUZ, C.M., IZQUIERDO, M.S. and ROBAINA, L., 2008. Effects of different dietary protein and lipid levels on growth, feed utilization and body composition of red porgy (*Pagrus pagrus*) fingerlings. *Aquaculture Nutr.* 14: 1-9.
- SCHULZ, C., HUBER, M., OGUNJI, J. and RENNERT, B., 2008. Effects of varying dietary protein to lipid ratios on growth performance and body composition of juvenile pike perch (*Sander lucioperca*). *Aquaculture Nutr.* 14: 166-173.
- Sernapesca, 2005. Anuarios estadísticos de pesca. Servicio Nacional de pesca, ministerio de Economía, Gobierno de Chile. www.sernapesca.cl
- SHAFAEIPOUR, A., YAVARY, V., FALAHATKAR, B., MAREMMAZI, J.GH. and GORJIPOUR, E., 2008. Effects of canola meal on physiological and biochemical parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquac. Nutr.* 14: 110-119.
- SHAHIDUL, Md. and TANAKA, M., 2004. Optimization of dietary protein requirement for pond-reared mahseer *Tor putitora* Hamilton (Cypriniformes: Cyprinidae). *Aquaculture Research* 35: 1270-1276.
- SHEPHERD, J. and BROMAGE, N., 1988. Intensive fish farming. BSP professional Books, Oxford, pp 404.



- SHIAU, S.Y. and LAN, C.W., 1996. Optimum dietary protein level and protein to energy ratio for growth of grouper (*Epinephelus malabaricus*). *Aquaculture* 145: 259-266.
- SHIMENO, S., HOSOKAWA, H., TAKEDA, M. and KAJIYAMA, H., 1980. Effects of calorie triprotein ratios in formulated diet on the growth, feed conversion and body composition of young yellowtail. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 46 (9): 1083-1087.
- SHIMENO, S., HOSOKAWA, H., TAKEDA, M., KAJIYAMA, H. and KAISHO, T., 1985. Effect of dietary lipid and carbohydrate on growth, feed conversion and body composition in young yellowtail. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 51 (11): 1893-1898.
- SHIMENO, S., MIMA, T., IMANAGA, T. and TOMARU, K., 1993. Inclusion of combination of defatted soybean meal, meta meal, and corn gluten meal to yellowtail diets. *Nippon Suisan Gakkaishi* 59: 1889-1895.
- SIMPSON, S.J. and RAUBENHEIMER, D., 1997. Geometric analysis of macronutrient selection in the rat. *Appetite* 28: 201-213.
- SIMPSON, S.J. and RAUBENHEIMER, D., 2001. A framework for the study of macronutrient intake in fish. *Aquac. Research* 32: 412-432.
- SLINGER, S.J., CHO, C.Y. and HOLUB, B.J., 1977. Effect of water temperature on protein and fat requirements of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). In: *Proc. 12th Ann. Nutr. Conf. Feed Manufacturers*, Guelph Univ., Ontario, 1-5.
- SMITH, R.R., KINCAID, H.L., REGENSTEIN, J.M. and RUMSEY, G.L., 1988. Growth, carcass composition, and taste of rainbow trout of different strain fed diets containing primarily plant or animal protein. *Aquaculture* 70: 309-321.
- STEFFENS, W., 1989. *Principles of Fish Nutrition*. Ellis Horwood, Chichester, pp 384.
- STOREBAKKEN, T., KVIEN, I.S., SHEARER, K.D., GRISDALE-HELLAND, B. and HELLAND, S.J., 1999. Estimation of gastrointestinal evacuation rate in Atlantic salmon (*Salmo salar*) using inert markers and collection of faeces by sieving: evacuation of diets with fish meal, soybean meal or bacterial meal. *Aquaculture* 172, Issues 3-4: 291-299.
- SUGANO, M. and Koba, K., 1993. Dietary protein and lipid metabolism: a multifunctional effect. *Ann. NY Acad. Sci.* 676: 215-222.
- SUGANO, M., ISHIDA, T. and Koba, K., 1988. Protein-fat interaction on serum cholesterol level, fatty acid desaturation and eicosanoid production in rats. *J. Nutr.* 118: 548-554.
- SVEIER, NORDS, BERGE, LIED, 2001. Dietary inclusion of crystalline D- and L-methionine: effects on growth, feed and protein utilization, and digestibility in small and large Atlantic salmon (*Salmon salar* L.). *Aquaculture Nutr.* 7, Issue 3.



- TAKEDA, M., SHIMENO, S., HOSOKAWA, H., KAJIYAMA, H. and KAISYO, T., 1975. The effect of dietary calorie-to-protein ratio on the growth, feed conversion and body composition of young yellowtail. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 41(4): 443-447.
- TAKEUCHI, T., WATANABE, T. and OGINO, C., 1978. Optimum ratio of protein to lipid in diet of rainbow trout. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 44: 683-688.
- TENG, S.K., CHUA, T.E. and LIM, P.E., 1978. Preliminary observation on the dietary protein requirement of stuary grouper, *E. salmonides* Maxiwell, cultured in floating netcages. *Aquaculture* 15: 257-271.
- TOPPE, J., AKSNES, A., HOPE, B. and ALBREKTSSEN, S., 2006. Inclusion of fish bone and crab by-products in diets for Atlantic cod, *Gadus morhua*. *Aquaculture* 253: 636-645.
- VALENTE, L.M.P., GOUVEIA, A., REMA, P., MATOS, J., GOMES, E.F. and PINTO, I.S., 2006. Evaluation of three seaweeds *Gracilaria bursa-pastoris*, *Ulva rigida* and *Gracilaria cornea* as dietary ingredients in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture* 252: 85-91.
- VERGARA, J.M., LÓPEZ CALERO, G., ROBAINA, L., CABALLERO, M.J., MONTERO, D., IZQUIERDO, M.S. and AKSNES, A., 1999. Growth, feed utilization and body composition of gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed increased lipid levels combined with different fish meal quality up to commercial scale. *Aquaculture* 179: 35-44.
- VIYAKARN, V., WATANABE, T., AOKI, H., TSUDA, H., SAKAMOTO, H., OKAMOTO, N., ISO, N., SATOH, S., and TAKEUCHI, T., 1992. Use of soybean meal as a substitute for fish meal in a newly developed soft-dry pellet for yellowtail. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58 (10), 1991-2000.
- WAAGBO, R., SANDNES, K., TORRISSEN, O.J., SANDVIN, A. and LIE, O., 1993. Chemical and sensory evaluation of fillets from Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed three levels of N-3 polyunsaturated fatty acids at two levels of vitamin E. *Food Chem.* 46: 361-366.
- WALTON, M.J., 1987. Metabolismo de proteínas y aminoácidos en peces. In: J. Espinosa y U. Labarta (Eds.). *Nutrición en Acuicultura*. CAICYT. Madrid 1: 225-271.
- WANG, K., TAKEUCHI, T. and WATANABE, T., 1985. Optimum protein and digestible energy level in diets for *Tilapia nilotica*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 51(1): 141-146.
- WATANABE, T., TAKEUCHI, T. and OGINO, C., 1979b. Studies on the sparing effect of lipids on dietary protein in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). In: *Proc. World Symp. On Finfish Nutrition and Fish feed Technology*. Hamburg 20-23 June 1978, 1: 113-125.



- WATANABE, T., VIYAKARN, V., KIMURA, H., OGAWA, K., OKAMOTO, N. and ISO, N., 1992. Utilization of soybean meal as a protein source in a newly developed soft-dry pellet for yellowtail. *Nippon Suissan Gakkaishi* 58: 1761-1773.
- WATANABE, T., PONGMANEERAT, J., SATO, S. and TAKEUCHI, T., 1993. Replacement of fish meal by alternative protein sources in rainbow trout diets. *Nippon Suissan Gakkaishi* 58: 1573-1579.
- WEATHERLY, A.H. and GILL, H.S., 1987. The biology of fish growth. Academic Press. London, pp 443.
- WILLIAMS, K.C. and BARLOW, C.G., 1999. Dietary requirement and optimal feeding practices for barramundi (*Lates calcifer*), 95 pp. Project 92/63; Final Report to Fisheries R&D Corporation, Canberra, Australia.
- WILLIAMS, K.C., BARLOW, C.G., RODGERS, L., HOCKINGS, I., AGCOPRA, C. and RUSCOE, I., 2003. Asian sea bass, *Lates calcifer*, perform well when fed pellet diets high in protein and lipid. *Aquaculture* 225: 191-206.
- WILSON, R.P., 1986. Protein and amino acid requirement of fishes. *Ann. Rev. Nutr.* 6: 225-244.
- WILSON, R.P., 1989. Amino acids and proteins In: *Fish Nutrition* (2nd). Academic Press, New York, 111-145.
- WILSON, R.P. and POE, W.E., 1985. Relationship of whole body and egg essential amino acid patterns to amino acid requirement patterns in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 80B (2): 385-388.
- WILSON, R.P. and HALVER, J.E., 1986. Protein and amino acid requirement of fishes. *Ann. Rev. Nutr.* 6: 225-244.
- YONE, Y., HOSSAIN, MD.ABDUL, FURUICHI, M. and KATO, F., 1986. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 52(3): 549-552.
- YONE, Y., FURUICHI, M. and SAKAMOTO, S., 1971. Studies on nutrition of red sea bream. 3. Nutritive value and optimum content of lipids in diet. *Rep. Fish. Res. Lab. Kyushu Univ.* 1: 49-60.
- YOSHITOMI, B., AOKI, M., OSHIMA, S. and HATA, K., 2006. Evaluation of krill (*Euphausia superba*) meal as a partial replacement for fish meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets. *Aquaculture* 261: 440-446.
- YOSHITOMI, B., MASATOSHI, A. and SYUN-ICHIROU, O., 2007. Effect of total replacement of dietary fish meal by low fluoride krill (*Euphausia superba*) meal on growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in fresh water. *Aquaculture* 266: 219-225.
- ZEITOUN, I.H., ULLREY, D.E., MAGEE, W.T., GILL, J.L. and BERGEN, W.G., 1976. Quantifying nutrient requirements of fish. *J. Fish. Res. Board. Can.* 33: 167-172.

4

NUTRICIÓN LIPÍDICA



NUTRICIÓN LIPÍDICA

**Covadonga Rodríguez,
Antonio Lorenzo y Virginia Martín**

Facultad de Biología.
Universidad de La Laguna

Resumen

Los tejidos de los peces son particularmente ricos en ácidos grasos conocidos comúnmente como omega-3 HUFA. Estos ácidos grasos como el eicosapentaenoico (20:5n-3, EPA) y el docosahexaenoico (22:6n-3, DHA), así como el omega-6 HUFA, ácido araquidónico (20:4n-6, AA), intervienen en multitud de procesos fisiológicos al ser componentes estructurales de los fosfolípidos de membrana y precursores de eicosanoides biológicamente activos. La carencia de estos ácidos grasos afecta al crecimiento y, de manera fundamental, al desarrollo embrionario y larvario y a la reproducción, jugando un papel crucial en la formación y funcionamiento del cerebro y la retina. De ahí la importancia de controlar la nutrición de los peces asegurando que la ingesta diaria de ácidos grasos fisiológicamente esenciales sea adecuada para cubrir sus requerimientos.

Los ácidos grasos omega-3 o n-3 HUFA tienen también una extraordinaria importancia en la nutrición humana. Estos ácidos grasos se han relacionado con la prevención y modulación de ciertas enfermedades cada vez más comunes en las civilizaciones occidentales, como son las enfermedades coronarias, enfermedades autoinmunes e hipertensión (Gebauer *et al.*, 2006; Psota *et al.*, 2006; Simopoulos, 2006) y enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer (Hashimoto *et al.*, 2002; Young y Conquer, 2005; Mazza *et al.*, 2006).

Dado que la principal fuente de ácidos grasos n-3 HUFA en la dieta humana es el pescado, y teniendo en cuenta que la acuicultura se plantea como una alternativa a la crisis de capturas del sector pesquero (FAO, 2004), es



de extraordinaria importancia asegurar la correcta nutrición de los peces de cultivo no sólo de cara a asegurar su buen desarrollo y estado de salud, sino sobre todo, para garantizar su calidad con vistas al consumo humano.

Paradójicamente, la fabricación de piensos para engorde de peces carnívoros depende de la limitada producción de harinas y aceites de pescado (Barlow, 2000; Turchini *et al.*, 2009), obtenidos de pesquerías tales como la anchoa, el capelán, el arenque y la sardina (Sargent y Tacon, 1999), por lo que los fabricantes de piensos se han visto forzados a la sustitución parcial de estas materias primas por otras de origen vegetal, con el fin de garantizar la sostenibilidad de esta actividad como fuente de suministro de pescado para el ser humano (Barlow, 2000; Turchini *et al.*, 2009).

Teniendo en cuenta la importancia de los n-3 HUFA en la nutrición de los peces y la influencia de la grasa dietaria en multitud de procesos fisiológicos, resulta evidente que el uso de aceites vegetales, de composición tan diferente al aceite de pescado, puede afectar al balance nutricional y osmótico del pez y a su resistencia a enfermedades (Castell *et al.*, 1994; Bell *et al.*, 1991a,b; 1993; Olsen *et al.*, 1999; Parpoura y Alexis, 2001; McKenzie, 2001; Regost *et al.*, 2003a,b; Montero *et al.*, 2003; 2005b, 2008; Mourente *et al.*, 2007). No menos importante resulta el hecho de que el músculo de este pescado, que es en definitiva la parte que consumimos, reflejará el perfil del aceite vegetal rico en ácidos grasos omega-6 y pobre en omega-3, pudiendo disminuir sustancialmente el interés y efecto beneficioso que el consumo de pescado tiene para el hombre. El uso racional de estos aceites debe ser, por lo tanto, un objetivo prioritario en la producción de peces de cultivo, tarea compleja que debe ser abordada de forma multidisciplinar, por parte de los productores de peces y piensos acuícolas y de los investigadores y expertos asesores en materia de nutrición.

La finalidad del presente capítulo es aportar información que debe ser tenida en cuenta a la hora de garantizar las necesidades lipídicas que pueda presentar una determinada especie de cultivo. Estos conocimientos, deben ser aplicados para asegurar la buena nutrición del pez y la calidad del producto de cara a su comercialización, minimizando el impacto que una dieta mal diseñada pueda generar en el medioambiente, y aumentando al mismo tiempo, la rentabilidad del producto final.



Summary

The tissues of fish are particularly rich in some fatty acids commonly known as Omega-3 HUFA. These fatty acids such as eicosapentaenoic acid (20: 5n-3, EPA) and docosahexaenoic acid (22: 6n-3, DHA), as well as the Omega-6 HUFA, arachidonic acid (20: 4n-6, AA), are involved in the physiological processes of fish as structural components of the membrane phospholipids and as precursors of biologically active eicosanoids. The deficiency of HUFA affects growth, but also embryonic and larvae development and reproduction because they, and particularly DHA, play a crucial role in the forming and functioning of brain and retina, hence the importance of supervising the nutrition of the fish in order to ensure that their daily intake of essential fatty acids is adapted to their requirements.

The omega-3 or n-3 HUFA have also an extraordinary importance in human nutrition. These fatty acids have been associated to the prevention and modulation of certain diseases that are more and more common in the western civilizations, as coronary and autoimmune diseases and hypertension (Gebauer et al., 2006; Psota et al., 2006; Simopoulos, 2006) as well as neurodegenerative diseases including Alzheimer disease (Hashimoto et al., 2002; Young and Conquer, 2005; Mazza et al., 2006).

Since the main source of n-3 HUFA in the human diet is fish, and considering that aquaculture is put forward as an alternative to the crises of catches in the fishing sector (FAO, 2004), an adequate nutrition of cultured fish is vital not only to ensure their good development and health, but specially, to guarantee the quality of the product as food intended for human consumption.

Paradoxically, the manufacturing of feeds for carnivorous fish is dependant on a limited production of fish meal and oil (Barlow, 2000; Turchini et al., 2009), obtained from species such as anchovy, capelin, herring and sardine (Sargent and Tacon, 1999). This is the reason why the feed manufacturers have been forced to partially replace these raw materials by others of vegetal origin in order to guarantee the sustainability of aquaculture as a source of fish supply for humans (Barlow, 2000; Turchini et al., 2009).

Taking into account the importance of n-3 HUFA in fish nutrition and the influence of the dietary fat in multitude of physiological processes, it is obvious that the use of vegetable oils, that have such a different composition from that of fish oil, can affect the nutritional and osmotic balances of fish



and its resistance to diseases (Castell et al., 1994; Bell et al., 1991a,b; 1993; Olsen et al., 1999; Parpoura and Alexis, 2001; McKenzie, 2001; Regost et al., 2003a,b; Montero et al., 2003; 2005b, 2008; Mourente et al., 2007). Not less important is the fact that fish muscle which is actually what we consume, will reflect the Omega-6 rich and Omega-3 poor fatty acid profile of the vegetal oil, what substantially diminishes the interest and the beneficial effects of fish consumption. The rational use of these oils must be therefore a high-priority objective in the production of cultured fish, a complex task that must be approached interdisciplinary by fish farmers, fish food manufacturers as well as researchers and nutritionists.

The purpose of this chapter is to supply information that must be taken into account to satisfy the lipid requirements of aquaculture species. This basic knowledge must be applied to ensure the good nutrition of fish and the quality of the product in view of its commercialization, minimising the environmental impact that an unbalanced diet could have while increasing the profitability of the final product.

CONSIDERACIONES GENERALES

La complejidad de los lípidos y la multitud de procesos fisiológicos en que están implicados a través de sus funciones: de reserva y estructural, de la producción de eicosanoides o de la regulación de la expresión génica, hacen tremendamente más ardua la tarea de abordar la redacción de este capítulo. Esto es así, por la amplitud y diversidad de aspectos que confluyen en él y que hacen, que el enfoque de su estudio sea muy diferente según los autores. Así, nos encontramos trabajos centrados en especies de peces dulceacuícolas o marinas, de hábitos alimenticios más o menos carnívoros o viviendo en ambientes más o menos fríos o salinos, aspectos, todos ellos, que marcan diferencias importantes en cuanto a las necesidades y destinos metabólicos de los lípidos dietarios. Muchos trabajos, abordan las necesidades de ácidos grasos esenciales (AGE) de larvas, alevines o reproductores de especies concretas, existiendo escasa información de otras especies importantes. En cualquier caso, el volumen de bibliografía existente sobre requerimientos lipídicos de peces de interés acuícola es tal y tan diverso, que a pesar de la exhaustiva



búsqueda realizada, por fuerza, se quedarán trabajos sin mencionar. Nos hemos visto obligados además, a limitar el número de referencias, centrándonos, en ocasiones, en revisiones y en nuestra propia experiencia de más de 20 años de trabajo en diversos aspectos de la nutrición lipídica de peces marinos. Nuestra finalidad es abordar cuestiones muy generales que deban ser tenidas en cuenta a la hora de garantizar las necesidades básicas que de lípidos pueda presentar una determinada especie de cultivo. Consideramos además, que estos conocimientos básicos de que debe disponer el piscicultor, el productor de piensos o el especialista asesor en nutrición de peces, debe no sólo garantizar la máxima calidad del pescado de cara al consumo humano y la buena nutrición del pez, sino minimizar el impacto que una dieta mal diseñada o mal aplicada, pueda generar en el medioambiente, aumentando al mismo tiempo la rentabilidad del producto final. El enfoque que hemos querido darle a este capítulo es eminentemente práctico, si bien, la complejidad de ciertos aspectos como el metabolismo de los ácidos grasos y su importancia como precursores de eicosanoides y en la regulación de la expresión génica, obliga a profundizar en aspectos bioquímicos o metabólicos, y a hacer referencia a documentos donde acceder a esta información de carácter más técnico.

En conjunto, y basándonos en nuestros conocimientos y experiencia, el capítulo pretende ofrecer una visión global de la importancia de los lípidos en la nutrición de los peces y de cómo abordar un estudio de requerimientos lipídicos teniendo en cuenta las particularidades fisiológicas de sus fases reproductora y larvaria o de vivir en un medio de tonicidad variable como el dulceacuícola o el marino.

4.1. ESTRUCTURA DE LOS LÍPIDOS

Los lípidos, conocidos comúnmente como grasas, han sido definidos tradicionalmente como un conjunto de moléculas orgánicas que tienen como característica principal el ser hidrofóbicas o insolubles en agua y solubles en disolventes orgánicos. Sin embargo, debido al descubrimiento de nuevos derivados lipídicos con propiedades diferentes, esta definición ha quedado obsoleta y actualmente se considera que «los



lípidos son ácidos grasos y sus derivados, y las sustancias relacionadas biosintética o funcionalmente con estos compuestos» (Christie, 2003).

Los lípidos más sencillos son los ácidos grasos formados por un grupo hidroxílico hidrófilo unido a un extremo de una cadena hidrocarbonada (Figs. 1, 3). Los ácidos grasos se clasifican en función de la longitud de su cadena, su grado de insaturación (número de dobles enlaces) y la posición de sus dobles enlaces. Generalmente, presentan un número par de átomos de carbono, normalmente entre 12 y 24 y pueden ser saturados, en los que todos los carbonos de la cola están saturados con átomos de hidrógeno, o insaturados, es decir, que contienen uno o varios dobles enlaces (monoinsaturados y poliinsaturados, respectivamente).

En nutrición, y también en el presente capítulo, para denominar a los ácidos grasos se utiliza un sistema de abreviaturas que permite identificar el número de átomos de carbono que contiene, el número de dobles enlaces y la posición del primer doble enlace a partir del extremo metilo terminal. Así, 14:0 y 16:0 designan ácidos grasos con 14 y 16 átomos de carbono, respectivamente y sin dobles enlaces. Igualmente, 18:1n-9 y 18:1n-7 designan ácidos grasos con 18 átomos de carbono cuyo doble enlace se encuentra situado en el carbono 9 y 7, respectivamente, desde el extremo metilo terminal. Por su parte los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) contienen dos o más dobles enlaces, en configuración *cis* separados por un enlace simple, y por tanto, especificando la posición del primer doble enlace su estructura entera queda definida. Así, 18:3n-3 designa un ácido graso de 18 átomos de carbono con 3 dobles enlaces y cuyo primer doble enlace se encuentra situado en el carbono 3 desde el extremo metilo terminal. Existen otras maneras de denominar los ácidos grasos que no suelen utilizarse en los textos de nutrición acuícola. Nombraremos sin embargo, una que es bastante habitual en los textos de bioquímica y que puede ser útil para entender la nomenclatura de las enzimas desaturasas de los ácidos grasos. En ella se indica la posición de los dobles enlaces desde el carboxilo terminal, utilizándose el símbolo de la letra delta (Δ), seguido de los dígitos que indican la posición del doble o dobles enlaces, separados por una coma. Así el 18:3n-3 según esta nomenclatura sería 18:3 $\Delta^{9,12,15}$. Ello implica que al hablar de desaturasas $\Delta 5$, $\Delta 6$ o $\Delta 9$, nos



referimos a las enzimas capaces de añadir un doble enlace en las posiciones 5, 6 ó 9, contando desde el carboxilo terminal del ácido graso correspondiente.

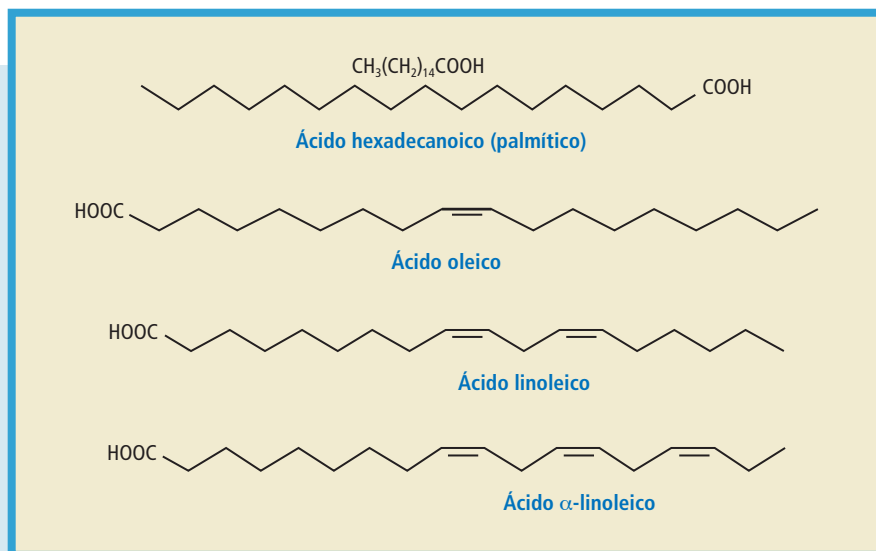


FIGURA 1.

Estructura de los ácidos grasos palmítico (16:0), oleico (18:1n-9), linoleico (18:2n-6) y linolénico (18:3n-3) (Christie, 2003).

Los ácidos grasos también pueden ser denominados por su nombre común como ácido palmítico (16:0), ácido oleico (18:1n-9) y ácido α -linolénico (18:3n-3), nomenclatura que refleja su origen en los aceites de palma, oliva y linaza, respectivamente. Otra denominación ampliamente usada se basa en el nombre greco-latino de los ácidos grasos como es el caso de los ácidos eicosapentaenoico (EPA; 20:5n-3) y docosahexaenoico (DHA; 22:6n-3), reflejando el número de átomos de carbono y dobles enlaces que contiene (Cuadro 1).

Entre los ácidos grasos más abundantes en los lípidos de peces se encuentran los ácidos grasos saturados 16:0 y 18:0 y los ácidos grasos monoinsaturados 18:1n-9 y 16:1n-7. Sin embargo, otros ácidos grasos importantes son el 20:1n-9 y el 22:1n-11, derivados de los alcoholes grasos 20:1n-9 y el 22:1n-11 presentes en el zooplancton.



CUADRO 1.
Ácidos grasos más comunes de origen vegetal y animal
(Christie, 2003 mod.).

Nombre sistemático	Nombre común	Abreviatura
Ácidos grasos saturados		
Etanoico	acético	2:0
Butanoico	butírico	4:0
Hexanoico	caproico	6:0
Octanoico	caprílico	8:0
decanoico	cáprico	10:0
dodecanoico	laurico	12:0
tetradecanoico	mirístico	14:0
hexadecanoico	palmitico	16:0
octadecanoico	esteárico	18:0
eicosanoico	araquídico	20:0
docosanoico	behénico	22:0
Ácidos grasos monoenoicos		
cis-9-hexadecenoico	palmitoleico	16:1(n-7)
cis-6-octadecenoico	petroselinico	18:1(n-12)
cis-9-octadecenoico	oleico	18:1(n-9)
cis-11-octadecenoico	cis-vaccénico	18:1(n-7)
cis-13-docosenoico	erúcico	22:1(n-9)
cis-15-tetracosenoico	nervónico	24:1(n-9)
Ácidos grasos poliinsaturados		
9,12-octadecadienoico	linoleico	18:2(n-6)
6,9,12-octadecatrienoico	γ -linolénico	18:3(n-6)
9,12,15-octadecatrienoico	α -linolénico	18:3(n-3)
6,9,12,15-octadecatetraenoico	estearidónico	18:4(n-3)
5,8,11,14-eicosatetraenoico	araquidónico	20:4(n-6)
5,8,11,14,17-eicosapentaenoico	EPA	20:5(n-3)
4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico	DHA	22:6(n-3)

Los organismos marinos, especialmente las algas, pueden contener una gran variedad de PUFA, sin embargo los más comúnmente representados son aquellos de las series n-3 y n-6. Entre ellos, los ácidos grasos 20:4n-6 (ácido araquidónico, AA) y su precursor 18:2n-6 (ácido linoleico, LA), junto con los ácidos grasos 20:5n-3 (ácido eicosapentanoico, EPA) y 22:6n-3 (ácido docosahexaenoico, DHA), y su precursor 18:3n-3 (ácido linolénico, LNA). Destacan por su importancia en peces marinos los ácidos grasos 20:5n-3 y 22:6n-3 (Fig. 2), también llamados omega-3



o n-3 HUFA, ácidos grasos altamente insaturados de la serie n-3, los cuales, además de formar parte de las membranas celulares, intervienen en la regulación de numerosos procesos fisiológicos. Otro ácido graso menos abundante en la dieta natural de los peces marinos es el 20:4n-6, el cual juega un importante papel fisiológico ya que es el principal precursor de eicosanoides, moléculas que intervienen en la regulación de la reproducción, la osmorregulación y otros procesos fisiológicos.

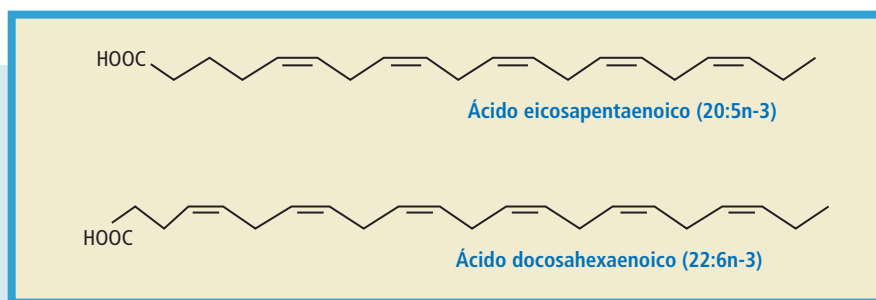


FIGURA 2.

Estructura de los ácidos grasos EPA (20:5n-3)
y DHA (22:6n-3) (Christie, 2003 mod.).

Los ácidos grasos se encuentran casi siempre formando parte de lípidos más complejos. Los lípidos animales, incluyendo los lípidos de peces, suelen ser divididos en dos grupos. Aquellos que presentan una cabeza hidrofílica polar en contraposición a una cola hidrocarbonada hidrófoba no polar, son llamados lípidos polares (LP) e incluyen principalmente a los fosfolípidos. En contraste, los lípidos hidrofóbicos, sin grupos polares se denominan lípidos neutros (LN) y entre ellos se encuentran los triacilgliceroles (triglicéridos).

Los triacilgliceroles (TAG) constituyen la principal clase de lípidos neutros. Están formados por tres moléculas de ácidos grasos esterificadas en las posiciones *sn*-1, *sn*-2 y *sn*-3 de la molécula de glicerol (Figs. 3, 7). En general, los ácidos grasos saturados y monoinsaturados se localizan preferentemente en las posiciones *sn*-1 y *sn*-3 del glicerol, mientras los PUFA se localizan en la posición *sn*-2. A temperatura ambiente los TAG pueden ser sólidos, en cuyo caso son denominados grasas, o líquidos, denominados aceites. Los TAG en peces son siempre aceites.

Dentro de los lípidos neutros también nos encontramos los ésteres de cera constituidos por un ácido graso esterificado a una molécula de alcohol graso. Esta clase lipídica es muy abundante en el zooplancton marino, particularmente en los copépodos calanoideos y en los eufasiáceos, los cuales constituyen la principal fuente de alimentación para muchas especies de peces marinos. Por ello, los ésteres de cera también están presentes en considerables cantidades en los tejidos corporales y huevos de algunas especies de peces. Los ácidos grasos de los ésteres de cera presentes en las especies marinas pueden ser saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, si bien, los ácidos grasos 20:1n-9 y 22:1n-11 son bastante característicos de estos lípidos y buenos indicadores en la trazabilidad de su origen dietario.

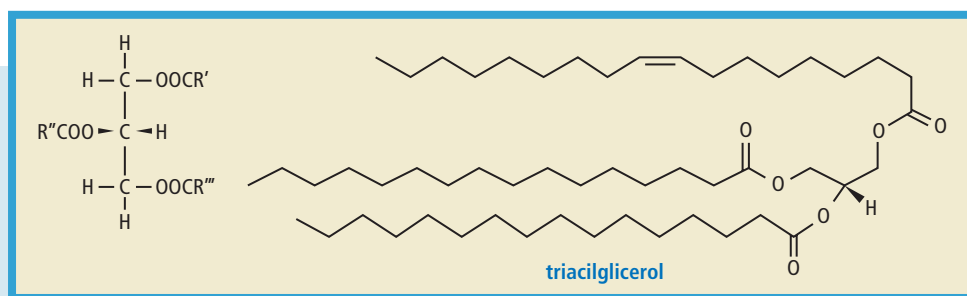


FIGURA 3.

Estructura del triacilglicerol (Christie, 2003).

Dentro de los lípidos polares, los fosfoglicéridos, comúnmente conocidos como fosfolípidos, son la clase lipídica más importante. Derivan del ácido fosfatídico, L-glicerol 3-fosfato esterificado con dos ácidos grasos de cadena larga. Los ácidos grasos saturados y monoinsaturados se esterifican preferentemente en las posiciones *sn*-1 del L-glicerol mientras que los poliinsaturados se esterifican en la posición *sn*-2. El ácido fosfatídico se esterifica a su vez a las bases colina (fosfatidilcolina, PC), serina (fosfatidilserina, PS), inositol (fosfatidilinositol, PI), etanolamina (fosfatidiletanolamina, PE) y glicerol (fosfatidilglicerina, PG y difosfatidilglicerol o cardiolipina, CL) (Figs. 4, 7).

Los esfingolípidos también se incluyen en el grupo de los lípidos polares. Están formados por una ceramida (esfingosina esterificada con un ácido

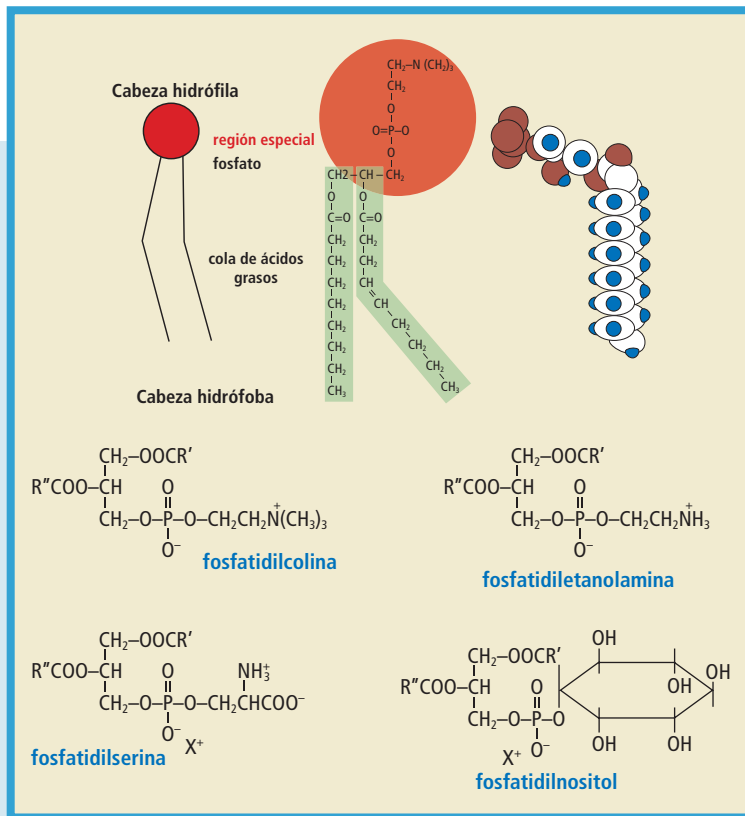


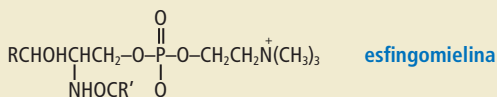
FIGURA 4.

Estructura de los fosfolípidos fosfatidilcolina (PC), fosfatidilserina (PS), fosfatidiletanolamina (PE) y fosfatidilinositol (PI) (Christie, 2003).

graso), la cual se une a una molécula de ácido fosfórico y un alcohol. Si el alcohol es la colina, se forma la esfingomielina (SM) que destaca por su importancia estructural en las membranas del tejido nervioso y presente también en los huevos de los peces (Figs. 5, 7). Un grupo importante dentro de los esfingolípidos son los cerebrósidos en los cuales el grupo alcohol de la esfingosina se une a uno a más glúcidos, como la glucosa y la galactosa.

Otro gran grupo dentro de los lípidos lo constituyen los esteroides entre los cuales destaca por su importancia el colesterol (Figs. 6, 7), presente en todos los tejidos animales incluyendo los peces. El colesterol puede encon-

FIGURA 5.
Estructura de la esfingomielina
(Christie, 2003).



trarse en forma libre, carente de ácidos grasos en su estructura, constituyendo un componente fundamental de las membranas biológicas, junto con los fosfoglicéridos y esfingomielina, siendo además un intermediario en la biosíntesis de hormonas esteroideas. O bien, puede encontrarse esterificado a un ácido graso formando los ésteres de colesterol.

FIGURA 6.
Estructura del colesterol
(Christie, 2003).

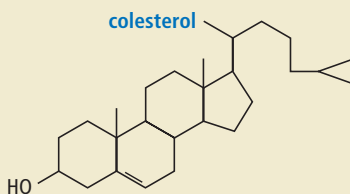
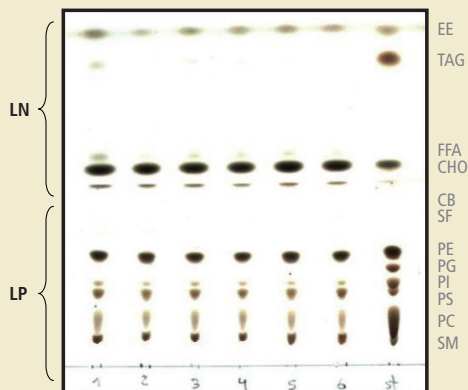


FIGURA 7.
Perfil de clases
lipídicas obtenido por
Cromatografía en Capa
Fina de Alta Resolución
(HPTLC).



LN: lípido neutro; LP: lípido polar; SM: esfingomielina; PC: fosfatidilcolina; PS: fosfatidilserina; PI: fosfatidilinositol; PE: fosfatidiletanolamina; CHO: colesterol; FFA: ácidos grasos libres; TAG: triglicéridos; EE: ésteres de esteroles (ésteres de colesterol y ésteres de cera).



4.2. FUNCIONES DE LOS LÍPIDOS

Las funciones fisiológicas de los lípidos se han centrado tradicionalmente en varios aspectos fundamentales como son el almacenamiento y producción de energía, formación de membranas celulares, fuente de ácidos grasos esenciales, transportadores de ciertos nutrientes (lipo-proteínas), y precursores de hormonas esteroideas y eicosanoides. Sin embargo, recientemente se ha demostrado que los lípidos juegan un importante papel como reguladores de la expresión génica y mediadores en otros procesos como la inflamación y neuroprotección, actividades para estos nutrientes absolutamente desconocidas décadas atrás.

4.2.1. Función energética

Los lípidos en los peces, al igual que en el resto de organismos, cumplen una importante función como reserva y provisión de energía metabólica en forma de ATP, a través de la β -oxidación de los ácidos grasos en las mitocondrias y en los peroxisomas (Sargent *et al.*, 1989, 2002). Los lípidos, y específicamente los ácidos grasos, son la fuente preferida de energía metabólica para el crecimiento, reproducción y natación en los peces, especialmente en los peces carnívoros, que son en su mayoría marinos.

Los ácidos grasos que se utilizan preferentemente como fuente de energía metabólica son el 16:0, 18:1n-9, 20:1n-9 y 22:1n-11, y los n-3 HUFA, 20:5n-3 y 22:6n-3, los cuales, son particularmente abundantes en los aceites de pescado. Los ácidos grasos 16:0, 18:1n-9, 20:1n-9 y 22:1n-11 son consumidos en gran cantidad durante el crecimiento y especialmente durante la maduración gonadal y la ovogénesis en las hembras (Henderson *et al.*, 1984a,b; Henderson y Almatar, 1989). Por su parte, el 20:5n-3 puede ser rápidamente oxidado para la obtención de energía, sin embargo, el catabolismo del 22:6n-3 requiere una β -oxidación peroxisomal, por lo que este ácido graso parece ser utilizado como fuente de energía en menor proporción que el resto.

La especificidad de oxidación de los ácidos grasos en peces es importante para determinar la composición en ácidos grasos de los triglicéridos depositados en el tejido adiposo. Dicha composición influye no sólo en el buen estado de salud del pez, especialmente durante la reproducción, sino también sobre la salud del consumidor dado que,



como ya se señaló anteriormente, una ingesta adecuada de 20:5n-3 y 22:6n-3 es beneficiosa para la salud humana.

En general, los aceites de pescado son ricos en ácidos grasos altamente insaturados, y se caracterizan por sus elevados contenidos de n-3 HUFA, preferentemente 20:5n-3 y 22:6n-3. Poseen además proporciones considerables de 20:4n-6, el n-6 HUFA más abundante, y de los ácidos grasos saturados 16:0 y 18:0 y monoinsaturados 18:1n-9. Los aceites de pescado del hemisferio norte, como son los procedentes del arenque, la lacha y el capelán contienen niveles muy altos de 20:1n-9 y 22:1n-11 producidos por la oxidación de los alcoholes grasos 20:1 y 22:1 que predominan en los lípidos de los copépodos calanoides, los cuales constituyen la mayor parte de su dieta. Estos aceites tienen relaciones 20:5n-3/22:6n-3 de alrededor de 1,0 a 1,5, mientras que los aceites de pescado del hemisferio sur tienen bajos niveles de 20:1 y 22:1 y altas proporciones de n-3 HUFA con relaciones 20:5n-3/22:6n-3 por encima de 2.

En los peces, los ácidos grasos no son sólo la principal fuente de energía metabólica para el crecimiento, sino también para la reproducción (Sargent *et al.*, 2002, Tocher, 2003). Las reservas lipídicas deben soportar no sólo los requerimientos inmediatos de los reproductores sino también los futuros requerimientos de la progenie. Por tanto, grandes cantidades de lípidos son movilizadas desde las reservas endógenas durante la maduración de las gónadas y la gametogénesis. En la mayoría de las especies marinas, la puesta tiene lugar en primavera y por tanto, el desarrollo de la gónada transcurre en invierno, cuando la disponibilidad de alimento en el medio es reducida. Como consecuencia de ello, es habitual que en su medio ambiente natural los peces acumulen gran cantidad de reservas lipídicas que serán posteriormente movilizadas principalmente desde el músculo y el hígado para ser utilizadas como energía metabólica y para la formación de la gónada y sus gametos.

4.2.2. Función estructural

Los fosfolípidos y particularmente, sus ácidos grasos, tienen un papel generalizado en el mantenimiento de la integridad estructural y funcional de las membranas celulares de los tejidos. En los peces, los fosfolípidos que constituyen la bicapa lipídica contienen 16:0, 18:1n-9, 20:5n-3 y 22:6n-3 como sus principales ácidos grasos. Los dos primeros



se localizan preferentemente en la posición *sn*-1 del glicerol, mientras que los dos últimos se localizan preferentemente en la posición *sn*-2.

Los fosfolípidos de peces generalmente contienen alrededor de un 50 % de sus ácidos grasos totales como n-3 HUFA, con una relación 22:6n-3/20:5n-3 de 2:1, aunque dicha relación varía en función de la clase de fosfolípido y del órgano o tejido (Sargent *et al.*, 2002). Por su parte, el 22:6n-3 juega un importante papel en las membranas del tejido neural (cerebro y retina), en las cuales alcanza altas concentraciones en peces. La retina de los peces marinos presenta abundancia de fosfatidiletanolamina y fosfatidilserina doblemente esterificadas con 22:6n-3. La abundancia de estos fosfolípidos mantiene en la membrana de la retina el balance requerido entre fluidez y rigidez, necesario para acomodar rápidamente los cambios conformacionales que tienen lugar durante el proceso de captación de la luz (Sargent *et al.*, 1993, 1995b). Así, en larvas de arenque, la deficiencia de 22:6n-3 en la dieta da lugar a una incapacidad para capturar presas (Bell *et al.*, 1995b) y en las larvas de seriola, el DHA influye en el desarrollo de su comportamiento (Masuda *et al.*, 1998; Ishizaki *et al.*, 2001). Estos estudios sugieren el papel crítico del 22:6n-3 en la función del tejido neural en peces y demuestran la importancia de este ácido graso en los peces marinos.

El esperma de los peces también contiene altos niveles de fosfolípidos doblemente esterificados con 22:6n-3, lo cual indica un posible papel de este ácido graso en la función del esperma (Tinoco, 1982). La mayoría del 22:6n-3 se localiza en la cola del espermatozoide. El gran número de dobles enlaces de este ácido graso podría contribuir a mantener la fluidez de la membrana plasmática necesaria para la movilidad de las colas de los espermatozoides (Connor *et al.*, 1998). Así mismo, algunos estudios han demostrado que existe una correlación positiva entre la capacidad del espermatozoide para fertilizar huevos y el contenido de 22:6n-3 de sus membranas. Es posible que no sólo las propiedades físicas de las membranas, sino también otros factores, faciliten el grado de fusión en presencia de altas concentraciones de este ácido graso (Teague *et al.*, 2002).

Por otra parte, la estructura intrínseca del 22:6n-3 es resistente a cambios de temperatura y de salinidad, de tal manera que continúa ejerciendo su función independientemente de estas variables ambientales (Rabinovich y Ripatti, 1991). Por tanto, este ácido graso juega un papel



importante en los procesos de iono-osmorregulación en los epitelios intestinal y branquial. Estudios llevados a cabo en animales poiquiloterms han mostrado modificaciones en la composición lipídica de la membrana para mantener la fluidez a baja temperatura ambiental, fenómeno denominado adaptación homeoviscosa. Así, estos animales incrementan la proporción de ácidos grasos altamente insaturados y, específicamente PE (doblemente esterificada con ácidos grasos poliinsaturados), elevando la relación PE/PC y, por otra parte, disminuyen la proporción de ácidos grasos saturados. Estas modificaciones incrementan la fluidez de la membrana y contribuyen al mantenimiento de su estabilidad y por tanto de la función celular a baja temperatura ambiental (Labbe *et al.*, 1995; Acierno *et al.*, 1996; Labbe y Maisse, 1996). Así mismo, la forma molecular de la PE, en contraste con la PC, es cónica, y se ha demostrado que los fosfolípidos de forma cónica contribuyen a la estabilidad de la bicapa en condiciones de baja temperatura ambiental (Farkas *et al.*, 2001).

El colesterol es otro componente estructural muy importante en las membranas celulares. Se encuentra en una proporción molar 1:1 con relación a los fosfolípidos, regulando sus propiedades físico-químicas y, en particular, la fluidez.

4.2.3. Precursores de eicosanoides

Los eicosanoides son moléculas biológicamente activas que actúan a muy bajas concentraciones. Se denominan así porque se originan a partir de los PUFAs de 20 átomos de carbono (eicosa). Las dos principales enzimas involucradas en la síntesis de eicosanoides son las ciclooxigenasas, que producen derivados cíclicos oxigenados conocidos como prostanooides entre los que se incluyen, las prostaglandinas (PG), prostaciclina (PG I) y tromboxanos (TX) y las lipoxigenasas, que producen derivados oxigenados lineales, incluyendo los hidroxieicosatetraenos (HETE) de donde derivan los leucotrienos (LT) y las lipoxinas (LX). Una tercera vía en la producción de eicosanoides está mediada por las monooxigenasas citocromo P450 (CYP), las cuales conducen a la formación de hepoxinas, ácidos grasos hidroxi y otros derivados (Jump, 2002; Tocher, 2003).

En cada uno de los tejidos corporales se producen eicosanoides los cuales, están implicados en gran número de funciones fisiológicas como por ejemplo, la coagulación sanguínea, la respuesta inmune, respuesta



inflamatoria, el tono cardiovascular, la función renal, neural y reproductora. Los podemos considerar como hormonas autocrinas, es decir, una vez producidos por las células actúan solo en las inmediaciones donde son liberados, teniendo un periodo de vida muy corto (Tocher, 2003).

En mamíferos, el ácido araquidónico (20:4n-6) que deriva directamente de la dieta o de la transformación de ácidos grasos como el 18:2n-6, es el principal precursor de eicosanoides. En los tejidos, la mayor parte de este ácido graso se encuentra formando parte de los fosfolípidos de membrana, particularmente del fosfatidil-inositol. Antes de que el 20:4n-6 pueda ser utilizado como precursor de eicosanoides, debe liberarse del fosfolípido por la acción de la enzima fosfolipasa A2. La activación de la fosfolipasa A2 puede ocurrir mediante el incremento de la concentración de calcio en el citosol o también por la activación de una proteína de membrana (proteína G) (Nicolaou, 2004). La fosfolipasa A2 dependiente de los niveles de calcio citosólico, tiene una marcada especificidad por los fosfolípidos que contienen 20:4n-6 en el carbono 2 del glicerol (*sn*-2) y responde a varios estímulos tales como, hormonas, citoquinas y neurotransmisores (Hirabayashi y Shimizu, 2000). El incremento en la concentración del ácido araquidónico libre en el citosol parece ser la clave para la actividad de las enzimas ciclooxigenasas o lipooxigenasas. En mamíferos, el 20:4n-6 genera dos series de prostanoïdes y cuatro series de leucotrienos. Estos se incrementan durante los procesos inflamatorios, y si la inflamación es causada por invasión de bacterias, las prostaglandinas y los leucotrienos estimulan la formación de macrófagos y otros leucocitos, los cuales comienzan el proceso de la destrucción bacteriana. Por lo tanto, los eicosanoides están involucrados en la regulación de la respuesta inmune, mediante un efecto directo sobre los macrófagos o los linfocitos o mediante efectos indirectos vía citoquinas (Lall, 2000; Fritsche, 2006).

La naturaleza de los lípidos de la dieta y la concentración en ácidos grasos esenciales, tiene un efecto directo sobre el metabolismo de los eicosanoides y la respuesta inmune. Diversos estudios han mostrado que una dieta alta en n-6 PUFA produce altos niveles de las dos series de prostaglandinas y las cuatro series de leucotrienos y lipoxinas pro-inflamatorias derivadas del 20:4n-6. Otros PUFA de 20 átomos de carbono como el ácido dihomo- γ -linolénico (20:3n-6) derivado del 18:3n-6 o γ -linolénico (GLA) y el ácido eicosapentaenoico (20:5n-3) también producen sus propios eico-



sanoides, a la vez que, modulan la producción de los eicosanoides derivados del 20:4n-6 ya que compiten por los mismos sistemas enzimáticos (Fig. 8; Das, 2005) (Weber, 1990; Ghioni *et al.*, 2002). Del 20:5n-3, derivan tres series de prostanoïdes y cinco de leucotrienos, aunque de menor actividad biológica que aquellas derivadas del 20:4n-6. En mamíferos, el ácido eicosatetraenoico (20:4n-3), derivado por elongación del ácido estearidónico (SDA; 18:4n-3), es otro PUFA capaz de producir eicosanoides (Croset *et al.*, 1999). Sin embargo, a pesar de que se conocen bien las interacciones competitivas entre los ácidos grasos, 20:3n-6, 20:5n-3 y 20:4n-6 en el metabolismo de los eicosanoides, las investigaciones realizadas a cerca del metabolismo del 20:4n-3 son muy escasas (Oliv *et al.*, 1986a, b; Careaga y Sprecher, 1987; Croset *et al.*, 1999; James *et al.*, 2003). En todas ellas, se ha mostrado que el 20:4n-3 puede modular la producción de eicosanoides en mamíferos. Posiblemente, los pocos estudios realizados con este ácido graso se deban a su escasez en los aceites naturales, dificultando su obtención y, por tanto, su compra. En mamíferos, el efecto de la grasa de la dieta en la respuesta fisiológica a nivel celular lleva consigo mecanismos diversos y muy complejos en los que intervienen no solamente la competitividad de los ácidos grasos 20:5n-3, 20:4n-6, 20:3n-6 y 20:4n-3 en la formación de eicosanoides, sino también la competitividad de sus ácidos grasos precursores, 18:3n-3, 18:2n-6, 18:3n-6 y 18:4n-3 por las enzimas elongasas y desaturasas para formar metabólicamente dichos PUFAs. En roedores se ha estudiado el efecto de la variación de la relación n-3/n-6 en la dieta sobre la composición tisular y la producción de eicosanoides en células peritoneales, mostrándose que el incremento en dicha relación aumentó progresivamente las cinco series de leucotrienos derivadas del 20:5n-3 (Broughton y Wade 2002). Recientemente, en humanos, utilizando líneas celulares cancerígenas de mama (MDA-MB-231) (Horia y Watkins, 2005), se estudiaron los efectos del ácido estearidónico (18:4n-3) y del α -linolénico (18:3n-3), sobre la producción de prostaglandina E2 (PGE2) derivada del 20:4n-6. Los resultados mostraron que el 18:4n-3 daba lugar a una mayor concentración de 20:5n-3 y otros ácidos grasos de cadena larga como el 20:4n-3, que el 18:3n-3. Ambos ácidos grasos derivados del 18:4n-3 redujeron el nivel de (PGE2), aunque el propio 18:4n-3 era más efectivo.

Existen numerosos estudios que ponen de manifiesto la hipótesis de que la alta incidencia de enfermedades cardiovasculares,



respuestas inflamatorias y algunos tipos de cáncer en las sociedades desarrolladas, están asociadas con la ingesta de un exceso de 18:2n-6 frente a 18:3n-3, lo cual genera altos niveles de 20:4n-6 en las células y, consecuentemente, niveles patológicos de eicosanoides derivados de este ácido graso (Okuyama *et al.*, 1997; Horia y Watkins, 2005).

En peces, se han encontrado eicosanoides tanto en especies de agua dulce como en especies marinas, detectándose en todos los tejidos estudiados actividad ciclooxigenasa y lipoxigenasa, siendo el tejido branquial uno de los que presenta mayor actividad (Tocher, 2003). Asimismo, también se ha mostrado que no parecen existir grandes diferencias respecto a los mamíferos, en cuanto al tipo de eicosanoides producidos (Tocher, 2003). Sin embargo, a pesar de la abundancia del 20:5n-3 en los fosfolípidos tisulares de los peces, el sustrato preferido para la formación de eicosanoides es el 20:4n-6. Por tanto, al igual que en mamíferos, la producción de eicosanoides está influenciada sobre todo por la relación 20:4n-6/20:5n-3 en las membranas celulares, aunque probablemente la relación óptima 20:4n-6/20:5n-3 sea más baja en peces que en mamíferos (Tocher, 2003). Diversos estudios realizados en rodaballo y salmón Atlántico, han mostrado que cuando los peces eran alimentados con dietas que contenían diferentes niveles de ácidos grasos de la serie n-3 y n-6 PUFA, modificaban la composición en ácidos grasos de los fosfolípidos celulares y que, a su vez, estos cambios en la composición de los ácidos grasos de los fosfolípidos, se correlacionaban con la producción de eicosanoides (Bell *et al.*, 1991a, 1993, 1994a). Así, los peces alimentados con niveles altos de n-6 PUFA en la dieta producían mayor cantidad de eicosanoides derivados del 20:4n-6 (Bell *et al.*, 1993; Lall, 1998). Sin embargo, los efectos de los ácidos grasos de la serie n-3 y n-6 PUFA sobre la producción de eicosanoides y respuesta inmune en peces, aún no están claros, siendo los resultados obtenidos en algunas especies contradictorios (Lall, 2000, probablemente debido a la diferente capacidad de las distintas especies estudiadas para transformar los PUFA de 18 carbonos en HUFA de 20 carbonos precursores de eicosanoides). Así mismo, los mecanismos metabólicos implicados en la síntesis de eicosanoides, así como los estímulos fisiológicos que desencadenan su producción, son prácticamente desconocidos en peces; salvo en la reproducción, donde



se ha estudiado más profundamente el papel que juegan los eicosanoides (Stancey y Goetz, 1982; Goetz, 1991; Tocher, 2003). En otros estudios, la presencia de TXA y PGI, indirectamente sugiere, que la relación TXA/PGI actúa sobre el control de la coagulación sanguínea y de la homeostasis de igual forma en peces que en mamíferos (Tocher, 2003). En estudios in-vitro realizados con macrófagos de trucha se ha mostrado, que estos, cuando son suplementados con 20:4n-3, disminuyen la producción de las prostaglandinas derivadas del 20:4n-6 (Ghioni *et al.*, 2002). Asimismo, estudios realizados en bacalao (*Gadus morhua* L) han mostrado que cuando los peces fueron alimentados con una dieta suplementada con aceite de *Echium*, rico en SDA (18:4n-3) y GLA (18:3n-6) se observaban efectos beneficiosos sobre parámetros inmunes y una disminución en la prostaglandina F desde las branquias (Bell *et al.*, 2006). Estas evidencias claramente sugieren que el papel que juegan los eicosanoides en la respuesta inmune e inflamatoria, podría ser similar en peces y en mamíferos. Por otra parte, también se ha mostrado que los peces alimentados con dietas ricas en n-3 mejoran la estabilidad de las membranas celulares (Erdal *et al.*, 1991; Klinger *et al.*, 1996). Este efecto es particularmente importante en animales acuáticos, donde es esencial mantener las propiedades funcionales de las membranas a pesar de los cambios de temperatura que se producen en el medio que les rodea. El mantenimiento de la fluidez de las membranas se considera importante durante la etapa de ingestión en el proceso de fagocitosis (Lall, 2000). La deficiencia de ácidos grasos esenciales en la trucha reduce la muerte de las bacterias por los macrófagos así como la producción de anticuerpos (Kiron *et al.*, 1995). También se ha mostrado en el salmón Atlántico, que una alta relación n-3/n-6 en la dieta previene las cardiomiopatías y la susceptibilidad al estrés (Bell *et al.*, 1991b). Por tanto, los n-3 y n-6 HUFA son ácidos grasos esenciales en peces no solamente desde el punto de vista de su crecimiento y eficacia alimenticia, sino también desde un punto de vista inmunológico y cardiovascular. Resultados más recientes de Bransden y colaboradores (2005b) han mostrado en larvas de bacalao, que la pigmentación de la piel está asociada con el color de los tanques y el nivel de 20:4n-6 en la dieta, afectando ambos factores a la producción de eicosanoides. Sin embargo, los mecanismos bioquímicos implicados en dichos procesos aun no han sido descritos.

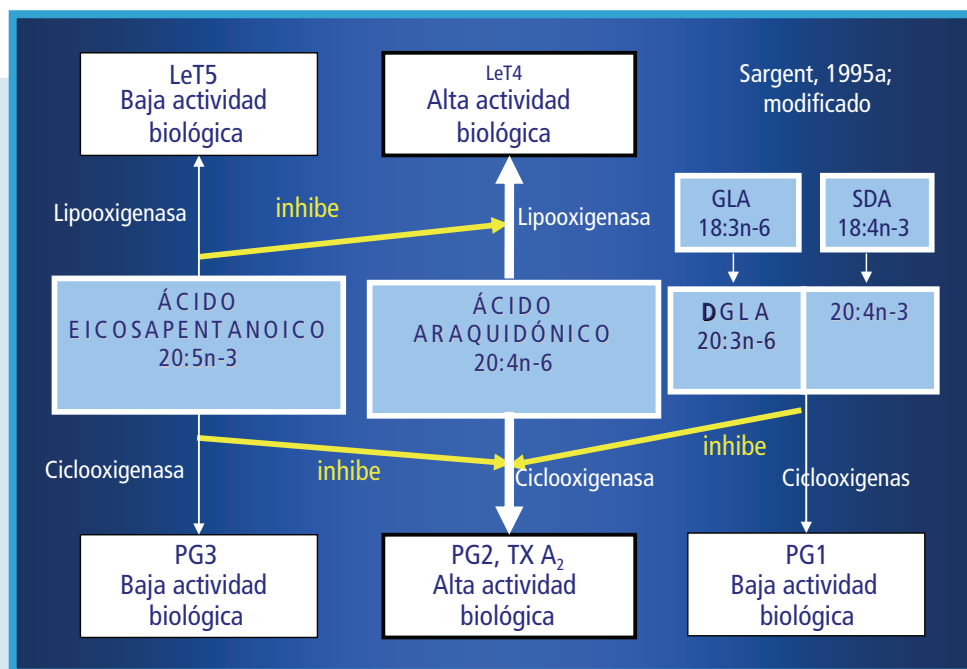


FIGURA 8.

Esquema de la síntesis de eicosanoides a partir de los ácidos grasos 20:4n-6, 20:5n-3, 20:3n-6 y 20:4n-3 (Sargent, 1995a mod.).

4.2.4. Reguladores de la expresión génica

La grasa dietaria es un macronutriente importante para el crecimiento y el desarrollo de todos los animales incluidos los peces. Además de su papel como fuente energética y su importancia en la composición lipídica de las membranas celulares, tiene un profundo efecto sobre la expresión génica, dando lugar a cambios en el metabolismo, crecimiento y diferenciación celular. Teniendo en cuenta la implicación de la misma, en la iniciación o en la progresión de enfermedades crónicas, el conocimiento de las bases moleculares de su acción sobre el genoma, es crítico para poder conocer su papel en la salud animal.

Los efectos de la grasa dietaria sobre la expresión génica, reflejan una respuesta adaptativa tanto a la cantidad de grasa ingerida, como a los cambios en la composición de los ácidos grasos de la misma. Antes



de 1992, los efectos de los ácidos grasos sobre la expresión génica, se atribuían a cambios en los fosfolípidos de membrana o en la producción de eicosanoides. Sin embargo, en aquel año, dos laboratorios mostraron la existencia de receptores nucleares que eran regulados por ácidos grasos (Gottlicher *et al.*, 1992; Jump y Clarke, 1999). Estos receptores, son activadores de la proliferación de peroxisomas (PPARs) y son miembros de una familia de factores de transcripción de receptores hormonales nucleares, tales como hormonas esteroideas o retinoides (Issemann y Green, 1990; Tocher, 2003). Consecuentemente, algunos ácidos grasos o sus metabolitos (eicosanoides), actúan como hormonas para controlar la actividad de estos factores específicos de transcripción, los cuales son reguladores críticos de la homeostasis lipídica en mamíferos.

En los últimos años se ha realizado un gran esfuerzo, sobre todo en mamíferos, para estudiar los PPARs como mediadores de los ácidos grasos y los efectos de la proliferación de peroxisomas sobre el metabolismo y la diferenciación celular. En mamíferos se han descrito tres subtipos de PPARs (α , γ , β/δ) los cuales son codificados por tres genes separados. A cada uno de estos receptores se pueden unir distintos PUFAs pero dentro de un rango solapable, uniéndose preferentemente la serie n-3 frente a la n-6. Esta preferencia, unida a la diferente distribución celular de los PPARs, da como resultado una especificidad tisular. Así, los PPARs α en mamíferos, se encuentran predominantemente en el hígado y tienen una particular afinidad por los LTB₄ y por los PUFA y también por sustancias químicas específicas tales como los fibratos. El tratamiento con estos compuestos da lugar a la expresión de genes que están involucrados en el metabolismo lipídico, incluyendo genes relacionados con el transporte (apolipoproteínas AI, AII, CIII, proteínas transportadoras de ácidos grasos, CD36), biosíntesis (acetil-CoA sintetasa, enzima málica, esteroil-CoA desaturasa I), deposición y almacenaje (proteína de unión del lípido al adipocito, fosfoenolpiruvato carboxilasa) y oxidación y metabolismo (acetil-CoA oxidasa, carnitina palmitoiltransferasa, CYP4A1, 4A6, lipoprotein lipasa, etc.) de los ácidos grasos (Smith, 2002). Asimismo, los PPAR α participan en la regulación del metabolismo de los ácidos grasos a nivel mitocondrial (Brandt *et al.*, 1998) y en la cetogénesis (Rodríguez *et al.*, 1994b).



En contraste, los PPAR γ se expresan predominantemente en el tejido adiposo. Su expresión se requiere para la formación de un determinado adipocito. Los dos marcadores de la diferenciación terminal del adipocito (aP2) una proteína ligada a un ácido graso, y la carboxiquinasa fosfoenolpiruvato, una enzima que participa en la vía de la gliceroneogénesis, son reguladas por los PPAR γ (Tontonoz *et al.*, 1995; Tocher, 2003). Los PPAR γ también regulan la expresión de genes que codifican lipoprotein-lipasas y proteínas implicadas en el transporte de ácidos grasos y almacenamiento en los adipocitos (Motojima *et al.*, 1998; Jump y Clarke, 1999; Jump, 2002; Evans *et al.*, 2004).

Los PPAR β , también conocidos como PPAR δ , muestran una amplia distribución tisular. Estudios llevados a cabo con diversas sustancias, las cuales podrían modular la actividad de este tipo de receptores, sugieren que los ácidos grasos, o sus metabolitos, son probablemente, reguladores más eficaces que los fibratos o tiazolidinedionas (TZD). Aunque se han realizado numerosos estudios, no se conocen con precisión las vías metabólicas o procesos de diferenciación celular ligados exclusivamente a PPAR β (Jump y Clarke, 1999; Jump, 2002; Bedu *et al.*, 2005; Kilgore y Billin, 2008).

A pesar de que el mayor esfuerzo investigador sobre el papel que juega la grasa dietaria en la expresión génica, se ha realizado en mamíferos, si tenemos en cuenta, la importancia de los lípidos y de los ácidos grasos en la nutrición de peces, el diseño de dietas artificiales con niveles adecuados de estos nutrientes se debe basar, no solamente en estudios de crecimiento, supervivencia o calidad de la carne, sino también en estudios genéticos, ya que los requerimientos nutricionales de las distintas especies vienen determinados por sus características genéticas, siendo importante conocer qué genes se expresan y a qué nivel. Estudios realizados en salmón Atlántico (*Salmo salar*), en dorada (*Sparus aurata*) y en la platija (*Pleuronectes platessa*) (Ruyter *et al.*, 1997; Leaver *et al.*, 1998, 2005, 2007) han determinado genes que codifican PPARs siendo homólogos a los genes de mamíferos que codifican PPAR α , PPAR β y PPAR γ . Estos estudios sugieren que las tres formas isomorfas de PPARs fueron compartidas por un ancestro común para peces y mamíferos y, por tanto, cabe esperar que los PPARs tengan funciones comunes para ambos filum (Tocher, 2003). Sin embargo, al menos en salmón, parece que hay más de un gen que codifica PPAR β



isomorfos. Si tenemos en cuenta que en mamíferos solamente existe un gen que codifica el subtipo PPAR β , parece que existan divergencias entre las funciones de los PPARs entre peces y mamíferos (Tocher, 2003). No obstante, los genes regulados por PPARs en mamíferos tienen mucho en común con un número de expresiones que se manifiestan en el metabolismo y en la biosíntesis de los lípidos en los peces. Uno de esos genes es el que codifica la acetil-CoA oxidasa peroxisomal (ACO), enzima responsable del acortamiento de ácidos grasos de cadena muy larga en mamíferos, y que se piensa, está implicada en la catálisis de la etapa final en la biosíntesis del DHA. Asimismo, el ACO-RNA m es incrementado en el salmón por tratamiento con fibratos. En roedores, es conocido que los proliferadores peroxisomales, entre ellos el clofibrato, regulan la delta 6, 5 y 9 desaturasas de ácidos grasos (Tocher, 2003). Por otra parte, el clofibrato, también incrementa la desaturación de 20:5n-3 en la trucha (Tocher, 2003). Los peces, al igual que los mamíferos, responden a los proliferadores peroxisomales (entre ellos los fibratos) y particularmente a los aceites de pescado hidrogenados, con un incremento en la β -oxidación peroxisomal (Ruyter *et al.*, 1997). Teniendo en cuenta estas observaciones, tanto en mamíferos como en peces, los PPARs parecen jugar un papel crítico para regular los genes involucrados en la homeostasis lipídica actuando como receptores de ácidos grasos y transductores de señales (Tocher, 2003).

Estudios más recientes, han determinado las propiedades funcionales de los PPARs en peces, mostrando que tanto los ácidos grasos insaturados como los poliinsaturados eran buenos moduladores para los PPAR α , aunque el más efectivo era el activador sintético, Wy-14643, seguido del ácido linolénico conjugado (CLA) y el eicosanoide, hydroxiei-cosatetraenoico (HETE). Los moduladores para los PPAR β eran similares a aquellos descritos para PPAR α . Sin embargo, no se han identificado buenos ligandos para PPAR γ (Leaver *et al.*, 2005). Con el fin de determinar la activación transcripcional dependiente de PPARs en peces, se realizó un estudio *in-vitro* utilizando, tanto cultivos celulares primarios como líneas celulares establecidas. Los primeros resultados sugirieron que la delta 6 y delta 5 desaturasas de ácidos grasos y la glutatión-S-transferasa-A en peces, eran reguladas por PPARs y que la elongasa de ácidos grasos y la enzima málica también podrían serlo, mientras



la carnitina palmitoil transferasa-A y las sintetasas de ácidos grasos no parecían ser reguladas (Tocher *et al.*, 2004b). Recientemente, estudios realizados *in vivo* en salmón y en otras especies, los cuales fueron alimentados con dietas conteniendo ácidos grasos de 18 carbonos incluyendo, el ácido linolénico conjugado (CLA), mostraron que este último, tenía efectos sobre el metabolismo lipídico en el hígado. Especialmente en el salmón, el CLA determina el contenido de lípido hepático debido fundamentalmente a una disminución de los triacilglicéridos. Asimismo, también se observó un incremento en el nivel de los ácidos grasos esenciales, 20:4n-6, 20:5n-3 y 22:6n-3 (Tocher *et al.*, 2004b). Estos resultados claramente sugieren que el CLA es un activador de PPAR α en el hígado del salmón, regulando genes implicados en la β -oxidación de los ácidos grasos e incrementando la síntesis de ácidos grasos altamente insaturados (HUFA), posiblemente a través de la regulación de la actividad de las desaturasas. Recientemente, también en el salmón Atlántico, se mostró que la suplementación de la dieta con aceites vegetales afectaba a la expresión de genes involucrados en el metabolismo lipídico del hígado (Zheng *et al.*, 2004b; Jordal *et al.*, 2005). Sin embargo, recientes estudios llevados a cabo en dorada han sugerido que, en esta especie, el CLA tiene poco efecto sobre la lipogénesis hepática y que, por tanto, la suplementación con este ácido graso podría no ser de interés en el cultivo de la dorada (Diez *et al.*, 2007).

En estudios realizados en la platija (*Pleuronectes platessa*) y en la dorada (*Sparus aurata*), se han clonado genes activadores de los tres receptores PPARs, sugiriéndose que aunque filogenéticamente son homólogos a los PPARs de mamíferos, el patrón de expresión de mRNA de los PPARs en las dos especies de peces estudiadas, difiere de aquel observado en otros vertebrados, encontrándose diferencias fundamentales en la función de los PPARy en peces respecto a mamíferos (Leaver *et al.*, 2005).

4.2.5. Mediadores de otras funciones celulares

Los lípidos también pueden actuar como mediadores en un amplio rango de procesos fisiológicos. Así el fosfatidil inositol (PI) es un fosfolípido importante en este sentido, debido a su papel como precursor de dos segundos mensajeros de gran importancia biológica: el inositol trifosfato (IP3) y



el diacilglicerol (DAG). El IP3 activa una cascada intracelular incrementando los niveles de calcio citosólico, mientras el DAG activa una proteína quinasa C en presencia de Ca^{2+} . Esta enzima fosforila y, por tanto, modula, la actividad de diferentes proteínas que controlan importantes procesos celulares entre los que se encuentran la glucogenólisis estimulada por la vasopresina en el hígado, la secreción de amilasa o de insulina por la acetilcolina en el páncreas, etc. (Lodish *et al.*, 2002; Bell y Sargent, 2003). En peces existe escasa información sobre las especificidades de estos mecanismos, a pesar de la relevancia que el PI tiene en ciertos tejidos de vital importancia en la iono-osmorregulación como el tejido branquial (Tocher, 2003).

Otros mediadores lipídicos de reciente descubrimiento y aún por explorar en peces, son las resolvinas y protectinas. Las resolvinas derivan de los ácidos grasos n-3 HUFA y son precursoras del ácido acetil-salicílico por tanto, inhiben la migración de las células inflamatorias a los sitios de la inflamación, así como la desactivación de otras células similares. Por otra parte las protectinas son mediadores lipídicos derivados del DHA con propiedades antiinflamatorias, inmunorreguladoras y neuroprotectoras (Hong *et al.*, 2005; Serhan *et al.*, 2006).

4.3. DIGESTIÓN, ABSORCIÓN, TRANSPORTE Y METABOLISMO DE LOS LÍPIDOS

4.3.1. Digestión, absorción y transporte

En general, la digestión, absorción y el transporte de lípidos no han sido estudiados en profundidad en peces, asumiéndose que los procesos fisiológicos básicos son similares a los de mamíferos (Sargent *et al.*, 1989; 2002). Para que los lípidos procedentes de la dieta sean incorporados como nutrientes al organismo, se lleva a cabo una cadena de procesos que ocurren desde la ingestión de los mismos y que son: lipólisis, solubilización, absorción hacia el interior del enterocito, re-esterificación y transporte hacia la linfa (Sargent *et al.*, 2002; Tocher, 2003). Todos ellos constituyen en conjunto el proceso de digestión y absorción de los lípidos que se esquematiza en la Fig. 9.

Estudios recientes muestran además, que parte de los ácidos grasos dietarios pueden seguir otros destinos metabólicos dentro del propio enterocito, pudiendo ser esterificados localmente en forma de TAG o en

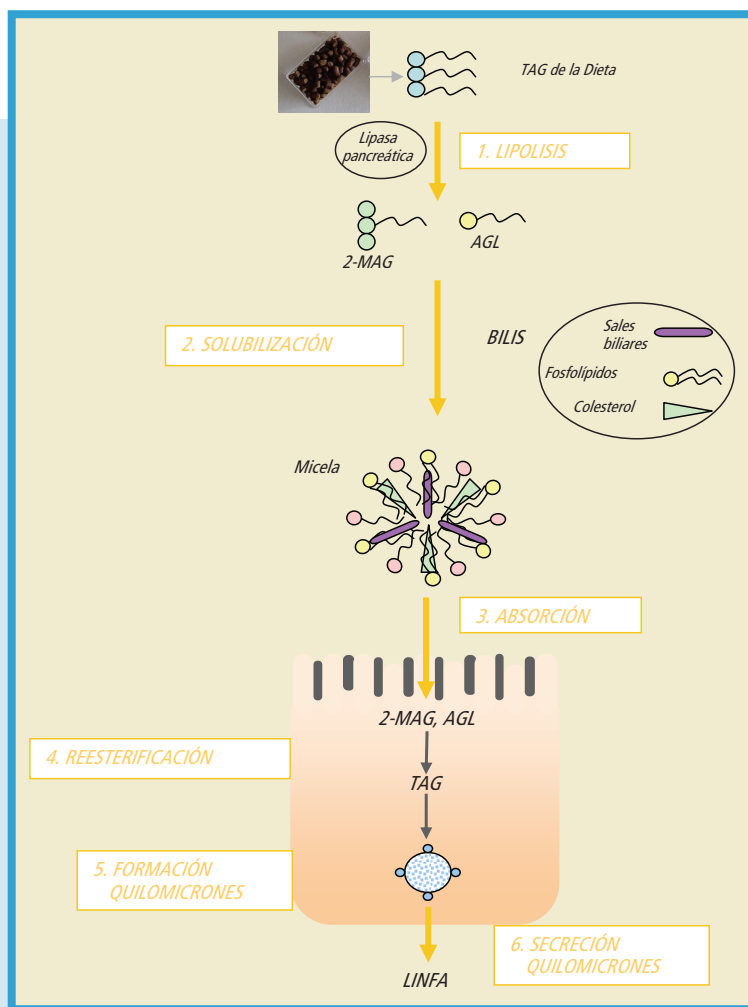


FIGURA 9.

Esquema simplificado del proceso de digestión y absorción de lípidos en el intestino de peces. TAG: triglicéridos; AGL: ácidos grasos libres; 2-MAG: 2-monoacilglicerol.

los fosfolípidos de las membranas, β -oxidados o transformados *in situ* en otros ácidos grasos tras sufrir procesos de elongación y desaturación (Pérez et al., 1999; Tocher et al., 2002, 2004a; Bell et al., 2003a; Mourente et al., 2005a; Fonseca-Madrigal, 2005; Dópido, 2006). Procesos, estos



últimos, que hasta la fecha, habían sido considerados más propios de los hepatocitos (Buzzi *et al.*, 1996, 1997; Rodríguez *et al.*, 2002). Ello se justifica por el hecho de que en el borde apical del enterocito abundan estructuras de membrana particularmente ricas en fosfolípidos, con elevado contenido en ácidos grasos de cadena larga y elevado número de insaturaciones, por lo que se hace necesario mantener, tanto sus propias reservas lipídicas, como la maquinaria sintética que garantice el turnover y funcionalidad de dichos fosfolípidos de membrana.

Lipólisis. La mayor parte de los lípidos presentes en la dieta son TAG, que para ser absorbidos por el enterocito necesitan una rotura previa en las posiciones *sn*-1 y *sn*-3 para producir dos ácidos grasos libres (AGL) y el 2-monoacilglicerol (MAG). Esta rotura es llevada a cabo en el lumen intestinal por enzimas lipasas mayoritariamente de origen pancreático; aunque numerosos estudios sugieren que las lipasas digestivas también pueden ser secretadas por la propia mucosa gástrica e intestinal (Fange y Grove, 1979; Smith, 1989; Olsen y Ringo, 1997). La bibliografía referente a la actividad lipolítica en los peces resulta controvertida. Así, existe una concepción general de que la lipólisis es mayor en la parte proximal del intestino y en los ciegos pilóricos, en el caso de tenerlos, disminuyendo progresivamente hacia la parte posterior (Olsen y Ringo, 1997). Por el contrario, se han descrito casos en los que la distribución de la actividad lipolítica es justamente la contraria, aumentando en el sentido próximo distal del intestino. Este es el caso del rodaballo (*Scophthalmus maximus*), de manera que en el análisis de la ingesta se ha encontrado un aumento progresivo de AGL en el sentido próximo-distal del intestino, demostrando que la digestión de lípidos dietarios parece ir en aumento a medida que avanzamos hacia la región posterior del tracto intestinal, y que el descenso de los mismos en el contenido luminal que tiene lugar en el último tramo, es debido a un aumento de la absorción en las regiones posteriores (Koven *et al.*, 1994a,b, 1997). Este descenso de los AGL de la ingesta en la región posterior, observada en rodaballo, coincide con nuestros estudios recientes que muestran un aumento de AGL en el interior de los enterocitos de dicho tramo en la dorada. Igualmente, la mayor presencia de fosfatidil glicerol (FG) y MAG en los ciegos pilóricos, parece indicar una mayor actividad digestiva en esta región (Dópidio, 2006).



Ello concuerda, a su vez, con el hecho de que la mayoría de las especies de teleósteos presentan una mayor digestión de las grasas en las regiones anteriores del intestino y en los ciegos pilóricos.

Solubilización. Los principales productos de la lipólisis de los TAG, AGL y 2-MAG, forman micelas con la ayuda de los componentes de la bilis. Éstas son agregados de sales biliares, colesterol y fosfolípidos que se orientan con sus regiones hidrofóbicas hacia el interior de la micela y sus grupos polares hacia el exterior, aumentando su solubilidad en el ambiente acuoso que las rodea (Koven *et al.*, 1994a,b; Tocher, 2003).

Absorción. Una vez solubilizados o emulsionados los principales productos de la digestión atraviesan la membrana apical del enterocito. Aunque esta absorción no se ha estudiado con detenimiento en peces, es probable que se lleve a cabo principalmente por un proceso de difusión pasiva (Sheridan, 1988; Tocher, 2003). Sin embargo, existen evidencias de que, al menos en enterocitos de trucha, la velocidad de absorción depende del tipo de ácido graso (Pérez *et al.*, 1999). Tal vez el tamaño y estructura del ácido graso determina su facilidad de paso, lo que concuerda con los estudios que demuestran la existencia de proteínas ligadas a membrana, también llamadas FABP (fatty acid binding proteins), con distintas afinidades por uno u otro ácido graso. Se trata de una situación similar a la descrita para las enzimas lipolíticas del salmón Atlántico y la trucha, que tienen afinidad por ácidos grasos concretos, como el EPA (20:5 n-3) y el DHA (22:6 n-3) (Halldorsson y Haraldsson, 2004).

Re-esterificación. En el interior del enterocito, la mayor parte de los AGL absorbidos son reesterificados con glicerol, acil-glicerol y lisofosfolípidos para formar de nuevo TAG y fosfolípidos (Sargent *et al.*, 1989, 2002). Esta reesterificación tiene lugar en el retículo endoplasmático. El destino de los ácidos grasos dentro del enterocito también parece ser diferente de manera que ácidos grasos tales como el 20:4n-6, 20:5n-3, 22:6n-3 y 16:0 se esterifican preferentemente en los fosfolípidos, mientras que el 18:1n-9 y 18:0 aparecen mayoritariamente en los TAG (Minich *et al.*, 1997; Olsen *et al.*, 1999; Pérez *et al.*, 1999; Bell *et al.*, 2001, 2003b,c; Tocher *et al.*, 2002; Fonseca-Madrigal *et al.*, 2005).

Transporte. Los AGL absorbidos son, en su mayoría, reesterificados en forma de TAG, empaquetados en quilomicrones y secretados hacia



la linfa atravesando la membrana basolateral del enterocito. Los quilomicrones son lipoproteínas que constituyen, en definitiva, un medio de transporte fisiológicamente estable a través del medio acuoso en el que se encuentran y que serán transportados bien directamente al hígado, que es el centro lipogénico por excelencia, o al resto de los tejidos. Los lípidos que son transportados en los quilomicrones y que llegan al hígado, son liberados y utilizados de nuevo, para la síntesis de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), que, a su vez, transportan estos lípidos, principalmente en forma de triglicéridos, vía sanguínea, a los diferentes tejidos y órganos de reserva. Asimismo, algunos de los ácidos grasos absorbidos en el enterocito no formarán parte de los quilomicrones, sino que serán β -oxidados o acumulados como reserva energética del propio enterocito o pasarán a formar parte de sus abundantes y altamente renovables estructuras de membrana, previa transformación o no, en otros ácidos grasos derivados (Minich *et al.*, 1997; Olsen *et al.*, 1999; Bell *et al.*, 2001, 2003b,c; Tocher *et al.*, 2002; Fonseca-Madrigal *et al.*, 2005).

4.3.2. Metabolismo de los lípidos. Obtención de n-3 y n-6 HUFA a partir de sus precursores C18 PUFA

En términos generales, el metabolismo de los lípidos, incluyendo la síntesis *de novo* de ácidos grasos, su β -oxidación en las mitocondrias o en los peroxisomas, la esterificación de los ácidos grasos para formar triglicéridos o fosfolípidos, etc., es igual que el descrito para otros vertebrados (Mathews y Van Holde, 2002; Strayer *et al.*, 2003; Lehninger, 2006). Por esta razón, estos procesos no serán tratados en el presente capítulo. No obstante, estudios recientes muestran ciertas diferencias entre peces marinos y dulceacuícolas en cuanto a su capacidad para sintetizar n-3 y n-6 HUFA a partir de sus precursores C18 PUFA, y también ciertas particularidades en cuanto a las rutas de síntesis de eicosanoides a partir de sus ácidos grasos precursores. Debido a la trascendencia que adquieren estos procesos en la nutrición de los peces, serán tratados en mayor profundidad en este capítulo. Presentamos a continuación los aspectos más relevantes de las rutas metabólicas de los n-3 y n-6 HUFA, mientras que las rutas de síntesis de los eicosanoides han sido expuestas en el apartado 2.4.



Como se ha señalado anteriormente, los lípidos de la dieta son necesarios tanto para la provisión de energía mediante la oxidación de sus ácidos grasos, como para la síntesis de lípidos estructurales tales como el colesterol y los fosfolípidos que componen las membranas celulares y que juegan un importante papel regulando su fluidez y funcionalidad (Sargent *et al.*, 1989, 2002). Los ácidos grasos C 20/22, EPA, DHA y AA, también denominados n-3 y n-6 HUFA, proceden directamente de la dieta o son formados endógenamente a partir de sus precursores C 18 dietarios. Los peces de agua dulce, al igual que los mamíferos, son generalmente capaces de sintetizar HUFA a partir de sus precursores de 18 átomos de carbono: el 18:3n-3 ó ácido α -linolénico para el EPA y el DHA, y el 18:2n-6 ó ácido linoleico, para el AA (Watanabe, 1987; Sargent, 1995b). Tradicionalmente, se aceptaba que la conversión de 18:3n-3 y 18:2n-6, a sus homólogos altamente insaturados C 20 y 22, tiene lugar a través de una ruta metabólica que combina la acción secuencial de las desaturasas $\Delta 6$, $\Delta 5$ y $\Delta 4$, con reacciones de elongación de la cadena (Henderson y Tocher, 1987). Sin embargo, estudios más recientes en mamíferos y también en peces como la trucha y el rodaballo (Voss *et al.*, 1991; Sprecher *et al.*, 1995; Buzzi *et al.*, 1996, 1997; Rodríguez *et al.*, 1997, 2002) han establecido que esta cadena de reacciones tiene lugar sin la intervención de la $\Delta 4$, es decir, vía sucesivas elongaciones y desaturaciones $\Delta 6$ y $\Delta 5$ hasta obtener intermediarios C 24 HUFA, que finalmente son acortados en los peroxisomas para dar 22:6n-3 y 22:5n-6 de las series n-3 y n-6, respectivamente (Fig. 10).

En los peces marinos, al contrario de lo que ocurre en las especies dulceacuícolas, estos ácidos grasos 22:6n-3, 20:5n-3 y 20:4n-6, son pobremente sintetizados a partir de sus precursores de 18 átomos de carbono, por lo que resultan esenciales y deben incluirse en la dieta (Owen *et al.*, 1975; Watanabe, 1982; Bell *et al.*, 1994a, 1995a, 1997b; Sargent, 1995b; Buzzi *et al.*, 1996, 1997; Ghioni *et al.*, 2002; Tocher, 2003; Fonseca-Madrigal *et al.*, 2005). Así, en la dorada, al igual que en otras especies marinas como la lubina y el rodaballo, hay una deficiencia importante en la actividad $\Delta 6$ y particularmente en la $\Delta 5$ (Owen *et al.*, 1975, Tocher *et al.*, 1991, 1997; Mourente y Tocher, 1993a, b, 1994, 1998; Ghioni *et al.*, 1999; Tocher y Ghioni, 1999; Rodríguez *et al.*, 2002; Mourente *et al.*, 2005a,b). Por otro lado, estudios llevados a cabo con células en cultivo

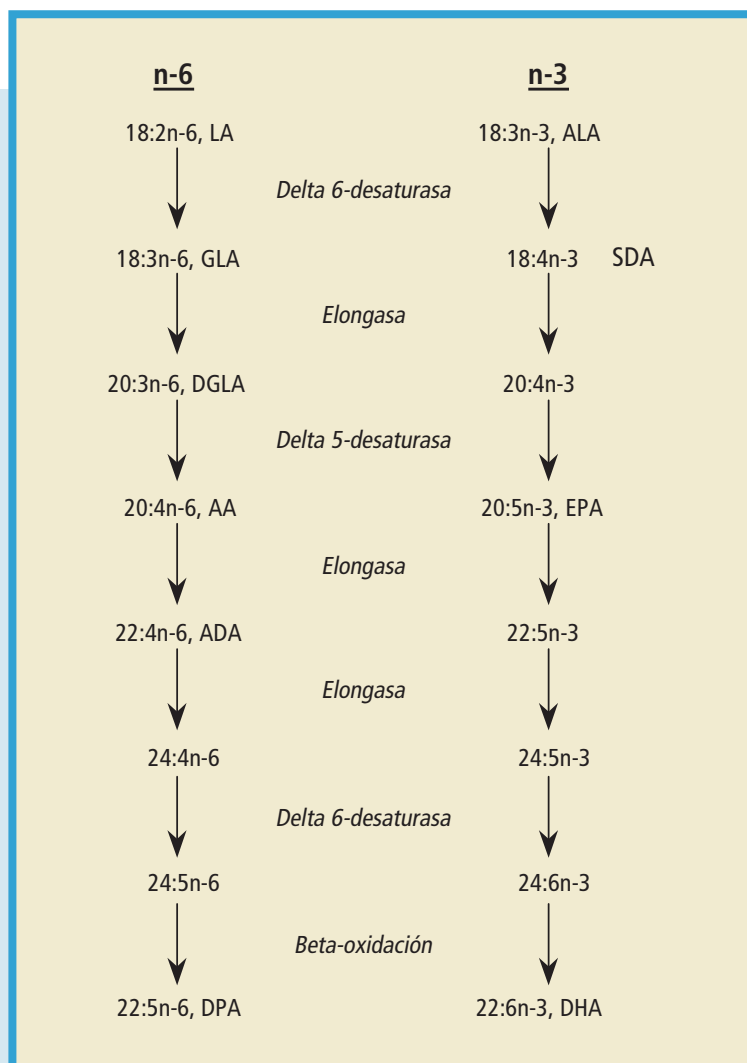


FIGURA 10.

Ruta de síntesis de los ácidos grasos n-6 y n-3 HUFA.

LA: ácido α -linoleico; GLA: ácido gamma-linolénico;

DGLA: ácido dihomo-gamma linolénico; AA: ácido araquidónico;

ADA: ácido adrénico; DPA: ácido docosapentaenoico;

ALA: ácido linolénico; SDA: ácido araquidónico;

EPA: ácido eicosapentaenoico;

DHA: ácido docosahexaenoico.



han revelado también la deficiencia en la actividad elongasa C18 a C20 (Ghioni *et al.*, 1999). Esta deficiencia parece ocurrir también en otras especies incluyendo el bacalao, el salmón ártico, la dorada y la lubina, y afecta más concretamente, a la conversión de 18:4n-3 (procedente del 18:3n-3 o de la dieta), a 20:4n-3 (Tocher y Ghioni, 1999; Rodríguez *et al.*, 2002; Bell *et al.*, 2006; Tocher *et al.*, 2006). En definitiva, desde el punto de vista de la nutrición humana, el uso de aceites vegetales ricos en 18:3n-3 y 18:2n-6, y carentes de n-3 y n-6 HUFA esenciales, debe limitarse para la fabricación de piensos comerciales destinados a la alimentación de peces marinos que de forma natural se alimentan de pescado más pequeño rico en estos ácidos grasos esenciales.

4.4. REQUERIMIENTOS LIPÍDICOS

Como se señala en el apartado de consideraciones generales del presente capítulo, los requerimientos lipídicos de las distintas especies de peces varían en función de multitud de factores. Así, serán diferentes en especies marinas o de agua dulce o si sus hábitos alimenticios son más o menos carnívoros, viéndose influenciados además por parámetros ambientales como la temperatura y la salinidad. Asimismo, dentro de una misma especie, las necesidades variarían según la etapa de desarrollo y más concretamente, en las etapas de reproducción y desarrollo embrionario y larvario.

El contenido graso de un pescado va a depender, no sólo de su capacidad metabólica, sino sobre todo, del contenido graso de la dieta que será diferente en función de la velocidad a la que el productor quiera obtener el pescado en su talla comercial. Otro factor a tener en cuenta en el diseño de una dieta es el destino comercial de este pescado, es decir, si es un pescado para consumo directo en fresco en cuyo caso suele interesar un pescado menos graso, o si, por el contrario, va a ser procesado para obtener subproductos tales como el ahumado, en cuyo caso, será necesario partir de un pescado más graso.

Por todo ello, hemos considerado que este apartado debía abordar de forma secuencial: aspectos a tener en cuenta para evaluar las necesidades lipídicas de una especie, tipos de dietas comerciales según su contenido graso, nociones generales sobre requerimientos en alevines, juveniles y



adultos, y aspectos más concretos relacionados con la importancia de los lípidos en la reproducción y el desarrollo embrionario y larvario.

4.4.1. Información útil para evaluar los requerimientos nutricionales de lípidos y ácidos grasos

Ensayos con dietas experimentales

Uno de los métodos más directos y utilizados para evaluar los requerimientos lipídicos de una especie, consiste en realizar ensayos de alimentación en los que se contrastan los resultados de ingesta, digestibilidad, crecimiento, supervivencia, características organolépticas, calidad nutritiva, etc., del pescado alimentado por un periodo determinado, con dietas experimentales de contenido variable en grasa (dietas de alta, media o baja energía; grasa de origen marino o vegetal; triglicéridos, fosfolípidos o ésteres metílicos..), o en ácidos grasos concretos (n-3 HUFA, EPA/ DHA/ AA, n-3/n-6, etc.). Ello permite obtener una información básica sobre lo que debe llevar o no una dieta y los niveles óptimos de cada nutriente, buscando el equilibrio adecuado para garantizar, al mismo tiempo, la calidad del pescado, la buena nutrición del pez y el compromiso de sostenibilidad. Este tipo de estudios resulta particularmente útil, bien para afinar o ajustar las dietas de engorde de especies consolidadas, o bien para tantear dietas de nuevas especies, de cara a diversificar el sector (Ibeas *et al.*, 1996, 1997; Rodríguez *et al.*, 1996, 1997, 1998a,b; 2004; Almansa *et al.*, 1999, 2001).

No obstante, para abordar el estudio de las necesidades lipídicas de una especie totalmente nueva para la industria acuícola o para asegurar la buena nutrición de los peces de cultivo en aquellas etapas en las que fisiológicamente tienen lugar cambios importantes como son, la reproducción y el desarrollo larvario, o los cambios de salinidad y temperatura en especies de carácter anádromo o catádromo, es aconsejable añadir a la información obtenida en este tipo de ensayos, la que se desprende de otros estudios como los que se describen a continuación:

Comparación de ejemplares salvajes y cultivados

La comparación de los perfiles lipídicos de los tejidos de ejemplares capturados del medio natural y de ejemplares sometidos a condiciones de cultivo, aporta información muy útil. Por un lado, se obtiene el perfil



de ácidos grasos de los peces salvajes, que es reflejo de su dieta natural y, por lo tanto, se asume como óptimo (Sargent *et al.*, 1999a). Por otro lado, de las diferencias observadas entre individuos salvajes y cultivados, es posible identificar las posibles carencias de la dieta comercial o experimental para, en su caso, corregir su formulación (Rodríguez *et al.*, 2004; Cejas *et al.*, 2003, 2004 a,b; Pérez *et al.*, 2007).

Analizando la evolución de la composición lipídica corporal (contenidos de lípidos y perfiles de clases lipídicas y ácidos grasos) de machos y hembras en estado salvaje a lo largo del ciclo reproductor y, en particular, de aquellos tejidos y órganos más directamente implicados en la formación de las gónadas (músculo e hígado, tejido adiposo y grasa perivisceral), se obtiene también información relevante sobre las variaciones de los requerimientos lipídicos por sexo y estado reproductivo (Pérez *et al.*, 2007).

Del mismo modo, a partir de individuos salvajes es posible realizar el análisis lipídico de las gónadas maduras, y de la calidad y perfil lipídico de los huevos recién emitidos y de las larvas resultantes en distintos momentos del desarrollo embrionario, obteniéndose información muy valiosa de los requerimientos de la especie en cuestión y más concretamente, durante sus primeras etapas del desarrollo en las que la nutrición adquiere particular relevancia (Cejas *et al.*, 2003, 2004a; Salze *et al.*, 2005).

Análisis de contenidos estomacales

De los contenidos estomacales de individuos salvajes es posible también deducir si se trata de una especie herbívora, carnívora u omnívora, las preferencias dietarias en cuanto a especies o incluso las proporciones adecuadas de los distintos nutrientes incluyendo los lípidos (Rosechi, 1987; Porcile *et al.*, 1987; Divanach *et al.*, 1993; Abellán *et al.*, 1994; Pepe *et al.*, 1998; Goncalvez y Erzini, 2000; Escoubet *et al.*, 2001). Estudios más recientes muestran que el uso del análisis de isótopos estables en los contenidos estomacales y en los propios tejidos aportan una información relevante sobre la composición de la dieta natural y muy útil en el diseño de dietas experimentales (Beltrán *et al.*, 2005).

Estudios metabólicos y genéticos

Hoy en día, son frecuentes también los estudios de metabolismo «*in vivo*» e «*in vitro*», que, si bien resultan más complejos de abordar, aportan



información relevante sobre aspectos concretos de la nutrición. Este es el caso de estudios sobre capacidad de digestión, absorción y deposición de una determinada fuente lipídica y, más concretamente, los estudios de seguimiento metabólico de ácidos grasos radiactivos que permiten analizar la capacidad de la especie en cuestión para beta-oxidar o esterificar un determinado ácido graso, o bien, producir $\omega 3$ y $\omega 6$ HUFA a partir de sus precursores metabólicos. En este sentido, una dieta carente de n-3 HUFA ayuda a aumentar la actividad elongasa/desaturasa en los peces, facilitando el estudio del metabolismo de los n-3 y n-6 HUFA (Buzzi *et al.*, 1996, 1997; Rodríguez *et al.*, 1997, 2002). Este tipo de estudios de sustitución total o parcial de aceites de pescado por aceites vegetales carentes de n-3 y n-6 HUFA son muy útiles para analizar los cambios de la expresión génica de desaturasas y elongasas y de otras enzimas implicadas en el metabolismo de los lípidos (Tocher *et al.*, 1991, 1997; Buzzi *et al.*, 1996, 1997; Mourente y Tocher, 1993a, b, 1994, 1998; Ghioni *et al.*, 1999, 2002; Tocher y Ghioni, 1999; Rodríguez *et al.*, 2002; Tocher, 2003; Fonseca-Madrigal *et al.*, 2005; Mourente *et al.*, 2005a,b; Zheng *et al.*, 2005 a,b; Leaver *et al.*, 2005; Jordal *et al.*, 2005; Agaba *et al.*, 2005; Almada-Pagán *et al.*, 2007; Jobling *et al.*, 2008; Leaver *et al.*, 2008; Fountoulaki *et al.*, 2009). Estos aspectos, adquieren particular relevancia hoy en día a la hora de analizar las repercusiones que la sustitución parcial de aceites de pescado por aceites vegetales tiene, en el desarrollo y calidad nutritiva del pescado de cultivo (Regost *et al.*, 2003a, b; Torstensen *et al.*, 2005) (ver aptdo. 6).

4.4.2. Niveles y proporciones dietarias óptimas de lípidos

En los peces y particularmente en los peces carnívoros, como son la mayoría de las especies marinas incluyendo la dorada, la lubina o el rodaballo, los lípidos constituyen la principal fuente de energía, seguido de las proteínas. En estas especies, así como en los salmónidos de hábitos también carnívoros, la capacidad para utilizar los carbohidratos con fines energéticos es muy limitada (Smith, 1989). Ello es debido probablemente, a la adaptación a una dieta natural carente o escasa en carbohidratos. Esta capacidad contrasta, sin embargo, con la de especies herbívoras/omnívoras como la carpa (*Cyprinus carpio*) o la tilapia (*Oreochromis niloticus*), que consumen plantas que contienen polisacáridos complejos como la celulosa, la quitina y la lignina, difícilmente digeribles por el pez sin la ayu-



da de una flora intestinal especializada (Watanabe, 1982; Smith, 1989). Ello explica, que las dietas formuladas por la industria acuícola de peces contengan predominantemente proteína y lípidos, además de pequeñas proporciones de vitaminas y minerales esenciales. No obstante, es habitual encontrar en estas fórmulas de piensos comerciales ciertas cantidades de polisacáridos como la celulosa, el almidón o la dextrina, cuya digestibilidad debe ser mejorada previamente, normalmente durante el proceso de extrusión, pero que ayudan a la motilidad y absorción intestinal.

Debido a que la proteína es el componente basal más caro de la dieta, se ha realizado un importante esfuerzo investigador en los últimos años, con el fin de diseñar dietas para suministrar los niveles óptimos de proteína, preservando un balance adecuado de otros nutrientes capaces de suplir la energía mínima requerida. Este balance es lo que se denomina relación proteína digerible: energía digerible (PD:ED). Se trata de que la mayor parte de la proteína dietaria sea utilizada para la generación de nuevo tejido o, lo que es lo mismo, para el crecimiento del pez. Si bien es inevitable que una parte de la proteína sea utilizada para la producción de energía, por oxidación directa de los aminoácidos o mediante la conversión de los mismos a glucosa, estos procesos pueden ser minimizados si se incluye en la dieta una abundante fuente energética de nutrientes. Los lípidos, son precisamente los nutrientes principales capaces de cumplir esta función energética y ahorradora de proteína dietaria (protein sparing effect), en muchas especies de peces (Sargent *et al.*, 1989, 2002). Así, los juveniles del lenguado de invierno (*Pleuronectes americanus*), muestran un crecimiento significativamente mayor con relaciones proteína:lipido de 50:10 (26,6 mg KJ-1 proteína digerible a energía), que con valores proteína:lipido de 40:20 (Hebb *et al.*, 2003). No obstante, y debido a las interacciones metabólicas existentes entre proteínas, lípidos y carbohidratos, establecer los requerimientos exactos de lípidos en los peces es difícil de calcular. En general se acepta que con un 10-20 % de lípidos, expresado en peso seco de dieta, se asegura un uso eficiente de la proteína para crecimiento, sin generar, al mismo tiempo, un exceso de deposición grasa en los tejidos del pez (Cowey y Sargent, 1979; Watanabe, 1982; Sargent *et al.*, 1989). Este es el caso de juveniles y pre-adultos de pargo rojo, *Lutjanus campechanus*, para los que asegurando un aporte de 32-36 % de proteína bruta, el nivel óptimo de lípidos para cubrir las necesidades energéticas y ahorrar proteína dietaria,



es de un 10 % (Miller *et al.*, 2005). Los juveniles de la cobia (*Rachycentron canadum*) parecen cubrir su requerimiento con 5,76 % de lípido, dentro de un rango de 3 a 18 % establecido con 7 dietas isocalóricas e isoenergéticas (Chou *et al.*, 2001), y los juveniles del mero o cherna (*Epinephelus malabaricus*) lo hacen con un mínimo de 4 % de lípido dietario (Lin y Shiau, 2003). Igualmente, juveniles de fletán (*Hippoglossus hippoglossus*, L), de 0,4 g de peso, muestran un desarrollo adecuado con dietas que contengan un máximo de 50 g Kg⁻¹ de carbohidratos, un mínimo 580 g Kg⁻¹ de proteína y un rango de 50-300 g Kg⁻¹ de lípidos (Hamre *et al.*, 2005). Por su parte, en pargo (*Pagrus pagrus*), los niveles recomendados de proteína y lípido en dietas para juveniles fueron de 500 y 150 g kg⁻¹, respectivamente (Schuchardt *et al.*, 2008).

Sin embargo, no debemos olvidar que el requerimiento exacto de lípidos dependerá, entre otros factores, de los niveles dietarios de proteína y también de carbohidratos en especies tales como la carpa (Watanabe, 1982; Sargent *et al.*, 1989). Igualmente, los requerimientos de ácidos grasos esenciales van a depender del nivel de lípidos de la dieta. Así, los requerimientos de n-3 HUFA aumentan en alevines de la dorada japonesa (*Pagrus major*) (Takeuchi *et al.*, 1990) y de la seriola (*Seriola quinqueradiata*) (Takeuchi *et al.*, 1992a), con el aumento del aporte dietario de lípidos. Estudios recientes realizados por Morais *et al.*, (2006) en larvas de dorada, muestran además que el aumento del nivel de lípidos dietarios afecta de forma significativa a la ingesta y la eficacia de absorción de estos lípidos, si bien, el efecto dependía de la fuente lipídica, sugiriendo que la composición en ácidos grasos de la dieta es un factor más determinante que el propio nivel de lípido total. Los autores postulan que la fuente lipídica o el perfil de ácidos grasos de la dieta, regulan la ingesta mediante mecanismos pre- o post-absortivos, tales como palatabilidad, digestibilidad y estimulación de rutas neuroendocrinas.

En los últimos años se han ensayado las denominadas dietas de alta energía o elevado contenido graso. Estas dietas se diseñan para incrementar la tasa de crecimiento del pez a base de explotar al máximo el efecto de ahorro proteico de los lípidos dietarios, permitiendo la máxima conversión de la proteína dietaria en proteína muscular. Aunque este efecto ahorrador de proteínas está bien documentado, los límites en cuanto a su efectividad no han sido bien definidos en ninguna es-



pecie. Si bien un aumento de los lípidos dietarios implica, en muchos casos, un aumento del crecimiento, el uso de esta práctica puede alterar el metabolismo del pez, teniendo consecuencias negativas para su salud y bienestar, y desde el punto de vista del consumidor, al afectar a la calidad (Sargent y Tacon, 1999) y sabor del producto final (Ballestrazzi y Mion, 1993), además de aportar un excesivo contenido graso.

Se dispone de escasa información en relación con el uso de dietas de alta energía y ésta concierne principalmente, a las especies de peces más cultivadas a nivel europeo: el salmón, la trucha, la dorada y la lubina. En el caso de la trucha arco iris, un nivel dietario de lípidos del 21 % dio lugar a mejores tasas de crecimiento que niveles del 8 y 11 % (Luzzana *et al.*, 1994). Igualmente, en la trucha común (*Salmo trutta*), un 29 % mejoró el crecimiento frente a un 21 % (Arzel *et al.*, 1993). En el salmón Atlántico se han ensayado niveles muy elevados de lípidos dietarios, de manera que dietas con 38 % y 47 % de lípido mejoraron la tasa de crecimiento obtenida al emplear dietas con 31 % de lípido (Hemre y Sandnes, 1999). Estudios más recientes con juveniles del salmón masu (*Oncorhynchus masou*), muestran un crecimiento y aprovechamiento de la proteína óptimos, con una dieta de alta energía conseguida combinando 40 % de proteína y una mezcla de aceite de hígado de sepia y aceite de soja, hasta obtener un nivel energético de 21 MJ Kg⁻¹ (Lee y Kim, 2001). Con la lubina se han obtenido mejores resultados con niveles de 19 % frente a 11 % ó 15 % (Lanari *et al.*, 1999), habiéndose establecido un límite para esta especie de manera que 24 % dio mejores resultados de crecimiento que niveles de 12, 18 ó 30 % (Peres y Oliva-Teles, 1999). Un buen indicador de que este efecto promotor del crecimiento de los lípidos dietarios, depende de la etapa de desarrollo, es el hecho de que un aumento de 12 % a 20 % de los lípidos de la dieta no afectó al crecimiento larvario de la lubina (Salhi *et al.*, 1994), mientras que en alevines de la misma especie el aumento de lípidos de 9 % a 15 % mejoró el crecimiento y la eficacia de utilización de la proteína dietaria (Vergara *et al.*, 1996). La importancia de optimizar el tamaño de la ración en relación con el uso de dietas de alta energía, con el fin de evitar exceso de deposición grasa, ha sido también investigada en la dorada europea (Company *et al.*, 1999). Hoy en día la mayoría de las casas productoras de piensos comerciales fa-



brican piensos extrusionados para el engorde de dorada y lubina, con contenidos grasos que oscilan entre 18 y 22 %.

Existen claras evidencias de la estrecha relación existente entre los niveles lipídicos dietarios y los de la carcasa del pez (Cowey, 1993). Así, dietas con elevados contenidos lipídicos generan un incremento de grasa en el músculo de peces dulceacuícolas como el pez gato (Stowell y Gatlin, 1992; Anwar y Jafri, 1995) y la perca plateada (*Leiopotherapon bidyanus*) (Anderson y Arthington, 1989), en peces marinos como el rodaballo (Stephan *et al.*, 1996), la caballa Atlántica (*Scomber scombrus*) (Hemre *et al.*, 1997), la lubina (Catacutan y Coloso, 1995) y la chopa (Rodríguez *et al.*, 2004), y en salmónidos incluyendo la trucha común (Arzel *et al.*, 1993), la trucha arcoiris (Luzzana *et al.*, 1994; Weatherup *et al.*, 1997; Dias *et al.*, 1999), el salmón rey (*Oncorhynchus tshawytscha*) (Silver *et al.*, 1993) y el salmón Atlántico (Bell *et al.*, 1998; Hemre y Sandnes, 1999). El uso de dietas de alta energía, ampliamente extendido en los últimos años en la industria salmonera, se evidencia en el hecho de en los años 70 se utilizaba un máximo de un 20 % de lípidos mientras que a finales de los 90 era casi del doble (Einen y Roem, 1997). No obstante, la industria del salmón Atlántico y en particular la del salmón destinado a la obtención de subproductos, reconoce que el exceso de deposición grasa merma la calidad del producto final (Hilletsstad *et al.*, 1998; Bell *et al.*, 1998; Refsgaard *et al.*, 1998).

Por último, debe tenerse en cuenta que el nivel de lípidos dietarios afecta, al propio metabolismo lipídico del pez, incluyendo la modulación de la lipogénesis. Se sabe que un incremento del aporte dietario de lípidos reduce la síntesis *de novo* de ácidos grasos a través de la inhibición de varias enzimas del hígado implicadas en la lipogénesis (Kheyyali *et al.*, 1989; Sargent *et al.*, 1989; Corraze *et al.*, 1993; Brauge *et al.*, 1995; Shimeno *et al.*, 1995; Dias *et al.*, 1999). Una dieta de alto contenido graso puede alterar el metabolismo lipídico hasta el punto de generar la patología denominada hígado graso. Se trata de una infiltración de grasa que resulta histológicamente detectable y que ha sido señalada en ejemplares de varias especies como el híbrido de la lubina estriada (sunshine bass, *Morone chrysops* x *M. saxatilis*), cuando se les alimenta con dietas con un contenido graso del 16 % (Gallagher, 1996), y en doradas



alimentadas con un 27 % de lípidos frente a valores de 15 y 22 % (Caballero *et al.*, 1999).

4.4.3. Niveles y proporciones dietarias óptimas de ácidos grasos poliinsaturados n-3 y n-6

Aspectos generales

Todos los vertebrados, incluyendo el hombre, tienen unos requerimientos dietarios mínimos de ciertos ácidos grasos poliinsaturados (PUFA). Así, ante una deficiencia dietaria de estos ácidos grasos, el animal deja de crecer, desarrolla diversas patologías y, como consecuencia, muere. Es por ello que, como se comentó en apartados anteriores, estos ácidos grasos, que incluyen miembros de las familias n-6 (ω 6) y n-3 (ω 3), son ácidos grasos esenciales (AGE). En términos generales estos ácidos grasos esenciales para los vertebrados son el ácido linoleico o 18:2n-6 y el ácido α -linolénico o 18:3n-3, ambos de origen vegetal y, por lo tanto, incorporados a través de la dieta. No obstante las formas biológicamente activas de estos AGE, y las que van a estar presentes en elevadas cantidades en todos los tejidos animales, son sus homólogos respectivos de 20 y 22 átomos de carbono y altamente insaturados (HUFA), y más concretamente los ácidos grasos: 20:4n-6 y 22:5n-6 entre los n-6 y 20:5n-3 y 22:6n-3 entre los n-3. Algunos vertebrados como el gato o los peces marinos, no pueden convertir los PUFA C18 en sus homólogos C20 y C22 HUFA. Para estas especies, son precisamente los C20 y C22 HUFA los ácidos grasos dietarios esenciales, que deben ser incorporados ya preformados a través de la dieta. En el resto de las especies son esenciales los PUFA C18, si bien, los HUFA C20 y C22 son más efectivos desde el punto de vista nutricional. Otra particularidad a destacar es que los peces y en particular los peces marinos, tienen un requerimiento muy superior de AGE n-3 que de n-6 (Sargent *et al.* 1989), mientras que en general, el requerimiento de n-6 en los mamíferos terrestres es superior al de n-3 (Burdge y Calder, 2005).

Además de constituir la fuente esencial de energía, los lípidos de la dieta son necesarios como fuente de ácidos grasos para la síntesis de nuevos lípidos celulares necesarios para el crecimiento, la reproducción y el propio turnover de los lípidos estructurales. En nutrición lipídica de peces se trata principalmente de aportar los niveles de AGE necesarios



para cubrir los requerimientos de la especie y producir un buen crecimiento y desarrollo. No obstante, estos requerimientos varían entre especies marinas y dulceacuícolas y pueden variar sustancialmente a lo largo de la vida del pez. Además, existen importantes inhibiciones competitivas entre los n-6 y los n-3 PUFA, en términos de reacciones de elongación y desaturación de los ácidos grasos C18 para obtener ácidos grasos C20 y C22 HUFA, así como para la producción de eicosanoides (Figs. 9, 10). Todo ello indica, que definir los requerimientos de AGE para una especie determinada, implica no sólo determinar los requerimientos absolutos de los PUFA, sino también, el balance óptimo entre ambas series de ácidos grasos (Sargent, 1997; Sargent *et al.*, 1995a, 1999a,b; 2002; Izquierdo, 1996, 2005; Izquierdo *et al.*, 2000; Bell y Sargent 2003; Bell *et al.*, 2003a,b; Watanabe y Vassallo-Agius, 2003).

4.4.3.1. Requerimientos lipídicos de peces marinos

Como se señaló anteriormente, la mayoría de las investigaciones realizadas hasta la fecha sobre requerimientos de AGE de peces marinos demuestran que los requerimientos de ácidos grasos n-3 sólo pueden ser cubiertos por el EPA 20:5n-3 y el DHA 22:6n-3, conjunto que habitualmente se denomina n-3 HUFA (Tablas 2, 3). Este hecho es el resultado lógico de la adaptación a dos circunstancias; a la cadena alimenticia del medio marino donde son estos los PUFA predominantes, y a la condición de carnívoros de la mayoría de las especies de peces marinos investigados hasta el momento. En la cadena trófica marina las algas del fitoplancton son ricas en 20:4n-6, 20:5n-3 y 22:6n-3 y más pobres en 18:3n-3 y 18:2n-6 (Sargent, 1995a; Sargent *et al.*, 1995a,b, 2002; Ruiz *et al.*, 2008). Los peces carnívoros consumen pescado más pequeño rico en 20:5n-3 y 22:6n-3 derivado de este fitoplancton *vía* zooplancton y, por lo tanto, no necesitan convertir su limitada ingesta de 18:3n-3 a 20:5n-3 y 22:6n-3. Aparentemente, la capacidad para realizar esta conversión se ha ido perdiendo durante la evolución. Las especies no marinas estudiadas hasta la fecha poseen, sin embargo, la capacidad para realizar esas conversiones metabólicas. Ello implica que para las especies de peces marinas, y en particular para aquellas que más se cultivan hoy en día, como la dorada, la lubina, el rodaballo y el fletán, son HUFA esenciales los ácidos grasos: 20:4n-6, 20:5n-3 y 22:6n-3.



Llama la atención, sin embargo, que siendo los juveniles del mujil (*Liza aurata*), eminentemente herbívoros en estado salvaje, posea una capacidad muy limitada para convertir C18 PUFA en C20 y C22 HUFA *in vivo* (Mourete y Tocher, 1993b). La abundancia de 20:5n-3 y 22:6n-3 en las algas marinas (ver Sargent *et al.*, 1995a,b) asegura que incluso una especie marina herbívora, reciba en su dieta natural suficiente cantidad de estos HUFA por lo que no necesita la conversión de C18 PUFA a C20 y C22 HUFA, convirtiéndose estos últimos, en AGE también para esta especie.

Reproductores

La nutrición de los reproductores es de vital importancia para producir huevos y larvas de calidad con contenidos óptimos en ácidos grasos (Tandler *et al.*, 1995; Almansa *et al.*, 1999; Izquierdo *et al.*, 2001; Sargent *et al.*, 2002; Watanabe y Vassallo-Agius, 2003; Izquierdo, 2005). Durante el desarrollo ovárico, reservas endógenas y dietarias son movilizadas y transportadas hasta los oocitos para proveer energía y aportar sustratos necesarios para el crecimiento y desarrollo del embrión y la larva hasta el comienzo de la alimentación exógena.

La composición en ácidos grasos y especialmente, la composición en clases lipídicas de los huevos de peces, está menos influida por la dieta que la composición lipídica de otros tejidos. Sin embargo, a pesar de esta tendencia a la conservación, es posible alterar la composición en ácidos grasos de los huevos en proporciones relativamente pequeñas pero potencialmente muy importantes para la calidad de los mismos (Sargent *et al.*, 2002). Una manera de desarrollar una dieta ideal para reproductores consiste en determinar la composición de las gónadas maduras de hembras reproductoras salvajes y de los huevos recién eclosionados e intentar reproducir esta composición en los huevos de los peces de acuicultura (Silversand *et al.*, 1996; Pickova *et al.*, 1997; Cejas *et al.*, 2003, 2004 a,b; Rodríguez *et al.*, 2004; Pérez *et al.*, 2007). A este respecto, el contenido lipídico, composición en clases lipídicas y ácidos grasos pueden ser potencialmente determinantes de la calidad del huevo (Wiegand, 1996; Rainuzzo *et al.*, 1997; Sargent *et al.*, 1999b; Izquierdo *et al.*, 2001).

Numerosas investigaciones se han centrado en el estudio de la influencia de los ácidos grasos de la dieta suministrada a los reproductores



sobre la composición en ácidos grasos de los huevos y sobre la calidad de puesta. En varias especies de peces marinos, como lubina (Trush *et al.*, 1993; Bell *et al.*, 1997a; Navas *et al.*, 1997), dorada (Mourente y Odriozola, 1990; Fernández-Palacios *et al.*, 1995; Rodríguez *et al.*, 1998a; Almansa *et al.*, 1999; Jerez, 2006), jurel dorado (*Pseudocaranx dentex*) (Vassallo-Agius *et al.*, 1998, 2001), bacalao (Silversand *et al.*, 1995), seriola (Verakunpiriya *et al.*, 1996), lenguado japonés (Furuita *et al.*, 2000, 2003) y burro (*Plectorhynchus cinctus*) (Li *et al.*, 2005), se ha mostrado que la composición en ácidos grasos del huevo puede verse afectada por la dieta de los reproductores. Varios estudios han mostrado que el nivel de n-3 HUFA de la dieta de los reproductores se correlaciona con varios criterios determinantes de la calidad del huevo como son la eclosión, la tasa de fertilización y la supervivencia larvaria en especies como la dorada (Mourente y Odriozola, 1990; Harell *et al.*, 1992; Fernández-Palacios *et al.*, 1995; Rodríguez *et al.*, 1998a; Almansa *et al.*, 1999; Jerez, 2006), lubina (Navas *et al.*, 1997; Bruce *et al.*, 1999), lenguado japonés (Furuita *et al.*, 2000) y burro (*Plectorhynchus cinctus*) (Li *et al.*, 2005).

Por otra parte, estudios realizados en lubina (Bell *et al.*, 1997a; Bruce *et al.*, 1999), fletán (Bromage *et al.*, 2001; Mazorra *et al.*, 2003) y eglefino (Castell *et al.*, 2001), mostraron que cuando los reproductores se alimentaban con altos niveles de 20:4n-6, mejoraba la calidad de puesta, sugiriendo además la importancia de la relación AA/EPA/DHA en la dieta de los reproductores. En concreto, reproductores de fletán alimentados con dietas que contenían un 2 % de 20:4n-6 del total de ácidos grasos de la dieta, mostraron una mejoría en las tasas de fertilización y de eclosión comparados con aquellos reproductores alimentados con 0,5 % o 1 % de 20:4n-6 (Bromage *et al.*, 2001; Mazorra *et al.*, 2003). En otras especies de peces marinos tales como eglefino (*Melanogrammus aeglefinus*) o el pargo de manglar (*Lutjanus argentimaculatus*) también se ha mostrado que la suplementación de la dieta de los reproductores con 20:4n-6 mejora la calidad de huevos y larvas (Castell *et al.*, 2001; Emata *et al.*, 2003). En el lenguado japonés, una suplementación de AA en la dieta de 0,6 % mejoró la capacidad reproductora, pero un nivel más alto de AA (1,2 %) afectó negativamente a la calidad de huevos y larvas (Furuita *et al.*, 2003). Esto sugiere que el 20:4n-6 puede ser específicamente concentrado en los huevos



frente a otros tejidos, y confirma una alta actividad biológica para este HUFA en los procesos reproductivos (Sargent *et al.*, 2002).

Por otra parte, a pesar de que el espermatozoide contiene altos niveles de HUFA (Tinoco, 1982; Labbe *et al.*, 1991) existe escasa información sobre los requerimientos lipídicos de machos reproductores y cómo influyen éstos sobre la calidad de puesta. A este respecto, numerosos estudios han mostrado la sensibilidad del espermatozoide a la manipulación de la dieta, principalmente a través de modificaciones en su composición lipídica (Watanabe *et al.*, 1984; Leray y Pelletier, 1985; Labbe *et al.*, 1991, 1995; Bell *et al.*, 1996; Martín, 2003). Así, en especies como la lubina (*Dicentrarchus labrax*), la distribución de ácidos grasos en los fosfolípidos del espermatozoide refleja los ácidos grasos de la dieta (Bell *et al.*, 1996). Por otra parte, Asturiano y col. (2001) observaron que en machos reproductores de lubina (*Dicentrarchus labrax*), alimentados con una dieta comercial enriquecida con aceite de pescado, el periodo de espermiación era más largo y producían mayor volumen de espermatozoides, así como una mayor supervivencia del embrión y la larva, comparados con aquellos peces alimentados con dieta no enriquecida.

Así mismo, el nivel de lípidos en la dieta, más que el contenido en proteínas, es de gran importancia para la síntesis de esteroides tanto en la gónada macho como en la hembra (Cerdá *et al.*, 1997). Dentro de los lípidos, los ácidos grasos poliinsaturados juegan un papel particularmente importante en la regulación de la función gonadal en peces (Wade y Van der Kraak, 1993; Wade *et al.*, 1994a, b; Asturiano *et al.*, 2000). Así, estudios realizados en lubina han mostrado que los ácidos grasos poliinsaturados como EPA y DHA atenúan la producción de esteroides estimulados por gonadotrofinas, inhibiendo la formación de PGE₂ a partir de AA (Asturiano *et al.*, 2000). Por tanto, los ácidos grasos poliinsaturados modulan significativamente la producción testicular de testosterona, por lo que tienen importantes efectos en la esteroideogénesis y espermiación en machos.

Embriones y larvas con saco vitelínico

Aunque el contenido lipídico y composición en clases lipídicas de los huevos de los peces varía considerablemente entre especies, en la ma-



yoría de los peces marinos los huevos tienen relativamente poca cantidad de lípido (menos del 5 % del peso húmedo) (Sargent *et al.*, 2002). Las reservas lipídicas en los huevos son almacenadas en el saco vitelínico y, en algunas especies, en la gota de grasa. Los lípidos del saco vitelínico son fundamentalmente lípidos polares, especialmente fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina ricos en n-3 HUFA y, más concretamente, 22:6n-3. El lípido polar constituye aproximadamente el 60-90 % del lípido total de los huevos en el arenque (*Clupea harengus*), eglefino (*Melanogrammus aeglefinus*), liba (*Merlagius merlangus*), fogonero (*Pollachius virens*) (Tocher y Sargent, 1984), bacalao (*Gadus morhua*) (Fraser *et al.*, 1988) y fletán (*Hippoglossus hippoglossus*) (Falk-Petersen *et al.*, 1989). Los lípidos neutros son principalmente TAG y pequeñas cantidades de colesterol, y en las especies que contienen gota de grasa, ésta es rica en ésteres de esteroles y de ceras (Sargent *et al.*, 2002). Entre los ácidos grasos del lípido neutro destaca el alto contenido en ácidos grasos monoinsaturados. En la dorada (Mourente y Odriozola, 1990; Ronnestad *et al.*, 1994), lenguado (*Solea senegalensis*) (Vazquez *et al.*, 1994; Mourente y Vazquez, 1996), dentón (*Dentex dentex*) (Mourente *et al.*, 1999), lubina (Ronnestad *et al.*, 1998) y rodaballo (Siversand *et al.*, 1996), el lípido neutro representa más del 50 % del lípido total.

En la mayoría de los peces, durante la embriogénesis y primeras fases del desarrollo larvario, la provisión de nutrientes como fuente energética y formación de estructuras depende de sus reservas endógenas transferidas por los reproductores durante el proceso de vitelogenénesis. Por tanto, los huevos de los peces, deben contener todos los nutrientes necesarios para el desarrollo del embrión y el crecimiento de la larva hasta la absorción del saco vitelínico, antes de su alimentación exógena (Ronnestad *et al.*, 1994, Wiegand, 1996; Rainuzzo *et al.*, 1997; Sargent *et al.*, 2002). El lípido puede ser incorporado en el huevo procedente de la dieta durante la vitelogenénesis o de las reservas que son almacenadas antes de la vitelogenénesis y subsecuentemente movilizadas para este propósito (Wiegand, 1996).

La composición en ácidos grasos del lípido total del huevo varía entre las especies, pero es relativamente más resistente a los cambios en la dieta que la composición en ácidos grasos de otros tejidos. Los huevos de dorada arenque, eglefino, bacalao, liba, fogonero, platija,



fletán rodaballo, lenguado, dentón y sargo contienen altos niveles de 20:5n-3 y 22:6n-3 (Tocher y Sargent, 1984; Falk-Petersen *et al.*, 1989; Rainuzzo, 1993; Parrish *et al.*, 1993; Rodríguez *et al.*, 1993, 1994b, 1998a; Vázquez *et al.*, 1994; Evans *et al.*, 1996; Silversand *et al.*, 1996; Almansa *et al.*, 1999; Mourente *et al.*, 1999; Cejas *et al.*, 2004b; Salze *et al.*, 2005; Jerez, 2006). Las altas concentraciones de n-3 HUFA, especialmente DHA, en el lípido polar son consistentes con el importante papel estructural que juegan los fosfolípidos que contienen estos ácidos grasos, para el embrión en desarrollo. Por tanto el embrión en desarrollo y la larva emergente, tienen un requerimiento elevado de n-3 HUFA, por lo que una carencia de estos ácidos grasos esenciales en la composición del huevo conllevaría a una baja calidad de puesta.

Aunque los huevos de peces marinos presentan proporciones más bajas de n-6 que de n-3 HUFA, los primeros, y en concreto el ácido araquidónico, parece ser también determinante en la composición de los huevos. Así, se ha encontrado que en los huevos de bacalao los niveles de ácido araquidónico se correlacionan positivamente con parámetros de la calidad de puesta tales como el porcentaje de fertilización y de eclosión y la simetría (Salze *et al.*, 2005). Por el contrario, en la anguila japonesa y en el perro pintado *Anarhichas minor*, el nivel de ácido araquidónico en el huevo se ha correlacionado negativamente con la calidad de puesta (Tveiten *et al.*, 2004; Furuita *et al.*, 2006). Por tanto, no parece existir un requerimiento universal de 20:4n-6 para asegurar una mayor supervivencia de los huevos. Otros estudios han mostrado que no sólo es importante la cantidad absoluta de n-3 HUFA (20:5n-3 y 22:6n-3) y de 20:4n-6, sino también las relaciones 22:6n-3/20:5n-3 y 20:5n-3/20:4n-6, las cuales se han relacionado positivamente con los parámetros de calidad de puesta (Bell *et al.*, 1997a; Pickova *et al.*, 1997; Mazorra *et al.*, 2003; Jerez, 2006).

La utilización de los lípidos y ácidos grasos durante el desarrollo embrionario y larvario difiere considerablemente entre especies (Sargent *et al.*, 2002). En la mayoría de los peces, los lípidos y entre ellos, específicamente los lípidos neutros, se consideran como la principal fuente energética (Vetter *et al.*, 1983; Blaxter, 1988). Sin embargo, varios autores han mostrado que en algunas especies, los fosfolípidos son utilizados no solamente para la división celular y organogénesis



sino también como fuente de energía (Tocher *et al.*, 1985; Rainuzzo, 1993; Sargent, 1995a). Así, la dorada japonesa y el lenguado utilizan preferentemente los lípidos neutros después de la eclosión, mientras el arenque y bacalao catabolizan fosfolípidos preferentemente durante la embriogénesis y en menor proporción, durante la fase larvaria (Sargent *et al.*, 1989; Tocher *et al.*, 1985, Fraser *et al.*, 1988).

Aunque generalmente se asume que los ácidos grasos saturados y monoinsaturados como el 16:0 y el 18:1n-9, respectivamente, son los sustratos preferentemente utilizados para la obtención de energía, algunos trabajos también han mostrado la utilización de los ácidos grasos altamente insaturados (HUFA) como el 20:5n-3 y el 22:6n-3 como sustrato energético. En especies como el bacalao (Finn *et al.*, 1995), fletán (Ronnestad *et al.*, 1995), lenguado (Vázquez *et al.*, 1994; Mourente y Vázquez, 1996), dentón (Mourente *et al.*, 1999) y sargo (Cejas *et al.*, 2004) se ha mostrado la utilización del 20:5n-3 y 22:6n-3 como fuente de energía. Posiblemente la utilización de un tipo u otro de ácido graso como fuente energética dependa del contenido en fosfolípidos o triacilglicéridos presentes en el huevo. Los huevos ricos en fosfolípidos como los del fletán y la platija, tienen un alto contenido en HUFA; por tanto, parece obvio que utilicen el 20:5n-3 y el 22:6n-3 como sustrato energético. Por su parte, los huevos de especies pelágicas como la dorada, lubina, lenguado y dentón que contienen altos niveles de triacilglicéridos ricos en ácidos grasos saturados y monoeno en su gota de grasa, utilizarán preferentemente éstos últimos como fuente de energía (Ronnestad *et al.*, 1998; Mourente y Vázquez, 1996; Mourente *et al.*, 1999). En algunas especies en las cuáles los fosfolípidos actúan como sustrato energético, el DHA liberado de la hidrólisis puede ser conservado por transferencia al lípido neutro, con el fin de preservar estos ácidos grasos esenciales para que puedan ser usados en la síntesis de membranas (Tocher *et al.*, 1985, Wiegand, 1996, Sargent *et al.*, 2002). Por tanto, las reservas de lípido neutro actúan también como un reservorio de ácidos grasos esenciales para un subsiguiente uso estructural.

Larvas y alevines

Para el acuicultor, el cultivo larvario de peces marinos es la etapa más compleja y delicada debido, no sólo al pequeño tamaño de las larvas,



sino a que éstas sufren constantes procesos de metamorfosis y poseen un sistema digestivo tan rudimentario, que aún hoy es difícil utilizar con éxito microdietas formuladas, siendo los resultados de crecimiento y supervivencia bastante pobres con el uso exclusivo de microdietas (Rueda-Jasso *et al.*, 2005; Chang *et al.*, 2006). Así, en la mayoría de los casos debe añadirse junto a la microdieta un mínimo de presas vivas (Salhi *et al.*, 1994, 1999; Halfyard *et al.*, 1998; Koven *et al.*, 1998; Bessonart *et al.*, 1999; Cahu y Zambonino Infante, 2001; Leifson *et al.*, 2003; Pousao-Ferreira *et al.*, 2003; Kanazawa, 2003; Robin y Peron, 2004; Chang *et al.*, 2006; Fernández-Díaz *et al.*, 2006). El resultado es que la única opción viable de alimentación de larvas de peces marinos es el uso de presas vivas, principalmente el rotífero (*Brachionus sp.*) durante los primeros días de alimentación exógena, seguido de nauplius de *Artemia* (*Artemia sp.*), hasta que las larvas alcanzan el tamaño y desarrollo adecuados para mantenerse con dietas formuladas. El principal problema del uso de este tipo de zooplancton es su pobre y variable valor nutricional, lo que dificulta enormemente la tarea de definir de forma segura los requerimientos de lípidos y AGE de cada especie, si bien, en las últimas décadas se ha hecho un enorme esfuerzo en este sentido (Brown *et al.*, 1989; Brown y Jeffrey, 1992; Mourente *et al.*, 1993; Rodríguez *et al.*, 1994a, 1996, 1997, 1998b; Izquierdo, 1996; Rainuzzo *et al.*, 1997; Reitan *et al.*, 1997; Shansudin *et al.*, 1997; Sargent *et al.*, 1997, 1999a,b; McEvoy y Sargent, 1999; Dhert *et al.*, 1998; Bessonart *et al.*, 1999; Navarro *et al.*, 1999; Izquierdo *et al.*, 2000; Seiffert *et al.*, 2001; Estévez *et al.*, 2001; Liu *et al.*, 2002; Harel *et al.*, 2002; Bell *et al.*, 2003a; Harel y Place, 2003; Kanazawa, 2003; Stottrup y McEvoy, 2003; Willey *et al.*, 2003; Bransden *et al.*, 2004a,b, 2005a; Morays *et al.*, 2004; Shields *et al.*, 2003; Villalta *et al.*, 2005; Zambonino *et al.*, 2005; Monroig *et al.*, 2006 a,b; Wold *et al.*, 2007; Ferreira *et al.*, 2008).

Tanto el rotífero como la *Artemia*, carecen de los n-3 HUFA esenciales para las larvas de peces marinos, siendo la *Artemia* particularmente rica en 18:3n-3, y, por lo tanto, poco útil en alimentación de especies marinas. Una opción, es el uso de cepas de *Artemia* de tipo marino y, si bien se han encontrado cepas más o menos ricas en EPA (Navarro *et al.*, 1992a,b, 1993a), no ocurre lo mismo para el DHA. Esto es debido, al menos en parte, a la tendencia de la *Artemia* a retroconvertir



22:6n-3 a 20:5n-3 (Evjemo *et al.*, 1997; Navarro *et al.*, 1999). Todo ello implica, que previamente a su uso, las presas vivas utilizadas en alimentación de larvas de peces marinos deben ser enriquecidas con n-3 HUFA, existiendo multitud de estrategias diferentes de enriquecimiento (Barclay y Zeller, 1996; Rodríguez *et al.*, 1996; Coutteau y Sorgeloos, 1997; Dhert *et al.*, 1998; McEvoy y Sargent, 1999; Barr *et al.*, 2001; Stortrup y McEvoy, 2003; Monroig *et al.*, 2006a,b; Lund *et al.*, 2007; Ruiz *et al.*, 2008). Como resultado de la investigación desarrollada en los últimos años por diferentes grupos de trabajo, el enriquecimiento de presas vivas es una práctica ampliamente extendida en los sistemas de producción larvaria tanto en las investigaciones desarrolladas sobre requerimientos lipídicos, como a escala comercial (Ostrowski y Kim, 1993; Mourente *et al.*, 1993; Naess *et al.*, 1995; Fernández-Reirez y Labarta, 1996; McEvoy *et al.*, 1997; Blair *et al.*, 1998, 2003; Gara *et al.*, 1998; Stottrup y McEvoy, 2003; Ferreira *et al.*, 2008).

Utilizando presas enriquecidas en AGE o una combinación de éstas con microdietas formuladas, ha sido posible establecer los requerimientos de AGE de las larvas y alevines de diferentes especies de peces marinos (Cuadro 2). El nivel de lípido total de la dieta es un factor determinante en el nivel de requerimiento (Salhi *et al.*, 1994). Igualmente, los requerimientos varían entre especies y para una misma especie, dependiendo de las condiciones de cultivo y del parámetro concreto medido por el investigador (Furuita *et al.*, 1996a,b). Así, hay estudios que señalan que en términos de supervivencia el EPA se presenta como particularmente esencial (Rodríguez, 1994), mientras que para el crecimiento y viabilidad, el conjunto de n-3 HUFA o sólo el DHA, resultan más efectivos (Watanabe, 1993; Mourente *et al.*, 1993; Izquierdo *et al.*, 1989 a,b; Rodríguez *et al.*, 1997, 1998b; Wu *et al.*, 2002; Bransden *et al.*, 2003). No ocurre así con las larvas del sabalote (*Chanos chanos*), que mostraron mejor tasa de supervivencia en los primeros 25 días de cultivo con presas enriquecidas con DHA y sólo reflejaron un efecto positivo del DHA sobre el crecimiento, prolongando el cultivo 60 días más (Gapasin y Duray, 2001). A pesar de ello, parece evidente que el requerimiento larvario de n-3 HUFA es, en términos generales, superior al de alevines, juveniles y preadultos, con el inconveniente de que son pocas las especies en las que poder comparar de forma



directa los requerimientos de AGE en las distintas etapas (Takeuchi *et al.*, 1990, 1992a,b; Takeuchi, 1996; Ibeas *et al.*, 1994; Rodríguez *et al.*, 1994a, 1998a; Furuita *et al.*, 1996a; Salhi *et al.*, 1999). También resulta evidente de la investigación disponible, que en general, las larvas tienen un requerimiento superior de 22:6n-3 que de 20:5n-3 (Izquierdo *et al.*, 1989 a,b; Arnaiz *et al.*, 1993; Watanabe, 1993; Mourente *et al.*, 1993; Rodríguez *et al.*, 1997, 1998b; Copeman *et al.*, 2002), y que los requerimientos de AGE pueden ser alcanzados con un nivel inferior de n-3 HUFA total, siempre y cuando la relación DHA/EPA sea la adecuada (Watanabe, 1993; Izquierdo *et al.*, 1989 a,b; Rodríguez *et al.*, 1994, 1997, 1998b). En este sentido, en las larvas de dorada el nivel óptimo de AGE se consigue con una relación 22:6n-3/20:5n-3 de aproximadamente 1.5-2 (Rodríguez *et al.*, 1994a, 1997, 1998a), mientras que este valor es inferior a 1 en el caso de los alevines (Ibeas *et al.*, 1997). Reitán *et al.*, (1994), consiguieron eliminar la malpigmentación de las larvas de rodaballo cuando el valor de la relación DHA/EPA de las presas vivas era 2. Por otra parte, las larvas de corviñón ocelado alimentadas con una relación DHA/EPA de casi 4, mostraron una respuesta significativamente mejor al test de salinidad (Brinkmeyer y Holt, 1998). Más aún, en las larvas de mahimahi (pez delfín; *Coryphaena hippurus*), la resistencia al estrés ha sido correlacionada positivamente con el 22:6n-3 y no con el 20:5n-3 o con el nivel total de n-3 HUFA, (Kraul *et al.*, 1993). Un estudio más reciente de Cahu *et al.*, (2003), sobre componentes nutricionales que afectan al desarrollo esquelético de larvas de distintas especies de peces, señala también la disminución de la incidencia de deformidad opercular del sabalote cuando las presas vivas están enriquecidas en DHA. Igualmente, el desarrollo de las larvas del trompetero australiano (*Latris lineata*) se ve beneficiado por la inclusión de determinados niveles dietarios de 22:6n-3, por debajo de los cuales, se ven afectados de forma negativa el comportamiento larvario, la resistencia a infecciones y la absorción y transporte de los lípidos (Brandsen *et al.*, 2003, 2005a,b). Una excepción en relación a este efecto positivo del DHA en el desarrollo larvario de peces marinos, es el caso del lenguado senegalés que presentó mejores parámetros de crecimiento cuando la dieta consistió en Artemia no enriquecida frente a Artemia enriquecida con Super HUFA, un enriquecedor que



contenía una elevada relación DHA/EPA. Se trata, sin embargo, de un hecho sorprendente si se tiene en cuenta que los huevos de esta especie poseen un elevado contenido de n-3 HUFA, con una relación DHA/EPA de 4,3 (Morais *et al.*, 2004) frente a valores de 2 ó 3 presentes en la mayoría de las especies. Una explicación posible es que las reservas iniciales de DHA fueran tan elevadas, que seguían estando presentes de forma significativa incluso en las larvas alimentadas con *Artemia* no enriquecida, por lo que, hasta esa etapa, los requerimientos estarían cubiertos por la dotación inicial del huevo.

La principal razón aducida para un mayor requerimiento de DHA en las larvas de la mayoría de las especies estudiadas, es la necesidad de este ácido graso en una fase en la que los tejidos neural y visual están en pleno desarrollo, tejidos cuyos fosfolípidos son ricos en este ácido graso y que, durante la fase larvaria, adquieren una proporción elevada respecto al resto de masa corporal. La importancia del 22:6n-3 para el desarrollo adecuado de estos tejidos es un hecho constatado en multitud de especies, incluyendo el arenque (Navarro *et al.*, 1993b; Bell *et al.*, 1995b), la lubina (Bell *et al.*, 1996; Navarro *et al.*, 1997) o la dorada (Benítez-Santana *et al.*, 2007). Así, deficiencias dietarias de 22:6n-3 dan lugar a larvas de arenque con dificultades en la visión y capacidad depredadora, presumiblemente debidas a disfunciones de los bastones de la retina (Bell *et al.*, 1995b). La avidez por el 22:6n-3 de los tejidos neurales, quedó claramente evidenciada también con el aumento de la presencia de este ácido graso en el cerebro de larvas de rodaballo y dorada que habían sido destetadas, pasando de una dieta deficiente a una dieta rica en 22:6n-3 (Mourete *et al.*, 1991, 1993). Por lo tanto, el aporte de un nivel dietario adecuado de 22:6n-3 es de vital importancia durante el desarrollo larvario de peces marinos, si bien, no está exento de problemas tales como la susceptibilidad a la peroxidación de este ácido graso en los cultivos de presas vivas altamente aireados (McEvoy *et al.*, 1995), o su retroconversión a 20:5n-3, en el caso de la *Artemia* (Evjemo *et al.*, 1997; Navarro *et al.*, 1999), problemas, ambos, que disminuyen el nivel final que de DHA que recibirán las larvas mediante estos sistemas de alimentación.

Los problemas de malpigmentación en la producción de peces planos, incluyendo el rodaballo, el fletán y el lenguado japonés (McEvoy *et al.*,



1998; Estévez *et al.*, 1999), son un hecho constatado. Este problema, que afecta de forma negativa a la comercialización de estas especies, parece mejorar optimizando los niveles de DHA en la dieta (Reitan *et al.*, 1994; McEvoy *et al.*, 1998; Hamre y Harboe, 2008). Asimismo, en el lenguado japonés (*Paralichthys olivaceus*), y otros peces planos se ha encontrado una relación entre pigmentación y la proporción AA/EPA (Estévez y Kanazawa, 1996; Estévez *et al.*, 1997, 2001; Bell *et al.*, 2003b; Villalta *et al.*, 2005, 2008; Lund *et al.*, 2007). Trabajos realizados en rodaballo confirmaron la esencialidad del 22:6n-3 para la buena pigmentación, pero muestran también que los niveles de 20:4n-6 en los lípidos de los tejidos neurales se correlacionan negativamente con la pigmentación y que el nivel óptimo dietario de 20:5n-3 dependía más del nivel dietario de 20:4n-6 que del de 22:6n-3, indicando la importancia de aportar una dieta con un balance adecuado de 22:6n-3/20:5n-3/20:4n-6 (Estévez *et al.*, 1999). Estudios más recientes en larvas de fletán recomiendan una relación EPA/AA de 3,5 en la dieta para obtener una correcta pigmentación (Hamre y Harboe, 2008). Experimentos realizados con la limanda (*Limanda ferruginea*), otro tipo de lenguado, mostraron también que rotíferos ricos en 20:4n-6 producían un efecto negativo en la pigmentación (Copeman *et al.*, 1999, 2002). De hecho, Sargent *et al.*, (1999b) sugieren que el efecto negativo del AA sobre la pigmentación podría deberse a una sobreproducción de eicosanoides derivados de este ácido graso, si bien, según nuestro conocimiento, son muy escasos los trabajos que señalan esta relación entre AA, producción de eicosanoides y pigmentación de larvas de peces (Brandsen *et al.*, 2005; Villalta *et al.*, 2005). Previamente a estos trabajos, se había postulado la influencia negativa del exceso de ácido araquidónico, 20:4n-6, en el desarrollo de las larvas de la dorada europea (Rodríguez *et al.*, 1994a) y en larvas de seriola donde un 4 % de AA en peso seco de nauplios de *Artemia*, inhibía el crecimiento e incrementaba la mortalidad (Ishizaki *et al.*, 1998). Sin embargo, Zheng *et al.* (1996) encontraron que con los niveles dietarios ensayados de 20:4n-6 no se veían afectados el crecimiento o viabilidad de las larvas del bacalao. Otros experimentos señalan que, una vez fijados unos niveles adecuados de n-3 HUFA total y una buena relación 22:6n-3/20:5n-3 en la dieta, un aporte de 1.5 % y 1 % (p.s.) de 20:4n-6 mejora el crecimiento de las larvas de la dorada (Bessonart *et al.*, 1999) y del lenguado japonés, respectivamente (Estévez *et al.*, 1997). En el caso



de las larvas de la lubina estriada (*Morone saxatilis*), Harel *et al.*, (2001), señalan lo delicado del balance dietario DHA:AA en relación con el estrés y la respuesta inmune. De hecho, encontraron mayor crecimiento en larvas enriquecidas con AA que con DHA, pero en condiciones de hipersalinidad, la supervivencia larvaria era mejor en larvas enriquecidas en DHA, obteniéndose la mejor supervivencia en aquellas larvas que tenían en sus tejidos una combinación de 15,4 mg AA g⁻¹ y un rango de 7,2-15,4 mg DHA g⁻¹. Igualmente, Villalta *et al.*, (2005) mostraron más recientemente, que el aporte de 10mg de AA por gramo de peso seco de rotífero, a las larvas del lenguado de verano (*Paralichthys dentatus*), mejora la tolerancia al estrés, permitiendo la obtención de larvas con mayor tasa de supervivencia, crecimiento y tolerancia al estrés en fases posteriores de alimentación con Artemia. Todos estos resultados evidencian la existencia de un requerimiento estricto de 20:4n-6, tal vez más bajo que el de DHA y EPA, pero necesario para el desarrollo óptimo de las larvas de peces marinos (Rodríguez *et al.*, 1994a; Ishizaki *et al.*, 1998; Estévez *et al.*, 1999; Bessonart *et al.*, 1999; Harel *et al.*, 2001). A pesar de su importancia fisiológica, y posiblemente debido a que en los huevos, larvas y tejidos neurales de peces marinos existen niveles muy inferiores de AA frente a EPA y DHA (Tocher y Sargent, 1984; Klungsoyr *et al.*, 1989; Mourente *et al.*, 1991), la esencialidad de este ácido graso ha sido infravalorada (Bell *et al.*, 2003a; Rodríguez *et al.*, 2004; Pérez *et al.*, 2007). Por otro lado, las interacciones de tipo competitivo que existen entre las series n-3 y n-6, hace aún más compleja la tarea de definir las necesidades del ácido araquidónico, y las relaciones dietarias óptimas que deben aportarse de los tres HUFA esenciales, justificando la escasez de trabajos en este sentido.

El zooplancton natural y los copépodos, en particular, serían una buena alternativa al uso de presas enriquecidas para alimentación larvaria de peces marinos. Al menos, su composición en PUFA, HUFA y fosfolípidos así lo indica (Virtue *et al.*, 1995; Shansudin *et al.*, 1997; Evjemo y Olsen, 1997; Evjemo *et al.*, 2003; Van der Meeren *et al.*, 2008), si bien, sufre importantes variaciones estacionales de DHA y posee bajo contenido graso (Evjemo *et al.*, 2003). Este problema de suministro de energía podría solucionarse, sin embargo, combinando los copépodos con nauplius de Artemia de alto contenido graso. El cultivo de copépodos ha dado buenos resultados en el desarrollo de larvas de mahimahi



o pez delfín (Kraul *et al.*, 1993), y en el cultivo de larvas de rodaballo y fletán, que mejoran su pigmentación y metamorfosis (Naess *et al.*, 1995; Naess y Lie, 1998; McEvoy *et al.*, 1998; Shields *et al.*, 1999). Las larvas de platija americana (*Hipoglossoides platessoides*), también mejoran con el copépodo *Tisbe sp.* frente al rotífero convencional (Nanton y Castell, 1998). Sin embargo, las larvas de abadejo mostraban mejor desarrollo con rotífero que con *Tisbe sp.* (Nanton y Castell, 1998). Ello se debe probablemente a que el *Tisbe* bentónico no es una dieta habitual de un pez pelágico como el abadejo.

El conjunto de resultados expuestos muestran que, a pesar del enorme esfuerzo investigador que se viene realizando en los últimos 30 años para mejorar la nutrición larvaria de peces marinos y definir sus requerimientos dietarios, queda aún mucho camino por recorrer hasta que sea posible utilizar con éxito dietas formuladas adaptadas a las necesidades nutricionales de cada especie de interés para la industria acuícola.

Juveniles y adultos

Una vez superada la delicada fase larvaria de alimentación con presas vivas, incluido el destete, el aporte adecuado de n-3 HUFA a través de una dieta artificial, no conlleva una dificultad particular, de manera, que determinar los requerimientos de AGE resulta más fácil. El Cuadro 3 muestra una serie de datos disponibles sobre requerimientos de juveniles y adultos de peces marinos. Para varias especies, incluyendo el rodaballo, la dorada y la lubina, los requerimientos de AGE se cubren con niveles dietarios de n-3 HUFA de un 1 % o inferiores, expresados en peso seco de dieta (Gatesoupe *et al.*, 1977; Yone, 1978; Takeuchi *et al.*, 1990; Lochman y Gatlin, 1993; Lee *et al.*, 1994; Coutteau *et al.*, 1996; Ibeas *et al.*, 1996). En el caso de la lubina, un estudio reciente desarrollado con juveniles de unos 14g, muestra que fijando la relación DHA:EPA en 1,5:1, un 0,7 % de n-3 HUFA total da lugar a un mayor crecimiento que un 0,2 %, pero que por encima de 0,7 y hasta un 1,9 % ensayado, no se obtiene mejora en el crecimiento (Skalli y Robin, 2004). Las necesidades de otras especies son, sin embargo superiores; 1,3 %, 1,7 % y 2,5 % para el sargo dorado (*Rhabdosargus sarba*), el jurel (*Pseudocaranx dentex*) y la limanda (*Pleuronectes ferru-*



gineus), respectivamente (Takeuchi *et al.*, 1992b; Leu, 1994; Whalen y Parrish, 1999). Para muchas de las especies marinas de creciente interés en la industria acuícola como el fletán, el bacalao y varios tipos de lenguado están aún por definir los requerimientos cuantitativos de ácidos grasos esenciales. Un estudio reciente sobre requerimientos de n-3 HUFA en juveniles de una de estas especies de lenguado (starry flunder, *Platichthys stellatus*), señala que aplicando un modelo de punto de inflexión entre distintos niveles ensayados, dentro de un rango de 0,6 a 2,7 %, el requerimiento es de 0,9 % (Lee *et al.*, 2003).

Como se mencionó en el caso de las larvas, los requerimientos de AGE de los juveniles varían con el nivel de lípidos de la dieta (Takeuchi *et al.*, 1992a,b). Asimismo, estudios realizados con la dorada muestran que los requerimientos de HUFA dependen de los propios HUFA dietarios. Así, los requerimientos pueden variar al hacerlo la relación de 22:6n-3/20:5n-3 (Kalogeropoulos *et al.*, 1992; Ibeas *et al.*, 1994, 1996). De alguna manera, se trata de un hecho esperado ya que ambos ácidos grasos no tienen el mismo grado de esencialidad, teniendo generalmente el 22:6n-3 un valor de esencialidad superior en las primeras fases del crecimiento (Watanabe, 1993). Así, con una relación 22:6n-3/20:5n-3 de 0,5 (11 % de lípido en la dieta), el requerimiento total de n-3 HUFA es de aproximadamente 1,9 % de la dieta (Ibeas *et al.*, 1994), mientras que con una relación 22:6n-3/20:5n-3 de 1 (12 % de lípido en la dieta) el requerimiento era sólo de 0,9 % (Kalogeropoulos *et al.*, 1992). Sin embargo, hay que tener en cuenta que el tamaño de los peces utilizados por Ibeas *et al.* (1994) era de 42 g de peso inicial, mientras que en un estudio posterior con peces de 11 gramos y los mismos valores en cuanto a nivel de lípidos y relación DHA/EPA, el requerimiento era cubierto con un mínimo del 1 % (Ibeas *et al.*, 1996). A pesar de que una relación 22:6n-3/20:5n-3 de 1,5- 2 parece ser la óptima para las larvas de dorada, una relación 22:6n-3/20:5n-3 de 0,5 dio mejores resultados de crecimiento en juveniles de dorada alimentadas con dietas que contenían el mismo nivel de lípido y n-3 HUFA (Ibeas *et al.*, 1997). Estudios recientes desarrollados por Lee (2001) con juveniles de chancharro coreano (*Sebastes schlegelii*), señalan un requerimiento de un 0,9 % de la dieta para el conjunto de n-3 HUFA y de 1 % tanto para el EPA como para el DHA, de forma individual. No obstante, en



este último caso, la eficacia del DHA como AGE era superior a la del EPA. Wu *et al.*, (2002), llegaron a resultados similares con juveniles del mero o cherna (*Epinephelus marabalicus*). Los autores probaron 7 dietas con 1 % del conjunto EPA y DHA, pero con una proporción creciente de DHA hasta 3:1 (DHA/EPA). No encontraron diferencias de supervivencia y sí de crecimiento a partir de una relación 1:1, siendo óptimo el resultado con la relación 3:1. Se concluye, una vez más, la superioridad del DHA frente al EPA como AGE para el crecimiento.

Como ocurre en las larvas, en los juveniles de la mayoría de las especies de peces marinos de interés acuícola no se han determinado aún los requerimientos específicos de n-6 HUFA y, más concretamente, de 20:4n-6. Esto es así a pesar de que los tejidos de los peces marinos en estado salvaje, poseen cantidades significativas de este ácido graso (Grigorakis *et al.*, 2002, Bell *et al.*, 2003a; Cejas *et al.*, 2003, 2004a,b; Rodríguez *et al.*, 2004; Martínez-Palacios *et al.*, 2006a; López *et al.*, 2006; Pérez *et al.*, 2007). Se trata de un ácido graso que cumple importantes funciones fisiológicas y que, sin embargo, está presente en pequeñas proporciones en las dietas comerciales de engorde de peces, con la consecuente y progresiva disminución de los niveles de AA de los tejidos de peces de cultivo. Existen algunas evidencias de la importancia de este ácido graso para el crecimiento y buen estado de salud de juveniles de rodaballo (Bell *et al.*, 1985), confirmadas en estudios posteriores donde se señala un valor de aproximadamente 0,3 % en peso seco de dieta, (entre 0,25 y 0,5 %) como valor estimativo de requerimiento y bajo las condiciones de cultivo ensayadas (Castell *et al.*, 1994; Bell *et al.*, 1995a). Bajo nuestro conocimiento, aparte de los estudios mencionados para reproductores, no existen, otros estudios más recientes que traten de dilucidar las necesidades de 20:4n-6 en juveniles y adultos de peces marinos.

4.4.3.2. Requerimientos lipídicos de peces dulceacuícolas

La mayoría de los estudios realizados hasta la fecha, en cuanto a requerimientos de AGE de la serie n-3 en especies de peces dulceacuícolas, señalan que estos pueden ser cubiertos, en general, por el ácido alfa linolénico, 18:3n-3. Otras especies se desarrollan mejor con una combinación de 18:3n-3 y 18:2n-6 o incluso 20:5n-3, y en un núme-



ro reducido de especies, los requerimientos son cubiertos por uno, o los dos, n-3 HUFA principales (Tablas 3 y 4). Debido a que en los vertebrados, son el 20:5n-3 y el 22:6n-3 las formas biológicamente activas de los n-3 esenciales, se deduce que el 18:3n-3 dietario es transformado a 20:5n-3 y 22:6n-3 en la mayoría de la especies de agua dulce estudiadas y que aparecen en estas tablas. No obstante la situación no es tan sencilla o directa como en el caso de los peces marinos (revisado en Sargent *et al.*, 1989, 2002). Las diferencias de requerimiento observadas en las Tablas 3 y 4 se pueden aplicar generalmente si se considera la dieta natural de la especie y también si se trata de especies herbívoras, omnívoras o carnívoras. A diferencia de las especies marinas, las microalgas de agua dulce contienen normalmente 18:3n-3 y no 20:5n-3 y 22:6n-3 como principales PUFA (Ahlgren *et al.*, 1992). Además, el 18:2n-6 es más bien escaso en las microalgas marinas, siendo abundante en las de agua dulce (Ahlgren *et al.*, 1992). El PUFA principal en las partes verdes de las plantas terrestres y de agua dulce es el 18:3n-3, por su parte, el 18:2n-6 abunda en los aceites de semillas vegetales. Los lípidos de los insectos de agua dulce tienen cantidades importantes de 20:5n-3, 20:4n-6, 18:2n-6 y 18:3n-3, estando casi ausente el 22:6n-3 (Stanley-Samuelson *et al.*, 1988; Ogg *et al.*, 1993). Bell *et al.* (1994b) señalaron que en otros invertebrados de agua dulce los ácidos grasos principales eran 18:3n-3, 18:2n-6 y 20:5n-3. Además Henderson *et al.* (1996) mostraron que las larvas de insectos que se comercializan como alimento para peces de acuario, tienen 18:2n-6 como principal PUFA y sólo pequeñas cantidades de 18:3n-3, 20:4n-6 y 20:5n-3. Por lo tanto, y a pesar de que el perfil de ácidos grasos de los organismos de agua dulce está pobremente definido, es evidente que en la cadena trófica los PUFA C18 están tan bien representados como los PUFA C20, estando presentes tanto el 18:3n-3 como el 18:2n-6. Ello concuerda con la conocida habilidad de los peces de agua dulce para transformar los PUFA C18 en los HUFA C20 y C22, biológicamente activos y, por lo tanto, con el requerimiento de estas especies de PUFA C18 de las dos series n-6 y n-3. Ello explica también, que incluso especies anadromas y carnívoras como el salmón posean clara actividad de las desaturasas $\Delta 6$ y $\Delta 5$, necesarias para producir 20:5n-3 y 22:6n-3 a partir de 18:3n-3, y 20:4n-6 a partir de 18:2n-6 (Sargent *et al.*, 1993, 1995a).



A pesar de estas consideraciones generales, existen algunas excepciones como es el caso de un carnívoro estricto, el lucio (*Esox lucius*), cuyos individuos maduros no son capaces de transformar 18:3n-3 a 20:5n-3 y 22:6n-3 ni 18:2n-6 a 20:4n-6 (Henderson *et al.*, 1995). Sin embargo, un tipo de piraña herbívora (*Mylossoma aureum*), alimentada a base de copos de avena, u otro tipo de piraña carnívora estricta como la piraña roja (*Serrasalmus nattereri*), en su fase de juvenil, alimentada con larvas de mosquito ricas en 18:2n-6, convierten sin problema PUFA C18 a HUFA C20 (Henderson *et al.*, 1996).

Tanto estos estudios, como estudios similares realizados con especies marinas, señalan la importancia de conocer los perfiles de PUFA de la dieta natural y poder así, evaluar sus necesidades de AGE. Debido a que la dieta natural puede variar a lo largo del desarrollo, cabe esperar también que la capacidad para transformar PUFA C18 a HUFA cambie con la edad. En concreto, es posible que las fases larvarias y juveniles que consumen elementos más pequeños como insectos y zooplancton, puedan convertir cantidades significativas de PUFA C18 a HUFA, mientras que los animales de mayor tamaño que ya son piscívoros, hayan perdido esta habilidad (Sargent *et al.*, 2002). Aunque existe poca información en este sentido, inmediatamente después de la esmoltificación el salmón Atlántico aumenta su capacidad de transformar 18:2n-6 y 18:3n-3 a sus homólogos, a pesar incluso, de haber sido alimentado durante muchas generaciones con dietas ricas en PUFA C20 y C22 (Bell *et al.*, 1993, 1997b). Esta capacidad disminuye de nuevo una vez los salmones se adaptan al medio marino (Fonseca-Madrigal *et al.*, 2006), lo que señala a la salinidad como otro factor capaz de afectar, junto a la temperatura, a la capacidad del pez para elongar y desaturar PUFA C18 y obtener HUFA C20 y C22.

Reproductores

Considerando la importancia de la nutrición de los reproductores en la calidad de la puesta, existen muy pocos estudios de este tipo, para peces de agua dulce. Esto quizás sea debido a que en los peces de agua dulce más cultivados, salmón, trucha, carpa y tilapia, la producción de un gran número de huevos de calidad no ha constituido un problema para los acuicultores.



En general, se sabe que la composición en ácidos grasos de las dietas de los reproductores de agua dulce puede afectar a la reproducción de las hembras y alterar la composición de los huevos resultantes, con consecuencias para la calidad del huevo (Tandler *et al.*, 1995; Izquierdo *et al.*, 2001; Sargent *et al.*, 2002; Watanabe y Vassallo-Agius, 2003; Jaya-Ram *et al.*, 2008). Este es el caso de huevos procedentes de reproductores de trucha alimentados con aceite de maíz que contenían niveles incrementados de 18:2n-6 y más bajos de n-3 HUFA comparados con los huevos de peces alimentados con aceite de hígado de bacalao, si bien no hubo diferencias en la fecundidad o viabilidad del huevo (Corraze *et al.*, 1993). También en reproductores de trucha arco iris, el contenido en n-3 HUFA de los huevos disminuyó al incrementar los niveles de aceite de coco en la dieta de los reproductores (Ballestrazzi *et al.*, 2003). Por el contrario, en reproductores de tilapia alimentados con diferentes aceites, los mejores resultados se obtuvieron en los peces alimentados con aceite de soja dando lugar a huevos con altas relaciones n-6/n-3 HUFA (Santiago y Reyes, 1993). Por otra parte, los huevos procedentes de salmón atlántico salvaje tenían niveles elevados de 20:4n-6 y valores más bajos de 20:5n-3 comparados con los huevos de los peces cultivados (Pickova *et al.*, 1999). Igualmente los huevos de lucioperca salvaje también contenían niveles más altos de 20:4n-6 y mayor porcentaje de supervivencia que los huevos de las poblaciones cultivadas (Czesny y Dabrowski, 1998). Más recientemente Martínez-Palacios y col. (2006b) señalan la presencia de 20:4n-6 en huevos del pescado blanco de Patzcuaro (*Chirostoma estor estor*). Todo ello señala la particular relevancia de los ácidos grasos n-6 en el desarrollo de ciertas especies ligadas al medio dulceacuícola, al menos durante la fase pre-reproductiva. Sin embargo, en hembras de «swordtail», dietas que contenían aceite de calamar y de linaza como fuente lipídica (2,2 % n-3 HUFA) dieron lugar a un incremento significativo en la producción de huevos, sugiriendo el beneficio de incluir n-3 HUFA en la dieta de los reproductores (Ling *et al.*, 2006). En tilapia, El-Sayed y col., (2005) también mostraron que la inclusión de aceite de pescado mejoró la calidad de puesta en condiciones de elevada salinidad, indicando además un requerimiento para n-3 HUFA. En el cultivo del salmón Atlántico, aunque el 50 % de sustitución de aceite de pescado por aceite de colza no alteró el grado de fertilización y la supervivencia de la puesta, otros parámetros reproductivos tales como la composición en ácidos grasos del



huevo se vieron alterados (Rennie *et al.*, 2005). Por otra parte, Bell y Sargent (2003) propusieron que los peces alimentados con aceites vegetales pueden obtener beneficios de la inclusión de AA en la dieta durante procesos de esmoltificación, invasión por patógenos y vitelogénesis. Todos estos datos sugieren un papel importante de los n-3 y n-6 HUFA en relación a la calidad de la puesta en especies de peces dulceacuícolas.

Por otra parte, al igual que ocurría en los peces marinos, existe escasa información sobre los requerimientos lipídicos de machos reproductores de agua dulce. A este respecto, en reproductores de trucha arco iris alimentados con una dieta enriquecida con n-3 HUFA, se observó que los lípidos de la dieta alteraron la composición, pero no la fluidez, de la membrana plasmática del espermatozoide, e incrementaron su capacidad de fertilización (Labbe *et al.*, 1995). Por otra parte Vassallo-Agius y col. (2001) también en reproductores de trucha arco iris, obtuvieron una disminución de la calidad de puesta al cruzar machos alimentados con dieta deficiente en HUFA, con hembras control, sugiriendo que una dieta inadecuada también afecta a los machos y puede dar lugar a una pobre capacidad reproductora. Por tanto, concluyen que los n-3 HUFA son esenciales no sólo para la producción de huevos fertilizados de calidad, sino también para la producción de esperma de calidad.

Embriones y larvas con saco vitelínico

Al igual que en los peces marinos, el contenido lipídico de los huevos de los peces de agua dulce varía entre especies pero, en general, su valor oscila entre 2,5 y 10 % del peso húmedo. Los niveles más bajos de lípidos se encuentran en los huevos de rutilo (*Leuciscus rutilus*), perca (*Percia fluviatilis*), lucio y tilapia, mientras que en los huevos de salmón, trucha arcoiris, lubina estriada (*Morone saxatilis*) y coregono blanco (*Coregonus albula*), se describen contenidos lipídicos de más de un 5 % (Henderson y Tocher, 1987).

El lípido total de los huevos de un gran número de especies de agua dulce como la trucha, perca, rutilo, lubina estriada, walleye, lucio y pescado blanco contienen altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados (Henderson y Tocher, 1987; Anderson *et al.*, 1990; Wiegand, 1996; Gunasekera *et al.*, 1999; Martínez-Palacios *et al.*, 2006b). Estos ácidos grasos son generalmente ricos en n-3 HUFA, aunque no en niveles tan altos como los encontrados



en los peces marinos. Por el contrario, contienen cantidades superiores de n-6 HUFA, especialmente 20:4n-6 y 18:2n-6, que las encontradas en los huevos de los peces marinos (Wiegand, 1996), si bien, la composición en ácidos grasos varía con la especie y con la dieta suministrada.

Como en los peces marinos, todos los tipos de ácidos grasos, saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, pueden ser metabolizados para proveer energía durante el desarrollo. Sin embargo, parece existir una retención selectiva de HUFA. Así, en los huevos de carpa dorada que catabolizan fosfatidilcolina, existe una incorporación selectiva de los ácidos grasos 22:6n-3, 20:5n-3 y 20:4n-6 en los lípidos neutros (Wiegand, 1996). Durante la absorción del saco vitelínico en el lucio, los HUFA liberados por el catabolismo de la fosfatidilcolina son incorporados en la larva (Desvillettes *et al.*, 1997). En los huevos ricos en lípido neutro, como los de *Maccullochella macquariensis* y *Maccullochella peelii peelii*, los n-3 HUFA, y especialmente el 20:4n-6, tienden a ser conservados durante el desarrollo (Gunasekera *et al.*, 1999), mientras que los ácidos grasos saturados y monoinsaturados son utilizados principalmente durante el catabolismo, como en el esturión (Gershanovich *et al.*, 1991). Por tanto la utilización de HUFA para provisión de energía durante el desarrollo embrionario puede no ser tan importante para peces de agua dulce como parece serlo para peces marinos.

Larvas y alevines

En la mayoría de las especies de peces de agua dulce que se cultivan hoy en día, incluyendo la trucha y el salmón, la larva recién eclosionada es lo suficientemente grande, como para aceptar directamente un pellet artificial cuya fórmula es posible definir y controlar de forma precisa, para asegurar supervivencias y crecimientos óptimos. Ello implica que establecer los requerimientos de AGE en larvas de peces de agua dulce no resulta, ni con mucho, tan complejo como en el caso de las especies marinas. Tal vez esta facilidad para producir alevines de alta calidad, sea también la razón de que existan muy pocos estudios para definir estos requerimientos en larvas de especies de interés acuícola como el salmón, la trucha, la carpa o el pez gato. Así, nos encontramos de nuevo con una pobre definición de las necesidades de AGE en el estadio larvario de estos peces (ver Cuadro 2). Se sabe que las larvas de la lubina estriada, como especie anadroma, crecen significativamente más cuando se les alimenta



con *Artemia* de tipo marino rica en 20:5n-3, que cuando se utilizan cepas ricas en 18:3n-3 (Webster y Lovell, 1990). Las larvas de los salmónidos, incluyendo la trucha y especies anadromas de salmón, se desarrollan mejor cuando son alimentadas directamente con HUFA, que cuando reciben exclusivamente 18:3n-3 (Sargent *et al.*, 1989). De hecho, las larvas de trucha arco iris alimentadas con nauplius de *Artemia* enriquecidos con 18:3n-3 y 18:4n-3, mostraron un crecimiento más pobre que las alimentadas con una dieta comercial que contiene n-3 HUFA. Más aún, las primeras no mostraron indicio de convertir 18:3n-3 o 18:4n-3 a 22:6n-3, lo que sugiere que el 22:6n-3 podría ser esencial para las larvas de esta especie (Wirth *et al.*, 1997). Estos datos obtenidos para la lubina estriada y los salmónidos, sugieren que la capacidad de desaturación/elongación de algunas especies de agua dulce puede llegar a ser limitante para su crecimiento. Esto no ocurre para el caso del pez gato africano o el pescado blanco de Pátzcuaro cuyas larvas no presentaron diferencias de crecimiento al ser alimentadas con *Artemia* pobre o enriquecida en n-3 HUFA (Verreth *et al.*, 1994; Martínez-Palacios *et al.*, 2006b). Igualmente, las larvas de la carpa común dieron malos resultados de crecimiento al ser alimentadas con microdietas suplementadas con n-3 HUFA, obteniéndose resultados óptimos de crecimiento y supervivencia con dietas que contenían no más de 0,89-1 % de 18:2n-6. Estos experimentos mostraron además, que las larvas de la carpa común no tienen dificultad para elongar y desaturar PUFA C18 hasta HUFA C20 y C22 (Radunz-Neto *et al.*, 1996). Igualmente, las larvas de tilapia (*T.zilli*) y del pescado blanco (*Chirostoma estor estor*) alimentadas con el rotífero de agua dulce *Brachionus calyciflorus*, junto con distintos tipos de microalgas ricas en 18:2n-6 y 18:3n-3 como única fuente de PUFA, contenían bajos niveles corporales de PUFA C18 y relativamente altos de 22:6n-3, lo que indica que no presentan dificultad para transformar PUFA C18 a HUFA (Isik *et al.*, 1999 ; Martínez-Palacios *et al.*, 2006b). Sin embargo, estudios realizados con alevines de perca plateada (*Bidyanus bidyanus*) muestran que dietas que contienen 10 % de lípido total ricas en n-3 HUFA dan mejores resultados de crecimiento que dietas preparadas con 18:2n-6 o 18:3n-3. No obstante, en ausencia de n-3 HUFA el crecimiento mejora sustancialmente al aumentar el aporte dietario de 18:2n-6 hasta un 27 %, mientras que el 18:3n-3 no produjo ningún efecto positivo (Smith *et al.*, 2004).



Juveniles y adultos

Como se ha ido perfilando en los apartados anteriores, los peces dulceacuícolas pueden clasificarse en tres categorías: los que requieren principalmente n-3 PUFA, como los salmónidos, especies que necesitan n-6 PUFA como la tilapia (Takeuchi *et al.*, 1983), y especies que requieren importantes cantidades de ambos como el pez gato (*Ictalurus punctatus*) y la carpas (Cuadro 3). La perca dorada (*Leiopotherapon bidyanus*), también necesita n-6 y n-3 PUFA (Anderson y Arthington, 1989), pero los requerimientos cuantitativos no han sido establecidos. Estudios más recientes sobre metabolismo de los PUFA, realizados con pez cebra y tilapia, muestran que utilizando una mezcla de aceites vegetales que aportan un 1 % de 18:3n-3 y 18:2n-6 y garantizan, por lo tanto, los requerimientos de AGE de ambas especies, genera en el pez cebra un aumento de la actividad $\Delta 6$ que se traduce en un incremento de 18:4n-3 en los tejidos. Sin embargo, en la tilapia el efecto es aún más acusado aumentando la presencia de EPA y DHA (Tocher *et al.*, 2002). Como se señaló anteriormente, los C18 PUFA, 18:3n-3 y 18:2n-6, pueden normalmente satisfacer los requerimientos de AGE del pez pero en algunas especies de salmónidos el conjunto n-3 HUFA lo consiguen a niveles dietarios inferiores que el 18:3n-3, superando además el crecimiento obtenido con este último sólo (Sargent *et al.*, 1989; Thongrod *et al.*, 1989; Watanabe *et al.*, 1989). Igualmente, el crecimiento del pez gato mejora de forma significativa si se incluye n-3 HUFA en su dieta (Satoh *et al.*, 1989; Santha y Gatlin, 1991). No se conocen aún los requerimientos de las especies de agua dulce para los n-6 HUFA, y más concretamente para el 20:4n-6, ni existen estudios que comparen la eficacia dietaria del este ácido graso y el 18:2n-6.

Resulta también sorprendente que no se hayan establecido de forma precisa los requerimientos de AGE del salmón Atlántico. A pesar de ello, comparando los datos disponibles con los de otros salmones u otros salmónidos, se puede deducir un valor de un 1,0 % de 18:3n-3 o quizás 0,5-1,0 % de n-3 HUFA (Sargent *et al.*, 2002) (Tabla 3). Los requerimientos del salmón en fase «parr» son probablemente diferentes debido a los cambios fisiológicos inherentes a esta fase del desarrollo. En el medio natural, los individuos parr del salmón Atlántico consumen principalmente invertebrados de agua dulce ricos en 18:3n-3 y 18:2n-6, que contienen también cantidades considerables



de 20:5n-3 pero poco 22:6n-3 (Bell *et al.*, 1994b). Cuando estos individuos fueron alimentados con una dieta que aporta una mezcla de vegetales, en un intento de imitar la composición de ácidos grasos de la dieta natural, mejoraron sus cualidades para superar la fase de esmoltificación, en términos de capacidad osmorreguladora, en comparación con peces alimentados con las dietas ricas en aceites de pescado (Bell *et al.*, 1997b). Además, las actividades hepática de elongación y desaturación de ácidos grasos aumentó durante la transición de parr a smolt y este incremento se redujo, en cambio, al alimentar los individuos con dietas ricas en n-3 HUFA (Bell *et al.*, 1997b). Por lo tanto, los individuos parr del salmón Atlántico, se desarrollan mejor con 18:3n-3 y 18:2n-6 que con dietas ricas en n-3 HUFA. Otro trabajo realizado con el salmón rey mostró que era necesario un balance dietario de n-6 y n-3 PUFA para obtener el crecimiento óptimo de los individuos smolt (Higgs *et al.*, 1992). Otro salmónido, la trucha alpina (*Salvelinus alpinus*), prefiere n-3 PUFA como AGE (Olsen *et al.*, 1991), habiéndose establecido un requerimiento de aproximadamente 1-2 % de 18:3n-3. Pero esta especie parece necesitar también un cierto aporte de n-6 PUFA, y aunque no se sabe la cantidad exacta, se estima que necesita un 0,7 % de 18:2n-6 (Yang y Dick 1993; Yang *et al.*, 1994; Ringo y Olsen, 1994).

Finalmente, cabe mencionar a las especies híbridas como interesantes para el estudio de requerimientos de AGE. Así, el híbrido de lubina obtenido con hembras de lubina estriada (*M. saxatilis*) y machos de lubina blanca (*M. chrysops*) o viceversa, reflejan una mezcla propia de especies de agua dulce y marina (Greenberg y Harrell, 1998). Los requerimientos exactos de AGE no han sido definidos pero varios estudios sugieren que un 1 % de n-3 HUFA en peso seco de dieta mejora la tasa de crecimiento de estos híbridos (Randall-Robinette *et al.*, 1997; Gatlin, 1994). Igualmente, estudios realizados con el híbrido de tilapia obtenido cruzando hembras de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) y machos de tilapia azul (*O. aureus*), muestran un efecto positivo en su desarrollo cuando son alimentadas con una dieta rica en aceite de hígado de bacalao, si bien evidencian la necesidad de n-3 y n-6 PUFA para obtener crecimientos óptimos (Chou y Shiau, 1999).

CUADRO 2.
Requerimientos de ácidos grasos esenciales en larvas y alevines
de algunos peces marinos y dulceacuícolas.

Especies	AGE	% en la dieta	Referencias
Dulceacuícolas			
Carpa (<i>Cyprinus carpio</i>)	n-6 PUFA n-3 PUFA	1 % (0,25 % 18:2n-6) ~ 0,05 %	1
Trucha arcoiris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	DHA	?	2
Perca plateada (<i>Bidyanus bidyanus</i>)	18:2n-6	27 %	3
Lubina estriada (<i>Morone saxatilis</i>)	18:3n-3	?	4
	n-3 HUFA	>0,5 %	5
	AA DHA	15 mg/g 7,2-15,4mg/g	5
Marinas			
Bacalao (<i>Gadus morhua</i>)	EPA	?	6
	DHA	~1 %	7
Dorada (<i>Sparus aurata</i>)	n-3 HUFA	5,5 (DHA:EPA =0,3)	8
	n-3 HUFA	1,5 (DHA:EPA =2)	9
	n-3 HUFA	1,5 en fosfolípidos	10
	DHA:EPA AA	~ 2 1,5	11 12
Dorada japonesa (<i>Pagrus major</i>)	n-3 HUFA	2,1 (con 1 % DHA)	13
	DHA	1,0-1,6	13
	EPA	2,3	13
Jurel dorado (<i>Pseudocaranx dentex</i>)	DHA	1,6-2,2	14
	EPA	< 3,1	14
Seriola (<i>Seriola quinqueradiata</i>)	n-3 HUFA	3,9 (DHA:EPA = 0,5)	15
	DHA	1,4-2,6	15
	EPA	3,7	15
Pez delfín (<i>Coryphaena hippurus</i>)	n-3 HUFA	0,6-1,0 %	16
Lenguado de verano (<i>Parachthys dentatus</i>)	AA	10 mg/g	17
Rodaballo (<i>Scophthalmus maximus</i>)	DHA	?	18

DHA, ácido docosahexaenoico (22:6n-3); EPA, ácido eicosapentaenoico (20:5n-3); HUFA, ácidos grasos altamente insaturados; PUFA, ácidos grasos poliinsaturados.

Referencias: 1, Radünz-Neto *et al.*, 1996; 2, Wirth *et al.*, 1997; 3, Smith *et al.*, 2004; 4, Webster y Lovell 1990; 5, Harel *et al.*, 2001; 6, Zheng *et al.*, 1996; 7, Takeuchi *et al.*, 1994; 8, Rodríguez *et al.*, 1994a; 9, Rodríguez *et al.*, 1998; 10, Salhi *et al.*, 1999; 11, Rodríguez *et al.*, 1994a; 12, Bessonart *et al.*, 1999; 13, Furuita *et al.*, 1996a; 14, Takeuchi *et al.*, 1996; 15, Furuita *et al.*, 1996b; 16, Ostrowski y Kim 1993; 17, Villalta *et al.*, 2005; 18, Reitan *et al.*, 1994.

4.4.4. Niveles y proporciones dietarias óptimas de fosfolípidos

Los efectos beneficiosos de la inclusión de fosfolípidos en la dieta para el crecimiento y supervivencia han sido demostrados en los estadios larvario y juvenil de varias especies de peces marinos tales como la



CUADRO 3.
Requerimientos de ácidos grasos esenciales en peces juveniles
y adultos marinos y dulceacuícolas.

Especies	AGE	% en la dieta	Referencias
Dulceacuícolas			
Trucha arcoiris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	18:3n-3 n-3 HUFA	1,7-1,0 0,4-0,5	1 2
Salmón chum (<i>Oncorhynchus keta</i>)	18:2n-6 18:3n-3	1,0 1,0	3
Salmón plateado (<i>Oncorhynchus kisutch</i>)	18:2n-6 18:3n-3	1,0 1,0	4
Salmón japonés (<i>Oncorhynchus masou</i>)	18:3n-3 o n-3 HUFA	1,0	5
Salmón atlántico (<i>Salmo salar</i>)	18:3n-3 n-3 HUFA	1 % 0,5-1 %	6
Trucha alpina (<i>Salvelinus alpinus</i>)	18:2n-6 18:3n-3	0,7 1,0-2,0	7 8
Carpa (<i>Cyprinus carpio</i>)	18:2n-6 18:3n-3	1,0 0,5-1,0	9 9
Carpa herbívora (<i>Ctenopharyngodon idella</i>)	18:2n-6 18:3n-3	1,0 0,5	10
Tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	18:3n-3 18:2n-6	1 % 1 %	11
Tilapia (<i>Oreochromis zilli</i>)	18:2n-6	1,0	12
Anguila (<i>Anguilla japonica</i>)	18:2n-6 18:3n-3	0,5 0,5	13
Ayu (<i>Plecoglossus altivelis</i>)	18:3n-3 20:5n-3	1,0	14
Sabalote (<i>Chanos chanos</i>)	18:2n-6 18:3n-3	0,5 0,5	15
Pez gato (<i>Ictalurus punctatus</i>)	18:3n-3 n-3 HUFA	1,0-2,0 0,5-0,75	16 16
Lavareto (<i>Coregonus laveratus</i>)	n-3 HUFA 18:3n-3	0,5-1,0 >1,0	17 18
Pez cebra (<i>Danio rerio</i>)	18:2n-6 18:3n-3	1 % 1 %	11
Siluro (<i>Silurus glanis</i>)	18:3n-3	1,0	19
Lubina estriada (<i>híbrido</i>)	n-3 PUFA	1,0	20
Marinas			
Rodaballo (<i>Scophthalmus maximus</i>)	n-3 HUFA AA	0,8 ~0,3	21 22
Dorada japonesa (<i>Pagrus major</i>)	EPA o n-3 HUFA DHA EPA	0,5 1,0 0,5	23 24 24



Especies	AGE	% en la dieta	Referencias
Dorada (<i>Sparus aurata</i>)	n-3 HUFA	0,9 (DHA:EPA =1)	25
	n-3 HUFA	1,9 (DHA:EPA =0,5)	26
	DHA:EPA	1,5 en fosfolípidos 0,5	27
Jurel dorado (<i>Pseudocaranx dentex</i>)	DHA	1,7	28
Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	n-3 HUFA	1,0	29
	n-3 HUFA	0,7	30
Limanda (<i>Pleuronectes ferrugineus</i>)	n-3 HUFA	2,5	31
Sargo dorado (<i>Rhabdosargus sarba</i>)	n-3 HUFA	1,3	32
Chancharro coreano (<i>Sebastes schlegelii</i>)	n-3 HUFA	0,9	33
	EPA o DHA	1,0	
Platija (<i>Platichthys stellatus</i>)	n-3 HUFA	0,9	34
Mero (<i>Epinephelus marabalicus</i>)	DHA:EPA	3:1	35
Corvineta ocelada (<i>Sciaenops ocellatus</i>)	n-3 HUFA	0,5-1,0 (0,3-0,6 EPA + DHA)	36

DHA, ácido docosahexaenoico (22:6n-3); EPA, ácido eicosapentaenoico (20:5n-3); HUFA, ácidos grasos altamente insaturados.

Referencias: 1, Castell *et al.*, 1972; 2, Takeuchi y Watanabe, 1976; 3, Takeuchi *et al.*, 1979; 4, Yu y Sinnhuber, 1979; 5, Thongrod *et al.*, 1990; 6, Sargent *et al.*, 2002; 7, Ringo y Olsen, 1994; 8, Yang *et al.*, 1994; 9, Takeuchi y Watanabe, 1977; 10, Takeuchi *et al.*, 1991; 11, Tocher *et al.*, 2002; 12, Kanazawa *et al.*, 1980; 13, Takeuchi *et al.*, 1980; 14, Kanazawa *et al.*, 1982; 15, Bautista y de la Cruz, 1988; 16, Satoh *et al.*, 1989; 17, Thongrod *et al.*, 1989; 18, Watanabe *et al.*, 1989; 19, Borgut *et al.*, 1998; 20, Gatlin, 1994; 21, Gatesoupe *et al.*, 1977; 22, Castell *et al.*, 1994; 23, Yone, 1978; 24, Takeuchi *et al.*, 1990; 25, Kalogeropoulos *et al.*, 1992; 26, Ibeas *et al.*, 1994; 27, Ibeas *et al.*, 1997; 28, Takeuchi *et al.*, 1992b; 29, Coutteau *et al.*, 1996; 30, Skalli y Robin, 2004; 31, Whalen *et al.*, 1999; 32, Leu, 1994; 33, Lee, 2001; 34, Lee *et al.*, 2003; 35, Wu *et al.*, 2002; 36, Lochmann y Gatlin, 1993.

dorada japonesa (Takeuchi *et al.*, 1992a), knife jaw (Kanazawa *et al.*, 1983), lenguado japonés (Kanazawa, 1993), salmón atlántico (Poston, 1991a), corviñón ocelado (Craig y Gatlin, 1997), dorada europea (Seiliez *et al.*, 2006) y lubina (Cahu *et al.*, 2003; Gisbert *et al.*, 2005), así como en especies de agua dulce como el ayu (Kanazawa *et al.*, 1981, 1983; Kanazawa, 1985), trucha arcoiris (Poston, 1990, 1991b) y carpa común (Geurden *et al.*, 1995, 1998; Fontagné *et al.*, 2000). Las larvas de peces son extraordinariamente sensibles a la deficiencia de fosfolípidos en la dieta y requieren niveles más elevados de fosfolípidos que los juveniles (Coutteau *et al.*, 1997; Tocher *et al.*, 2008). Se ha demostrado los efectos beneficiosos de la adición de fosfolípidos a las microdietas o a las emulsiones enriquecedoras de presas vivas sobre el crecimiento de las larvas, la supervivencia, tolerancia al estrés y reducción de las deformidades esqueléticas (Kanazawa, 1993; Coutteau *et al.*, 1997; Izquierdo *et al.*, 2000; Sargent *et al.*, 2002; Cahu *et al.*, 2003; Wold *et al.*, 2007). Así



estudios llevados a cabo por Geurden y col. (1995, 1998) en larvas de carpa mostraron que el desarrollo de la larva está invariablemente afectado por las fuentes y niveles de los fosfolípidos dietarios. Estudios más recientes han mostrado que un nivel de fosfolípidos dietarios elevado mejoraba el desarrollo de las larvas de lubina y bacalao, además comprobaron que las larvas tienen una elevada capacidad para utilizar estos fosfolípidos (Cahu *et al.*, 2003; Wold *et al.*, 2007). Por su parte, Gisbert y col. (2005), también en lubina, obtuvieron los mejores resultados de crecimiento, supervivencia y desarrollo (maduración del sistema digestivo y organización histológica del hígado y de la mucosa intestinal), cuando las larvas fueron alimentadas con EPA y DHA en la fracción fosfolipídica de la dieta, revelando que las larvas de lubina usan más eficientemente los HUFA contenidos en esta fracción que los contenidos en la fracción de lípido neutro de la dieta. Dentro de los fosfolípidos, se ha sugerido que la fosfatidilcolina, clase lipídica más abundante, ejerce una influencia muy importante sobre el crecimiento y supervivencia de las larvas de peces, por encima de otras clases lipídicas (Takeuchi *et al.*, 1992b; Kanazawa, 1993; Hadas, 1998; Tocher *et al.*, 2008), aunque algunos estudios también han mostrado un incremento de la supervivencia y reducción de las deformidades en las larvas al suplementar su dieta con fosfatidilinositol (Geurden *et al.*, 1997, 1998; Cahu *et al.*, 2003). A este respecto, Hadas y col. (2003) estudiando larvas de dorada, sugieren que la suplementación de fosfatidilcolina (PC) en la dieta mejora el transporte de los lípidos desde los enterocitos hasta los diferentes tejidos, lo cual podría mejorar el crecimiento y disponibilidad de energía y por tanto concluyen que PC incrementa la asimilación de los lípidos digeridos en los tejidos de larvas y juveniles de peces marinos. Sin embargo, la determinación exacta de los requerimientos fosfolipídicos en larvas es complicada debido a la dificultad para bioencapsular los fosfolípidos en las presas vivas. Además, la gran variedad en la composición de las fuentes de fosfolípidos, y en las condiciones experimentales (tales como la formulación de las dietas), hacen difícil comparar los requerimientos determinados con dietas artificiales. En general, se acepta que los requerimientos de fosfolípidos estimados para la mayoría de las larvas de peces, están en un rango de 2-12% de la dieta mientras en juveniles son algo menores, 2-4% de la dieta (Tocher *et al.*, 2008).



Este efecto estimulador del crecimiento parece no ser debido exclusivamente a la presencia en los fosfolípidos de ácidos grasos esenciales, colina o inositol, o a su efecto emulsionante. Algunos autores han sugerido la participación de los fosfolípidos en la absorción intestinal de los lípidos neutros (Coutteau *et al.*, 1997; Fontagne *et al.*, 2000; Geurden *et al.*, 1995, 1998; Salhi *et al.*, 1999; Izquierdo *et al.*, 2000). Así, larvas de carpa alimentadas con dietas deficientes en fosfolípidos, acumulaban gotas lipídicas, presumiblemente triacilgliceroles, en su mucosa intestinal (Fontagné *et al.*, 1998). Por otra parte, la alimentación de rodaballo con dietas ricas en fosfatidilcolina dio lugar a niveles más altos de DHA en sus clases lipídicas, comparados con los peces alimentados con dietas deficientes en fosfatidilcolina y con la misma cantidad de ácidos grasos poliinsaturados (Geurden *et al.*, 1998). Además el contenido lipídico de rodaballo y lubina alimentados con dietas suplementadas con PC también contenía significativas cantidades de triacilglicéridos debido a la mayor absorción de lípido neutro (Geurden *et al.*, 1997). Basado en estos estudios, se propuso que el efecto estimulante de los fosfolípidos sobre el crecimiento de las larvas de peces no era debido a la provisión de ácidos grasos esenciales, colina o inositol, o al efecto emulsionante de los fosfolípidos en el intestino, sino a que las larvas de peces tenían una capacidad limitada para sintetizar fosfolípidos *de novo*. Y, por tanto, tienen un requerimiento dietario de fosfolípidos, especialmente para transportar triacilglicéridos desde las células de la mucosa intestinal hasta la linfa y desde ahí a la sangre como quilomicrones y lipoproteínas de baja densidad. Esta aparente limitación en la capacidad de las larvas de peces para sintetizar fosfolípidos puede ser debida a que en su medio ambiente natural las larvas ingieren presas vivas cuya composición lipídica es predominantemente fosfolípidos, y, por tanto, raramente requerirán de la biosíntesis de fosfolípidos *de novo* (Coutteau *et al.*, 1997; Sargent *et al.*, 2002; Morais *et al.*, 2007).

4.5. IMPORTANCIA DE LOS LÍPIDOS EN LA RESPUESTA A CAMBIOS DE TEMPERATURA Y SALINIDAD

El sistema digestivo, y más concretamente el epitelio del tracto gastrointestinal, desempeña en los peces así como en otros vertebrados-



un papel esencial en la provisión de nutrientes mediante la digestión y absorción de los alimentos, eliminación de las materias no digeribles y de algunos de los productos tóxicos de la digestión, y como barrera contra las infecciones, limitando el acceso de microorganismos a la circulación. Durante el último siglo se ha demostrado además, que el epitelio del tracto digestivo junto con el epitelio branquial está activamente implicado en los procesos de osmorregulación e ionorregulación, especialmente en peces eurihalinos como es el caso de la dorada, manteniendo el equilibrio hidrosalino y contribuyendo, por tanto, a mantener la homeostasis del animal. Varios estudios han revelado que muchos peces son capaces de adaptar sus procesos de transporte intestinal y la actividad de las ATPasas de membrana del intestino y las branquias en respuesta a cambios de la salinidad del ambiente en el que viven (Lahlou, 1983; Colin *et al.*, 1985; Lorenzo y Bolaños, 1989; Cordier *et al.*, 2002; Khérifi *et al.*, 2003; Peng *et al.*, 2003; El Cafsi *et al.*, 2003; Laiz-Carrión *et al.*, 2005; Ollivier *et al.*, 2006).

El epitelio intestinal está formado principalmente por enterocitos que constituyen el primer punto de contacto con el agua y alimento ingeridos, y desempeñan numerosas funciones en la digestión de los nutrientes y su transporte hacia el torrente sanguíneo. Esto quiere decir que, todos los nutrientes, el agua y los iones necesarios para el animal tienen, necesariamente, que atravesar la barrera epitelial del intestino.

Las branquias de los peces teleósteos constituyen no sólo la superficie encargada de las funciones respiratorias sino que también son importantes órganos de osmorregulación. En el caso de los teleósteos marinos, las branquias adquieren un papel más relevante aún. Estos peces beben agua salada para reemplazar el volumen de agua perdido osmóticamente a través de la superficie branquial. El exceso de sal que ha sido ingerido se elimina posteriormente de la sangre por transporte activo de Na^+ , Cl^- y una parte de K^+ , a través de las branquias. Para ello, el epitelio branquial de teleósteos marinos a diferencia de los dulceacuícolas posee células especializadas denominadas células de cloruro, que intervienen en el transporte de NaCl de la sangre al medio exterior (Bond, 1996; Jobling, 1995). Esto es así, gracias a que poseen elevados niveles de Na^+/K^+ -ATPasa asociados con cotransportadores $\text{Na}^+/\text{Cl}^-/\text{K}^+$ en



la membrana basolateral, y canales de cloruro en la membrana apical. Además, contienen un elevado número de mitocondrias y numerosos pliegues de membranas basales y laterales hacia el interior celular, que a su vez son ricas en $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPasa}$. Existen evidencias de que el funcionamiento adecuado de estos transportadores depende del grado de integridad de la membrana plasmática. Así, por ejemplo, en experimentos realizados en rodaballo, *Scophthalmus maximus*, alimentados con dietas deficientes en ácidos grasos poliinsaturados, se han encontrado daños considerables en las branquias, debidos probablemente, a que las alteraciones en las cantidades de dichos ácidos grasos esenciales afectan a la biosíntesis de fosfolípidos presentes en las membranas de las células de cloruro, lo que con toda certeza afecta, tanto a las funciones respiratorias como a las osmorreguladoras (Bell *et al.*, 1985).

Estudios reciente realizados en nuestro laboratorio muestran además que en la dorada, existe una clara homología en el perfil de clases lipídicas y de ácidos grasos entre ambos epitelios (Dópido, 2006), lo que apoyaría a su vez, la importancia de la composición lipídica en las funciones osmorreguladoras que comparten los dos epitelios.

Las membranas celulares de la capa epitelial están formadas principalmente por fosfolípidos ricos en ciertos ácidos grasos, por lo que su composición, su estructura y su estado físico-químico son de vital importancia. De ahí que, entre los componentes de la dieta, los lípidos jueguen un importante papel en la nutrición de los peces no sólo como reserva energética sino también como fuente de ácidos grasos esenciales y otras moléculas lipídicas, incluyendo el colesterol, para la formación y funcionamiento de las membranas celulares, y como moléculas de señalización celular.

En buena parte, la esencialidad de los lípidos está asociada con el control del grado de fluidez de las membranas celulares en respuesta a cambios de temperatura y salinidad ambiental, lo cual afectaría directamente la funcionalidad de las proteínas de membrana. Así, además de los efectos directos de la temperatura sobre el grado de fluidez y la composición lipídica de las membranas (March, 1993; Wallaert y Babin, 1994; Cordier *et al.*, 2002; Khériji *et al.*, 2003; Peng *et al.*, 2003; Skalli *et al.*, 2006), las proporciones de los lípidos polares y el perfil de ácidos grasos de sus fosfolípidos parece jugar un papel determinante también en la adaptación de



los peces a condiciones de salinidad cambiante (Leray *et al.*, 1984; Tocher *et al.*, 1995; Cordier *et al.*, 2002; Khérifi *et al.*, 2003; Peng *et al.*, 2003; El Cafsi *et al.*, 2003; Laiz-Carrión *et al.*, 2005; Ollivier *et al.*, 2006). Así, Leray y colaboradores (1984) comprobaron que, en la trucha, la transferencia desde agua dulce a agua salada provoca un incremento considerable de la concentración de DHA en los fosfolípidos de vesículas apicales de células intestinales. Igualmente, estudios recientes realizados en nuestro laboratorio sobre la Na⁺-K⁺-ATPasa en el intestino de la dorada, muestran diferencias en las propiedades bioquímicas de dicha enzima en los distintos segmentos intestinales, diferencias atribuibles tanto a la distribución de isoenzimas como a las relaciones temperatura-actividad que sugieren un posible papel modulador de los n-3 HUFA (especialmente DHA) en las propiedades termodinámicas de la enzima (Almansa *et al.*, 2003). Estas diferencias segmentales parecen indicar que cada tramo intestinal mantendría un perfil lipídico particular, que permitiría adaptar la funcionalidad de las proteínas de membrana a la fisiología del tramo intestinal concreto. Esta hipótesis adquiere más trascendencia cuando se considera que un número importante de enzimas digestivas se expresan asociadas a la membrana celular del enterocito. En este caso, además de la distribución específica de cada proteína con actividad hidrolasa a lo largo del tracto gastrointestinal en peces (Koven *et al.*, 1994a; Harpaz y Uni, 1999, Dópidio, 2006), en cada tramo intestinal dicha actividad enzimática estaría modulada por los elementos lipídicos de la membrana celular (Dópidio, 2006).

En definitiva, el contenido lipídico de las membranas celulares de los tejidos de animales ectotérmicos (Guschina y Harwood, 2006) y de aquellos sometidos a cambios importantes de salinidad, está sujeto a variaciones en su composición dependiendo de procesos de aclimatación a estos factores ambientales. Obviamente, estos cambios en las membranas celulares son particularmente relevantes en los tejidos que están en contacto directo con un medio de tonicidad variable, como es el caso de los epitelios intestinal y branquial de peces eurihalinos y euritermos, incluyendo especies anadrómicas y catadrómicas, y que se traducen en una constancia en la viscosidad y fluidez de las membranas celulares, lo que se ha venido a denominar adaptación homeoviscosa (Cossins y Prosser, 1978). A grandes rasgos, se puede decir que las variaciones tendientes al mantenimiento del estado homeoviscoso se refieren tanto a



los cambios de las longitudes de las cadenas y al grado de instauración de los ácidos grasos de las membranas (Cossins y Prosser, 1978; Hazel y Carpenter, 1985), como a la composición del grupo polar de las moléculas de fosfolípidos (Hazel y Carpenter, 1985; Carey y Hazel, 1989).

Por un lado, los ácidos grasos de cadenas más cortas y los más insaturados son inherentemente más fluidos que los de cadenas largas y más saturados (Cossins y Prosser, 1978; Sargent *et al.*, 2002). Por otro lado, se han documentado cambios en los ratios de fosfatidilcolina/fosfatidiletanolamina en pocos días, en peces sometidos a bruscos descensos de temperatura, o cambios en horas en la composición de los grupos polares de los fosfolípidos de animales ectotérmicos sometidos a drásticas fluctuaciones diarias de temperatura (revisado en Carey y Hazel, 1989).

Farkas y colaboradores (2001) y estudios recientes de nuestro grupo, aún sin publicar (CTM2006-14279-C02-02/MAR), han mostrado que, los peces utilizan diferentes mecanismos para el control homeoviscoso de las membranas de epitelios osmorreguladores. Así alteran el grado de instauración de los ácidos grasos de sus membranas mediante modificación de la actividad de enzimas esterasas y desaturasas, cambian la composición de sus fosfolípidos y modifican la relación colesterol/fosfolípidos. De hecho, varios estudios muestran que un descenso de la temperatura implica acumulaciones de ácidos grasos insaturados (Hazel y Prosser, 1974; Williams y Hazel, 1992; Wallrecht y Babin, 1994), acumulaciones en forma de cuña tales como la fosfatidiletanolamina (Hazel y Carpenter, 1985; Hazel y Landrey, 1998) y descensos en el ratio colesterol/fosfolípidos, en peces adaptados a entornos fríos (revisado en Wodtke, 1978).

Se puede decir que, en general, cambios de temperatura (Ventrella *et al.*, 1993; Farkas *et al.*, 2001; Tocher *et al.*, 2004a), de salinidad (Leray *et al.*, 1984; Khérifi *et al.*, 2003; Zheng *et al.*, 2004a, 2005b) e incluso de los niveles de oxígeno (Thomas *et al.*, 1998), alteran los mecanismos de desaturación lipídica, modificando el estado homeoviscoso de las membranas celulares de epitelios osmorreguladores como el intestinal y el branquial.

Se sabe que los perfiles lipídicos de los tejidos estudiados tradicionalmente en los peces dependen, en general, de la composición de ácidos grasos de las dietas y de la capacidad metabólica del animal para elongar, desaturar u oxidar estos ácidos grasos. (Bell *et al.*, 1997a, 2002; Rodríguez *et al.*, 1997, 1998b, 2002; Tocher y Ghioni, 1999; Tocher *et al.*, 2000,



2001, 2002, 2004a; Fonseca-Madrigal, 2005; Mourente *et al.*, 2005a,b; Jaya-Ram *et al.*, 2008). Estos y otros estudios han revelado que cuando los ejemplares son alimentados con dietas carentes de ácidos grasos esenciales (DHA, EPA y AA), durante el tiempo necesario para que el animal agote las reservas acumuladas en los mismos, sus tejidos y en particular los fosfolípidos de sus membranas, acaban reflejando esa misma deficiencia en la composición de sus perfiles de ácidos grasos, intentando compensar estas carencias mediante la activación de sus enzimas desaturasas (Buzzi *et al.*, 1996, 1997; Rodríguez *et al.*, 1997, 2002; Caballero *et al.*, 2002, 2003).

Teniendo en cuenta estas consideraciones, resulta evidente la trascendencia de la modificación de la fuente y perfil de ácidos grasos de la dieta, sobre la composición lipídica de estos epitelios osmorreguladores, en relación con su capacidad de adaptación a los cambios de temperatura y salinidad del medio. Existe, sin embargo, escasa bibliografía en este campo de investigación (Bell *et al.*, 1985; El Cafsi *et al.*, 2003; Dópido, 2006; Polakof *et al.*, 2006).

4.6. FUENTES DE LÍPIDOS EN PISCICULTURA. BÚSQUEDA DE FUENTES ALTERNATIVAS AL ACEITE DE PESCADO

El aumento de la población mundial unido a la calidad nutritiva de la proteína y la grasa procedente del pescado, genera un aumento en la demanda de este producto (OMS, 2003). El declive global de las capturas pesqueras ha provocado un aumento en el consumo de productos procedentes de la acuicultura, sector industrial que está experimentando una expansión anual de un 10 % (FAO, 2004).

Sin embargo, paradójicamente, la sostenibilidad de esta actividad está comprometida en el caso de peces carnívoros debido a que los piensos utilizados para su engorde están formulados con harinas y aceites de pescado obtenidos de pesquerías tales como la anchoa, el capelán, el arenque y la sardina (Sargent y Tacon, 1999). La alimentación de peces mediante piensos compuestos de harinas y aceites de pescado ha ofrecido buenos resultados debido a que, además de la buena aceptación, digestibilidad y calidad del producto final, estas materias primas han sido fácilmente disponibles y económicamente asequibles (Barlow, 2000; Sargent *et al.*,



2002). Sin embargo, el declive de las pesquerías, unido al aumento en la demanda de harinas y aceites de pescado destinados a otras industrias, ha forzado la búsqueda de fuentes alternativas para garantizar la sostenibilidad de la acuicultura como fuente de suministro de pescado para el ser humano (Barlow, 2000; Bell y Waagbo, 2008; Turchini *et al.*, 2009).

Prueba del interés suscitado en la obtención de nuevas fuentes de aceites y harinas para la fabricación de piensos es la realización en los últimos años de diversos proyectos europeos de investigación: Q5RS-2000-30068 (PEPPA), Q5RS-2000-31656 (GUTINTEGRITY), Q5RS-2000-30360 (fPPARS), Q5RS-2000-30271 (PUFAFEED), Q5RS-2000-30058 (RAFOA), AQUAMAX y BENEFISH. Más recientemente se ha impulsado la creación de una red temática europea denominada FORM (Fish Oil and Meal Replacement, 2002-2006), dedicada a facilitar la puesta en común de los resultados generados en los proyectos precedentes y relacionarlos para la mejora de la calidad y seguridad de los peces de cultivo. Varios grupos españoles de investigación (ver apdo. 7), dedican hoy su esfuerzo en este campo, habiendo participado, muchos de ellos, en estas propuestas y en otras de ámbito nacional o autonómico. Entre ellos se encuentra el proyecto ACUISOST dentro del programa CENIT, en el que participan 7 centros tecnológicos y 15 empresas.

Una buena parte de estas investigaciones centran sus esfuerzos en analizar los efectos, que sobre la nutrición del pez y la calidad del producto final, tiene la sustitución del aceite de pescado rico en AGE n-3 HUFA, por aceites de origen vegetal que carecen de n-3 y n-6 HUFA y aportan cantidades sustanciales de los ácidos grasos linoleico (18:2n-6) y oleico (18:1n-9) y, en menor medida, linolénico (18:3n3) (Cuadro 4). Así, se prueban distintas fuentes y mezclas de aceites vegetales (soja, maíz, girasol, colza, palma, oliva, borragináceas) y niveles de sustitución, en las distintas especies de cultivo (Tocher *et al.*, 2000, 2001, 2002, 2003 a,b,c 2004a; Grisdale-Helland *et al.*, 2002; Bell *et al.*, 2001, 2002, 2003 a,b, 2004, 2005, 2006; Mourente *et al.*, 2005a,b; Caballero *et al.*, 2002, 2003, 2004; Regost *et al.*, 2003 a,b; Izquierdo *et al.*, 2003, 2005; Montero *et al.*, 2003, 2005a,b; Berntssen *et al.*, 2005; Ganga *et al.*, 2005; Geurden *et al.*, 2005; Jordal *et al.*, 2005; Stubhaug *et al.*, 2005; Torstensen *et al.*, 2005; Zheng *et al.*, 2004b, 2005b; Schulz *et al.*, 2005; Fonseca-Madrugal *et al.*, 2006; Richard *et al.*, 2006; Ruyter *et al.*, 2006; Xue *et al.*, 2006; Almaida-Pagán *et al.*, 2007; Díaz *et al.*, 2008; Jobling *et al.*, 2008; Leaver *et al.*, 2008; Fountoulaki *et al.*, 2009).



Teniendo en cuenta todos los aspectos vistos en relación con la importancia de los n-3 HUFA en la nutrición del pez y la influencia de la grasa dietaria en multitud de procesos fisiológicos, resulta evidente que el uso de aceites vegetales, de composición tan diferente al aceite de pescado, alterará el balance n-3/n-6 de sus tejidos, pudiendo afectar al balance nutricional y osmótico del pez y a su resistencia a enfermedades (Castell *et al.*, 1994; Bell *et al.*, 1991a,b; 1993; Olsen *et al.*, 1999; Parpoura y Alexis, 2001; McKenzie, 2001; Regost *et al.*, 2003a,b; Montero *et al.*, 2003; 2005a,b). No menos importante resulta el hecho de que el músculo de este pescado, que es en definitiva la parte que consumiremos, reflejará el perfil del aceite vegetal, aportando mayor cantidad de 18:2n-6, que un pescado criado exclusivamente con aceites de origen marino. Si se tienen en cuenta también, los aspectos señalados en el presente capítulo, en relación con el efecto que sobre la salud humana, tiene el exceso de consumo de aceites de origen vegetal ricos en 18:2n-6, es evidente, que el uso indiscriminado de estos aceites en la alimentación de peces, disminuirá sustancialmente el interés y efecto beneficioso que el consumo de pescado tiene para el hombre. Otro aspecto a tener en cuenta es que el excedente de pienso de las jaulas de peces puede tener un efecto sobre el ecosistema, debido a la incorporación de ácidos grasos vegetales en las poblaciones salvajes de peces que se alimentan de este pienso y en sus depredadores (Fernández-Jover *et al.*, 2008).

En definitiva, garantizar un balance adecuado de estos aceites para mantener la buena nutrición del pez, independientemente de la composición de la dieta, debe ser un objetivo prioritario en la producción de peces de cultivo, y no sólo de cara a asegurar su buen desarrollo y estado de salud, sino sobre todo, para garantizar su calidad con vistas a su comercialización para consumo humano, consiguiendo al mismo tiempo minimizar el impacto medioambiental del uso de fuentes naturales de lípidos procedentes del pescado o de la incorporación de un exceso de n-6 a la cadena trófica marina. Se trata de una tarea compleja que debe ser abordada de forma multidisciplinar, por parte de los productores de peces y piensos acuícolas y de los investigadores y expertos asesores en materia de nutrición y en gestión medioambiental de los recursos marinos.

Hasta la fecha, las investigaciones realizadas en las especies de mayor interés comercial muestran que sustituciones de 15-25 % en peces marinos, y algo superiores en salmónidos, no afectan sustancialmente



al contenido de n-3 HUFA del músculo, ni al buen estado de salud del pez, permitiendo, al mismo tiempo, abaratar los costes de producción de los piensos y disminuir la presión sobre las pesquerías. La razón de poder utilizar niveles de sustitución más elevados en salmónidos y otros peces dulceacuícolas, estriba en la mayor capacidad de estas especies para producir EPA, DHA y AA a partir de sus precursores dietarios de 18 carbonos, presentes en estos aceites vegetales.

Si se tiene en cuenta que el músculo de un pescado procedente de la pesca no suele presentar más del 2-4 % de lípido en peso seco, y que el pescado de acuicultura aporta prácticamente el doble de grasa total (Cejas *et al.*, 2004a; Rodríguez *et al.*, 2004; Pérez *et al.*, 2007), el pescado resultante de la alimentación con piensos, con este grado de sustitución, seguirá aportando cantidades sustanciales e incluso superiores de n-3 HUFA, en comparación al pescado procedente de la pesca extractiva y, en cualquier caso, siempre muy superiores a las de cualquier otro producto cárnico, no obstante, se debe prestar especial atención al balance final n-3/n-6 del pescado que llega al consumidor. El uso de aceites vegetales tiene ciertas ventajas frente a los aceites de pescado como es la menor presencia de PCBs, dioxinas y metales pesados (Berntssen *et al.*, 2005; Gómez-Requeni, 2006; Bell y Waagbo, 2008). Por ello, su uso racional tal vez permita ayudar a conseguir una acuicultura responsable, que es, en definitiva, el objetivo de todos los que trabajamos en este sector.

Alimentación larvaria

Como se señaló anteriormente, la producción larvaria de peces marinos sigue siendo un cuello de botella en la actividad acuícola. La alimentación de las larvas de peces marinos a escala comercial entraña una gran dificultad y conlleva el mantenimiento de cultivos auxiliares (fitoplancton, rotífero y nauplius de *Artemia*), que deben presentar la adecuada composición lipídica para asegurar la buena nutrición larvaria. Ello implica que, hasta que el uso de microdietas u otro tipo de presas vivas como los copépodos, esté consolidado, hoy por hoy, las hatcheries comerciales dependen del enriquecimiento de los rotíferos y nauplius de *Artemia* con fitoplancton y/o productos comerciales de diversa índole, ricos en n-3 HUFA, y con una adecuada relación DHA/EPA/AA, capaces de asegurar una supervivencia y crecimiento aceptables desde un punto de vista económico. Hemos visto también, que



el esfuerzo investigador en el área de la nutrición larvaria de peces marinos continúa, no sólo para la consecución de microdietas adaptadas a las necesidades nutricionales de cada especie, sino en la búsqueda de nuevas fuentes de aceites y fosfolípidos ricos en n-3 HUFA para el enriquecimiento de las presas vivas (Sargent *et al.*, 1997; Van der Meeren *et al.*, 2008). La tarea se complica aún más ante la escasez y el elevado precio de los lípidos de origen marino o si se pretende disminuir la presión sobre ciertas pesquerías y hacer una acuicultura más sostenible. Algunos ejemplos en este sentido, son el uso de aceite de ojo de atún (McEvoy *et al.*, 1997) y otros aceites de desechos del pescado que son utilizados también hoy como suplemento en nutrición humana, o incluso mezclas de triglicéridos que contengan elevadas cantidades de uno o más de los tres ácidos grasos esenciales, extraídos del cultivo de organismos unicelulares como *Cryptocodinium cohnii* y *Mortierella* (Sargent *et al.*, 1999; Estévez *et al.*, 1999). Estos aceites, aún siendo caros, tienen una aplicación directa y un buen potencial en la formulación de microdietas y enriquecedores capaces de asegurar la buena nutrición lipídica de las larvas, si bien siguen sin aportar fosfolípidos ricos en n-3 HUFA. Una vez más nos encontramos con la dependencia de productos de origen marino como es el caso de fosfolípidos procedentes de las gónadas maduras de peces. Asimismo, se han hecho algunas pruebas con fosfolípidos de Krill comercializados (Monroig *et al.*, 2003; 2006a,b), si bien el uso en perla de estos productos, por parte de la industria farmacológica, hacen aún más inasequible su utilización en acuicultura. En definitiva, nos encontramos, ante la necesidad de encontrar nuevas fuentes de fosfolípidos ricos en n-3 HUFA para alimentación larvaria de peces marinos que tendrán que proceder probablemente del cultivo masivo de microalgas (biorreactores), o de su síntesis química o enzimática a partir de mezclas de triglicéridos ricos en n-3 HUFA y fosfolípidos procedentes de plantas.

4.7. ALGUNOS GRUPOS DE INVESTIGACIÓN ESPECIALISTAS EN NUTRICIÓN LIPÍDICA DE PECES

En este último apartado hemos querido hacer un pequeño listado de los diferentes grupos de investigación que en la actualidad trabajan en nutrición lipídica de peces, tanto en España como en diferentes



CUADRO 4.

Composición en ácidos grasos de algunas grasas y aceites disponibles comercialmente.

	Palma	Colza	Soja	Oliva	Linaza	Echium	Arenque	Anchoa	Capelán	Anguila jardinera
16:0	61	5	11	14	7	6	13	17		20
16:1n-7	tr	tr	tr	2	tr		7	9		
18:0	5	2	4	3	5		1	4		
18:1n-9	26	60	22	69	18	13	10	12		12
18:2n-6	7	21	54	12	17	15-25	1	1	2	1
18:3n-3	tr	10	8	1	54	25-30	1	1	0.5	<1
18:3n-6		tr	tr		tr	10				
18:4n-3		tr	tr		tr	10				
20:1n-9	0	2	tr	tr	0	1	13	2		
20:5n-3	0	0	0	0	0	0	6	17	8	11
22:1n-9	0	1	tr	0	0		0	0		
22:1n-11	0	0	0	0	0	1	23	2		
22:6n-3	0	0	0	0	0	0	6	9	6	9

tr, Trazas.

Referencias: Gunstone *et al.*, 1994; Sargent y Henderson, 1995; Sargent *et al.*, 2002.

instituciones internacionales, con la idea de crear una base de datos o red temática en nutrición lipídica. No obstante sólo citamos aquellos grupos con los que hemos mantenido contactos a lo largo de los 20 años de experiencia en este campo de investigación, siendo conscientes, sin embargo, de que existen otros muchos a los que invitamos a unirse, incorporando sus datos. Esta red persigue, por un lado, facilitar una información útil al usuario que desee contactar con expertos en este campo, y, por otra parte, establecer contacto para futuras colaboraciones entre grupos de investigación.

- **Grupo Nutrición en Acuicultura.** Departamento Biología Animal. Universidad de La Laguna. Antonio Lorenzo Hernández, Covadonga Rodríguez González. <http://webpages.ull.es/users/aquafis/>
- **Grupo de Investigación en Acuicultura (GIA)** Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM). María Soledad Izquierdo López. <http://www.grupoinvestigacionacuicultura.org/>.



- **Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal.** Grupo de Nutrición y Endocrinología del Crecimiento. Jaime Pérez Sánchez, Juan Carlos Navarro. <http://www.iats.csic.es/>.
- **Universidad de Cádiz.** Grupo de Investigación en Biología Marina y Pesquera. Gabriel Mourente Cano. <http://www2.uca.es/grup-invest/bmp/personal.htm>.
- **Instituto de Investigación y Tecnología Agroalimentarias (IRTA).** Centro de Acuicultura. Alicia Estévez. <http://www.irta.es/esp/index.html>.
- **Universidad de Granada.** Departamento de Biología Animal. Grupo Nutrición y Alimentación de peces. Manuel de la Higuera González. http://www.ugr.es/%7Edptobae/nutricion_peces/nutricion.html.
- **IEO Vigo.** Área de Acuicultura. José Iglesias Estévez. <http://www.vi.ieo.es/>.
- **Grupo de Acuicultura y Medio Ambiente** Universidad de Valencia. Miguel Jover Cerdá. <http://www.dcam.upv.es/dcia/investiga.htm>.
- **Departamento de Bioquímica y Biología Molecular.** Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. José Manuel Bautista. <http://www.ucm.es/info/bbm4/investigacion/investigacion.html>.
- **Unidad de Fisiología Animal.** Departamento de Fisiología. Universidad de Murcia. Juan Antonio Madrid, Francisco Javier Martínez López. <http://www.um.es/fisfar/fisanim.htm>.
- **University of Stirling, Institute of Aquaculture. Nutrition Group.** John R Sargent, Douglas Tocher, Gordon Bell. <http://www.aquaculture.stir.ac.uk/>.
- **William Walker Christie.** Scottish Crop Research Institute. Invergowrie, Dundee, Scotland. <http://www.lipidlibrary.co.uk/lipids.html>
- **Nutreco Aquaculture Research Centre.** Grethe Roselund. <http://www.skretting.com/>.
- **INRA Station d'hydrobiologie,** St. Pee-sur Nivelle, France. Dr. S.J. Kaushik, Director of Research. <http://www.st-pee.inra.fr/ici/stpee/eco/devdurable.htm>.
- **Laboratory of Aquaculture & Artemia Reference Center,** Ghent University. Prof. Patrick Sorgeloos. <http://www.aquaculture.ugent.be/general/general.htm>.



- **Institute of Marine Research, Matre Aquaculture Research Station**, Norway. Rolf Erik Olsen. http://www.imr.no/english/about_imr/organisation/matre.
- **National Institute of Nutrition and Seafood Research, NIFES**, Norway. Professor Øyvind Lie. http://www.nifes.no/index.php?page_id=228&lang_id=2.
- **National Agricultural Research Foundation-Fisheries Research Institute (NAGREF-FRI)**, Greece. Dr. Grigorios Krey. <http://www.fishri.gr/>.
- **Agrotechnology and Food Innovations (A&F) Bornsesteeg**. The Netherland. Dr. Lolke Sijtsma. <http://www.agrotechnologyandfood.wur.nl/uk>.
- **Fish Endocrinology Laboratory (UGOT)**. Department of Zoology, Göteborg University. SWEDEN. Professor Thrandur Björnsson.

AGRADECIMIENTOS

Los Dres. Antonio Lorenzo Hernández y Covadonga Rodríguez González son miembros del Instituto Universitario de Tecnologías Biomédicas (ITB) de la Universidad de La Laguna. Los conocimientos adquiridos en el desarrollo de los proyectos AGL2003-06877/ACU, CTM2006-14279-C02-02/MAR y AGL2008-05014-C02-01/ACU han contribuido a la elaboración del presente documento.

BIBLIOGRAFÍA

- ABELLÁN, E., GARCÍA-ALCÁZAR, A., ORTEGA, A., GARCÍA-ALCÁZAR, S., MARTÍN, P., 1994. Cultivo de nuevas especies de espáridos mediterráneos: experiencias de preengorde y engorde del sargo común (*Diplodus sargus sargus*, L. 1758) y del sargo picudo (*Diplodus puntazzo*, Cetti, 1777). Informes Técnicos I.E.O. 148, 1-11.
- ACIERNO, R., MAFFIA, M., SICURO, P., FIAMMATA, L., ROLLO, M., RONZINI, L., STORELLI, C., 1996. Lipid and fatty acid composition of intestinal mucosa of two antarctic teleosts. Comp. Biochem. Physiol. A 115(4), 303-307.
- AGABA, M.K., TOCHER, D.R., ZHENG, X., DICKSON, C.A., DICK, J.R., TEALE, A.J., 2005. Cloning and functional characterisation of polyunsaturated fatty acid elongases of marine and freshwater teleost fish. Comp. Biochem. Physiol. B 142(3), 342-52.



- AHLGREN, G., GUSTAFSSON, I.B., BOBERG, M., 1992. Fatty acid content and chemical composition of freshwater microalgae. *J. Phycol.* 28, 37-50.
- ALMAIDA-PAGÁN, P.F., HERNÁNDEZ, M.D., GARCÍA GARCÍA, B., MADRID, J.A., DE COSTA, J., MENDIOLA, P., 2007. Effects of total replacement of fish oil by vegetable oils on n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acid desaturation and elongation in sharpnose seabream (*Diplodus puntazzo*) hepatocytes and enterocytes. *Aquaculture* 272, 589-598.
- ALMANSA, E., PÉREZ, M.J., CEJAS, J.R., BADÍA, P., VILLAMANDOS, J.E., LORENZO, A., 1999. Influence of broodstock gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) dietary fatty acids on egg quality and egg fatty acid composition throughout the spawning season. *Aquaculture* 170, 323-336.
- ALMANSA, E., MARTÍN, M.V., CEJAS, J.R., BADÍA, P., JEREZ, S., LORENZO, A., 2001. Lipid and fatty acid composition of female gilthead seabream during their reproductive cycle: effects of a diet lacking n-3 HUFA. *J. Fish Biol.* 59, 267-286.
- ALMANSA, E., SÁNCHEZ, J.J., COZZI, S., RODRÍGUEZ, C., DÍAZ, M., 2003. Temperature-activity relationship for the intestinal Na⁺-K⁺-ATPase of *Sparus aurata*. A role for the phospholipid microenvironment? *J. Comp. Physiol. B* 173, 231-237.
- ANDERSON, A.J. Y ARTHINGTON, A.H., 1989. Effect of dietary lipid on the fatty acid composition of silver perch (*Leiopotherapon bidyanus*) lipids. *Comp. Biochem. Physiol. B* 93 (3), 715-720.
- ANDERSON, A.J., ARTHINGTON, A.H., ANDERSON, S., 1990. Lipid classes and fatty-acid composition of the eggs of some Australian fish. *Comp. Biochem. Physiol. B* 96 (2), 267-270.
- ANWAR, M.F. Y JAFRI, A.K., 1995. Effect of varying dietary lipid levels on growth, feed conversion, nutrient retention and carcass composition of fingerling catfish, *Heteropneustes fossilis*. *Asian Fish. Sc.* 8 (1), 55-62.
- ARNAIZ, R., COO, A., CORCOBADO ONATE, F., RUA, N., AMOEDO, F., 1993. Una hipótesis nutricional de la mortalidad asociada al periodo crítico. Organos y desarrollo larvario de rodaballo *Scophthalmus maximus* y dorada *Sparus aurata*. Necesidades de DHA. En: Actas, IV Congreso Nacional de Acuicultura. Editado por A. Cervino, A. Landin, A., Coa, A. Guerra y M. Torre. Villagarcía de Arosa, España, pp. 73-78.
- ARZEL J, CARDINAL M, CORNEST J, METAILLER R, STEPHAN G, GUILLAUME J C., 1993. Nutrition of brown trout (*Salmo trutta*) reared in seawater, effects of dietary lipid on growth performances, body composition and egg quality. Poster abstract, Word Aquaculture 93, 26-28 Mayo, Torremolinos, España.
- ASTURIANO, J.F., SORBERA, L.A., ZANUY, S., CARRILLO, M., 2000. Effects of polyunsaturated fatty acids and gonadotropin on prostaglandins series E production in a primary testis cell culture system for the European sea bass. *J. Fish Biol.* 57, 1563-1574.
- ASTURIANO, J.F., SORBERA, L.A., CARRILLO, M., ZANUY, S., RAMOS, J., NAVARRO, J.C., BROMAGE, N., 2001. Reproductive performance in male European sea bass



- (*Dicentrarchus labrax*, L.) fed two PUFA-enriched experimental diets: a comparison with males fed a wet diet. *Aquaculture* 194, 173-190.
- BALLESTRAZZI, R. Y MION, A., 1993. I lipidi nell'alimentazione dei pesci teleostei. *Rivista Italiana Acquacoltura* 28, 155-173.
- BALLESTRAZZI, R., RAINIS, S., TULLI, F., BRACELLI, A., 2003. The effect of dietary coconut oil on reproductive traits and egg fatty acid composition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquac. Int.* 11 (3), 289-299.
- BARCLAY W. Y ZELLER, S., 1996. Nutritional enhancement of n-3 and n-6 fatty acids in rotifers and *Artemia* nauplii by feeding spray-dried *Schizochytrium* sp. *J. World Aquaculture Soc.* 27, 314-322.
- BARLOW, S.M., 2000. Fish and oil. *Global aquaculture advocate* 3 (2), 85-88.
- BARR, Y., RØNNESTAD, I., ROJAS-GARCÍA, C. R., 2001. The digestive capacity for dietary protein in larval Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). En: *Larvi '01 - Fish & Shellfish Larviculture Symposium*. Editado por C.I. Hendry, G. Van Stappen, M. Wille y P. Sorgeloos. Oostende, Belgium, 2001. *Eur. Aquacult. Soc. Spec. Publ.* 30, 50-53.
- BAUTISTA, M. N. Y DE LA CRUZ, M. C., 1988. Linoleic and linolenic acids in the diet of fingerling milk fish (*Chanos chanos* Forsskal). *Aquaculture* 71, 347.
- BEDU, E., WAHLI, W., DESVERGNE, B., 2005. Peroxisome proliferator-activated receptor β/δ as a therapeutic target for metabolic diseases. *Expert Opin. Ther. Targets* 9 (4), 861-873.
- BELL, J.G. Y SARGENT, J.R., 2003. Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. *Aquaculture* 218, 491-499.
- BELL, J.G. y WAAGBØ, R., 2008. Safe and nutritious aquaculture produce: Benefits and risks of alternative sustainable aquafeeds. En: *Aquaculture in the Ecosystem*. Springer Netherlands. pp. 185-225.
- BELL, J. G., RAYNARD, R. S., SARGENT, J. R., 1991a. The effect of dietary linoleic acid on the fatty acid composition of individual phospholipids and lipoxygenase products from gills and leucocytes of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Lipids* 26, 445-450.
- BELL, J.G., MCVICAR, A.H., PARK, M.T., SARGENT, J.R., 1991b. High dietary linoleic acid affects the fatty acid compositions of individual phospholipids from tissues of Atlantic salmon (*Salmo salar*): association with stress susceptibility and cardiac lesion. *J. Nutr.* 121 (8), 1163-1172.
- BELL, J.G., DICK, J.R., MCVICAR, A.H., SARGENT, J.R., THOMPSON, K.D., 1993. Dietary sunflower, linseed and fish oils affect phospholipid fatty acid composition, development of cardiac lesions, phospholipase activity and eicosanoid production in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 49, 665-673.
- BELL, J.G., TOCHER, D.R., MACDONALD, F.M., SARGENT, J.R., 1994a. Effects of diets rich in linoleic (18:2n-6) and α -linolenic (18:3n-3) acids on the growth, lipid



- class and fatty acid compositions and eicosanoid production in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). Fish Physiol. Biochem. 13, 105-118.
- BELL, J.G., GHIONI, C., SARGENT, J.R., 1994b. Fatty acid compositions of ten freshwater invertebrates which are natural food organisms of Atlantic salmon parr (*Salmo salar*); a comparison with commercial diets. Aquaculture 128, 301-313.
- BELL, J.G., CASTELL, J.D., TOCHER, D.R., MACDONALD, F.M., SARGENT, J.R. 1995a. Effects of different dietary arachidonic:docosahexaenoic acid ratios on phospholipid fatty acid compositions and prostaglandin production in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). Fish Physiol. Biochem. 14, 139-151.
- BELL, J.G., FARNDALE, B.M., BRUCE, M.P., NAVAS, J.M., CARRILLO, M., 1997a. Effects of broodstock dietary lipid on fatty acid compositions of eggs from sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture 149, 107-119.
- BELL, J.G., TOCHER, D.R., FARNDALE, B.M., COX, D.I., MCKINNEY, R.W., SARGENT, J.R., 1997b. The effect of dietary lipid on polyunsaturated fatty acid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar*) undergoing parr-smolt transformation. Lipids 32, 515-525.
- BELL, J.G., McEVOY, J., WEBSTER, J.L., MCGHEE, F., MILLAR, R.M., SARGENT, J.R., 1998. Flesh lipid and carotenoid composition of scottish farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). J. Agric. Food Chem. 46 (1), 119 -127.
- BELL, J.G., McEVOY, J., TOCHER, D.R., MCGHEE, F., CAMPBELL, P.J., SARGENT, J.R., 2001. Replacement of fish oil with rapeseed oil in diets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects tissue lipid compositions and hepatocyte fatty acid metabolism. J. Nutr. 131, 1535-1543.
- BELL, J.G., HENDERSON, R.J., TOCHER, D.R., MCGHEE, F., DICK, J.R., PORTER, A., SMULLEN, R., SARGENT, J.R., 2002. Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects tissue fatty acid compositions and hepatic fatty acid metabolism. J. Nutr. 132, 222-230.
- BELL, J.G., TOCHER, D.R., HENDERSON, R.J., DICK, J.R., CRAMPTON, V.O., 2003a. Altered fatty acid compositions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing linseed and rapeseed oils can be partially restored by a subsequent fish oil finishing diet. J. Nutr. 133 (9), 2793-2801.
- BELL, J.G., MCGHEE, F., CAMPBELL, P.J., SARGENT, J.R., 2003b. Rapeseed oil as an alternative to marine fish oil in diets of post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*): changes in flesh fatty acid composition and effectiveness of subsequent fish oil «wash out». Aquaculture 218, 515-528.
- BELL, J.G., HENDERSON, R.J., TOCHER, D.R., SARGENT, J.R., 2004. Replacement of dietary fish oil with increasing levels of linseed oil: Tailoring flesh fatty acid compositions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) using a fish oil finishing diet. Lipids 39, 223-232.
- BELL, J.G., TORSTENSEN, B., SARGENT, J., 2005. Replacement of marine fish oils with vegetable oils in feeds for farmed salmon. Lipid Technology 17, 7-11



- BELL, J.G., STRACHAN, F., GOOD, J.E., TOCHER, D.R., 2006. Effect of dietary echium oil on growth, fatty acid composition and metabolism, gill prostaglandin production and macrophage activity in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquac. Res.* 37 (6), 606-617.
- BELL, M.V., HENDERSON, R.J., PIRIE, B.J.S., SARGENT, J.R., 1985. Effects of dietary polyunsaturated fatty acid deficiencies on mortality, growth and gill structure in the turbot, *Scophthalmus maximus*. *J. Fish. Biol.* 26, 181-191.
- BELL, M.V., BATTY, R.S., DICK, J.R., FRETWELL, K., NAVARRO, J.C., 1995b. Dietary deficiency of docosahexaenoic acid impairs vision at low light intensities in juvenile herring (*Clupea harengus* L.). *Lipids* 30 (5), 443-449.
- BELL, M.V., DICK, J.R., THRUSH, M. Y NAVARRO, J.C., 1996. Decreased 20:4n-6/20:5n-3 ratio in sperm from cultured sea bass, *Dicentrarchus labrax*, broodstock compared with wild fish. *Aquaculture* 144, 189-199.
- BELL, M.V., DICK, J.R., PORTER, A.E.A., 2003c. Pyloric caeca are a major site of newly synthesised 22:6n-3 in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Lipids* 38, 39-44.
- BELL, M.V., DICK, J.R., PORTER, A.E.A., 2003d. In vivo assays of docosahexaenoic acid biosynthesis in fish. En: *The Big Fish Bang - Proceedings of the 26th Annual Larval Fish Conference*. Editado por H.I. Browman y A.B. Skiftesvik pp. 229-237.
- BELTRÁN, M., FERNÁNDEZ-BORRÁS, J., MÉDALE, F., PÉREZ-SÁNCHEZ, J., KAUSHIK, S., BLASCO, J., 2009. Natural abundance of 15N and 13C in fish tissues and the use of stable isotopes as dietary protein tracers in rainbow trout and gilthead sea bream. *Aquac. Nutr.* 15, 9-18.
- BENÍTEZ-SANTANA, T., MASUDA, R., JUÁREZ CARRILLO, E., GANUZA, E., VALENCIA, A., HERNÁNDEZ-CRUZ, C.M., IZQUIERDO, M.S., 2007. Dietary n-3 HUFA deficiency induces a reduced visual response in gilthead seabream *Sparus aurata* larvae. *Aquaculture* 264, 408-417.
- BERNTSEN, M.H.G., LUNDEBYE, A.K., TORSTENSEN, B.E., 2005. Reducing the levels of dioxins and dioxin-like PCBs in farmed Atlantic salmon by substitution of fish oil with vegetable oil in the feed. *Aquac. Nutr.* 11 (3), 219-231.
- BESSONART, M., IZQUIERDO, M. S., SALHI, M., HERNÁNDEZ-CRUZ, C. M., GONZÁLEZ, M. M., FERNÁNDEZ-PALACIOS, H., 1999. Effect of dietary arachidonic acid levels on growth and survival of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) larvae. *Aquaculture* 179, 265-275.
- BLAIR, T., POWELL, F., BROOKING, P., CASTELL, J., 1998. Evaluation of commercial enrichment media for enhancing nutritional value of Artemia for larval halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) culture. *Bull. Aquacult. Assoc. Canada* 98 (4), 21-24.
- BLAIR, T., CASTELL, J., NEIL, S., D'ABRAMO, L., CAHU, C., HARMON, P., OGUNMOYE, K., 2003. Evaluation of microdiets versus live feeds on growth, survival and fatty acid composition of larval haddock (*Melanogrammus aeglefinus*). *Aquaculture* 225 (1-4), 451-461.



- BLAXTER, J.H.S., 1988. Pattern and variety in development. En *Fish Physiology*, vol. XIA Editado por W. S. Hoar y D. J. Randall. Academic Press. New York. pp. 1-58.
- BOGUT, I., BUKVIC, Z., STEINER, Z., MILAKOVIC, Z., STEVIC, I., 1998. Influence of linolenic fatty acid additive on European sheatfish (*Silurus glanis*) growth bred in cages. *Czech J. Anim. Sci.* 43, 133-137.
- BOND, C.E., 1996. *Biology of Fishes*. 2nd Edition. Editado por: Sounders College Publishing. Florida, EEUU. pp 750.
- BRANDT, J.M., DJOUADI, F., KELLY, D.P., 1998. Fatty acids activate transcription of the muscle carnitine palmitoyltransferase I gene in cardiac myocytes via the peroxisome proliferators-activated receptor alpha. *J. Biol. Chem.* 273, 23786-23792.
- BRANDSEN, M.P., BATTAGLENE, S.C., COBCROFT, J.M., MOREHEAD, D.T., BROWN, M.R., NICHOLS, P.N., DUNSTAN, G.A., KOLKOVSKI, S., 2003. Determining the essential fatty acid requirements of striped trumpeter larvae. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 12 Suppl:S34.
- BRANDSEN, M.P., COBCROFT, J.M., BATTAGLENE, S.C., DUNSTAN, G.A., NICHOLS, P.D., BELL, J.G., 2004a. Dietary arachidonic acid alters tissue fatty acid profile, whole body eicosanoid production and resistance to hypersaline challenge in larvae of the temperate marine fish, striped trumpeter (*Latris lineata*). *Fish Physiol. Biochem.* 30, 241-256.
- BRANDSEN, M.P., DUNSTAN, G.A., BATTAGLENE, S.C., COBCROFT, J.M., MOREHEAD, D.T., KOLKOVSKI, S., NICHOLS, P.D., 2004b. Influences of dietary n-3 long-chain PUFA on body concentrations of 20:5n-3, 22:5n-3, and 22:6n-3 in the larvae of a marine teleost fish from Australian waters, the striped trumpeter *Latris lineata*, *Lipids* 39 (3), 215-222.
- BRANDSEN, M.P., BATTAGLENE, S.C., MORREAD, D.T., DUNSTAN, G.A., NICHOLS, P.D., 2005a. Effect of dietary 22:6n-3 on growth, survival and tissue fatty acid profile of striped trumpeter (*Latris lineata*) larvae fed enriched Artemia. *Aquaculture* 243, 331-344.
- BRANDSEN, M.P., BUTTETFIELD, G.M., WALDEN, J., McEVOY, L.A., BELL, J.G., 2005b. Tank colour and dietary arachidonic acid affects pigmentation, eicosanoid production and tissue fatty acid profile of larval Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture* 250, 328-340.
- BRAUGE, C., CORRAZE, G., MEDALE, F., 1995. Effects of dietary levels of carbohydrate and lipid on glucose oxidation and lipogenesis from glucose in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, reared in freshwater or in seawater. *Comp. Biochem. Physiol.* 111A, 117-124.
- BRINKMEYER R.L. Y HOLT G.J., 1998. Highly unsaturated fatty acids in diets for red drum (*Sciaenops ocellatus*) larvae. *Aquaculture* 161, 253-268.
- BROMAGE, N.R., PORTER, M.J.R., RANDALL, C.F., 2001. The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. *Aquaculture* 197, 63-98.



- BROUGHTON, K.S. y WADE, J. W., 2002. Total fat and (n-3): (n-6) fat ratios influence eicosanoid production in mice. *J. Nutr.* 132, 88-94.
- BROWN, A.J., ROBERTS, D.C.K., TRUSWELL, A.S., 1989. Fatty acid composition of Australian marine finfish: a review. *Food. Aust.* 1, 655-666.
- BROWN, M.R. y JEFFREY, S.W., 1992. Biochemical composition of microalgae from the green algal classes Chlorophyceae and Prasinophyceae. I: Amino acids, sugars and pigments. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 161 (1), 91-113.
- BRUCE, M.P., OYEN, F., BELL, J.G., FARNDAL, B.M., ASTURIANO, J.F., BROMAGE, N.R., CARRILLO, M., ZANUY, S., RAMOS, J., 1999. Development of broodstock diets for the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) with special emphasis on the importance of n-3 and n-6 HUFA to reproductive performance. *Aquaculture* 177, 85-98.
- BURDGE, G.C., CALDER, P.C., 2005. Conversion of linolenic acid to longer-chain polyunsaturated fatty acids in human adults. *Reprod. Nutr. Dev.* 45, 581-597.
- BUZZI, M., HENDERSON, R.J., SARGENT, J.R., 1996. The desaturation and elongation of linolenic acid and eicosapentaenoic acid hepatocytes and liver microsomes from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing fish oil or olive oil. *Biochim. Biophys. Acta* 1299, 235-244.
- BUZZI, M., HENDERSON, R.J., SARGENT, J.R., 1997. Biosynthesis of docosahexaenoic acid in trout hepatocytes proceeds via 24-carbon intermediates. *Comp. Biochem. Physiol.* 116(2), 263-267.
- CABALLERO, M.J., LÓPEZ-CALERO, G., SOCORRO, J., IZQUIERDO, M.S., FERNÁNDEZ A.J., 1999. Efecto combinado del nivel de lípidos y calidad de la harina de pescado en la absorción lipídica en dietas de engorde para dorada (*Sparus aurata*). En: *Actas VII Congreso Nacional de Acuicultura*, Las Palmas de Gran Canaria pp. 303-309.
- CABALLERO, M.J., OBACH, A., ROSENBLUND, G., MONTERO, D., GISVOLD, M., IZQUIERDO, M.S., 2002. Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 214, 253-271.
- CABALLERO, M.J., IZQUIERDO, M.S., KJORSVIK, E., MONTERO, D., SOCORRO, J., FERNÁNDEZ, A.J., ROSENBLUND, G., 2003. Morphological aspects of intestinal cells from gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed diets containing different lipid sources. *Aquaculture* 225, 325-340.
- CABALLERO, M.J., IZQUIERDO, M.S., KJORSVIK, E., FERNÁNDEZ, A.J., ROSENBLUND, G., 2004. Histological alterations in the liver of sea bream, *Sparus aurata* L., caused by short- or long-term feeding with vegetable oils. Recovery of normal morphology after feeding fish oil as the sole lipid source. *J. Fish Diseases* 27 (9), 531-541.
- CAHU, C. y ZAMBONINO INFANTE, J., 2001. Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. *Aquaculture* 200, 161-180.
- CAHU, C., ZAMBONINO INFANTE, J., TAKEUCHI, T., 2003. Nutritional components affecting skeletal development in fish larvae. *Aquaculture* 227, 254-258.



- CAREAGA, M.M. Y SPRECHER, H., 1987. Metabolism of 8,11,14,17-eicosatetraenoic acid by human platelet lipoxigenase and cyclooxygenase. *Biochim. Biophys. Acta* 920, 94-101.
- CAREY, C., HAZEL, J.R., 1989. Diurnal variation in membrane lipid composition of Sonoran desert teleosts. *J. Exp. Biol.* 147, 375-391.
- CASTELL, J. D., SINNHUBER, R. O., WALES, J. H., LEE, D. J., 1972. Essential fatty acids in the diet of rainbow trout (*Salmo gairdneri*): growth, feed conversion and some gross deficiency symptoms. *J. Nutr.* 102, 77-85.
- CASTELL, J. D., BELL, J. G., TOCHER, D. R., SARGENT, J. R., 1994. Effects of purified diets containing different combinations of arachidonic and docosahexaenoic acid on survival, growth and fatty acid composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture* 128, 315-333.
- CASTELL, J.D., BLAIR, T., NEIL, S., HOWES, K., MERCER, S., REID, J., YOUNG-LAI, W., GULLISON, B., DHERT, P., SORGELOOS, P., 2001. The effect of different HUFA enrichment emulsions on the nutritional value of rotifers (*Brachionus plicatilis*) to larval haddock (*Melanogrammus aeglefinus*). En: Larvi 01- Fish and Shellfish Larviculture Symposium, European Aquaculture Society Special Publication vol. 30, Oostende, Belgium. Editado por: C.I. Hendry, G. Van Stappen, M. Wille y P. Sorgeloos. pp 111-114.
- CATACUTAN M.R. Y COLOSO R.M., 1995. Effect of dietary protein to energy ratios on growth, survival, and body composition of juvenile Asian seabass, *Lates calcarifer*. *Aquaculture* 131, 125-133.
- CEJAS, J.R., 2005. Valoración de las necesidades lipídicas del sargo (*Diplodus sargus*) mediante la comparación corporal de ejemplares salvajes y cultivados. Tesis Doctoral, Facultad de Biología, Universidad de la Laguna, España. 116 pp.
- CEJAS, J.R., ALMANSA, E., VILLAMANDOS, J.E., BADÍA, P., BOLAÑOS, A., LORENZO, A., 2003. Lipid and fatty acid composition of ovaries from wild fish and ovaries and eggs from captive fish of white seabream (*Diplodus sargus*). *Aquaculture* 216, 299-313.
- CEJAS, J.R., ALMANSA, E., JEREZ, S., BOLAÑOS, A., SAMPER, M., LORENZO, A., 2004a. Lipid and fatty acid composition of muscle and liver from wild and captive mature female broodstocks of white seabream, *Diplodus sargus*. *Comp. Biochem. Physiol. B* 138, 91-102.
- CEJAS, J.R., ALMANSA, E., JEREZ, S., BOLAÑOS, A., FELIPE, B., LORENZO, A., 2004b. Changes in lipid class and fatty acid composition during development in white seabream (*Diplodus sargus*) eggs and larvae. *Comp. Biochem. Physiol. B* 139, 209-216.
- CERDÁ, J., ZANUY, S., CARRILLO, M., 1997. Evidence for dietary effects on plasma levels of sexual steroids during spermatogenesis in the sea bass. *Aquac. Int.* 5, 473-477.
- CHANG, Q., LIANG, M., WANG, J., CHEN, S., ZHANG, X., LIU, X., 2006. Growth and survival of tongue sole (*Cynoglossus semilaevis* Günther, 1873) larvae



- fed a compound diet with different protein sources. *Aquac. Res.* 37 (6), 643-646.
- CHOU, B. S., SHIAU, S. Y., 1999. Both n-6 and n-3 fatty acids are required for maximal growth of juvenile hybrid tilapia. *North Am. J. Aquacult.* 61, 13-20.
- CHOU, R.L., SU, M. S., CHEN, H.Y., 2001. Optimal dietary protein and lipid levels for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture* 193, 81-89.
- CHRISTIE, 2003. Lipid analysis - Third edition. The Oily Press Lipid Library. 417 páginas.
- COLIN, D.A., NONNOTTE, G., LERAY, C. Y NONNOTTE, L., 1985. Na⁺ Transport and enzyme activities in the intestine of the freshwater and sea-water adapted trout (*Salmo gairdnerii* R). *Comp. Biochem. Physiol. A* 81, 695-698.
- COMPANY, R., CALDUCH-GINER, J.A., KAUSHIK, S., PÉREZ-SÁNCHEZ, J. 1999. Growth performance and adiposity in gilthead sea bream (*Sparus aurata*): risks and benefits of high energy diets. *Aquaculture* 171, 279-292.
- CONNOR, W.E., LIN, D.S., WOLF, D.P. Y ALEXANDER, M., 1998. Uneven distribution of desmosterol and docosahexaenoic acid in the head and tails of monkey sperm. *J. Lipid Research* 39, 1404-1411.
- COPEMAN, L.A. PARRISH, C.C., BROWN, J.A., HAREL, M., 1999. Effect of dietary ratios of DHA, EPA and AA on early growth, survival and pigmentation of yellowtail flounder (*Pleuronectes ferrugineus*). *Agriculture Canada* 99-4.
- COPEMAN, L.A. PARRISH, C.C., BROWN, J.A., HAREL, M., 2002. Effects of docosahexaenoic, eicosapentaenoic, and arachidonic acids on the early growth, survival, lipid composition and pigmentation of yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*): a live food enrichment experiment. *Aquaculture* 210, 285-304.
- CORDIER, M., BRICHON, G., WEBER J-M., ZWINGELSTEIN, G., 2002. Changes in the fatty acid composition of phospholipids in tissues of farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax*) during an annual cycle. Roles of environmental temperature and salinity. *Comp. Biochem. Physiol. B* 133, 281-288.
- CORRAZE, G., LARROQUET, L., MAISSE, G., BLANC, D., KAUSHIK, S., 1993. Effect of temperature and of dietary lipid source on female broodstock performance and fatty acid composition of the eggs of rainbow trout. En: *Fish Nutrition in Practice*, Biarritz France., June 24-27, 1991. Editado por INRA, Paris 1993. Les Colloques, no. 61, pp. 61-66.
- COSSINS, A.R. Y PROSSER, C.L., 1978. Evolutionary adaptation of membranes to temperature. *Proc. Nat. Aca. Sci. USA* 75, 2040-2043.
- COUTTEAU, P. Y SORGELOOS, P., 1997. Manipulation of dietary lipids, fatty acids and vitamins in zooplankton cultures. *Freshw. Biol.* 38, 501-512.
- COUTTEAU, P., CAMARA, M.R., SORGELOOS, P., 1996. The effect of different levels and sources of dietary phosphatidylcholine on the growth, survival, stress resistance, and fatty acid composition of postlarval *Penaeus vannamei*. *Aquaculture* 147, 261-273.



- COUTTEAU, P., GEURDEN, I., CAMARA, M.R., BERGOT, P., SORGELOS, P., 1997. Review on the dietary effects of phospholipids in fish and crustacean larviculture. *Aquaculture* 155, 149-164.
- COWEY, C.B. 1993. Some effects of nutrition on flesh quality of cultured fish. En: *Fish Nutrition in Practice*. Editado por S.J. Kaushik y P. Luquet INRA, Paris. pp. 227-236.
- COWEY, C. B. Y SARGENT, J. R., 1979. Nutrition. En *Fish Physiology*, vol. 8. Editado por W. S. HOAR, D. J. RANDALL y J. R. BRETT. Academic Press. New York. pp. 1-70.
- CRAIG, S.R. y GATLIN, D.M., 1997. Growth and body composition of juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*) fed diets containing lecithin and supplemental choline. *Aquaculture* 151, 259-267.
- CROSET, M., BORDET, J.C., LAGARDE, M., 1999. Inhibition of prostaglandin H synthase and activation of 12-lipoxygenase by 8,11,14,17-eicosatetraenoic acid in human endothelial cells and platelets. *Biochem. Pharmacol.* 57, 631-638.
- CZESNY, S. Y DABROWSKI, K., 1998. The effect of egg fatty acid concentrations on embryo viability in wild and domesticated walleye (*Stizostedion vitreum*). *Aquat. Living Resour.* 11, 371-378.
- DAS, U.N., 2005. COX-2 inhibitors and metabolism of essential fatty acids. *Med. Sci. Monit.* 11, R233-R237.
- DESVALETES, C., BOURDIER, G., BRETON, J.C., 1997. Changes in lipid class and fatty acid composition during development in pike (*Esox lucius* L) eggs and larvae. *Fish Physiol. Biochem.* 16 (5), 381-393.
- DHERT, P., DIVANACH, P., KENTOURI, M., SORGELOOS, P., 1998. Rearing techniques for difficult fish larvae. *World Aquacult.* 29, 48-55.
- DIAS, J., CORRAZE, G., ARZEL, J., ALVAREZ, M.J., BAUTISTA, J.M., LOPEZ-BOTE, C., KAUSHIK, S.J., 1999. Effets du rapport protéine/énergie des régimes alimentaires chez la truite et le bar diélevage. Perspectives de contrôle nutritionnel. *Cybiurn* 23 (1), 127-137.
- DIEZ, A., MENOYO, D., PEREZ-BENAVENTE, S., CALDUCH-GINER, J.A., VEGA-RUBIN DE CELIS, S., OBACH, A., FAVRE-KREY, L., BOUKOUVALA, E., LEAVER, M.J., TOCHER, D.R., PEREZ-SANCHEZ, J., KREY, G., BAUTISTA, J.M., 2007. Conjugated linoleic acid affects lipid composition, metabolism, and gene expression in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L). *J. Nutr.* 137, 1363-1369.
- DIVANACH, P., KENTOURI, M., CHARALAMBAKIS, G., POUGET, F., STERIOTI, A., 1993. Comparison of growth performance of six Mediterranean fish species reared under intensive farming conditions in Crete (Greece), in raceways with the use of self feeders. *Special Publication of the European Aquaculture Society* 18, 285-297.
- DÓPIDO, R., 2006. Caracterización morfológica, bioquímica y fisiológica de enterocitos aislados a lo largo del tracto intestinal de la dorada (*Sparus aurata*). Efectos de la deficiencia en n-3 y n-6. Tesis Doctoral, Facultad de Biología, Universidad de la Laguna, España.



- EINEN, O., ROEM, A.J., 1997. Dietary protein/energy ratios for Atlantic salmon in relation to fish size: growth, feed utilization and slaughter quality. *Aquacult. Nutr.* 3, 115-126.
- EL CAFSI, M., ROMDHANE, M.S., CHAOUCH, A., MASMOUDI, M., KHÉRIJ, S., CHANUSSOT, F., CHÉRIF, A., 2003. Qualitative needs of lipids by mullet, *Mugil cephalus*, fry during freshwater acclimation. *Aquaculture* 225, 233-241.
- EL-SAYED, A. F. M., MANSOUR, C. R., EZZAT, A. A., 2005. Effects of dietary lipid source on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at different water salinities. *Aquaculture* 248, 187-196.
- EMATA, A.C., OGATA, H.Y., GARIBAY, E.S., FURUITA, H., 2003: Advanced broodstock diets for the mangrove red snapper and a potential importance of arachidonic acid in eggs and fry. *Fish Physiol. Biochem.* 28, 489-491.
- ERDAL, J.I., EVENSEN, O., KAURSTAD, O.K., LILLEHAUG, A., SOLBAKKEN, R., THORUD, K., 1991. Relationship between diet and immune response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) feeding various levels of ascorbic acid and omega-3 fatty acids. *Aquaculture* 98, 363-379.
- ESCOUBET, S., WOITRAIN, F., ARNAUD, A., ESCOUBET, P., 2001. A propos d'*Astrospartus mediterraneus* et *Centrostephanus longispinus* en captivité. *Bulletin-Institut Oceanographique Monaco* 20 (1), 411-414.
- ESTÉVEZ, A. Y KANAZAWA, A., 1996. Fatty acid composition of neural tissues of normally pigmented and unpigmented juveniles of Japanese flounder using rotifer and *Artemia* enriched in n-3 HUFA. *Fish. Sci.* 62, 88-93.
- ESTÉVEZ, A., ISHIKAWA, M., KANAZAWA, A., 1997. Effects of arachidonic acid on pigmentation and fatty acid composition of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck and Schlegel). *Aquac. Res.* 28 (4), 279-289.
- ESTÉVEZ, A., McEVOY, L.A., BELL, J.G., SARGENT, J.R., 1999. Growth, survival, lipid composition and pigmentation of turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae fed live-prey enriched in arachidonic and eicosapentaenoic acids. *Aquaculture* 180, 321-343.
- ESTÉVEZ, A., KANEKO, T., SEIKAI, T., TAGAWA, M., TANAKA, M., 2001. ACTH and MSH production in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) larvae fed arachidonic acid-enriched live prey. *Aquaculture* 192, 309-319.
- EVANS, R.P., PARRISH, C.C., BROWN, J.A., DAVIS, P.J., 1996. Biochemical composition of eggs from repeat and first-time spawning captive Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture* 139, 139-149.
- EVANS, R.M., BARISH, G.D., WANG, Y.X., 2004. PPARs and the complex journey to obesity. *Nature Medicine* 10, 355-361.
- EVJEMO, J. O. Y OLSEN, Y., 1997. Lipid and fatty acid content in cultivated live feed organisms compared to marine copepods. *J. Hydrobiol.* 358 (1-3), 159-162
- EVJEMO, J.O., COUTTEAU, P., OLSEN Y., SORGELOOS P., 1997. The stability of docosahexaenoic acid in two *Artemia* species following enrichment and subsequent starvation. *Aquaculture* 155, 135-148.



- EVJEMO, J. O., REITAN, K. I., OLSEN, Y., 2003. Copepods as live food organisms in the larval rearing of halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus* L.) with special emphasis on the nutritional value. *Aquaculture* 227, 191-210.
- FALK-PETERSEN, S., SARGENT, J.R., FOX, C., FALK-PETERSEN, I.-B., HAUG, T., KJORSVIK, E., 1989. Lipids in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) eggs from planktonic samples in Northern Norway. *Mar. Biol.* 101, 553-556.
- FANGE, R. Y GROVE, D., 1979. Digestion. En *Fish Physiology*, Vol. VIII. Editado por: HOAR, W.S., RANDALL, D.J. y BRETT, J.R. New York, Academic Press. pp 161-260.
- FAO, 2004. El estado mundial de la pesca y la acuicultura.
- FARKAS, T., FODOR, E., KITAJKA, K., HALVER, J.E., 2001. Response of fish membranes to environmental temperature. *Aquac. Res.* 32, 645-655.
- FERNÁNDEZ-DÍAZ, C., KOPECKA, J., CANAVATE, J.P., SARASQUETE, C., SOLE, M., 2006. Variations on development and stress defences in *Solea senegalensis* larvae fed on live and microencapsulated diets. *Aquaculture* 251, 573-584.
- FERNÁNDEZ-JOVER, D., SÁNCHEZ-JEREZ, P., BAYLE-SEMPERE, J.T., VALLE, C., DEMPSTER, T., 2008. Seasonal patterns and diets of wild fish assemblages associated with Mediterranean coastal fish farms. *ICES Journal of Marine Science* 65, 1153-1160.
- FERNÁNDEZ PALACIOS, H., IZQUIERDO, M.S., ROBAINA, L., VALENCIA, A., SALHI, M., VERGARA, J.M., 1995. Effect of n-3 HUFA level in broodstock diets on eggs quality of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture* 132, 325-337.
- FERNÁNDEZ-REIREZ, M.J. y LABARTA, U., 1996. Lipid classes and fatty acid composition of rotifers (*Brachionus plicatilis*) fed two algal diets. *Hydrobiologia* 330, 73-79.
- FERREIRA, M., MASEDA, A., FÁBREGAS, J., OTERO, A., 2008. Enriching rotifers with «premium» microalgae, *Isochrysis* aff. *galbana* clone T-ISO. *Aquaculture* 279 (1-4), 126-130.
- FINN, R. N., FYHN, H. J., EVJEN, M. S., 1995. Physiological energetics of developing embryos and larvae of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) I. Respiration and nitrogen metabolism. *Mar. Biol.* 124, 355-369.
- FONSECA-MADRIGAL, J., 2005. Fatty acid metabolism in isolated enterocytes from salmonid fish. Tesis Doctoral. Institute of Aquaculture University of Stirling. Scotland.
- FONSECA-MADRIGAL, J., KALARAZOS, V., CAMPBELL, P.J., TOCHER, D.R., 2005. Influence of dietary palm oil on growth, tissue fatty acid compositions, and fatty acid metabolism in liver and intestine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquac. Nutr.* 11, 241-250.
- FONSECA-MADRIGAL, J., BELL, J.G., TOCHER, D.R., 2006. Nutritional and environmental regulation of the synthesis of highly unsaturated fatty acids and of fatty-acid oxidation in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) enterocytes and hepatocytes. *Fish Physiol. Biochem.* 32 (4), 317-328.
- FONTAGNE, S., ROBIN, J., CORRAZE, G., BERGOT, P., 2000. Growth and survival of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae fed from first feeding on



- compound diets containing medium-chain triacylglycerols. *Aquaculture* 190 (3), 261-271.
- FOUNTOLAKI, E., VASILAKI, A., HURTADO, R., GRIGORAKIS, K., KARACOSTAS, I., NENGAS, I., RIGOS, G., KOTZAMANIS, Y., VENOU, B., ALEXIS, M.N., 2009. Fish oil substitution by vegetable oils in commercial diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.); effects on growth performance, flesh quality and fillet fatty acid profile. Recovery of fatty acid profiles by a fish oil finishing diet under fluctuating water temperatures. *Aquaculture* 289, 317-326.
- FRASER, A.J., GAMBLE, J.C., SARGENT, J.R., 1988. Changes in lipid content, lipid class composition and fatty acid composition of developing eggs and unfed larvae of cod (*Gadus morhua*). *Mar. Biol.* 99, 307-313.
- FRITSCH, K., 2006. Fatty acids as modulators of the immune response. *Annu. Rev. Nutr.* 26, 45-73.
- FURUITA, H., TAKEUCHI, T., TOYOTA, M., WATANABE, T., 1996a. EPA and DHA requirements in early juvenile red seabream using HUFA enriched *Artemia* nauplii. *Fish. Sci.* 62, 246-251.
- FURUITA, H., TAKEUCHI, T., WATANABE, T., FUJIMOTO, H., SEKIYA, S. and Imaizumi, K., 1996b. Requirements of larval yellowtail for eicosapentaenoic acid, docosahexaenoic acid, and n-3 highly unsaturated fatty acid. *Fish. Sci.* 62 (3), 372-379.
- FURUITA, H., TANAKA, H., YAMAMOTO, T., SHIRAIISHI, M., TAKEUCHI, T., 2000. Effects of n-3 HUFA levels in broodstock diet on the reproductive performance and egg and larval quality of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 187 (3), 387-398.
- FURUITA, H., TANAKA, H., YAMAMOTO, T., SUZUKI, N., TAKEUCHI, T., 2003. Supplemental effect of vitamin A in diet on the reproductive performance and egg quality of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* (T & S). *Aquacult. Res.* 34, 461-467.
- FURUITA, H., UNUMA, T., NOMURA, K., TANAKA, H., OKUZAWA, K., SUGITA, T., YAMAMOTO, T., 2006. Lipid and fatty acid composition of eggs producing larvae with high survival rate in the Japanese eel. *J. Fish Biol.* 69 (4), 1178-1189.
- GALLAGHER, M., 1996. Growth responses and liver changes in juvenile sunshine bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) associated with dietary protein and lipid level. *J. Appl. Aquac.* 6 (4), 75-85.
- GANGA, R., BELL, J.G., MONTERO, D., ROBAINA, L., CABALLERO, M.J., IZQUIERDO, M.S., 2005. Effect of dietary lipids on plasma fatty acid profiles and prostaglandin and leptin production in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Comp. Biochem. Physiol. B* 142, 410-418.
- GAPASIN, R.S.J., DURAY, M.N., 2001. Effects of DHA-enriched live food on growth, survival and incidence of opercular deformities in milkfish (*Chanos chanos*). *Aquaculture* 193 (1), 49-63.
- GARA, B., SHIELDS, R. J., MCEVOY, L., 1998. Feeding strategies to achieve correct metamorphosis of Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L., using enriched *artemia*. *Aqua. Res.* 29 (12), 935-948.



- GATESOUE, F.J., LEGER, C., METAILLER, R., LUQUET, P., 1977. Alimentation lipidique de turbot (*Scophthalmus maximus* L.) 1. Influence de la longueur de chaîne des acides gras de la série e. *Annl. Hydrobiol.* 8, 89-97.
- GATLIN, D.M., 1994. Advancements in nutrition of hybrid striped bass. *Aquaculture Magazine* 20 (3), 95-98.
- GEBAUER, S.K., PSOTA, T.L., HARRIS, W.S., KRIS-ETHERTON, P.M., 2006. n-3 fatty acid dietary recommendations and food sources to achieve essentiality and cardiovascular benefits. *Am. J. Clin. Nutr.* 83(6), 1526-1535.
- GERSHANOVICH, A.D., VAITMAN, G.A., VLADIMIRSKY, S.S., RUBTSOVA, T.E., 1991. Changes in chemical composition of muscle in young hybrids between Russian sturgeon *Acipenser guldenstadti* brant X beluga *Huso huso* L. (pisces; acipenseriformes) under different levels of salinity. *Comp. Biochem. Physiol. A* 100, 667-673.
- GEURDEN, I., RADUNZ-NETO, J., BERGOT, P. 1995. Essentiality of dietary phospholipids for carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae. *Aquaculture* 131, 303-314.
- GEURDEN, I., CHARLON, N., MARION, D., BERGOT, P., 1997. Influence of purified soybean phospholipids on early development of common carp. *Aquacult. Int.* 5, 137-149.
- GEURDEN, I., MARION, D., CHARLON, N., COUTTEAU, P., BERGOT, P., 1998. Comparison of different soybean phospholipidic fractions as dietary supplements for common carp, *Cyprinus carpio*, larvae. *Aquaculture* 161, 225-235.
- GEURDEN, I., CUVIER, A., GONDOUIN, E., OLSEN, R.E., RUOHONEN, K., KAUSHIK, S., BOUJARD, T., 2005. Rainbow trout can discriminate between feeds with different oil sources. *Physiol. Behav.* 85 (2), 107-114.
- GHIONI, C., TOCHER, D.R., BELL, M.V., DICK, J.R., SARGENT, J.R., 1999. Fatty acid elongase activity and limited conversion of stearidonic acid, 18:4n-3, to eicosapentaenoic acid, 20:5n-3, in a cell line from turbot, *Scophthalmus maximus*. *Biochim. Biophys. Acta* 1437, 170-181.
- GHIONI, C., PORTER, A.E.A., TAYLOR, G.W., TOCHER, D.R., 2002. Metabolism of 18:4n-3 (stearidonic acid) and 20:4n-3 in salmonid cells in culture and inhibition of the production of prostaglandin F2 α (PF2 α) from 20:4n-6 (arachidonic). *Fish Physiol. Biochem.* 27, 81-96.
- GISBERT, E., VILLENEUVE, L., ZAMBONINO-INFANTE, J.L., QUAZUGUEL, P., CAHU, C.L., 2005. Dietary phospholipids are more efficient than neutral lipids for long-chain polyunsaturated fatty acid supply in European sea bass *Dicentrarchus labrax* larval development. *Lipids* 40 (6), 609-618.
- GOETZ, F.W., 1991. Compartmentalization of prostaglandin synthesis within the fish ovary. *Am. J. Physiol.* 260, 862-865.
- GÓMEZ REQUENI, P., 2006. Fuentes alternativas de proteínas en acuicultura. Disfunciones endocrinas, metabólicas e inmuno-histopatológicas. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Valencia.



- GONÇALVES, J.M.S. y ERZINI, K., 2000. The reproductive biology of the two-banded sea bream (*Diplodus vulgaris*) from the SW Coast of Portugal. J. Appl. Ichthyol. 16, 110-116.
- GOTTLICHER, M., WIDMARK, E., LI Q, GUSTAFSSON, J.A., 1992. Fatty acids activate a chimera of the clofibrilic acid-activated receptor and the glucocorticoid receptor. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 4653-4657.
- GREENBERG, N.J. y HARRELL, R.M., 1998. Effects of dietary lipid supplements on subadult sunshine bass. The Progressive Fish-Culturist 60, 95-100.
- GRIGORAKIS, K., ALEXIS, M.N., TAYLOR, K.D.A., HOLE, M., 2002. Comparison of wild and cultured gilthead sea bream (*Spaurus aurata*), composition, appearance and seasonal variation. Int. J. Food Sci. Tech. 37, 477-484.
- GRISDALE-HELLAND, B., RUYTER, B., ROSENLUND, G., OBACH, A., HELLAND, S.J., SANDBERG, M.G., STANDAL, H., ROSJO, C., 2002. Influence of high contents of dietary soybean oil on growth, feed utilization, tissue fatty acid composition, heart histology and standard oxygen consumption of Atlantic salmon (*Salmo salar*) raised at two temperatures. Aquaculture 207, 311-329.
- GUNASEKERA, R.M., DE SILVA, S.S., INGRAM, B.A., 1999. The amino acid profiles in developing eggs and larvae of the freshwater Percichthyid fishes, trout cod, *Maccullochella macquarensis* and murray cod, *M. peeli peeli*. Aquat. Living Resour. 12, 255-261.
- GUNSTONE, F. D., HARWOOD, J. L., PADLEY, F. B., 1994. The Lipid Handbook , 2nd Ed. Editado por: Chapman & Hall, London. pp. 646-651.
- GUSCHINA, I.A. y HARWOOD, J.L., 2006. Mechanisms of temperature adaptation in poikilotherms. FEBS Lett. 580 (23), 5477-83.
- HADAS, E., 1998. The influence of dietary phospholipids on feeding rate and absorption of fatty acids in the larvae of the gilthead seabream (*Sparus aurata*). MSc thesis, Hebrew University of Jerusalem, Rehovot, Israel.
- HADAS, E., KOVEN, W., SKLAN, D., TANDLER, A., 2003. The effect of dietary phosphatidylcholine on the assimilation and distribution of ingested free oleic acid (18:1n-9) in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. Aquaculture 217, 577-588.
- HALFYARD, L.C., DROVER, D., PARRISH, C.C., JAUNCEY, K., 1998. Growth, survival, lipid and amino acid composition in striped wolffish, *Anarhichas lupus*, fed commercial marine starter diets. Bull. Aquac. Assoc. Can. 98 (2), 41-43.
- HALLDORSSON, A. y HARALDSSON, G.G., 2004. Fatty acid selectivity of microbial lipase and lipolytic enzymes from salmonid fish intestines toward astaxanthin diesters. J. Am. Oil Chem. Soc. 81 (4), 347-353.
- HAMRE, K., BAEVERFJORD, G., HARBOE, T., 2005. Macronutrient composition of formulated diets for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*, L.) juveniles, II: Protein/lipid levels at low carbohydrate. Aquaculture 244, 283-291.



- HAMRE, K., HARBOE, T., 2008. Critical levels of essential fatty acids for normal pigmentation in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) larvae. *Aquaculture* 277, 101-108.
- HAREL, M. y PLACE, A.R., 2003. Tissue essential fatty acid composition and competitive response to dietary manipulations in white bass (*Morone chrysops*), striped bass (*M. saxatilis*) and hybrid striped bass (*M. chrysops*×*M. saxatilis*). *Comp. Biochem. Physiol. B* 135, 83-94.
- HAREL, M., TANDLER, A., KISSIL, G.W., APPLEBAUM, S., 1992. The kinetics of nutrient incorporation into body tissues of gilthead seabream *S. aurata* females and the subsequent effects on egg composition and egg quality. *Isr. J. Aquacult.* 44 (4), 127.
- HAREL, M., GAVASSO, S., LESHIN, J., GUBERNATIS, A., PLACE, A.R., 2001 The effect of tissue docosahexaenoic and arachidonic acids levels on hypersaline tolerance and leucocyte composition in striped bass (*Morone saxatilis*) larvae. *Fish Physiol. Biochem.* 24, 113-123.
- HAREL, M., KOVEN, W., LEIN, I., BARR, Y., BEHRENS, P., STUBBLEFIELD, J., ZOHAR, Y., PLACE, A.R., 2002. Advanced DHA, EPA and ArA enrichment materials for marine aquaculture using single cell heterotrophs. *Aquaculture* 213, 347-362.
- HARPAZ, S. y UNI, Z., 1999. Activity of intestinal mucosal brush border membrane enzymes in relation to the aquaculture fish species. *Comp. Biochem. Physiol. A* 124, 155-160.
- HASHIMOTO M., HOSSAIN S., SHIMADA T., SUGIOKA K., YAMASAKI H., FUJII Y., ISHIBASHI Y., OKA J.I., SHIDO O., 2002. Docosahexaenoic acid provides protection from impairment of learning ability in Alzheimer's disease model rats. *J. Neurochem.* 81, 1084-1091.
- HAZEL, J.R. y PROSSER, C.L., 1974. Molecular mechanisms of temperature compensation in poikilotherms. *Physiol. Rev.* 54, 620-627.
- HAZEL, J.R. y CARPENTER, R., 1985. Rapid changes in the phospholipid composition of gill membranes during thermal acclimation of the rainbow trout *Salmo gairdneri*. *J. Comp. Physiol. Biochem.* 155, 597-602.
- HAZEL, J.R. y LANDREY, S.R., 1988. Time course of thermal adaptation in plasma membranes of trout kidney. I Headgroup composition. *Am. J. Physiol.* 255, 622-627.
- HEBB, C.D., CASTELL, J.D.1, ANDERSON, D.M., BATT, J., 2003. Growth and feed conversion of juvenile winter flounder (*Pleuronectes americanus*) in relation to different protein-to-lipid levels in isocaloric diets. *Aquaculture* 221, 439-449.
- HEMRE, G.I. y SANDNES, K., 1999. Effect of dietary lipid level on muscle composition in Atlantic salmon *Salmo salar*. *Aquacult. Nutr.* 5, 9-16.
- HEMRE, G., JUELL, J.E., HAMRE, K., LIE, Ø., STRAND, B., ARNESEN, P., HOLM J. C., 1997. Cage feeding of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*): effect on muscle lipid content, fatty acid composition, oxidation status and vitamin E concentration. *Aquat. Living Resour.* 10 (6), 365-370.



- HENDERSON, R.J. y TOCHER, D.R., 1987. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Prog. Lipid Res.* 26, 281-347.
- HENDERSON, R.J. y ALMATAR, S.M., 1989. Seasonal changes in the lipid composition of herring (*Clupea Harengus*) in relation to gonad maturation. *J. Marine Biol.* 69, 323-334.
- HENDERSON, R.J., SARGENT, J.R., PIRIE, B.J.S., 1984a. Fatty acid catabolism in the capelin, *Mallotus villosus* (Muller), during sexual maturation. *Mar. Biol. Lett.* 5, 115-126.
- HENDERSON, R.J., SARGENT, J.R., HOPKINS, C.C.E., 1984b. Changes in the content and fatty acid composition of lipid in an isolated population of the capelin *Mallotus villosus* during sexual maturation and spawning. *Mar. Biol.* 78, 255-263.
- HENDERSON, R.J., PARK, M.T., SARGENT, J.R., 1995. The desaturation and elongation of ¹⁴C-labelled polyunsaturated fatty acids by pike (*Esox lucius* L.) in vivo. *Fish Physiol. Biochem.* 14 (3), 223-235.
- HENDERSON, R.J., TILLMANNS, M.M., SARGENT, J.R., 1996. The lipid composition of two species of serrasalmid fish in relation to dietary polyunsaturated fatty acids. *J. Fish Biol.* 48 (3), 522-538.
- HIGGS, D.A., DOSANJH, B.S., PLOTNIKOFF, M.D., MARKERT, J.R., LAWSETH, D., MCBRIDE, J.R., BUCKLEY, J.T., 1992. Influence of dietary protein to lipid ratio and lipid composition on the performance and marine survival of hatchery reared chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Bull. Aquacult. Assoc. Can.* 92, 46-48.
- HILLESTAD, J. y AUSTRENG, Å., 1998. Long-term effects of dietary fat level and feeding rate on growth, feed utilization and carcass quality of Atlantic salmon. *Aquac. Nutr.* 4 (2), 89-97.
- HIRABAYASHI, T. y SHIMUZU, T., 2000. Localization and regulation of cytosolic phospholipase A2. *Biochem. Biophys. Acta* 1488, 124-138.
- HONG, S., TJONAHEN, E., MORGAN, E.L., LU, Y., SERHAN, C.N., ROWLEY, A.F., 2005. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) brain cells biosynthesize novel docosahexaenoic acid-derived resolvins and protectins-Mediator lipidomic analysis. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 78(1-4), 107-116.
- HORIA, E. y WATKINS, B.A., 2005. Comparison of stearidonic acid and α -linolenic acid on PGE2 production and COX-2 protein levels in MDA-MB-231 breast cancer cell cultures. *J. Nutr. Biochem.* 16, 184-192.
- IBEAS, C., IZQUIERDO, M., LORENZO, A., 1994. Effect of different levels of n-3 HUFA highly unsaturated fatty acid on growth and fatty acid composition of juvenile gilthead bream *Sparus aurata*. *Aquaculture* 127, 177-188.
- IBEAS, C., CEJAS, J., GÓMEZ, T., JEREZ, S., LORENZO, A., 1996. Influence of dietary n-3 highly unsaturated fatty acids levels on juvenile gilthead seabream (*Sparus aurata*) growth and tissue fatty acid composition. *Aquaculture* 142, 221-235.
- IBEAS, C., CEJAS, J.R., FORES, R., BADÍA, P., GÓMEZ, T., LORENZO, A., 1997. Influence of eicosapentaenoic to docosahexaenoic acid ratio (EPA/DHA) of dietary lipids



- on growth and fatty acid composition of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Aquaculture* 150, 91-102.
- ISHIZAKI, Y., TAKEUCHI, T., WATANABE, T., ARIMOTO, M., SHIMIZU, K., 1998. A preliminary experiment of the effect of *Artemia* enriched with arachidonic acid on survival and growth of yellowtail. *Fish. Sci.* 64, 295-299.
- ISHIZAKI Y., MASUDA R., UEMATSU K., SHIMIZU K., ARIMOTO M., TAKEUCHI T., 2001. The effect of dietary docosahexaenoic acid on schooling behaviour and brain development in larval yellowtail. *J. Fish Biol.* 58 (6), 1691-1703.
- ISIK, O., SARIHAN, E., KUSVURAN, E., GUL, O., ERBATUR, O., 1999. Comparison of the fatty acid composition of the freshwater fish larvae *Tilapia zillii*, the rotifer *Brachionus calyciflorus*, and the microalgae *Scenedesmus abundans*, *Monoraphidium minimum* and *Chlorella vulgaris* in the algae-rotifer-fish larvae food chains. *Aquaculture* 174, 299-311.
- ISSELMANN, I., y GREEN, S., 1990. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature* 347, 645-650.
- IZQUIERDO, M.S., 1996. Essential fatty acid requirements of cultured marine fish larvae. *Aquac. Nutr.* 2, 183-191.
- IZQUIERDO, M.S., 2005. Essential fatty acid requirements in Mediterranean fish species. En: *Cathier Options Mediterraneennes. Volumen 63*, pp 91-102.
- IZQUIERDO, M. S., WATANABE, T., TAKEUCHI, T., ARAKAWA, T., KITAJIMA, C., 1989a. Requirement of larval red seabream *Pagrus major* for essential fatty acids. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55, 859-867.
- IZQUIERDO, M. S., WATANABE, T., TAKEUCHI, T., ARAKAWA, T., KITAJIMA, C., 1989b. Optimal EFA levels in *Artemia* to meet the EFA requirements of red seabream (*Pagrus major*). En: *Proc. 3rd Int. Symp. Feeding and Nutr. in Fish. Toba (Japón)*. pp. 221-232.
- IZQUIERDO, M.S., SOCORRO, J., ARANTZAMENDI, L., HERNÁNDEZ-CRUZ, C.M., 2000. Recent advances in lipid nutrition in fish larvae. *Fish Physiol. Biochem.* 22, 97-107.
- IZQUIERDO, M.S., FERNÁNDEZ-PALACIOS, H., TACON, A.G.J., 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197, 25-42.
- IZQUIERDO, M.S., OBACH, A., ARANTZAMENDI, L., MONTERO, D., ROBAINA, L., ROSENBLUND, G., 2003. Dietary lipid sources for seabream and seabass: growth performance, tissue composition and flesh quality. *Aquac. Nutr.* 9, 397-407.
- IZQUIERDO, M.S., MONTERO, D., ROBAINA, L., CABALLERO, M.J., ROSENBLUND, G., GINÉS, R., 2005. Alterations in fillet fatty acid profile and flesh quality in gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed vegetable oils for a long-term period. Recovery of fatty acids profile by fish oil. *Aquaculture* 250, 431-444.
- JAMES, M.J., URSIN, V.M., CLELAND, L.G., 2003. Metabolism of stearidonic acid in human subjects: comparison with the metabolism of other n-3 fatty acids. *Am. J. Clin. Nutr.* 77, 1140-1145



- JAYA-RAM, A., KUAH, M.K., LIM, P.S., KOLKOVSKI, S., SHU-CHIEH, L.C., 2008. Influence of dietary HUFA levels on reproductive performance, tissue fatty acid profile and desaturase and elongase mRNAs expression in female zebrafish *Danio rerio*. *Aquaculture* 277, 275–281.
- JEREZ, S., 2006. Valoración de calidad de puesta de la dorada (*Sparus aurata*) en función de la edad de los reproductores. Tesis Doctoral, Facultad de Biología, Universidad de la Laguna, España.
- JOBLING, M., 1995. Environmental biology of fishes. Editado por Chapman & Hall. London. pp 455.
- JOBLING, M., LEKNES, O., SÆTHER, B.S., BENDIKSEN, E.A., 2008. Lipid and fatty acid dynamics in Atlantic cod, *Gadus morhua*, tissues: Influence of dietary lipid concentrations and feed oil sources. *Aquaculture* 281, 87–94.
- JORDAL, A.E.O., TORSTENSEN, B.E., TSOI, S., TOCHER, D.R., LALL, S.P., DOUGLAS, S.E., 2005. Dietary rapeseed oil affects the expression of genes involved in hepatic lipid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *J. Nutr.* 135, 2355-2361.
- JUMP, D.B., 2002. The biochemistry of n-3 polyunsaturated fatty acids. *J. Biol. Chem.* 277, 8755-8758.
- JUMP, D.B. Y CLARKE, S.D., 1999. Regulation of gene expression by dietary fat. *Annu. Rev. Nutr.* 19, 63-90.
- KALOGEROPOULOS, N., ALEXIS, M.N. y HENDERSON, R.J., 1992. Effects of dietary soybean and cod liver oil levels on growth and body composition of gilthead bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 104, 293-308.
- KANAZAWA, A., 1985. Essential fatty acids and lipid requirements of fish. En: *Nutrition and Feeding of Fish*. Editado por Cowey, C.B., A.M. Mackie, J.G. Bell, Academic Press, London, pp. 281-298.
- KANAZAWA, A., 1993. Nutritional mechanisms involved in the occurrence of abnormal pigmentation in hatchery reared flatfish. *J. World Aquaculture Soc.* 24, 162-166.
- KANAZAWA, A., 2003. Nutrition of marine fish larvae. *J. Appl. Aquac.* 13, 103-143.
- KANAZAWA, A., TESHIMA, S., SAKAMOTO, M., AWAL Mo, A., 1980. Requeriments of *Tilapia zillii* for essential fatty acids. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* 46, 1353-1356.
- KANAZAWA, A., TESHIMA, S., INAMORI, S., IWASHITA, T., NAGAO, A., 1981. Effects of phospholipids on growth, survival rate and incidence of malformation in the larval ayu. *Mem. Fac. Fish Kagoshima Univ* 30, 301-309.
- KANAZAWA, A., TESHIMA, S., SAKAMOTO, M., 1982. Requirements of essential fatty acids for the larval ayu. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* 48, 586-590.
- KANAZAWA, A., TESHIMA, S., INAMORI, S., MATSUBARA, H., 1983. Effects of dietary phospholipids on growth of the larval red sea bream and knife jaw. *Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ.* 32, 115-120.



- KHÉRIJI, S., EL CAFSI, M., MASMOUDI, W., CASTELL, J.D., ROMDHANE, M.S., 2003. Salinity and temperature effects on the lipid composition of mullet sea fry (*Mugil cephalus* L, 1758). *Aquac. Int.* 11, 571-582.
- KHEYALI, D., SHIMENO, S., TAKEDA, M., 1989. Effect of dietary carbohydrate and lipid levels on hepatopancreatic enzymes and body composition in carp. En: *The Current Status of Fish Nutrition in Aquaculture*. Editado por M. Takeda y T. Watanabe. *Proceedings of the Third International Symposium on Feeding and Nutrition in Fish*. Tokyo, Japan: Tokyo University Press. pp. 253-261.
- KILGORE, K.S., BILLIN, A.N., 2008. PPARbeta/delta ligands as modulators of the inflammatory response. *Curr. Opin. Investig. Drugs* 9, 463-469.
- KIRON, V., FUKUDA, H., TAKEUCHI, T., WATANABE, T., 1995. Essential fatty acid nutrition and defence mechanisms in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Comp. Biochem Physiol.* 111, 361-367.
- KLINGER, R.C., BLAZER, V.S., ECHEVARRÍA, C., 1996. Effects of dietary lipid on the haematology of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture* 147, 225-233.
- KLUNGSOYR, J., TILSETH, S., WILHELSEN, S., FALK-PETERSEN, S., SARGENT, J.R., 1989. Fatty acid composition as an indicator of food intake in cod larvae *Gadus mohua* from Lofoten, Northern Norway. *Mar. Biol.* 102, 183-188.
- KOVEN, W.M., HENDERSON, R.J., SARGENT, J.R., 1994a. Lipid digestion in turbot (*Scophthalmus maximus*). 1: Lipid class and fatty acid composition of digesta from different segments of the tract. *Fish Physiol. Biochem.* 13, 69-79.
- KOVEN, W.M., HENDERSON, R.J., SARGENT, J.R., 1994b. Lipid digestion in turbot (*Scophthalmus maximus*). 2: Lipolysis in vitro of ¹⁴C-labelled triacylglycerol, cholesterol ester and phosphatidylcholine by digesta from different segments of the digestive tract. *Fish Physiol. Biochem.* 13, 275-283.
- KOVEN, W.M., HENDERSON, R.J., SARGENT, J.R., 1997. Lipid digestion in turbot (*Scophthalmus maximus*). *In vivo* and *in vitro* studies of the lipolytic activity in various segments of the intestine tract. *Aquaculture* 151, 155-17.
- KOVEN, W.M., PARRA, G., KOLKOVSKI, S., TANDLER, A., 1998. The effect of dietary phosphatidylcholine and its constituent fatty acids on microdiet ingestion and fatty acid absorption rate in gilthead seabream, *Sparus aurata*, larvae. *Aquac. Nutr.* 4, 39-45.
- KRAUL, S., BRITAIN, K., CANTRELL, R., NAGAO, T., AKO, H., OGASAWARA, A., KITAGAWA, H., 1993. Nutritional factors affecting stress resistance in larval mahimahi *Coryphaena hippurus*. *J. World Aquacult. Soc.* 24, 186-193.
- LABBE, C. y MAISSE, G., 1996. Influence of rainbow trout thermal acclimation on sperm cryopreservation: relation to change in the lipid composition of the plasma membrane. *Aquaculture* 145, 281-294.
- LABBE, C., LOIR, M., KAUSHIK, S., MAISSE, G., 1991. The influence of both rearing temperature and dietary lipid origin on fatty acid composition of spermat-



- zoan polar lipids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Effect on sperm cryopreservation tolerance. En Fish Nutrition in Practice, Biarritz (France), June 24-27, 1991. Editado por INRA, Paris 1993.
- LABBE, C., MAISSE, G., MULLER, R., ZACHOWSKI, A., KAUSHIK, S., LOIR, M., 1995. Thermal acclimation and dietary lipids alter composition, but not fluidity, of trout sperm plasma membrane. *Lipids* 30 (1), 23-32.
- LAHLOU, B., 1983. Intestinal transport and osmoregulation in fishes. En: Intestinal transport. Editado por M. Gilles Baillien y R. Gilles Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York Tokyo, pp.341-353.
- LAIZ-CARRIÓN, R., GUERREIRO, P.M., FUENTES, J., CANARIO, A.V.M., MARTÍN DEL RIO, M.P., MANCERA, J.M., 2005. Branchial osmoregulatory response to salinity in the gilthead sea bream, *Sparus auratus*. *J. Exp. Zool.* 303A, 563-576.
- LALL, S.P., 1998. Dietary lipids, immune function and pathogenesis of disease in fish. En: The Eighth International Symposium of Feeding and Nutrition in Fish, Las Palmas de Gran Canaria, España, pp.169.
- LALL, S.P. 2000. Nutrition and health of fish. En: Avances en nutrición de Acuicultura. Editado por: Cruz-Suarez, L.E., Ricque-marine, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R. V. Memorias del V Simposium Internacional de nutrición Acuicola. Mérida, Yucatán, Mexico. pp.19-22.
- LANARI, D., POLI, B.M., BALLESTRAZZI, R., LUPI, P., D'AGARO, E., MECATTI, M., 1999. The effects of dietary fat and NFE levels on growing European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Growth rate, body and fillet composition, carcass traits and nutrient retention efficiency. *Aquaculture* 179, 351-364.
- LEAVER, M. J., WRIGHT, J., GEORGE, S. G. 1998. A peroxisome proliferators activated receptor gene from the marine flatfish, the plaice (*Pleuronectes platessa*). *Mar. Env. Res.* 46, 75-79.
- LEAVER, M. J., BOUKOUVALA, E., ANTONOPOULOU, E., DIEZ, A., FAVRE-KREY, L., EZAZ, M. T., BAUTISTA, J. M., TOCHER, D.R. KREY, G. 2005. Three peroxisome proliferators-activated receptor isotypes from each of two species of marine fish. *Endocrinology* 146 (7), 3150-3162.
- LEAVER, M.J, EZAZ, M.T., FONTAGNE, S., TOCHER, D.R, BOUKOUVALA, E., KREY, G., 2007. Multiple peroxisome proliferator-activated receptor {beta} subtypes from Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Mol. Endocrinol.* 38, 391-400.
- LEAVER, M.J., VILLENEUVE, L.A.N., OBACH, A., JENSEN, L., BRON, J.E., TOCHER, D.R., TAGGART, J.B., 2008. Functional genomics reveals increases in cholesterol biosynthetic genes and highly unsaturated fatty acid biosynthesis after dietary substitution of fish oil with vegetable oils in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *BMC Genomics* 9, 299.
- LEE, P.G., TURK, P.E., YANG, W.T., Hanlon, R.T., 1994. Biological characteristics and biomedical applications of the squid *Sepioteuthis lessoniana* cultured through multiple generations. *Biol. Bull.* 186, 328-341.



- LEE, S.M., 2001. Review of the lipid and essential fatty acid requirements of rockfish (*Sebastes schlegeli*). Aquac. Res. 32, 8-17.
- LEE, S.M. y KIM, K.D., 2001. Effects of dietary protein and energy levels on the growth, protein utilization and body composition of juvenile masu salmon (*Oncorhynchus masou* Brevoort). Aquac. Res. 32, 39-45.
- LEE, S.M., LEE, J.H., KIM, K.D., 2003. Effect of dietary essential fatty acids on growth, body composition and blood chemistry of juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*). Aquaculture 225, 269-281.
- LEHNINGER, 2006. Principios de Bioquímica, 4.^a Ed. D.L. Nelson y M. M. Cox. Ediciones Omega, S.A.
- LEIFSON, R.M., HOMME, J.M., JØSTENSEN, J.P., LIE, Ø., MYKLEBUST, R., STRØM, T., 2003. Phospholipids in formulated start-feeds. Effect on turbot (*Scophthalmus maximus* L.) larval growth and mitochondrial alteration in enterocytes. Aquac. Nutr. 9, 43-54.
- LERAY, C. y PELLETIER, X., 1985. Fatty acid composition of trout phospholipids: effect of (n-3) essential fatty acid deficiency. Aquaculture 50, 51-59.
- LERAY, C., CHAPELLE, S., DUPORTAIL, G., LORENTZ, A.F., 1984. Changes in the fluidity and 22:6n-3 content in phospholipids of trout intestinal brush-border membrane as related to environmental salinity. Biochim. Biophys. Acta 778, 233-238.
- LEU, M.Y., 1994. Natural spawning and larval rearing of silver bream, *Rhabdosargus sarba* (Forsskål), in captivity. Aquaculture 120, 115-122.
- LI, Y.Y., CHEN, W.Z., SUN, Z.W., CHEN, J.H., WU, K.G., 2005. Effects of n-3 HUFA content in broodstock diet on spawning performance and fatty acid composition of eggs and larvae in *Plectorhynchus cinctus*. Aquaculture 245, 263-272.
- LIN, Y.H. y SHIAU, S.Y., 2003. Dietary lipid requirement of grouper, *Epinephelus malabaricus*, and effects on immune responses. Aquaculture 225, 243-250.
- LING, S., HASHIM, R., KOLKOVSKI, S., CHONG SHU-CHIEN, A., 2006. Effect of varying dietary lipid and protein levels on growth and reproductive performance of female swordtails *Xiphophorus helleri* (Poeciliidae). Aquac. Res. 37 (13), 1267-1275.
- LIU, J., CABALLERO, M.J., IZQUIERDO, M., EL-SAYED, T., HERNÁNDEZ-CRUZ, C.M., VALENCIA, A., FERNÁNDEZ-PALACIOS, H., 2002. Necessity of dietary lecithin and eicosapentaenoic acid for growth, survival, stress resistance and lipoprotein formation in gilthead sea bream *Sparus aurata*. Fish. Sci. 68 (6), 1165-1172.
- LOCHMANN, R. T. y GATLIN, D. M., 1993. Essential fatty acid requirement of juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*). Fish Physiol. Biochem. 12, 221-235.
- LODISH, H., BERK A., ZIPURSKY, S.L., MATSUDAIRA, P., BALTIMORE, D., DARNELL J.E., 2002. Biología celular y molecular, 4.^a Ed., Editado por Médica Panamericana.
- LÓPEZ, L.M., DURAZO, E., RODRÍGUEZ-GÓMEZ, A., TRAE, C.D., VIANA, M.T., 2006. Composición proximal y perfiles de ácidos grasos de juveniles silvestres y cultivados de *Totoaba macdonaldi*. Cienc. Mar. 32 (2), 303-309.



- LORENZO, A. y BOLAÑOS, A., 1989. Efectos de la salinidad sobre el transporte de Na-Cl a través del intestino del pez *Blennius parvicornis*. Bol. Inst. Esp. Oceanogr. 5(2), 37-42.
- LUND, I., STEENFELDT, S.J., HANSEN, B.W., 2007. Effect of dietary arachidonic acid, eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on survival, growth and pigmentation in larvae of common sole (*Solea solea* L.). Aquaculture 273, 532-544.
- LUZZANA, U., SERRINI, G., MORETTI, V.M., GIANESINI, C., VALFRÈ, F., 1994. Effect of expanded feed with high fish oil content on growth and fatty acid composition of rainbow trout. Aquac. Int. 2 (4), 239-248.
- MARCH, B.E., 1993. Essential fatty acids in fish physiology. Can. J. Physiol. Pharmacol. 71, 684-689.
- MARTÍN, M.V., 2003. Estudio de la influencia de los ácidos grasos n-3 HUFA de la dieta en la composición corporal de reproductores de dorada (*Sparus aurata*, L) durante el desarrollo gonadal. Tesis Doctoral, Facultad de Biología, Universidad de la Laguna, España, pp 237.
- MARTÍNEZ-PALACIOS, C.A., RACOTTA, I.S., RIOS-DURAN, M.G., 2006a. Advances in applied research for the culture of Mexican silversides (*Chirostoma*, *Atherinopsidae*). Biocell (Mendoza) 30 (1), 137-148.
- MARTÍNEZ-PALACIOS, C.A., TOLEDO-CUEVAS, M., RACOTTA, E., MADRIGAL, J.F., CAMPOS MENDOZA, A., ROSS, L.G., 2006b. Aspectos nutricionales del pescado blanco de Pátzcuaro (*Chirostoma estor estor* Jordan, 1879). En: Avances en Nutrición Acuicola VIII. Memorías del Octavo Simposium Internacional de Nutrición Acuicola Noviembre 15-17, 2006 Mazatlán, Sinaloa, México.
- MASUDA, R., TAKEUCHI, T., TSUKAMOTO, K., ISHIZAKI, Y., KANEMATSU, M., MAIZUM, K., 1998. Critical involvement of dietary docosahexaenoic acid in the ontogeny of schooling behaviour in the yellowtail. J. Fish Biol. 53 (3), 471-484.
- MATHEWS, C.K., VAN HOLDE, K.E., AHERN K.G., 2002. Bioquímica, 3.^a Ed., Addison-Wesley.
- MAZORRA, C., BRUCE, M., BELL, J. G., DAVIE, A., ALOREND, E., JORDAN, N., REES, J., PAPANIKOS, N., PORTER, M., BROMAGE, N., 2003. Dietary lipid enhancement of broodstock reproductive performance and egg and larval quality in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Aquaculture 227, 21-33.
- MAZZA M., POMPONI M., JANIRI L., BRIA P., MAZZA S., 2006. Omega-3 fatty acids and antioxidants in neurological and psychiatric diseases: an overview. Prog Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry. 31(1), 12-26.
- McEVOY, L.A. y SARGENT, J.R., 1999. Problems and techniques in live prey enrichment. Bull. Aquacult. Assoc. Canada 98(4), 12-16.
- McEVOY, L.A., NAVARRO, J.C., BELL, J.G., SARGENT, J.R., 1995. Autoxidation of oil emulsions during the Artemia enrichment process. Aquaculture 134, 101-112.



- McEVOY, L.A., NAVARRO, J.C., AMAT, F., SARGENT, J.R., 1997. Application of soya phosphatidylcholine in tuna orbital oil enrichment emulsions for *Artemia*. *Aquac. Int.* 5 (6), 517-526.
- McEVOY, L.A., NAESS, T., BELL, J.G., LIE, O., 1998. Lipid and fatty acid composition of normal and malpigmented Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed enriched *Artemia*: a comparison with fry fed wild copepods. *Aquaculture* 163, 237-250.
- McKENZIE, D. J., 2001. Effects of dietary fatty acids on the respiratory and cardiovascular physiology of fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 128 (A), 605-619.
- MILLER, C.L., DAVIS, D.A., PHELPS, R.P., 2005. The effects of dietary protein and lipid on growth and body composition of juvenile and sub-adult red snapper, *Lutjanus campechanus* (Poey, 1860). *Aquac. Res.* 36 (1), 52-60.
- MINICH, D.M., VONK, R.J., VERKADE, H.J., 1997. Intestinal absorption of essential fatty acids under physiological and essential fatty acid-deficient conditions. *J. Lipid Res.* 38, 1709-1721.
- MONROIG, Ó., NAVARRO, J.C., AMAT, I., GONZÁLEZ, P., AMAT, F., HONTORIA, F., 2003. Enrichment of *Artemia* nauplii in PUFA, phospholipids, and water-soluble nutrients using liposomes. *Aquac. Int.* 11, 151-161.
- MONROIG, Ó., NAVARRO, J.C., AMAT, F., GONZÁLEZ, P., BERMEJO, A., HONTORIA, F., 2006a. Enrichment of *Artemia* in essential fatty acids with different types of liposomes and their use in the rearing of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture* 251, 491-508.
- MONROIG, Ó., NAVARRO, J.C., AMAT, F., GONZÁLEZ, P., HONTORIA, F., 2006b. Effect of aeration on the efficiency of *Artemia* enrichment with EFA-rich emulsion and liposomes. *Aquaculture* 257, 382-392.
- MONTERO, D., KALINOWSKI, T., OBACH, A., ROBAINA, L., TORT, L., CABALLERO, M.J., IZQUIERDO, M.S., 2003. Vegetable lipid sources for gilthead seabream (*Sparus aurata*): effects on fish health. *Aquaculture* 225, 353-370.
- MONTERO, D., ROBAINA, L., CABALLERO, M. J., GINÉS, R., IZQUIERDO, M. S., 2005a. Growth, feed utilization and flesh quality of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed diets containing vegetable oils: a time-course study on the effect of a re-feeding period with a 100 % fish oil diet. *Aquaculture* 248, 121-134.
- MONTERO, D., KALINOWSKI, T., CABALLERO, M.J., OBACH, A., TORT, L., ROBAINA, L., IZQUIERDO, M.S., 2005b. Effect of dietary vegetable lipid sources in gilthead seabream (*Sparus aurata*) immune status and stress resistance. En: *Cahiers Options Méditerranéennes*. Volumen 63, pp 103-112.
- MONTERO, D., GRASSO, B., IZQUIERDO, M., REAL, F., TORT, L., CABALLERO, M.J., ACOSTA, F., 2008. Total substitution of fish oil by vegetable oils in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) diets: effects on hepatic Mx expression and some immune parameters. *Fish and Shellfish Immunology* 24, 147-155.



- MORAIS, S., NARCISO, L., DORES, E., POUSAO-FERREIRA, P., 2004. Lipid enrichment for Senegalese sole (*Solea senegalensis*) larvae: effect on larval growth, survival and fatty acid profile. *Aquac. Int.* 12 (3), 281-298.
- MORAIS, S., CABALLERO, M.J., CONCEIÇÃO, L.E.C., IZQUIERDO, M.S., DINIS, M.T., 2006. Dietary neutral lipid level and source in senegalese sole (*Solea senegalensis*) larvae: effect on growth, lipid metabolism and digestive capacity. *Comp. Biochem. Physiol. B* 144, 57-69.
- MORAIS, S., CONCEIÇÃO, L.E.C., RØNNESTAD, I., KOVEN, W., CAHU, C., ZAMBONINO INFANTE, J.L., DINIS, M.T., 2007. Dietary neutral lipid level and source in marine fish larvae: Effects on digestive physiology and food intake. *Aquaculture* 268, 106-122.
- MOTOJIMA, K., PASSILLY, P., PETERS, J.M., GONZÁLEZ, F.J., 1998. Expression of putative fatty acid transporter genes are regulated by peroxisome proliferator-activated receptor alpha and gamma activators in a tissue and inducer-specific manner. *J. Biol. Chem.* 273, 16710-16714
- MOURENTE, G. y ODRIÓZOLA, J.M. 1990. Effect of broodstock diets on lipid classes and their fatty acid composition in eggs of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Fish Physiol. Biochem.* 8, 93-101
- MOURENTE, G. y TOCHER, D.R., 1993a. Incorporation and metabolism of 14C-labelled polyunsaturated fatty acids in juvenile gilthead sea bream *Sparus aurata* L. in vivo. *Fish Physiol. Biochem.* 10 (6), 443-453.
- MOURENTE, G. y TOCHER, D.R., 1993b. Incorporation and metabolism of 14C-labelled polyunsaturated fatty acids in wild-caught juveniles of golden grey mullet, *Liza aurata*, in vivo. *Fish Physiol. Biochem.* 12, 119-130.
- MOURENTE, G. y TOCHER, D.R., 1994. In vivo metabolism of [1-14C] linolenic acid (18:3n-3) and [1-14C]eicosapentaenoic acid (20:5n-3) in a marine fish: Time-course of the desaturation/elongation pathway. *Biochim. Biophys. Acta* 1212, 109-118.
- MOURENTE, G. y TOCHER, D.R., 1998. The in vivo incorporation and metabolism of [1-14C] linolenate (18:3n-3) in liver, brain and eyes of juveniles of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* L and gilthead sea bream *Sparus aurata* L. *Fish Physiol. Biochem.* 18, 149-165.
- MOURENTE, G. y VAZQUEZ, R., 1996. Changes in the content of total lipid, lipid classes and fatty acids of developing eggs and unfed larvae of the Senegal sole, *Solea senegalensis* Kaup. *Fish Physiol. Biochem.* 15, 221-235.
- MOURENTE, G., TOCHER, D., SARGENT, J.R., 1991. Specific accumulation of docosahexaenoic acid (22:6n-3) in brain lipids during development of juvenile turbot *Scophthalmus maximus* L. *Lipids* 26 (11), 871-877.
- MOURENTE, G., RODRÍGUEZ, A., TOCHER, D.R., SARGENT, J.R., 1993. Effects of dietary docosahexaenoic acid (DHA; 22:6n-3) on lipid and fatty acid compositions and growth in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) larvae during first feeding. *Aquaculture* 112, 79-98.



- MOURENTE G., TOCHER D.R., DIAZ-SALVAGO E., GRAU A., PASTOR E., 1999. Study of the n-3 highly unsaturated fatty acids requirement and antioxidant status of *Dentex dentex* larvae at the *Artemia* feeding stage. *Aquaculture* 179, 291-307.
- MOURENTE, G., DICK, J.R., BELL, J.G., TOCHER, D.R. 2005a. Effect of partial substitution of dietary fish oil by vegetable oils on desaturation and β -oxidation of [1-14C] 18:3n-3 (LNA) and [1-14C] 20:5n-3 (EPA) in hepatocytes and enterocytes of European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture* 248, 173-186.
- MOURENTE, G., GOOD, J.E., BELL, J.G., 2005b. Partial substitution of fish oil with rapeseed, linseed and olive oils in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) effects on flesh fatty acid composition, plasma prostaglandins E2; and F2 α , immune function and effectiveness of a fish oil finishing diet. *Aquac. Nutr.* 11, 25-40.
- MOURENTE, G., GOOD, J.E., THOMPSON, K.D., BELL, J.G., 2007. Effects of partial substitution of dietary fish oil with blends of vegetable oils, on blood leukocyte fatty acid compositions, immune function and histology in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Br. J. Nutr.* 98, 770-779.
- NAESS, T. y LIE, Ø., 1998. A sensitive period during first feeding for the determination of pigmentation pattern in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L., juveniles: the role of diet. *Aquac. Res.* 29, 925-934
- NAESS, T., GERMAIN-HENRY, M., NAAS, K.E., 1995. First feeding of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) using different combinaisons of *Artemia* and wild plankton. *Aquaculture* 130, 235-250.
- NANTON, D.A. y CASTELL, J.D., 1998. The effects of dietary fatty acids on the fatty acid composition of the harpacticoid copepod, *Tisbe* sp., for use as a live food for marine fish larvae *Aquaculture* 163 (3) 251-261.
- NAVARRO J.C., BATTY, R.S., BELL M.V., SARGENT J.R., 1992a. Effects of two *Artemia* diets with different contents of polyunsaturated fatty acids on the lipid composition of larvae of Atlantic herring (*Clupea harengus*). *J. Fish Biol.* 43 (4), 503-515.
- NAVARRO J.C., BELL M.V., AMAT F., SARGENT J.R., 1992b. The fatty acid composition of phospholipids from brine shrimp, *Artemia* sp., eyes. *Comp. Biochem. Physiol. B* 103, 89-91.
- NAVARRO, J.C., IRELAND, J., TYTLER, P., 1993a. Effect of temperature on permeability and drinking rates of the metanauplii of the brine shrimp *Artemia* sp. *Mar. Biol.* 116, 247-250.
- NAVARRO, J. C., BATTY, R. S., BELL, M. V., SARGENT, J. R., 1993b. Effects of two *Artemia* diets with different contents of polyunsaturated fatty acids on the lipid composition of larvae of Atlantic herring (*Clupea harengus*). *J. Fish Biol.* 43 (4), 503-515.
- NAVARRO, J.C., McEVOY, L.A., BELL, M.V., AMAT, F., HONTORIA, F., SARGENT, J.R., 1997. Effect of different dietary levels of docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n-3) on the DHA composition of lipid classes in sea bass larvae eyes. *Aquac. Int.* 5 (6), 509-516.



- NAVARRO, J.C., HENDERSON, R.J., McEVoy, L.A., BELL, M.V., AMAT, F., 1999. Lipid conversions during enrichment of *Artemia*. *Aquaculture* 174, 155-166.
- NAVAS J.M., BRUCE M., THRUSH M., FARNDAL B.M., BROMAGE N., ZANUY S., CARRILLO M., BELL J.G., RAMOS J., 1997. The impact of seasonal alteration in the lipid composition of broodstock diets on egg quality in the European sea bass. *J. Fish Biol.* 51 (4), 760-773.
- NICOLAU, A., 2004. Prostanoids. En: *Bioactive Lipids*. Editado por A. Nicolau y G. Kokotos, Oily Press, Bridwater. pp. 197-222.
- OGG, C. L., MEINKE, L. J., HOWARD, R. W., STANLEY-SAMUELSON, D. W., 1993. Phospholipid and triacylglycerol fatty acid compositions of five species of *Diabrotica* (insecta: coleoptera: chrysomelidae). *Comp. Biochem. Physiol. B.* 105, 69-77.
- OKUYAMA, H., KOBAYASHI, T., WATANABE, S., 1997. Dietary fatty acids and the n-6/n-3 balance and chronic elderly diseases. Excess linoleic acid and relative n-3 deficiency syndrome seen in Japan. *Prog. Lipid Res.* 35, 409-457.
- OLIW, E.H., SPRECHER, H., HAMBERG M., 1986a. Biosynthesis of a novel prostaglandin, Δ^{17} -PGE₁, in the ram. *Acta Physiol. Scand.* 127, 45-49.
- OLIW, E.H., SPRECHER, H., HAMBERG M., 1986b. Isolation of two novel E prostaglandins in human seminal fluid. *J. Biol. Chem.* 261, 2675-2683.
- OLLIVIER, H., PICHAVANT-RAFINI, K., PUILLE-STEPHAN, E., CALVES, P., NONNOTTE, L., NONNOTTE, G., 2006 Effects of hypotonic stress on ATP release in isolated turbot (*Scophthalmus maximus*) hepatocytes. *Biol. Cell* 98, 427-437.
- OLSEN, R.E. y RINGO, E., 1997. Lipid digestibility in fish: A review. *Recent Res. Devel. Lipids Res.* 1, 199-265.
- OLSEN, R.E., HENDERSON, R.J., RINGO, E., 1991. Lipids of Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. I. Dietary induced changes in lipid class and fatty acid composition. *Fish Physiol. Biochem.* 9, 151-164.
- OLSEN, R.E., MYKLEBUST, R., KAINO, T., RINGO, E., 1999. Lipid digestibility and ultrastructural changes in the enterocytes of Arctic char (*Salvelinus alpinus* L.) fed linseed oil and soybean lecithin. *Fish Physiol. Biochem.* 21, 35-44.
- OMS, 2003. Serie de Informes Técnicos. Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas. Informe de una Consulta Mixta de Expertos OMS/FAO Organización Mundial de la Salud. Ginebra.
- OSTROWSKI, A.C. y KIM, B.G., 1993. En «From Discovery to Commercialization» Special Publication no.19, European Aquaculture Soc., Oostende, Belgium. pp 424.
- OWEN, J.M., ADRON, J.W., MIDDLETON, C. y COWEY, C.B., 1975. Elongation and desaturation of dietary fatty acids in turbot *Scophthalmus maximus* and rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Lipids* 10, 528-531.
- PARPOURA, A.C.R. y ALEXIS, M.N., 2001. Effects of different dietary oils in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) nutrition. *Aquac. Int.* 9, 463-476.



- PARRISH, C.C., BROWN, J.A., DANIEL, E.S., SOMERTON, D.C., 1993. Lipid composition of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) eggs over the spawning season. Bull. Aquac. Assoc. Can. 93(4), 35-37.
- PENG, J., LARONDELLE, Y., PHAM, D., ACKMAN, R.G., ROLLIN, X., 2003. Polyunsaturated fatty acid profiles of whole body phospholipids and triacylglycerols in anadromous and landlocked Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fry. Comp. Biochem. Physiol. B 134, 335-348.
- PEPE, P., BADALAMENTI, F., DIANNA, G., 1998. Abitudini alimentari di *Diplodus sargus* nell'area delle strutture artificiali di Alcamo Marina (Golfo di Castellammare, Sicilia Nord- Occidentale). Biol. Mar. Medit. 5, 367-370.
- PERES, H. y OLIVA-TELES, A., 1999. Effect of dietary lipid level on growth performance and feed utilization by European sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture 179, 325-334.
- PÉREZ, J.A., RODRÍGUEZ, C., HENDERSON, R.J., 1999. The uptake and esterification of radiolabelled fatty acids by enterocytes isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish Physiol. Biochem. 20, 125-134.
- PÉREZ, M.J., RODRÍGUEZ, C., CEJAS, J.R., MARTÍN, M.V., JEREZ, S., LORENZO, A., 2007. Lipid and fatty acid content in male and female wild white seabream (*Diplodus sargus*) broodstock at different stages of the reproductive cycle. Comp. Biochem. Physiol. B 146, 187-196.
- PICKOVA, J., DUTTA, P., LARSSON, P.O., KIESSLING, A., 1997. Early embryonic cleavage pattern, hatching success and egg-lipid fatty acid composition: Comparison between two cod stocks (*Gadus morhua*). Can. J. Fish. Aquat. Sci. 54, 2410-2416.
- PICKOVA, J., KIESSLING, A., PETTERSSON, A., DUTTA, P.C., 1999. Fatty acid and carotenoid composition of eggs from two nonanadromous Atlantic salmon stocks of cultured and wild origin. Fish Physiol. Biochem. 21 (2), 147-156.
- POLAKOF, S., ARJONA, F.J., SANGIAO-ALVARELLOS, S., MARTÍN DE RÍO, M.P., MANCERA, J.M., SOENGAS, J.L., 2006. Food deprivation alters osmoregulatory and metabolic responses to salinity acclimation in gilthead sea bream *Sparus auratus* J. Comp. Physiol. B 176 (5), 441-452.
- PORCILE, P., REPETTO, N., WURTZ, M., 1987. Comportamento alimentare di Giovanni Sparidi in una prateria di Posidonia oceanica del Mar Ligure. Oebalia, 19 Congr. Della Società Italiana di Biologia Marina, 24-28 Sept., 1987, Naples, Italy. pp 311-314.
- POSTON, H.A., 1990. Effect of body size on growth, survival, and chemical composition of Atlantic salmon fed soy lecithin and choline. Progress. Fish-Culturist 52, 226-230.
- POSTON, H.A., 1991a. Response of Atlantic salmon fry to feed-grade lecithin and choline. Progress. Fish-Culturist 53, 224-228.
- POSTON, H.A., 1991b. Response of rainbow trout to soy lecithin, choline, and autoclaved isolated soy protein. Progress. Fish-Culturist 53, 85-90.



- POUSÃO-FERREIRA, P., SANTOS, P., CARVALHO, A.P., MORAIS, S., NARCISO, L., 2003. Effect of an experimental microparticulate diet on the growth, survival and fatty acid profile of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) larvae. *Aquac. Int.* 11(5), 491-504
- PSOTA, T.L., GEBAUER, S.K., KRIS-ETHERTON, P., 2006. Dietary omega-3 fatty acid intake and cardiovascular risk. *Am. J. Cardiol.* 21, 98, 3-18.
- RABINOVICH, A.L., RIPATTI, P.O., 1991. On the conformational, physical properties and functions of polyunsaturated acyl chains. *Biochim Biophys Acta*, 1085(1), 53-62.
- RADÜNZ-NETO, J., CORRAZE, G., BERGOT, P., KAUSHIK, S.J., 1996. Estimation of essential fatty acid requirements of common carp larvae using semi-purified artificial diets. *Arch. Anim. Nutr.* 49, 41-48.
- RAINUZZO, J.R., 1993. Fatty acid and lipid composition of fish egg and larvae. *Balkema, Rotterdam (Netherlands)*. pp. 43-49.
- RAINUZZO, J.R., REITAN, K.I., OLSEN, Y., 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. *Aquaculture* 155, 103-115.
- RANDALL ROBINETTE, H., TAYLOR, J.B., GATLIN, D.M., CRAIG, S., 1997. Effects of dietary catfish and menhaden oils on hybrid striped bass production. *Progress. Fish-Culturist* 59, 261-265
- REFSGAARD, K., HALBERGB, N., KRISTENSEN, E.S., 1998. Energy utilization in crop and dairy production in organic and conventional livestock production systems. *Agricultural Systems* 57 (4), 599-630.
- REGOST, C., ARZEL, J., ROBIN, J., ROSENLUND, G. y KAUSHIK, S.J., 2003a. Total replacement of fish oil by soybean or linseed oil with a return to fish oil in turbot (*Psetta maxima*) 1. Growth performance, flesh fatty acid profile, and lipid metabolism. *Aquaculture* 217, 465-482.
- REGOST, C., ARZEL, J., CARDINAL, M., ROSENLUND, G., KAUSHIK, S.J., 2003b. Total replacement of fish oil by soybean or linseed oil with a return to fish oil in turbot (*Psetta maxima*) 2. Flesh quality properties. *Aquaculture* 220, 737-747.
- REITAN, K.I., RAINUZZO, J.R., OLSEN, Y., 1994. Influence of lipid composition of live feed on growth, survival and pigmentation of turbot larvae. *Aquac. Int.* 2 (1), 33-48
- REITAN, K.I., RAINUZZO, J.R., OIE, G., OLSEN, Y., 1997. A review of the nutritional effects of algae in marine fish larvae. *Aquaculture* 155, 207-221.
- RENNIE, S., HUNTINGFORD, F.A., LOELAND, A.L., RIMBACH, M., 2005. Long term partial replacement of dietary fish oil with rapeseed oil; effects on egg quality of Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture* 248, 135-146.
- RICHARD, N., MOURENTE, G., KAUSHIK, S., CORRAZE, G., 2006. Replacement of a large portion of fish oil by vegetable oils does not affect lipogenesis, lipid transport and tissue lipid uptake in European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture* 261 (3), 1077-1087.



- RINGØ, E. y OLSEN, R.E., 1994. Lipid nutrition in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.): a mini review. *Aquac. Fish. Manag.* 25, 823-838.
- ROBIN, J.H. y PERON, A., 2004. Consumption vs. deposition of essential fatty acids in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) larvae fed semi-purified diets. *Aquaculture* 238, 283-294.
- RODRÍGUEZ, C., 1994. Estudios de los requerimientos de ácidos grasos esenciales de la dorada (*Sparus aurata*, L.) durante las dos primeras semanas de alimentación. Tesis Doctoral, Facultad de Biología, Universidad de la Laguna, España. pp 284.
- RODRÍGUEZ, C., PÉREZ, J.A., IZQUIERDO, M.S., MORA, J., LORENZO, A., FERNÁNDEZ-PALACIOS, H., 1993. Essential fatty acid requirements of larval gilthead seabream, *Sparus aurata* (L.). *Aquac. Fish. Manag.* 24, 295-304.
- RODRÍGUEZ, C., PÉREZ, J.A., LORENZO, A., IZQUIERDO, M.S., CEJAS, J.R., 1994a. n-3 HUFA requirement of larval gilthead seabream *Sparus aurata* when using high levels of eicosapentenoic acid. *Comp. Biochem. Physiol. A* 107(4), 693-698.
- RODRÍGUEZ, C., PEREZ, J.A., IZQUIERDO, M.S., CEJAS, J.R., BOLANOS, A., LORENZO, A., 1996. Improvement of the nutritional value of rotifers by varying the type and concentration of oil and the enrichment period. *Aquaculture* 147, 93-105.
- RODRÍGUEZ, C., HENDERSON, R.J., PORTER, A.E.A., DICK, J.R., 1997. Modification of odd-chain length unsaturated fatty acids by hepatocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing fish oil or olive oil. *Lipids* 32 (6), 611-619.
- RODRÍGUEZ, C., CEJAS, J.R., MARTÍN, M.V., BADÍA, P., SAMPER, M., LORENZO, A., 1998a. Influence of n-3 highly unsaturated fatty acid deficiency on the lipid composition of broodstock gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) and on egg quality. *Fish Physiol. Biochem.* 18, 177-187.
- RODRÍGUEZ, C., PÉREZ, J.A., BADÍA, P., IZQUIERDO, M.S., FERNÁNDEZ-PALACIOS, H., LORENZO, A., 1998b. The n-3 highly unsaturated fatty acids requirements of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) larvae when using an appropriate DHA/EPA ratio in the diet. *Aquaculture* 169, 9-23.
- RODRÍGUEZ, C., PÉREZ, J.A. y HENDERSON, J.R., 2002. The esterification and modification of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids by hepatocytes and liver microsomes of turbot (*Scophthalmus maximus*). *Comp. Biochem. Physiol. B* 132 (3), 559-570.
- RODRÍGUEZ, C., ACOSTA, C., BADÍA, P., CEJAS, J.R., SANTAMARÍA, F.J., LORENZO, A., 2004. Assessment of lipid and essential fatty acids requirements of black seabream (*Spondyllosoma cantharus*), by comparison of lipid composition in muscle and liver of wild and captive adult fish. *Comp. Biochem. Physiol. B* 139, 619-629.
- RODRÍGUEZ, J.C., GILL-GÓMEZ, G., HEGARDT, F.G., HARO, D., 1994b. Peroxisome proliferators activated receptor mediates induction of the mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase gene by fatty acids. *J. Biol. Chem.* 269, 18767-18772.



- RØNNESTAD, I., KOVEN, W.M., TANDLER, A., HAREL, M., FYHN, H.J., 1994. Energy metabolism during development of eggs and larvae of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Mar. Biol. 120, 187-196.
- RØNNESTAD, I., FINN, R.N., LEIN, I., LIE, O., 1995. Compartmental changes in total lipid, lipid classes and their associated fatty acids in developing yolk sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). Aquacult. Nutr. 1, 119-130.
- RØNNESTAD, I., KOVEN, W., TANDLER, A., HAREL, M., FYHN, H.J., 1998. Utilisation of yolk fuels in developing eggs and larvae of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture 162, 157-170.
- ROSECCHI, E., 1987. L'alimentation de *Diplodus annularis*, *Diplodus sargus*, *Diplodus vulgaris* et *Sparus aurata* (Pisces, Sparidae) dans le golfe de Lion et les lagunes littorales. Rev. Trav. Inst. Pêches marit. 49 (3-4), 125-141.
- RUEDA-JASSO, R.A., CONCEICAO, L.E.C., DE COEN, W., REES, J.F., SORGELOOS, P., 2005. Diet and weaning age affect the growth and condition of Dover sole (*Solea solea* L.). Cienc. Mar. 31, 477-489.
- RUYTER, B., ANDERSEN, O., DEHLI, A., ØSTLUND FARRANTS, A.-K., GJOEN, T., THOMASSEN, M. S. 1997. Peroxisome proliferators activated receptors in Atlantic salmon (*Salmo salar*): effects on PPAR transcription and acy-CoA oxidase activity in hepatocytes by peroxisome proliferators and fatty acids. Biochim. Biophys. Acta 1348, 331-338.
- RUYTER, B., MOYA-FALCON, C., ROSENBLUND, G., VEGUSDAL, A., 2006. Fat content and morphology of liver and intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar*): Effects of temperature and dietary soybean oil. Aquaculture 252, 441-452.
- SALHI, M., IZQUIERDO, M.S., HERNANDEZ-CRUZ, C.M., GONZALEZ, M., FERNANDEZ-PALACIOS, H., 1994. Effect of lipid and n-3 HUFA levels in microdiets on growth, survival and fatty acid composition of larval gilthead seabream (*Sparus aurata*). Aquaculture 124 (1-4), 275-282.
- SALHI, M., HERNÁNDEZ-CRUZ, C. M., BESSONART, M., IZQUIERDO M. S., FERNÁNDEZ-PALACIOS, H., 1999. Effect of different dietary polar lipid levels and different n-3 HUFA content in polar lipids on gut and liver histological structure of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) larvae. Aquaculture 179, 253-263.
- SALZE, G., TOCHER, D., ROY, W.J., ROBERTSON, DEREK A., 2005. Egg quality determinants in cod (*Gadus morhua* L.): egg performance and lipids in eggs from farmed and wild broodstock. Aquac. Res. 36, (15) 1488-1499.
- SANTHA, C.R. y GATLIN, D.M. 1991. Growth response and fatty acid composition of channel catfish fry fed practical diets supplemented with menhaden fish oil. Progress. Fish Culturist. 53, 135-140.
- SANTIAGO, C.B. y REYES, O.S., 1993. Effects of dietary lipid source on reproductive performance and tissue lipid levels of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) broodstock. J. Appl. Ichthyol. 9 (1), 33-40.



- SARGENT, J.R., 1995a. Origins and Functions of Eggs Lipids: Nutritional Implications. En: Broodstock Management and Egg and Larval Quality. Editado por N.R. Bromage y R.J. Roberts. pp. 353-372.
- SARGENT, J.R., 1995b. (n-3) Polyunsaturated fatty acids and farmed fish. En Fish Oil: Technology, Nutrition and Marketing. Editado por Hamilton, R.J. y Rice, R.D. High Wycombe, England: P.J. Barnes & Associates. pp 67-94.
- SARGENT, J.R., 1997. Fish oils and human diet. Br. J. Nutr. 78(1), 5-13.
- SARGENT, J.R. y HENDERSON, R.J., 1995. Marine (n-3) polyunsaturated fatty acids. En: Developments in oils and fats. Editado por: Hamilton R.J. Blaculue Academic and Professional, Glasgow.
- SARGENT, J.R. y TACON, A., 1999. Development of farmed fish: a nutritionally necessary alternative to meat. Proc. Nutr. Soc. 58, 377-383.
- SARGENT, J.R., HENDERSON, R.J., TOCHER D.R., 1989. The lipids. En: Fish Nutrition. Editado por J.E. Halver. Academic Press, New York. pp 153-218.
- SARGENT, J.R., BELL, J.G., BELL, M.V., HENDERSON, R.J. Y TOCHER D.R., 1993. The Metabolism of Phospholipids and Polyunsaturated Fatty Acids in Fish. En: Aquaculture: Fundamental and applied research. Coastal and Stuarine Studies 43, American Geophysical Union, Washington D.C. Editado por: B. Lahlou y P. Vitiello. pp 103-124.
- SARGENT, J.R., BELL, M.V., BELL, J.G., HENDERSON, R.J., TOCHER, D.R., 1995a. Origins and Functions of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Marine Organisms. En: Phospholipids: Characterisation, Metabolism and Novel Biological Applications. Editado por G. Cevc y F. Paltauf. American Oil Chemist Society Press, Champaign, Ill, USA. pp. 248-258.
- SARGENT, J. R., BELL, J. G., BELL, M. V., HENDERSON, R. J., TOCHER, D. R., 1995b. Requirement criteria for essential fatty acids. J. Appl. Ichthyol. 11, 183-198.
- SARGENT, J.R., McEVOY, L.A., BELL, J.G., 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. Aquaculture 155, 117-127.
- SARGENT, J.R., BELL, J.G., McEVOY, L., TOCHER, D.R., ESTÉVEZ, A., 1999a. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. Aquaculture 177, 191-199.
- SARGENT, J.R., McEVOY, L., ESTEVEZ, A., BELL, J.G., BELL, M.V., HENDERSON, R.J., TOCHER, D.R., 1999b. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. Aquaculture 179, 217-229.
- SARGENT, J.R., TOCHER, D.R., BELL, J.G., 2002. The lipids. En: Fish Nutrition, Third Edition. Editado por J.E. Halver y R.W. Hardy. Academic Press, New York. pp. 181-257.



- SATOH, S., POE, W.E., WILSON, R.P., 1989. Effect of dietary n-3 fatty acids on weight gain and liver polar lipid fatty acid composition of fingerling channel catfish. *J. Nutr.* 119(1), 23-28.
- SCHUCHARDT, D., VERGARA, J.M., FERNÁNDEZ-PALACIOS, H., KALINOWSKI, C.T., HERNÁNDEZ-CRUZ, C.M., IZQUIERDO, M.S., ROBAINA, L., 2008. Effects of different dietary protein and lipid levels on growth, feed utilization and body composition of red porgy (*Pagrus pagrus*) fingerlings. *Aquac. Nutr.* 14, 1-9.
- SCHULZ, C., KNAUS, U., WIRTH, M., RENNERT, B., 2005. Effects of varying dietary fatty acid profile on growth performance, fatty acid, body and tissue composition of juvenile pike perch (*Sander lucioperca*). *Aquac. Nutr.* 11 (6), 403-413.
- SEIFFERT, M.E.B., CERQUEIRA, V.R., MADUREIRA, L.A.S., 2001. Effect of dietary (n-3) highly unsaturated fatty acids on growth and survival of fat snook (*Centropomus parallelus*, Pisces: Centropomidae) larvae during first feeding. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 34(5), 645-651.
- SEILIEZ, I., BRUANT, J.S., ZAMBONINO INFANTE, J.L., KAUSHIK, S., BERGOT, P., 2006. Effect of dietary phospholipid level on the development of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) larvae fed a compound diet. *Aquac. Nutr.* 12, 372-378.
- SERHAN, C.N., GOTLINGER, K., HONG, S., LU, Y., SIEGELMAN, J., BAER, T., YANG, R., COLGAN, S.P., PETASIS, N.A., 2006. Anti-inflammatory actions of neuroprotectin D1/protectin D1 and its natural stereoisomers: assignments of dihydroxy-containing docosatrienes. *J. Immunol.* 176, 1848-1859.
- SHANSUDIN, L., YUSOF, M., AZIS, A., SHUKRI, Y., 1997. The potential of certain indigenous copepod species as live food for commercial fish larval rearing. *Aquaculture* 151 (1), 351-356.
- SHERIDAN, M.A., 1988. Lipid dynamics in fish: aspects of absorption, transportation, deposition and mobilization. *Comp. Biochem. Physiol. B* 90, 679-690.
- SHIELDS, R.J., BELL, J.G., LUIZI, F.S., GARA, B., BROMAGE, N.R., SARGENT, J.R., 1999. Natural copepods are superior to enriched *Artemia* nauplii as feed for hali-bult larvae (*Hippoglossus hippoglossus*) in terms of survival, pigmentation and retinal morphology: relation to dietary essential fatty acids. *J. Nutr.* 129, 1186-1194.
- SHIELDS, R.J., IRWIN, S., SMITH, P.L., McEVOY, L.A., 2003. Effects of diet transition regimen on survival, growth and lipid composition of intensively reared Atlantic cod, *Gadus morhua*, larvae. *Aquacult Int.* 11, 119-130.
- SHIMENO, S., KEYALI, D., SHIKATA, T., 1995. Metabolic response to dietary lipid to protein ratios in common carp. *Fish. Sci.* 61, 977-980.
- SILVER, G.R., HIGGS, D.A., DOSANJH, B.S., McKEOWN, B.A., DEACON, G., FRENCH, D., 1993. Effect of dietary protein to lipid ratio on growth and chemical com-



- position of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in sea water. En: Fish Nutrition in Practice, IVth Int. Symp. on Fish Nutrition and Feeding. Editado por S.J. Kaushik y P. Luquet. INRA, Paris. pp. 459-468.
- SILVERSAND, C., NORBERG, B., HOLM, J.C., LIE, O., HAUX, C., 1995. Dietary influence on the fatty acid composition of vitellogenin and the subsequent effect on the egg composition in cod (*Gadus morhua*). En: Proc. 5th Int. Symp. Reprod. Physiol. Fish. University of Texas, Austin, 2-8 July 1995. pp, 375.
- SILVERSAND, C., NORBERG, B., HAUX, C., 1996. Fatty-acid composition of ovulated eggs from wild and cultured turbot (*Scophthalmus maximus*) in relation to yolk and oil globule lipids. Mar. Biol. 125, 269-278.
- SIMOPOULOS, A.P., 2006. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. Biomed. Pharmacother. 60(9), 502-507.
- SKALLI, A. Y ROBIN, J.H. 2004. Requirement of n-3 long chain polyunsaturated fatty acids for European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles: growth and fatty acid composition. Aquaculture 240, 399-415.
- SKALLI, A., ROBIN, J. H., LE BAYON, N., LE DELLIOU, H., PERSON-LE RUYET, J., 2006. Impact of essential fatty acid deficiency and temperature on tissues fatty acid composition of european sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture 255, 223-232.
- SMITH, L.S., 1989. Digestive functions in teleost fishes. Pp 331-421. En Fish Nutrition. 2nd Ed. Editado por J.E. Halver, San Diego: Academic Press.
- SMITH, S.A. 2002. Peroxisome proliferator-activated receptors and the regulation of mammalian lipid metabolism. Biochem. Soc. Trans. 30, 1086-1090.
- SMITH, D. M., HUNTER, B. J., ALLAN, G. L., ROBERTS, D. C. K., BOOTH, M. A., GLENCROSS, B. D., 2004. Essential fatty acids in the diet of silver perch (*Bidyanus bidyanus*): effect of linolenic and linoleic acid on growth and survival. Aquaculture 236, 377-390.
- SPRECHER, H., LUTHRIA, D.L., MOHAMMED, B.S., BAYKOUSHEVA, S.P., 1995. Reevaluation of the pathways for the biosynthesis of polyunsaturated fatty acids. J. Lipid Res. 36, 2471-2477
- STANCEY, N.E. y GOETZ, F. W., 1982. Role of prostaglandins in fish reproduction. Can. J. Fish Rep., 514, 205-209.
- STANLEY-SAMUELSON, D.W., JURENKA, R.A., CRIPPS, C., BLOMQUIST, G.J., RENOBALLES, M., 1988. Fatty acids in insects: composition, metabolism, and biological significance. Arch. Insect Biochem. Physiol. 9, 1-33.
- STEPHAN, G., DREANNO, C., GUILLAUME, J. & ARZEL, J., 1996. Incidence of different amounts of proteins, lipids and carbohydrates in diets on the muscle lipid composition in the turbot, *Scophthalmus maximus*. Ichthyophysiol. Acta, 19, 11-30.



- STØTTRUP, J.G. Y McEVoy, L.A. 2003. Live feeds in marine aquaculture. Editado por: Blackwell Publ. Co., 350 Main St., Maldon, MA 02148-5018. pp 318.
- STOWELL, S.L. Y GATLIN, D.M., 1992. Effects of dietary pantethine and lipid levels on growth and body composition of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture* 108 (1-2), 177-188.
- STRYER, 2003. *Bioquímica* 5.^a Ed. Reverté, Barcelona.
- STUBHAUG I, TOCHER DR, BELL JG, DICK JR, TORSTENSEN BE., 2005. Fatty acid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) hepatocytes and influence of dietary vegetable oil. *Biochim Biophys Acta*. 1734(3), 277-88.
- TAKEUCHI, T., 1996. Essential fatty acid requirements in carp. *Arch. Tierernähr.* 49 (1), 23-32.
- TAKEUCHI. T. y WATANABE, T., 1976. Nutritive value of n-3 highly unsaturated fatty acids in pollock liver oil for rainbow trout. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 42, 907-919.
- TAKEUCHI, T. y WATANABE, T. 1977. Requirement of carp for essential fatty acids. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 43, 541-551.
- TAKEUCHI, T., WATANABE, T., NOSE, T., 1979. Requirement for essential fatty acids of chum salmon (*Oncorhynchus mykiss*) in freshwater environment. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 45, 1319-1323.
- TAKEUCHI, L., TAKEUCHI, T., OGINO, C., 1980. Riboflavin requirements in carp and rainbow trout. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 46, 733-737.
- TAKEUCHI. T., SATOH. S., WATANABE, T., 1983. Requirement of *Tilapia nilotica* for essential fatty acids. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 49, 1127-1134.
- TAKEUCHI, T., TOYOTA, M., SATOH, S., WATANABE, T., 1990. Requirement of juvenile red seabream *Pagrus major* for eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids. *Nippon Suisan Gakkaishi* 56,(8) 1263-1269.
- TAKEUCHI, T., WATANABE, K., YONG, W. Y., WATANABE, T., 1991. Essential fatty acids of grass carp *Ctenopharyngodon idella*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 57, 467-473.
- TAKEUCHI, T., SHIINA, Y., WATANABE, T., SEKIYA, S., IMAZUMI, K., 1992a. Suitable protein and lipid levels in diet for fingerlings of yellowtail. *Nippon Suisan Gakkaishi* 58 (7), 1333-1339.
- TAKEUCHI, T., ARAKAWA, T., SATOH, S. AND WATANABE, T., 1992b. Supplemental effect of phospholipids and requirement of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid for juveniles striped jack. *Nippon Suisan Gakkaishi* 58, 707-713.
- TAKEUCHI, T., FENG-ZHENG, YOSEDA, K., HIROKAWA, J., WATANABE, T., 1994. Nutritive value of DHA-enriched rotifer for larval cod. *Nippon Suisan Gakkaishi* 60 (5), 6451-6452.
- TANDLER, A., HAREL, M., KOVEN, W.M., KOLKOVSKY, S., 1995. Broodstock and larvae nutrition in gilthead seabream *Sparus aurata* new findings on its involvement in improving growth, survival and swim bladder inflation. *Isr. J. Aquacult. Bamidgeh* 47, 95-111.



- TEAGUE, W.E., FULLER, N.L., RAND, R.P., GAWRISCH, K., 2002. Polyunsaturated lipids in membrane fusion events. *Cell. Mol. Biol. Lett.* 7 (2), 262-264.
- THOMAS, K., RUTTER, A., SULLER, M., HARWOOD, J., LLOYD, D., 1998. Oxygen induces fatty acid (n-6)-desaturation independently of temperature in *Acanthamoeba castellanii*. *FEBS Letters* 425, 171-174.
- THONGROD, S., TAKEUCHI, T., SATOH, S., WATANABE, T., 1989. Requirement of fingerling white fish *Coregonus lavaretus* maraena for dietary n-3 fatty acids. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55, 1983-1987.
- THONGROD, S., TAKEUCHI, T., SATOH, S., WATANABE, T., 1990. Requirement of Yama-me *Oncorhynchus mason* for essential fatty acids. *Nippon Suisan Gakkaishi* 56, 1255-1262.
- THRUSH, M., NAVAS, J.M., RAMOS, J., BROMAGE, N., CARRILLO, M., ZANUY, S., 1993. The effect of artificial diets on lipid class and total fatty acid composition of cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Actas IV Congr. Nac. Acuicult.*, pp 37-42.
- TINOCO J., 1982. Dietary requirements and functions of alpha-linolenic acid in animals. *Prog. Lipid. Res.* 21(1), 1-45.
- TOCHER, D.R., 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Rev. Fish. Sci.* 11, 107-184.
- TOCHER, D. R. y GHIONI, C., 1999. Fatty acid metabolism in marine fish: low activity of fatty acyl $\Delta 5$ desaturation in gilthead seabream (*Sparus aurata*) cells. *Lipids* 34 (5), 433-439.
- TOCHER, D.R. y SARGENT, J.R., 1984. Analyses of lipids and fatty acids in ripe roes of some northwest European marine fish. *Lipids* 19, 492-499.
- TOCHER, D.R., FRASER, A.J., SARGENT, J.R., GAMBLE, J.C., 1985. Fatty acid composition of phospholipids and neutral lipids during embryonic and early larval development in Atlantic herring (*Clupea harengus* L.). *Lipids* 20, 69-74.
- TOCHER, D.R., BELL, J.G., SARGENT, J.R., 1991. Incorporation of [3H]arachidonic and [14C]eicosapentaenoic acids into glycerophospholipids and their metabolism via lipoxygenases in isolated brain cells from rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *J. Neurochem.* 57(6), 2078-2085.
- TOCHER, D.R., CASTELL, J.D., DICK, J.R., SARGENT, J.R., 1995. Effects of salinity on the fatty acid composition of total lipid and individual glycerophospholipid classes of Atlantic salmon (*Salmo salar*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) cells in culture. *Fish Physiol. Biochem.* 14, 125-137.
- TOCHER, D.R., BELL, J.G., DICK, J.R., SARGENT, J.R., 1997. Fatty acyl desaturation in isolated hepatocytes from Atlantic salmon (*Salmo salar*): Stimulation by dietary borage oil containing γ -linolenic acid. *Lipids* 32 (12), 1237-1247.
- TOCHER, D. R., BELL, J. G., HENDERSON, R. J., MCGHEE, F., MITCHELL, D., MORRIS, P. C., 2000. Polyunsaturated fatty acid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo sa-*



- lar) undergoing parrsmolt transformation and the effects of dietary linseed and rapeseed oils. *Fish. Physiol. Biochem.* 23, 59-73.
- TOCHER, D. R., BELL, J. G., MACGLAUGHLIN, P., MCGHEE, F., DICK, J. R., 2001. Hepatocyte fatty acid desaturation and polyunsaturated fatty acid composition of liver in salmonids: Effects of dietary vegetable oil. *Comp. Biochem. Physiol.* 130, 257-270.
- TOCHER, D. R., FONSECA-MADRIGAL, J., BELL, J.G., DICK, J.R., HENDERSON, R.J., SARGENT, J.R., 2002. Effects of diets containing linseed oil on fatty acid desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Fish Physiol. Biochem.* 26 (2), 157-170.
- TOCHER, D.R., BELL, J.G., MCGHEE, F., DICK, J.R., Fonseca-Madrigal, J., 2003a. Effects of dietary lipid level and vegetable oil on fatty acid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) over the whole production cycle. *Fish Physiol. Biochem.* 29, (3), 193-209
- TOCHER, D. R., BELL, J. G., DICK, J. R. y CRAMPTON, V., 2003b. Effects of vegetable oil diets on Atlantic salmon hepatocyte desaturase activities and liver fatty acid compositions. *Lipids* 38(7), 723-732.
- TOCHER, D.R., MOURENTE, G., VAN DER ECKEN, A., EVJEMO, J.O., DIAZ, E., WILLE, M., BELL, J.G., OLSEN, Y., 2003c. Comparative study of antioxidant defence mechanisms in marine fish fed variable levels of oxidised oil and vitamin E. *Aquac. Int.* 11, 195-216.
- TOCHER, D.R., FONSECA-MADRIGAL, J., DICK J.R., WING KEONG, N.G., BELL, J.G. y CAMPBELL, P.J., 2004a. Effects of water temperature and diets containing palm oil on fatty acid desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol. B* 137, 49-63.
- TOCHER, D.R., LEAVER, M. J. ZHENG, X., BELL, J. G., TEALE, A. J. 2004b. Novel approaches to diet formulation in aquaculture. International Conference Aquaculture Europe, Barcelona, Spain, October 20-23, pp, 79-84.
- TOCHER, D.R., DICK, J.R., MACGLAUGHLIN, P. y BELL. J.G., 2006. Effect of diet enriched in $\Delta 6$ desaturated fatty acids (18:3n-6 and 18:4n-3), on growth, fatty acid composition and highly unsaturated fatty acid synthesis in two populations of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Comp. Biochem. Physiol. B*, 144, 245-53.
- TOCHER, D.R., BENDIKSEN, E.A., CAMPBELL, P.J., BELL, J.G., 2008. The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish. *Aquaculture* 280, 21-34.
- TONTONOZ, P., HU, E., DEVINE, J., BEALE, E. G., SPIEGELMAN, B. M. 1995. PPAR gamma 2 regulates adipose expresión of the phosphoenolpyruvate carboxykinase gene. *Mol. Cell Biol.* 15, 351-357.



- TORSTENSEN, B.E., BELL, J.G., ROSENBLUND, G., HENDERSON, R.J., GRAFF, I.E., TOCHER, D.R., LIE, O., SARGENT, J.R., 2005. Tailoring of Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) Flesh Lipid Composition and Sensory Quality by Replacing Fish Oil with a Vegetable Oil Blend. *J. Agric. Food Chem.* 53 (26), 10166-10178.
- TURCHINI, G.M., TORSTENSEN, B.E., NG, W.K., 2009. Fish oil replacement in finfish nutrition. *Reviews in Aquaculture* 1, 10-57.
- TVEITEN, H., JOBLING, M., ANDREASSEN, I., 2004. Influence of egg lipids and fatty acids on egg viability, and their utilization during embryonic development of spotted wolf-fish, *Anarhichas minor* Olafsen. *Aquac. Res.* 35 (2), 152-161.
- VAN DER MEEREN, T., OLSEN, R.E., HAMRE, K., FYHN, H.J., 2008. Biochemical composition of copepods for evaluation of feed quality in production of juvenile marine fish. *Aquaculture* 274, 375-397.
- VASSALLO-AGIUS, R., WATANABE, T., MUSHIAKE, K., KAWANO, K., SATOH, S., 1998. Chemical components of eggs and yolk sac larvae obtained from striped jack broodstock fed on a raw fish mix or dry pellets. *Fish. Sci.* 64 (5), 759-765.
- VASSALLO-AGIUS, R., IMAIZUMI, H., WATANABE, T., YAMAZAKI, T., SATOH, S., KIRON, V., 2001. Effect of squid meal in dry pellets on the spawning performance of striped jack *Pseudocaranx dentex*. *Fish. Sci.* 67 (2), 271-280.
- VÁZQUEZ, R., GONZÁLEZ, S., RODRÍGUEZ, A., MOURENTE, G., 1994. Biochemical composition and fatty acid content of fertilized eggs, yolk sac stage larvae and first feeding larvae of the Senegal sole (*Solea senegalensis* Kaup). *Aquaculture* 119, 273-286.
- VENTRELLA, V., PAGLIARINI, A., PIRINI, M., TRIGARI, G., TROMBETTI, F., BORGATTI, A.R., 1993. Lipid composition and microsomal ATPase activities in gills and kidneys of warm- and cold-acclimated sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Fish. Physiol. Biochem.* 12, 293-304.
- VERAKUNPIRIYA, V., WATANABE, T., MUSHIAKE, K., KIRON, V., SATOH, S., TAKEUCHI, T., 1996. Effect of broodstock diets on the chemical components of milt and eggs produced by yellowtail. *Fish. Sci.*, 62 (4), 610-619.
- VERGARA, J.M., ROBAINA, L., IZQUIERDO, M., DE LA HIGUERA, M., 1996. Protein sparing effect of lipids in diets for fingerlings of gilthead sea bream. *Fish. Sci.* 62, 624-628.
- VERRETH, J., COPPOOLSE, J., SEGNER, H., 1994. The effect of low HUFA- and high HUFA-enriched *Artemia*, fed at different feeding levels, on growth, survival, tissue fatty acids and liver histology of *Clarias gariepinus* larvae. *Aquaculture* 126, 137-150.
- VETTER, R.P., HODSON, R.E., ARNOLD, C.R., 1983. Energy metabolism in a rapidly developing marine fish egg, the red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Can. J. Fish. Aqua. Sci.*, 40, 627-634.



- VILLALTA, M., ESTÉVEZ, A., BRANSDEN, M.P., BELL, J.G., 2005. The effect of graded concentrations of dietary DHA on growth, survival and tissue fatty acid profile of Senegal sole (*Solea senegalensis*) larvae during the Artemia feeding period. *Aquaculture* 249, 353-365.
- VILLALTA, M., ESTÉVEZ, A., BRANSDEN, M.P., BELL, J.G., 2008. Arachidonic acid, arachidonic/eicosapentaenoic acid ratio, stearidonic acid and eicosanoids are involved in dietary-induced albinism in Senegal sole (*Solea senegalensis*). *Aquac. Nutr.* 14, 120-128.
- VIRTUE, P., JOHANNES, R.E., NICHOLS, P.D., YOUNG, J.W., 1995. Biochemical composition of *Nyctiphanes australis* and its possible use as an aquaculture feed source: lipids, pigments and fluoride content. *Mar. Biol.* 122, 121-128
- VOSS, A., RIENHART, M., SANKARAPPA, S., SPRECHER, H., 1991. The metabolism of 7,10,13,16,19-docosapentaenoic acid to 4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid in rat livers is independent of $\Delta 4$ desaturase. *J. Biol. Chem.* 266, 19995-20000.
- WADE, M. G. Y VAN DER KRAAK, G., 1993. Arachidonic acid and prostaglandin E2 stimulate testosterone production by goldfish testis in vitro. *Gen. Comp. Endocrinol.* 90(1), 109-118.
- WADE, M.G., JACOBSON, P.M., VAN DER KRAAK, G., 1994a. Polyunsaturated fatty acids do not activate protein kinase C in the testis of the goldfish (*Carassius auratus*), 1994a. *Fish Physiol. Biochem.* 13 (1), 49-57.
- WADE, M. G., VAN DER KRAAK, G., GERRITS, M.F., BALLANTYNE, J.S., 1994b. Release and steroidogenic actions of polyunsaturated fatty acids in the goldfish testis. *Biol. Reproduc.* 51, 131-139.
- WALLRECHT, E.E. Y BABIN, P.J., 1994. Thermal adaptation affects the fatty acid composition of plasma phospholipids in trout. *Lipids* 29, 373-376.
- WATANABE, T., 1982. Lipid Nutrition in Fish. *Comp. Biochem. Physiol. B* 73(1), 3-15.
- WATANABE, T., 1987. Requerimientos de ácidos grasos y nutrición lipídica en los peces. En: *Nutrición en Acuicultura II*. CAICYT. Editado por: Espinosa de los Monteros, J., Labarta, U. Madrid. pp. 99-165.
- WATANABE, T., 1993. Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. *J. World Aquacult. Soc.* 24, 152-161.
- WATANABE, T. y VASSALLO-AGIUS, R., 2003. Broodstock nutrition research on marine finfish in Japan. *Aquaculture* 227, 35-61.
- WATANABE, T., ARAKAWA, T., TAKEUCHI, T., SATOH, S., 1989. Comparison between eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in terms of essential fatty acid efficiency in juvenile striped jack *Pseudocaranx dentex*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55, 1989-1995.



- WEATHERUP, R.N., MCCracken, K.J., FOY, R., RICE, D., MCKENDRY, J., MAIRS, R.J., HOEY, R., 1997. The effects of dietary fat content on performance and body composition of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 151 (1), 173-184.
- WEBER, P.C., 1990. The modification of the arachidonic acid cascade by n-3 fatty acids. En: *Advances in Prostaglandin, Tromboxane and Leukotriene Research*. Vol. 20. Editado por B. Samuelsson, S.-E. Dahlen, J. Fritsch y P. Hedqvist, Raven, New York. pp. 232-240.
- WEBSTER, C.D. y LOVELL, R.T., 1990. Response of striped bass larvae fed brine shrimp from different sources containing different fatty acid compositions. *Aquaculture* 90, 49-62.
- WHALEN, K.G. y PARRISH, D.L., 1999. Effect of maturation on parr growth and smolt recruitment of Atlantic salmon. *J. Fish. Aquat. Sci.* 56(1), 79-86.
- WIEGAND, M.D., 1996. Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleost fish. *Rev. Fish Biol. Fish.* 6, 259-286.
- WILLEY, S., BENGTON, D.A., HAREL, M., 2003. Arachidonic acid requirements in larval summer flounder, *Paralichthys dentatus*. *Aqua. Int.* 11, 131-149.
- WILLIAMS, E.E. y HAZEL, J.R., 1992. The role of docosahexaenoic acid containing molecular species in the thermal adaptation of biological membranes. En: *Essential fatty acids and eicosanoids*. Editado por A. Sinclair y R. Gibson. American Oil Chemists Society, Champaign, Illinois. pp 128-132.
- WIRTH, M., STEFFENS, W., MEINELT, T., STEINBERG, C., 1997. Significance of docosahexaenoic acid for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. *Lipid-Fett* 99, 251-253.
- WOLD, P.E., HOEHNE-REITAN, K., CAHU, C.L., ZAMBONINO INFANTE, J., RAINUZZO, J., KJØRSVIK, L., 2007. Phospholipids vs. neutral lipids: Effects on digestive enzymes in Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae. *Aquaculture* 272, 502-513.
- WODTKLE, E., 1978. Lipid adaptation in liver mitochondrial membranes of carp acclimated to different environmental temperatures. Phospholipid composition, fatty acid pattern, and cholesterol content. *Biochim. Biophys. Acta* 529, 280-291.
- WU, F.C., TING, Y.Y., CHEN, H.Y., 2002. Docosahexaenoic acid is superior to eicosapentaenoic acid as the essential fatty acid for growth of grouper, *Epinephelus malabaricus*. *J. Nutr.* 132(1), 72-79.
- XUE, M., LUO, L., WU, X., REN, Z., GAO, P., YU, Y., PEARL, G., 2006. Effects of six alternative lipid sources on growth and tissue fatty acid composition in Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*). *Aquaculture* 260, 206-214.
- YANG, X. y DICK, T. A., 1993. Effects of dietary fatty acids on growth, feed efficiency and liver RNA and DNA content of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.). *Aquaculture* 116, 57-70.



- YANG, X., TABACHEK, J. L., DICK, T.A., 1994. Effects of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids on lipid and fatty acid composition and haematology of juvenile Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.). *Fish Physiol. Biochem.* 12 (5), 409-420.
- YONE, Y., 1978 Fatty acid requirements of the red sea bream. En *Dietary lipids in aquaculture*. Editado por Japanese Society of Scientific Fisheries, Koseisha-Koseikau, Tokio, pp. 43-59.
- YOUNG, G. y CONQUER, J., 2005. Omega-3 fatty acids and neuropsychiatric disorders. *Reprod. Nutr. Dev.* 45(1), 1-28.
- YU, T.C. y SINNHUBER, R.O., 1979. Effect of dietary W3 and W6 fatty acids on growth and feed conversion efficiency of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture*, 16, 31-38.
- ZAMBONINO, J., CAHU, C., VILLENEUVE, L., GISBERT, E., 2005. Nutrition, development and morphogenesis in fish larvae: some recent developments aqua feeds. *Formulation & Beyond* 2 (1), 3-5.
- ZHENG, F., TAKEUCHI, T., YOSEDA, K., KOBAYASHI, M., HIROKAWA, J., WATANABE, T., 1996. Requirement of larval cod for arachidonic acid, eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid using by their enriched *Artemia* nauplii. *Nippon Suisan Gakkaishi* 62, 669-676.
- ZHENG, X., SEILIEZ, I., HASTINGS, N., TOCHER, D.R., PANSEERAT, S., DICKSON, C.A., BERGOT, P., TEALE, A.J., 2004a. Characterization and comparison of fatty acyl $\Delta 6$ desaturase cDNAs from freshwater and marine teleost fish species. *Comp. Biochem. Physiol. B* 139, 269-279.
- ZHENG, X., TOCHER, D. R., DICKSON, C. A., BELL, J. G., TEALE, A. J. 2004b. Effects of diets containing vegetable oil on expression of genes involved in polyunsaturated fatty acid biosynthesis in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 236, 467- 483.
- ZHENG, X., TOCHER, D.R., DICKSON, C.A., BELL, J.G., TEALE, A.J., 2005a. Highly unsaturated fatty acid synthesis in vertebrates: new insights with the cloning and characterization of a delta6 desaturase of Atlantic salmon. *Lipids* 40(1),13-24.
- ZHENG, X., TORSTENSEN, B., TOCHER, D.R., DICK, J.R., HENDERSON, R.J., BELL, J.G., 2005b. Environmental and dietary influences on highly unsaturated fatty acid biosynthesis and expression of fatty acyl desaturase and elongase genes in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Biochim. Biophys. Acta* 1734, 13-24.

5

LOS HIDRATOS DE CARBONO EN LA ALIMENTACIÓN DE LOS PECES



LOS HIDRATOS DE CARBONO EN LA ALIMENTACIÓN DE LOS PECES

**Manuel García Gallego
y Ana Sanz Rus**

Departamento de Biología Animal.
Grupo de Investigación «Nutrición y
Alimentación de Peces».
Universidad de Granada

Resumen

Los hidratos de carbono son la fuente de energía más importante en el alimento usado para la producción de animales terrestres, mamíferos y aves. Su papel en el cultivo de peces es, no obstante, objeto de bastante discusión a partir de los datos disponibles sobre la capacidad de estos animales de utilizar a nivel digestivo y metabólico estos compuestos. Así se ha pasado de una consideración muy negativa, al comienzo del desarrollo de la piscicultura intensiva, a una profunda reevaluación de los mismos a la luz de hallazgos recientes que coinciden en que, si se tienen en cuenta aspectos tales como la especie-destino, la cantidad de este nutriente en relación con los otros del pienso y la posibilidad de algún tratamiento tecnológico que aumente su utilización digestiva, estas sustancias pueden significar una fuente importante de energía relativamente barata para estos piensos, reduciendo a la par la dependencia de subproductos de la pesca usados para este fin.

En este capítulo se abordan las principales características de la utilización digestiva y metabólica de los hidratos de carbono por los peces y se exponen algunas consideraciones sobre su incorporación a los piensos para estos animales.



Summary

Carbohydrates are the main energy source in mammals and birds farm feeding. However, their inclusion in fish culture foodstuffs has been some controversial, since former studies posed the limitations of these animals to use them at both, digestive and metabolic levels.

More recently, a lot of works have demonstrated that, if some aspects such as feeding habit of the species, type and pre-treatment of the source and dietary inclusion level are carefully taken into account, the situation must be reassessed.

So, nowadays the role of carbohydrates as an efficient low-cost energy source for fish feeding is an item of increasing interest, all the more when alternatives to fisheries by-products as fish foods ingredients are been intensively looked for.

In this chapter the main topics on digestive and metabolic utilization of carbohydrates by fish are outlined, together with some considerations of their effective incorporation to fish foods.

5.1. LOS HIDRATOS DE CARBONO EN LA NUTRICIÓN ANIMAL

Los hidratos de carbono son excelentes fuentes de energía y de carbono, uno de los elementos mayoritarios de la composición de los seres vivos. La combustión de los hidratos de carbono es el principal camino por el cual los animales terrestres obtienen la energía química que necesitan para el mantenimiento de sus funciones vitales. La situación es algo más variable en peces pues estos animales exhiben distintas estrategias de utilización de estos nutrientes, así, para los peces carnívoros los hidratos de carbono de la dieta no son la principal fuente de energía o de carbono, sin embargo hay especies de aguas dulces y especies marinas, algunas de interés en acuicultura, que son capaces de ingerir, digerir y utilizar con provecho cantidades importantes de material vegetal hidrocarbonado. Este capítulo se aproxima a esta situación peculiar y expone los principales resultados obtenidos de experimentos dirigidos a determinar los mecanismos y capacidades de utilización de estos nutrientes con la vista puesta en la determinación de su posibilidad real de utilización en los piensos para piscicultura.



5.2. ¿QUÉ SON LOS HIDRATOS DE CARBONO?

Los Hidratos de Carbono (HC) o Carbohidratos son las biomoléculas más abundantes de la tierra gracias a su continua formación mediante el proceso de la fotosíntesis. Dentro del organismo animal, no obstante, su cantidad suele ser superada, considerando sólo los compuestos orgánicos, por proteínas y grasas.

La denominación hace alusión a que muchos de ellos poseen una estructura en la que se combinan mayoritariamente carbono, hidrógeno y oxígeno, estando los dos últimos en la misma proporción que en el agua (2:1). No obstante, esta consideración no es universal, no sólo porque no se respeten esas proporciones sino porque, con frecuencia, se incluyen otros elementos distintos de los tres citados y, con no menos frecuencia, pueden aparecer conjugados con proteínas o lípidos (glucoconjugados).

Algunos de ellos forman parte esencial de la dieta habitual de los seres vivos que obtienen una gran parte de la energía que necesitan a partir de la oxidación de los mismos. Otros hidratos de carbono juegan sin embargo papeles diferentes y no menos importantes, tales como formar parte de la estructura de las paredes celulares o estar implicados en tareas de reconocimiento y adhesión intercelular. Finalmente, en forma de los glucoconjugados citados antes, actúan como moléculas «señal» de capital importancia en la actividad intracelular.

Los hidratos de carbono se pueden clasificar según varios criterios que van desde su mera estructura química a consideraciones basadas en su origen mayoritario o en su utilización por los animales, sea digestiva y/o metabólica. Así se habla de mono o polisacáridos, glúcidos, azúcares, de entre estos se distingue entre intrínsecos y extrínsecos, simples y complejos, disponibles y no disponibles, resistentes y modificados, fibras de distinto tipo, etc.

Una clasificación elemental alude al grado de polimerización de las correspondientes moléculas distinguiéndose entre azúcares (monómeros o dímeros), oligosacáridos (cuando tienen entre 3 y 9 unidades monoméricas) y polisacáridos (con más de 9 unidades monoméricas que, si son iguales, constituyen un homopolisacárido y si pertenecen a más de un tipo, originan un heteropolisacárido).

Entre los **monosacáridos**, todos ellos hidrosolubles, ópticamente activos, con poderes reductores y, en mayor o menor medida, con sabor «dulce», el más abundante es la **D-glucosa** o dextrosa que tiene 6 átomos de carbono ($C_6H_{12}O_6$); es, por tanto, una hexosa (Figura 1). Aparece en forma libre en tejidos vegetales, frutas o en la sangre de animales, si bien lo más normal es que aparezca combinada formando estructuras moleculares de tamaño superior. Otras hexosas son la **fructosa**, abundante también en vegetales, y la **galactosa**, aunque ésta no suele aparecer libre sino formando complejos de diferente tamaño. Como la mayoría de los monosacáridos, sus moléculas adoptan en solución una forma cíclica, no lineal.

Pese a su papel central en el metabolismo, los monosacáridos raramente ingresan en las rutas metabólicas en forma directa sino que previamente se transforman en derivados mono o difosforilados, azúcares aminados (glucosamina), azúcares ácidos (glucurónico, glucónico, siálico) o alcoholes (sorbitol).

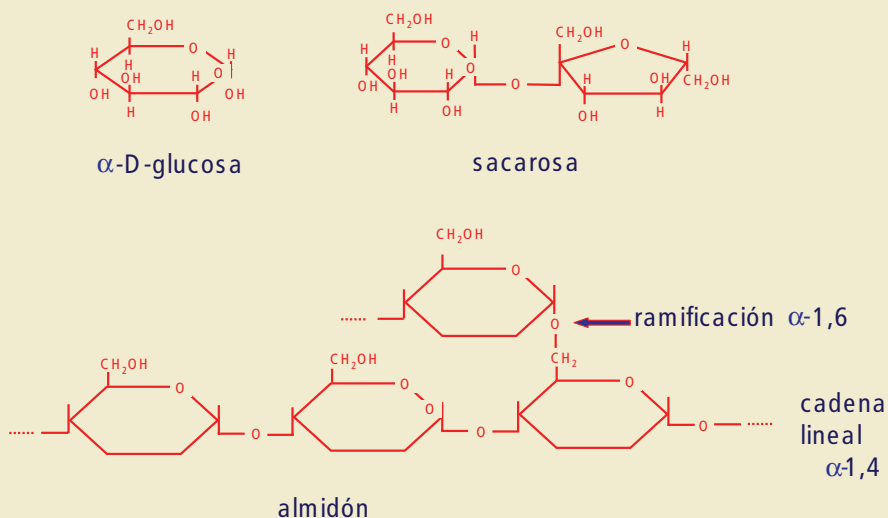


FIGURA 1.
Algunos hidratos de carbono.



Otros monosacáridos de interés fisiológico son las triosas como la dihidroxiacetona, las tetrasas como la eritrosa o las pentosas, entre las que destacan L-arabinosa, D-xilosa y D-ribosa; ésta última, junto con la D-deoxiribosa son componentes esenciales de los ácidos nucleicos (ARN y ADN).

Los **disacáridos** están formados por dos moléculas de monosacáridos unidas por un enlace glucosídico. Los más abundantes en la naturaleza son **maltosa** (dos unidades de glucosa) que se obtiene durante la degradación del almidón, la **sacarosa** (glucosa más fructosa), muy abundante en productos naturales incluyendo el azúcar de caña o remolacha (Figura 1) y la **lactosa** (glucosa más galactosa) que aparece únicamente en la leche de mamíferos. Salvo la sacarosa, han perdido su poder reductor al formar el enlace.

La mayoría de los hidratos de carbono naturales son **polisacáridos**, también conocidos como glucanos. Almidón y glucógeno son homopolisacáridos de reserva de combustible biológico. En cambio, otros homopolisacáridos como celulosa y quitina tienen propiedades eminentemente estructurales. Los heteropolisacáridos también juegan un papel estructural o de sostén desde bacterias a tejidos animales. A diferencia de lo que ocurre con las proteínas, cada una de las cuales viene definida por un número concreto de unidades monoméricas, los polisacáridos no suelen tener masas moleculares definidas. Una designación que se está generalizando últimamente es la que engloba a todos los polisacáridos distintos del almidón en un grupo común, aunque bastante complejo, los NSP (de *non-starch polysaccharides*).

El **almidón** es la forma de depósito de azúcares en plantas (semillas, frutos, hojas, tallos y raíces) siendo la mayor reserva de energía en las mismas y, por tanto, en la alimentación de muchos animales. Tiene dos componentes estructurales, la *amilosa* y la *amilopectina*, en proporciones variables según la especie. En ambos casos, la unidad elemental es la D-glucosa pero mientras la amilosa forma largas cadenas (100 o más unidades) sin ramificar y unidas por enlaces α -1,4; la amilopectina, normalmente más abundante, está formada por cadenas multiramificadas (mediante enlaces α -1,6) con eslabones de unas 20 unidades de D-glucosa (Figura 1). Mediante manipulación genética se pueden seleccionar variedades vegetales con proporciones variables de amilosa y amilopectina.



El almidón se almacena en gránulos, cuya forma y tamaño varía según especies, envueltos por una cobertura de celulosa que dificulta su digestión en estado nativo salvo para los rumiantes. Su calentamiento o cocción facilita la ruptura de esa envoltura y la hidratación del almidón que, en presencia de calor, forma un gel o pasta. Este proceso de *gelatinización* puede ir seguido, si el tratamiento térmico continúa, de una hidrólisis parcial a *dextrinas* que, posteriormente, pueden culminar el proceso lítico a maltosa y glucosa. La hidrólisis del almidón gelatinizado también se puede conseguir por medios químicos tal como ocurre en el tubo digestivo de los animales gracias a la presencia de *amilasas* en saliva y/o secreción pancreática.

El **glucógeno** es el polímero de reserva en tejidos animales, especialmente en músculo e hígado. Como la amilopectina, está formado por cadenas ramificadas pero, en este caso, con un mayor índice de ramificación (la distancia entre ramas es de apenas 8-12 unidades de glucosa). Como los enzimas hidrolíticos actúan sobre los extremos libres de las distintas ramas, al ser éstas más abundantes, su hidrólisis a glucosa progresa rápidamente. El que la glucosa se almacene en forma de polímeros, que luego habrá que degradar para liberar su contenido energético, y no en forma directamente libre puede obedecer a razones osmóticas (un polímero tienen mucho menos poder osmótico que el conjunto de sus unidades constituyentes aisladas) o de facilidad de captación celular de nuevas unidades de glucosa lo que resultaría difícil si, por ejemplo, el hepatocito tuviera una gran concentración de glucosa libre.

La **celulosa** es el hidrato de carbono más abundante en la naturaleza, al construir la parte esencial de las paredes celulares de los vegetales. Está formada por largas cadenas lineales de unidades de D-glucosa enlazadas mediante enlaces β -1,4; a su vez varias de estas cadenas pueden entrelazarse por enlaces covalentes. Se trata de un material enormemente resistente tanto desde el punto de vista mecánico como frente al ataque químico (se necesitan ácidos fuertes para hidrolizarlo). Sólo bacterias y otros microorganismos poseen *celulasas* capaces de «digerirlo», muy pocos animales tienen niveles significativos de estas enzimas en su tracto digestivo, salvo que los hayan adquirido incorporando esa microbiota simbiote, cual es el caso de los rumiantes; por



ello, este hidrato de carbono no es una fuente provisora de energía importante para la mayoría de los animales. La celulosa y otras moléculas hidrocarbonadas presentes en las paredes vegetales (hemicelulosa, pectina) constituyen lo que en alimentación animal se conoce genéricamente como «fibra» y en gran medida contribuirían al antes denominado NSP.

La **quitina** es otro homopolisacárido lineal compuestos por unidades de n-acetil-D-glucosamina unidas por enlaces β -1,4. Forma fibras extendidas como las de celulosa y, como aquella, resulta indigestible para los vertebrados. Es el componente principal del exoesqueleto rígido de insectos y crustáceos, siendo probablemente el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza tras la celulosa.

Entre los **heteropolisacáridos** se encuentran la **hemicelulosa** (formada esencialmente por unidades de xilosa pero con algunas hexosas y azúcares ácidos, con predominio de enlaces β -1,4) que suele acompañar a la celulosa en las hojas y estructuras leñosas de las plantas. También es insoluble en agua y escasamente digerida salvo por rumiantes. **Gomas y mucilagos** son carbohidratos muy complejos presentes en ciertas semillas y plantas; los segundos son particularmente abundantes en ciertas algas. Son solubles en agua caliente y forman geles que se utilizan industrialmente (goma guar, agar, alginatos). Las **sustancias pécticas** contienen esencialmente ácido D-galacturónico, son muy abundantes en las paredes celulares y espacios intercelulares de ciertas plantas terrestres, tanto en sus frutos como en sus raíces. También tienen propiedades gelificantes. Los **mucopolisacáridos** son asimismo heteropolisacáridos complejos que se encuentran en las secreciones mucosas de los animales y son ricos en azúcares aminados y ácidos urónicos lo que les confiere carácter ácido: suelen formar ésteres con grupos sulfato. Incluyen moléculas como el condroitin-sulfato de cartílagos, huesos y tendones, la heparina (anticoagulante), el ácido hialurónico (lubrificante), etc.

Los **glucoconjugados** incluyen los *proteoglucanos*, principales constituyentes de tejidos conjuntivos a los que dotan de resistencia y elasticidad, las *glucoproteínas* en las que el componente básico son proteínas a las que se acoplan cortas cadenas oligosacáridicas y que juegan un papel central en los mecanismos de reconocimiento intercelular y entre



orgánulos intracelulares, y los *glucolípidos* y *lipopolisacáridos*, sustancias de membrana también implicadas en procesos de reconocimiento (grupos sanguíneos, reconocimiento por anticuerpos, etc.).

5.3. UTILIZACIÓN DIGESTIVA DE LOS HIDRATOS DE CARBONO POR LOS PECES

Los estudios realizados hasta ahora muestran una amplia convergencia entre las actividades digestivas de los peces óseos adultos y las existentes en los vertebrados terrestres, lo que sugiere que el equipamiento enzimático es, en gran parte, análogo.

La digestión y absorción de HC es más simple que la de proteínas. Los animales pueden digerir polisacáridos complejos, procedentes del mundo vegetal y animal como el almidón y glucógeno respectivamente, utilizando enzimas endógenas. Los rumiantes utilizan una estrategia para poder digerir polisacáridos indigestibles y es la simbiosis con microorganismos que los digieren y fermentan. Además, en los diferentes vertebrados terrestres aparecen distintas adaptaciones mecánicas y químicas que preparan al alimento para el posterior ataque enzimático.

Los peces también optan por la adquisición de mecanismos necesarios para la digestión de los materiales difícilmente digestibles. Así, la creación de un ambiente ácido en el estómago, el desarrollo de una pared muscular gástrica potente, la existencia de un molino faríngeo y la incorporación al alimento ingerido de partículas de sedimento, facilita el mecanismo de ruptura y la posterior digestión. También se han observado mecanismos de fermentación en una evaginación a modo de ciego en el intestino posterior. Por último, se ha demostrado que, la presencia de microorganismos en el tracto digestivo de algunos peces participa de forma importante en la digestión de ciertos HC.

5.3.1. Enzimas involucradas en la hidrólisis de los hidratos de carbono

Los HC encontrados en el alimento natural de los peces incluyen fundamentalmente almidón y celulosa (material vegetal), glucógeno (tejidos animales) y quitina (exoesqueleto de crustáceos e insectos).



La enzima **α -amilasa** actúa sobre los enlaces glucosídicos α -1,4 de los polisacáridos sin afectar a los enlaces de los extremos y a los de las ramificaciones que son α -1,6. Como resultado se obtienen moléculas de glucosa, maltosa, maltotriosa y cadenas ramificadas de α -dextrinas límite. Subsiguientemente, la hidrólisis debida a disacaridasas libera monosacáridos. Así la **maltasa o glucoamilasa** actúa sobre las dextrinas, también lo puede hacer el complejo **isomaltasa-sacarasa**, además de hacerlo sobre la maltosa y maltotriosa. La **isomaltasa o α -dextrinasa** hidroliza los enlaces glucosídicos α -1,6 existentes en las cadenas laterales de los polisacáridos, produciéndose finalmente moléculas de glucosa, galactosa y fructosa (Figura 2), (Cuadro 1).

Se ha encontrado actividad amilásica en el tracto intestinal de los peces, tanto en el lumen como en el quimo y también unida al epitelio de la mucosa. En contraste con mamíferos donde la amilasa es producida por las glándulas salivales y el páncreas, la única fuente de α -amilasa en los peces parece ser el páncreas exocrino, aunque existen

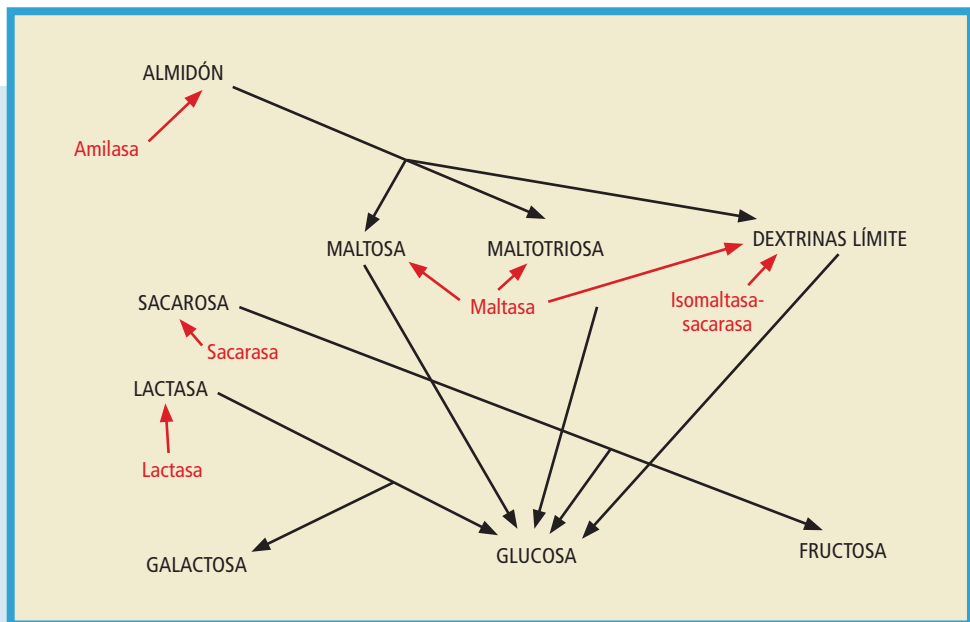


FIGURA 2.
Digestión de carbohidratos.



CUADRO 1.
Función de las carbohidrasas.

	<ul style="list-style-type: none">• Hidrólisis de carbohidratos complejos.• Actúan a nivel de intestino y ciegos pilóricos.
AMILASA	Hidroliza enlaces α 1-4 del glucógeno. No actúa sobre las ramificaciones α 1-6. Origina maltosa y residuos de tamaño variable a nivel de las ramificaciones.
CELULASA	Degrada celulosa (β 1-4 glucosidasa). Parece estar aportada por las bacterias que colonizan el digestivo de peces.
LAMINARIASA	Actúa sobre enlaces β 1-3 glucopiranosilo. En peces consumidores de algas.
QUITINASA	Hidroliza la quitina a quitobiosa. En peces que se alimentan de insectos y crustáceos.

trabajos que consideran como fuente de dicha secreción enzimática el intestino. La actividad amilásica encontrada en hígado y bilis puede ser debida a la infiltración de tejido pancreático en el tejido hepático, la detectada en el intestino medio y distal es de origen pancreático mientras que no se conoce con certeza el origen de la observada en la parte del intestino proximal que podría deberse a un reflujo de la amilasa pancreática pero también proceder del mismo alimento o de la microflora bacteriana.

Las características de la amilasa difieren entre especies en lo que respecta a la temperatura y pH óptimos de actuación. Ello es debido a la existencia de una familia de enzimas que al parecer están codificadas por múltiples genes y en algunos casos existen dos isoformas. El rango de pH óptimo de actuación se encuentra entre 7 y 8. Se han secuenciado amilasas procedentes de diferentes especies de peces teleósteos y se ha podido observar que tienen características comunes con el resto de vertebrados (<http://fugu.hgmp.mrc.ac.uk>).

Existen pocos datos acerca de la regulación de la secreción de la enzima. En mamíferos la transcripción y secreción de amilasa están reguladas por factores hormonales como el péptido intestinal vasoactivo



(VIP), el péptido hipofisario de activación de la adenilato ciclasa (PACAP), la colecistoquinina (CCK) y posiblemente otras hormonas que activan a las enzimas protein-quinasa pancreáticas A y C. Los teleosteos presentan células inmunorreactivas al VIP y a la PACAP en su tracto gastrointestinal. Se dispone de indicios de que la relación existente, en mamíferos, entre la liberación de VIP y la expresión y secreción de amilasa también ocurre en peces. Así, la actuación del VIP del bacalao parece ser equivalente a la del VIP porcino en la estimulación de la liberación de amilasa por el páncreas del cobaya.

Numerosos trabajos han puesto de manifiesto que existe una dependencia de la capacidad de secreción de amilasa y el hábito alimentario de los peces, siendo mayor en peces herbívoros y omnívoros que en carnívoros. Confirmando este hecho se encuentran los resultados obtenidos en nuestro laboratorio al determinar la actividad amilásica y la relación entre la actividad amilásica y proteásica en la carpa, carpín, tenca, dorada, trucha y anguila (Figura 3).

Además hemos realizado estudios comparados de diversos parámetros fisiológicos en trucha y esturión, poniéndose de manifiesto una mayor actividad amilásica en el esturión. Ello junto con otros estudios indica un carácter más cercano a la omnivoría en el esturión en comparación con la trucha como ejemplo de carnívoro estricto (Figura 4).

También parece ser que existe una adaptación de la secreción de amilasa al nivel de HC en la dieta, tanto en los peces omnívoros como herbívoros. Por el contrario, en carnívoros como la trucha al aumentar el nivel de HC en la dieta existe una reducción de la actividad amilásica, parece ser que debida a la adsorción de la enzima y la inhabilitación de la misma por las moléculas de almidón. La presencia de inhibidores de la amilasa en el trigo y otros granos puede también ser la responsable de la inhibición enzimática. La mayoría de los inhibidores de la amilasa son proteínas y péptidos.

El ayuno también determina una caída de la actividad amilásica y de las enzimas digestivas en general. Estudios realizados en nuestro laboratorio (sin publicar) ponen de relieve que la actividad de las enzimas digestivas, en el esturión y en la trucha, comienza a reducirse a partir de la segunda semana de ayuno y que la actividad amilásica se ve afectada antes que la proteásica. Asimismo el restablecimiento

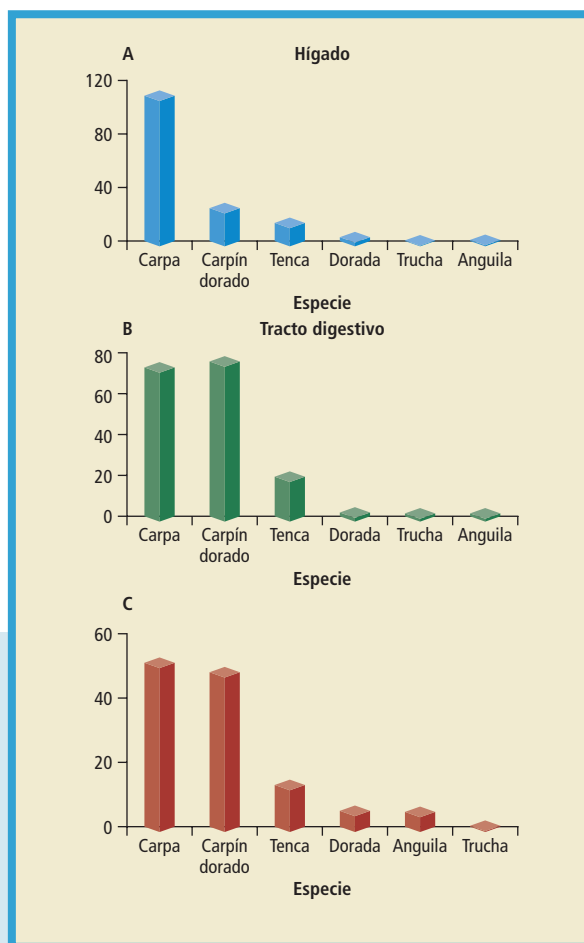


FIGURA 3. Actividad amilásica (Umg) en hígado (A) y tracto digestivo (B) de distintas especies de peces. Relación actividad amilasa/proteasa en distintas especies de peces (C). Hidalgo *et al.* (1998) *Aquaculture* 170: 267-283.

de la capacidad de digerir proteínas después de un periodo de ayuno prolongado es más rápido que la de digerir HC (Cuadro 2).

Otras carbohidrasas que hidrolizan disacáridos han sido encontradas en peces. Así, los homogenizados de la mucosa gastrointestinal, muestran la habilidad de hidrolizar disacáridos como la maltosa, sacarosa y trehalosa. Las enzimas correspondientes (**maltasa, sacarasa, trehalasa**) del borde en cepillo pueden ser detectadas en el lumen y ser activas en el quimo. Están presentes en la región pilórica, media e intestinal de herbívoros, omnívoros y carnívoros. En general la actividad decrece

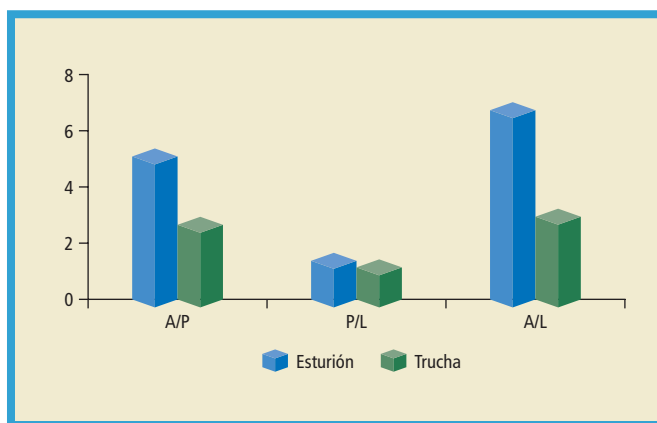


FIGURA 4.

Actividades amilásicas (A) en relación a las proteásicas (P) y lipásicas en la trucha y en el esturión. Furné *et al.* Aquaculture 2005.

desde la parte distal a la proximal. Parece ser que la actividad maltasa es mayor en comparación con la actividad de otras disacaridasas; así, en el salmón del Atlántico la actividad de la maltasa es 10 veces superior a la actividad de trehalasa y sacarasa. La tilapia tiene una gran actividad maltasa localizada en el borde en cepillo del intestino medio, coincidiendo con las áreas de máxima actividad amilásica.

No hay acuerdo acerca de si existe una relación en la secreción de disacaridasas y el nivel de HC en la dieta en los distintos peces. Este aparente desacuerdo puede ser debido a las distintas metodología empleadas (niveles de HC en la dieta, composición de los HC utilizados, técnicas analíticas empleadas, etc.).

La actividad disacaridasa depende del régimen alimentario, siendo mayor en herbívoros que en carnívoros. La temperatura ambiental parece influir, así la actividad maltasa en el pez antártico (*Pagothenia bernacchii*) es mayor que la encontrada en una especie de aguas templadas como la anguila (*Anguilla anguilla*). Puede que el aumento de la actividad en el pez antártico se produzca para compensar la influencia de la baja temperatura.

La quitina es un componente común de la pared celular de algunas bacterias y plantas y el mayor componente del exoesqueleto de artrópodos y de la cutícula de anélidos y moluscos. La degradación de la quitina se debe al ataque por parte de la **quitinasa** de los enlaces β -1,4 en la molécula de N-acetil-glucosamina (NAG) y de la β -N-

CUADRO 2.

Enzimas digestivas del esturión (*Acipenser naccarii*) y de la trucha (*Oncorhynchus mykiss*) durante un periodo de ayuno y de realimentación (R).
Furné *et al.*, Comp. Biochem. Physiol., 2008.

U-P.DIG ⁻¹		AMILASA		LIPASA		PROTEASA	
	Día	Esturión	Trucha	Esturión	Trucha	Esturión	Trucha
AYUNO	5	54.619,5 ± 789,5 ^d	15.974,5 ± 1.196,8 ^c	10.130,4 ± 1.406,8 ^{bc}	4.267,1 ± 480,7 ^b	12.016,9 ± 1.767,0 ^b	9.566,9 ± 880,4 ^c
	10	17.511,1 ± 604,0 ^{bc}	3.047,2 ± 659,8 ^a	7.114,1 ± 743,1 ^{ab}	3.913,5 ± 447,1 ^b	12.677,02 ± 889,3 ^b	9.606,8 ± 1.413,9 ^c
	23	23.410,1 ± 563,0 ^c	3.712,6 ± 513,6 ^a	11.639,6 ± 1.360,5 ^c	3.986,9 ± 534,0 ^b	5.268,0 ± 2.466,8 ^a	4.611,2 ± 1.182,4 ^b
	40	9.216,1 ± 865,4 ^{ab}	3.208,2 ± 837,5 ^a	10.227,2 ± 1.799,1 ^{bc}	5.253,2 ± 957,7 ^b	4.056,3 ± 1.336,1 ^a	4.280,2 ± 1.395,2 ^b
	72	6.025,0 ± 1.298,5 ^a	1.888,9 ± 226,1 ^a	9.101,6 ± 1.735,1 ^{abc}	3.638,2 ± 462,1 ^b	1.042,4 ± 525,0 ^a	2.150,8 ± 260,7 ^{ab}
	10	24.687,7 ± 2.762,1 ^c	3.936,2 ± 736,2 ^a	5.081,4 ± 1.241,2 ^a	1.291,5 ± 490,4 ^a	1.095,4 ± 106,8 ^a	525,1 ± 105,1 ^a
	60	17.443,0 ± 2.032,6 ^{bc}	10.642,1 ± 2061,2 ^b	9.481,6 ± 2.067,3 ^{bc}	7.933,3 ± 1.077,9 ^c	11.257,6 ± 2.337,4 ^b	16.194,3 ± 2.152,1 ^d

Diferencias significativas dentro de cada especie entre los distintos días del experimento se marcan con letras diferentes (p < 0,05).

Diferencias significativas entre ambas especies en un mismo día se marcan con*.

acetilglucosaminidasa que degrada los dímeros y trímeros de NAG en monómeros. Su secreción parece proceder del estómago y del páncreas exocrino y se ha encontrado actividad en todo el tracto digestivo (estómago, ciegos pilóricos e intestino) de muchas especies de peces. Además, también se ha encontrado actividad quitinasa en la sangre y en otros tejidos, quizás como sistema de defensa para atacar a patógenos con cubiertas de quitina.

Las especies en las que se ha encontrado dicha actividad son las que ingieren alimento con esta sustancia, como es el bacalao (*Gadus morhua*), especialmente cuando los peces que ingieren estas presas no están adaptados a su posterior trituración. Se han evidenciado varias quitinasas en lo que se refiere al pH óptimo de actuación, en el tracto intestinal y en el quimo y, al igual que la amilasa, en la propia mucosa intestinal. Donde mayor concentración existe es en el estómago y ciegos pilóricos. No se sabe con certeza si la secreción de las enzimas responsables de la digestión de la quitina es de origen endógeno o bien proceden del mismo alimento o de la microflora intestinal existente en el animal.

Estudios moleculares han aportado evidencias de la producción de quitinasa en los peces que corroboran las medidas de actividades pre-



viamente encontradas. También se ha podido comprobar que la dieta con quitina aumenta la respuesta del sistema inmune de los peces.

Otras enzimas quitinolíticas encontradas en peces son la **quitobioasa** y la **lisozima**. La lisozima ataca internamente los enlaces entre NAGs y entre NAG y N-acetilmuramato. Usualmente la actividad lisozima en plasma, piel y riñón de peces es mencionada en el contexto de la función inmune degradando cubiertas externas de ciertas bacterias. No está claro si la función de esta enzima en los peces es intracelular o también contribuye en la digestión extracelular de la quitina en el intestino.

La actividad **celulasa** ha sido observada en varias especies de peces, aunque existe duda si es de procedencia endógena o de origen microbiano. El pH óptimo de actuación de la enzima es neutro. En un estudio en la carpa herbívora (*Ctnopharyngodon idella*), se ha observado que existe actividad celulasa en el hepatopáncreas y en el intestino y que esta actividad está relacionada positivamente con el nivel de celulosa en dieta. Por otra parte, la adición de antibiótico a la dieta motiva una reducción de un tercio dicha actividad. Ello puede indicar un aporte importante de los microorganismos a la actividad celulasa intestinal. Por otra parte, la actividad residual medida en presencia de antibióticos indica que puede ser debida a enzimas de origen intestinal, aunque tampoco se puede descartar el aporte por parte de microorganismos resistentes al antibiótico utilizado. El pez gato (*Clarias isheriensis*) muestra una actividad celulasa alta en el estómago, intestino proximal, medio y distal cuando se alimenta de plancton de cianofíceas. También se ha encontrado alta actividad celulasa en otros peces como la carpa (*Labeo rohita*) y varios siluros (*Panaque sp*).

Se han descrito procesos de fermentación y de digestión por parte de la actividad microbiana intestinal. Así, microbios intestinales de la carpa (*Cyprinus carpio*) son capaces de metabolizar oligosacáridos comúnmente encontrados en la soja y otras semillas con la liberación de cortas cadenas de ácidos grasos, dióxido de carbono y metano. En el intestino del pez ángel (*Holocanthus passer*) existe una gran cantidad de microorganismos con la habilidad de hidrolizar carbohidratos complejos.

La presencia de bacterias intestinales, principalmente anaerobios obligados, ha sido puesta de manifiesto por diversos estudios. Los áci-



dos grasos volátiles liberados por la fermentación de la microflora bacteriana, principalmente acetato junto con propionato y butirato, atraviesan la pared del intestino y pueden ser detectados en el plasma en apreciable concentración. La importancia de los ácidos grasos volátiles en el aporte de energía y en el metabolismo de los peces herbívoros todavía no ha sido cuantificada.

En especies que se alimentan de algas se ha descrito una actividad **laminariasa** que actúa hidrolizando enlaces β -1,3-glucopiranosilo del laminarano, principal reserva de polisacárido en las algas pardas.

5.3.2. Transporte

En mamíferos, los productos de la digestión luminal y del borde en cepillo de los HC, principalmente D-glucosa, D-galactosa y D-fructosa, alcanzan la sangre atravesando las membranas plasmáticas, sin embargo también puede tener importancia la vía paracelular y la activación de la ruta celular parece ser un estímulo para el transporte paracelular. En los peces el paso por la vía paracelular parece ser inexistente. El transporte de la D-glucosa, D-galactosa y D-fructosa en peces es semejante al descrito en mamíferos siguiendo la ruta celular.

La glucosa y galactosa utilizan un sistema de transporte activo secundario o cotransporte (Figura 5). El transportador para la glucosa y la galactosa es el mismo. la proteína **SGLT1** que se encuentra en la membrana del borde apical del enterocito e introduce 2 iones Na^+ y una molécula de azúcar al interior de la célula; el gradiente para el ión Na^+ lo proporciona la bomba **ATPasa Na/K** dependiente existente en la membrana basolateral del enterocito, que mantiene bajo el nivel intracelular de Na^+ (extrae 3 Na^+ e introduce 2 K^+) y hace electronegativo el interior celular. El proceso ocurre siempre que exista un gradiente electroquímico para el ión Na^+ . El transportador presenta dos requisitos estructurales para actuar como tal y es que los monosacáridos sean hexosas con configuración D y que puedan formar un anillo de piranosa.

La entrada de D-fructosa al enterocito se realiza por un sistema de difusión facilitada mediante un transportador **GLUT5**. Finalmente, los tres azúcares pasan del enterocito a la sangre mediante difusión facilitada utilizando un transportador **GLUT2** existente en el lado basolateral del enterocito (Figura 5).

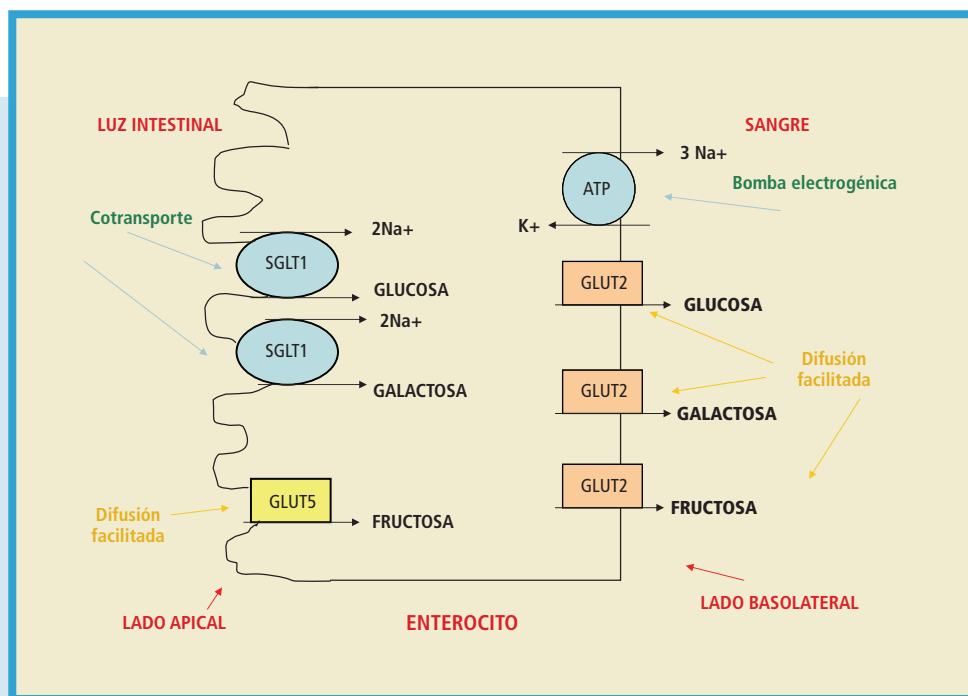


FIGURA 5.
Transporte de carbohidratos.

El transportador SGLT1 descrito para mamíferos contiene 11 secciones transmembrana, un total de 662 residuos de aminoácidos y tiene una masa molecular de 75 kDa. Este transportador parece ser común para todos los vertebrados incluidos los peces.

La competición entre el transporte de D-glucosa y D-galactosa en la membrana del borde en cepillo ha sido mostrado en tilapia, anguila y otras especies. Se ha estimado la densidad de transportadores de glucosa Na⁺-dependientes en el intestino del pez gato (*Ictalurus punctatus*) y parece ser que la menor tasa de absorción de glucosa en el intestino del pez en comparación con mamíferos puede ser explicada, en parte, por la menor densidad de transportadores y, en parte, por la menor cantidad de tejido absorbivo. Ello también explica que el transporte de glucosa muestre varias características a lo largo del tracto gastrointestinal. La afinidad por la glucosa incrementa desde la parte



proximal a la distal del intestino, mientras que en los ciegos pilóricos se muestra la más baja afinidad.

En general el aumento de la densidad de receptores y/o de la cantidad de tejido absortivo parecen ser adaptaciones de los peces omnívoros y herbívoros, como la carpa y tilapia, a una mayor cantidad de HC en la dieta.

Evidencias moleculares recientes apoyan la presencia de GLUT4 y GLUT2 en el intestino de peces. GLUT2 ha sido recientemente caracterizado en el intestino e hígado de trucha arco iris y en adipocitos de la carpa (*Catla catla*).

Se ha comprobado que la captación intestinal de glucosa esta sometida a la regulación de varias hormonas como el glucagón y un glucocorticoide sintético.

La técnica de intestino evertido ha revelado que la tasa de flujo de glucosa hacia la sangre decrece desde el intestino proximal al distal y está en relación con la cantidad de carbohidratos presentes en la dieta natural de los peces. Así, especies de diferentes hábitos alimentarios, alimentadas con la misma dieta, muestran una tasa de flujo de glucosa menor en carnívoros que en omnívoros y, en éstos menor, que en herbívoros.

Factores como el ayuno o la temperatura ambiental modifican la capacidad absortiva de HC: existe una reducción en la absorción de monosacáridos en el intestino de la carpa en el ayuno; también se ha demostrado un aumento de las capacidades de transporte de glucosa con la temperatura ambiental.

Por lo que respecta al transporte de los productos de digestión de la quitina, no se conocen y se asume que la captación por el enterocito es vía difusión facilitada.

5.3.3. Absorción

Estudios de digestibilidad, junto con otros donde se determina la aparición en el plasma de un determinado azúcar después de su administración oral, indican altas tasas de absorción de los monosacáridos en todos los peces, independientemente de los hábitos alimentarios y del nivel en la dieta. Así se ha encontrado una digestibilidad de 95 % para la glucosa, sacarosa y lactosa.



La digestibilidad decrece con el aumento del peso molecular del carbohidrato. Para el almidón es más difícil generalizar sobre su absorción debido a que varía dependiendo de los distintos métodos de recogida de heces y de las diferentes formas analíticas de determinación de los almidones. A ello se une la procedencia, los diferentes tratamientos y la distinta cantidad de los almidones incorporados a las dietas experimentales, junto con las diferentes especies en las que se ha determinado. En la revisión de Krogdahl y Mommsen (2005) aparece una tabla donde se recoge la digestibilidad del almidón determinada en distintos trabajos de investigación, mostrándose valores con un margen muy amplio (15 %-95 %) (Cuadro 3).

CUADRO 3.

Utilización digestiva de diversos HC por distintas especies de peces
(extracto de Krogdahl *et al.*, 2005).

Especie	Fuente de HC	Digestibilidad (%)
Bacalao	Dextrina de patata	26-40
	Harina de trigo nativa	45
	Harina de trigo cocida	59
Trucha arco iris	Almidón de patata	26-29 ¹
	Dextrina	46-67 ¹
	Almidón de maíz nativo	38-55
	Almidón de maíz cocido	87-90
	Almidón de distintas fuentes (maíz, arroz, mandioca, patata)	5-56
Salmón atlántico	Trigo cocido	76-93 ¹
	Maíz precocido	39-90 ¹
	Harina de trigo	34-53
Fletán	Trigo extruido	55-85
Lubina europea	Almidón crudo	66
	Almidón gelatinizado	98
Carpa común	Maíz extrusionado	92
Tilapia	Almidón de maíz	86-92 ¹
	Almidón de maíz nativo	95
	Glucosa	93

¹ En relación inversa con el contenido en HC de la dieta.



Han sido testados una gran variedad de almidones procedentes de distintas fuentes (patata, trigo, avena, algas, etc.) y con distintos procesos (concentrados, calor húmedo, calor seco, fermentación, grano extruido o comprimido, etc.).

En general son más digestibles los almidones procedentes de cereales que los de tubérculos como la patata.

El tratamiento con calor es efectivo para aumentar la digestibilidad en todos los peces y en mayor grado a medida que se aumenta el porcentaje de inclusión. El almidón en su forma nativa es pobremente digerido, la ruptura parcial por el calor húmedo (gelatinización) rompe la estructura cristalina del grano de almidón, lo solubiliza e incrementa el área de superficie de actuación de la amilasa que libera moléculas de dextrinas, maltosa y glucosa. De esta forma minimiza el trabajo previo requerido por la amilasa y facilita el acceso del resto de enzimas a las moléculas de glucosa.

La fuente de almidón también influye, así el almidón de avena es más digestible que otros almidones. Estudios en carpa y tilapia revelan una digestibilidad para el almidón de trigo superior a la del maíz, cebada y guisante. Se ha comprobado que el almidón de trigo es más susceptible al ataque de la amilasa probablemente por su forma y por su diferente estructura cristalina.

Es difícil predecir la digestibilidad de los HC en la dieta, a partir de las digestibilidades de ingredientes individuales, ya que la combinación de diferentes almidones motiva que la digestibilidad de la mezcla sea mayor que la media de las digestibilidades por separado. Además, también se ha comprobado que existe una relación inversa entre el nivel de hidratos de carbono incorporado en la dieta y la digestibilidad de los mismos, tanto en peces carnívoros como omnívoros. Quizá sea debido a que se produzca una inhibición por sustrato de la amilasa.

El nivel de grasa en dieta influye negativamente en la digestibilidad del almidón lo que probablemente sea debido a una reducción del tiempo de actuación de las enzimas digestivas motivado por una aceleración del tránsito intestinal ante una dieta rica en lípidos. Parece que la calidad de la grasa también puede influir, encontrándose mayor digestibilidad cuando la fuente de grasa son triglicéridos de cadena media que cuando es aceite de pescado rico en ácidos grasos poliinsaturados y altamente insaturados.



Finalmente, parece que la salinidad puede afectar a la digestibilidad del almidón en los peces anádromos. Así, el agua salada reduce la digestibilidad en el salmón y, en menor grado, en la trucha. Estudios realizados con segmentos de intestino han demostrado una menor tasa de transporte de azúcares cuando el animal se encuentra en medio salino.

5.4. METABOLISMO DE LOS HIDRATOS DE CARBONO

Como afirman Dabrowski y Guderley (2002), «...la maquinaria metabólica de los peces es esencialmente similar a la, mucho mejor estudiada, de los mamíferos...», residiendo las principales diferencias funcionales en «...los mecanismos de control, la sensibilidad a factores externos bióticos y abióticos y el papel concreto que juegan los distintos órganos y tejidos».

5.4.1. Rutas metabólicas principales

Una vez absorbidos, los productos de la digestión de los HC, esencialmente glucosa, se distribuyen mediante el torrente sanguíneo a los distintos sistemas orgánicos en los que pueden seguir uno de estos tres destinos:

- almacenarse como reservorio energético, en forma de glucógeno
- ser utilizados para la provisión directa e inmediata de energía por vía aeróbica y/o anaeróbica
- transformarse en otros compuestos que podrán ser utilizados para la síntesis de sustancias no carbohidratadas.

Estas tres posibilidades no siguen rutas totalmente independientes: para almacenarse en forma de glucógeno, la glucosa podría ser transformada previamente en otro compuesto; durante el proceso de degradación para la producción de energía se pueden generar compuestos intermedios que se usen para la síntesis de terceros compuestos; la síntesis de glucógeno puede, al menos en parte, basarse en compuestos que originalmente no entraban en la categoría de los HC, etc.



5.4.1.1. Síntesis de glucógeno

Se basa en la adición de sucesivas unidades de glucosa a las cadenas preexistentes en un proceso catalizado por la *glucógeno-sintasa* y que requiere la previa fosforilación de la glucosa a glucosa-1-fosfato, su isomerización a glucosa-6-fosfato (glucosa-6-P) y su transformación en UDP-glucurónico, siendo este nucleótido-azúcar el sustrato efectivo para la síntesis de glucógeno.

Esta vía directa ha sido descrita en los hepatocitos de algunas especies de peces, pero la vía principal de incorporación de glucosa a glucógeno es a partir de la obtenida por *gluconeogénesis* a partir de lactato y/o aminoácidos. El lactato puede tener su origen en la hidrólisis parcial de moléculas de la propia glucosa en, por ejemplo, los glóbulos rojos.

5.4.1.2. Movilización del glucógeno

En caso de necesidad, se recurre a las reservas hepáticas y musculares de glucógeno para la obtención de energía de la glucosa mediante la *glucolisis*. En el caso del hígado, la glucosa obtenida puede ser liberada a la sangre para ser utilizada allí donde se necesite. En el caso del músculo, la mayor parte de la energía resultante del proceso es utilizada «*in situ*».

La *glucogenolisis* es catalizada por la *glucógeno-fosforilasa*, que cataliza la hidrólisis con fosforilación de los enlaces α -1,4 terminales de las cadenas, generando moléculas de D-glucosa-1-fosfato que luego se isomerizan, por acción de la *fosfoglucomutasa*, a D-glucosa-6-P que puede ser exportada, por vía sanguínea, a los distintos territorios titulares.

5.4.1.3. Glucolisis

Para ingresar en la ruta glucolítica, la glucosa debe ser previamente fosforilada. La procedente de la glucogenolisis ya lo está, pero la de otros orígenes debe serlo y ahí intervienen dos posibles enzimas: la *hexoquinasa* (HK) y la *glucoquinasa* (GK). La primera tiene una alta afinidad por la glucosa por lo que asegura la provisión de sustrato para la glucolisis incluso en condiciones de glucemia reducida. Es inhibida por altos niveles del producto, la glucosa-6-fosfato. La función de la glucoquinasa parece ser más bien retirar de la sangre la glucosa post-



prandial; este enzima no es inhibida por glucosa-6-P y, de hecho, para ser operativa necesita de altos niveles de glucosa en sangre pues su afinidad por el sustrato es menor. La presencia de este enzima en un amplio número de especies de peces no se ha demostrado sino hasta fechas recientes gracias a la introducción de técnicas de detección más sensibles.

Posteriormente la glucosa fosforilada converge con otras hexosas para formar fructosa-6-fosfato que se transforma en fructosa-1,6-bis-fosfato en reacción catalizada por la *fosfofructoquinasa* (PFK) para, a continuación, hidrolizarse a dos triosas-fosfato con intervención de la *aldolasa*. Hasta esta etapa, el proceso resulta consumidor neto de energía.

Las triosas-P (dihidroxiacetona-fosfato y gliceraldehído-3-fosfato) son interconvertibles y van a producir sustratos defosforilados con génesis de ATP y NADH, esto es, el proceso empieza a ser generador de energía. Tras pasar por fosfo-enol-piruvato (PEP) se genera piruvato en reacción catalizada por la *piruvato-quinasa* (PK).

El balance neto de la oxidación de una molécula de hexosa son 2 ATP y 2 NADH; este último puede reoxidarse intramitocondrialmente y contribuir a la génesis de más ATP.

La *lactato-deshidrogenada* (LDH) cataliza la reducción de piruvato a lactato generándose el NAD oxidado necesario para que la ruta glucolítica no se detenga; no obstante, en condiciones aeróbicas como las normalmente imperantes en el hígado, esta provisión de NAD la garantiza la antes citada oxidación mitocondrial del NADH.

5.4.1.4. Oxidación intramitocondrial

En cualquier caso, la oxidación de los glúcidos culmina intramitocondrialmente en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos (TCA) y la fosforilación oxidativa. De nuevo, el esquema básico es esencialmente similar al descrito en mamíferos, variando únicamente algunas condiciones específicas.

El piruvato es convertido inicialmente a acetil-CoA por acción de la *piruvato-deshidrogenasa* (PDH); posteriormente, el acetil-CoA se condensa con oxalacetato, por acción de la *citrato-sintasa* (CS) y, en esa forma, ingresa en el TCA ó ciclo de Krebs. En esencia, durante el ciclo



se desprenden los dos carbonos del acetil-CoA como CO_2 mientras que los compuestos de 6 carbonos formados al iniciarse el mismo son oxidados gradualmente generándose 3 NADH, 1 FADH y 1 GTP por cada molécula de acetil-CoA que ingresó en el ciclo. La oxidación del NADH a NAD inicia la cadena de transporte electrónico en la que intervienen los diversos citocromos, transporte que va acompañado por la creación de un gradiente protónico y eléctrico que proporcionan la energía para la síntesis de ATP a partir de ADP y P_i . Aunque, teóricamente, la oxidación de cada molécula de NADH proporciona energía para la síntesis de tres moléculas de ATP, la estequiometría real es algo más modesta (1.5-2.4 moléculas de ATP por NADH oxidado) debido a una cierta «fuga» de protones que desacoplan parcialmente la cadena de transporte de electrones y la fosforilación oxidativa. Así, aunque el rendimiento energético de la oxidación de los hidratos de carbono será siempre mayor que el de su utilización anaeróbica, suele ser menor que el tradicional de 36 moléculas de ATP por molécula de glucosa, admitido en muchos libros de texto.

5.4.1.5. Ruta de las pentosas-fosfato

Una ruta metabólica alternativa a la descrita para la utilización de la glucosa y que es de gran importancia fisiológica es la de las pentosas-fosfato que tiene dos funciones principales: generar NADPH que se utilizará en procesos biosintéticos siendo, a la vez, una importante defensa antioxidante y producir ribosa necesaria para la síntesis de ácidos nucleicos.

5.4.1.6. Gluconeogénesis

Una forma de disponer de glucosa libre, alternativa al aporte exógeno o a la movilización de reservas previas, es la gluconeogénesis o síntesis *de novo* de glucosa a partir de precursores varios no carbohidratos. Se trata de una ruta, esencialmente inversa a la de la glucólisis, que requiere de un cierto aporte de energía en forma de ATP en dos reacciones «cuesta arriba» desde el punto de vista energético. El primero de dichos «saltos» significa la transformación de piruvato, principal punto de convergencia de los esqueletos desaminados de los aminoácidos gluconeogénicos, en fosfoenol-piruvato lo que conlleva



dos reacciones secuenciales catalizadas, respectivamente, por *piruvato-carboxilasa* (PC) y *fosfoenolpiruvato-carboxiquinasa* (PEPCK). Este salto consume dos moléculas de ATP. El segundo «salto» convierte la 1,6-fructosa-bis-fosfato en fructosa-6-fosfato y es catalizado por *fructosa-bisfosfatasa* (FBPasa). A partir de ahí la isomerización a glucosa-6-P y la acción de la *glucosa-6-fosfatasa* culminan el proceso.

Si el sustrato gluconeogénico es el glicerol, su incorporación a la ruta de síntesis de glucosa se realiza «más arriba»: a la altura de las triosas-fosfato.

5.4.2. Mecanismos de control

Como para cualquier otro de los elementos implicados en el metabolismo, la tasa de flujo de las rutas de síntesis, o almacenamiento de reservas, y de hidrólisis, o movilización de las mismas, deberán ajustarse a las necesidades concretas de energía en cada momento así como a la disponibilidad de los respectivos sustratos. Los animales que exhiben un cierto grado de complejidad en sus rutas metabólicas deben disponer de un preciso sistema de control que procure mantener el aporte de energía a los tejidos, cuyas necesidades serán mayores o menores en el tiempo pero prácticamente continuas, frente a unos aportes más o menos intermitentes según el patrón alimentario de la especie en cuestión.

En última instancia el gobierno central de la intensidad de las diferentes rutas es esencialmente endocrino, aunque la división vegetativa del sistema nervioso también puede jugar un papel, siendo los intermediarios concretos determinados enzimas clave de cada ruta, cuya actividad será gobernada mediante cambios en la cantidad de catalizador, en su afinidad por el sustrato, en las concentraciones de cofactores, etc.

En el caso concreto de los HC, un importante punto de control es la actividad relativa de los enzimas claves de la glucogenolisis (glucógeno-fosforilasa) y de la glucógenosíntesis (glucógeno-sintasa). Ambos enzimas se activan/desactivan mediante reacciones de fosfo/defosforilación. Así, la fosforilasa se activa (paso de fosforilasa *b* o inactiva a fosforilasa *a* o activa) mediante una fosforilación catalizada por una *fosforilasa-quinasa* que, a su vez, también se activa mediante fosforilación.



Otro importante punto de control se refiere al control recíproco de las rutas glucolítica y gluconeogénica con el fin de evitar ciclos fútiles. El piruvato puede ser utilizado, tanto para su transformación en acetil-CoA que ingresa en el ciclo de Krebs como para fabricar oxalacetato e iniciar la ruta gluconeogénica. Cuando la célula tiene satisfechas sus necesidades energéticas, se acumula NADH (la fosforilación oxidativa se ha hecho más lenta) y éste inhibe el ciclo de Krebs con lo que se acumula acetil-CoA que, a su vez, inhibirá la PDH y se estimulará la gluconeogénesis por lo que la mayor parte del piruvato terminará como glucosa.

Otra lugar clave para esta regulación recíproca es la reacción glucolítica catalizada por PFK y la correspondiente gluconeogénica (catalizada por FBPasa). AMP y ADP estimulan al primer enzima y, por tanto, la glucolisis, mientras que ATP y citrato la inhiben. En general cuando se acumula citrato (resultado de la condensación de acetil-CoA y oxalacetato) o cuando el ATP es el componente mayoritario del *pool* intracelular de adenilatos, se estimula la gluconeogénesis y se inhibe la glucolisis.

La mayoría de los estudios con peces se han hecho con especies carnívoras mientras que los correspondientes a mamíferos se han hecho con omnívoros. Esto significa que la dieta habitual de los primeros aporta menos HC que la de los segundos por lo que no es de extrañar la existencia de algunas importantes diferencias como, por ejemplo, la mayor tasa gluconeogénica detectada en peces, incluso estando bien alimentados.

Por lo que respecta a hormonas implicadas, las catecolaminas, el glucagón y péptidos relacionados (GLPs) y los glucocorticoides estimulan la liberación de glucosa desde los depósitos de glucógeno, pero también la gluconeogénesis (esto es, las dos formas de poner a disposición de los tejidos mayores cantidades de glucosa) mientras que la insulina y los factores de crecimiento del tipo de la insulina (IGFs) son los principales promotores de la síntesis de glucógeno.

En los peces la acción gluconeogénica de las hormonas citadas parece ejercerse por activación, mediante fosforilación, de la PK y de la PFK, enzimas que, como indicamos antes, estaban implicados en las reacciones clave de la ruta inversa a la glucolisis.



La insulina deprime la actividad fosforilásica en los hepatocitos y, por tanto, la movilización del glucógeno pero no parece tan claro que active la glucógeno-sintasa (al menos en trucha), a no ser que en el medio de incubación estén presentes elevadas concentraciones de glucosa. Se ha confirmado la presencia simultánea de ambas enzimas en el hepatocito siendo el desplazamiento relativo de actividades de una y otra el que determina la predominancia de catabolismo o anabolismo.

En los últimos años se ha dedicado un considerable esfuerzo investigador a la elucidación de los mecanismos-señal implicados en el control hormonal de estos procesos en peces. Así, se ha podido comprobar que tanto glucagón como catecolaminas pueden usar AMPc e IP_3 como segundos mensajeros intracelulares en tanto que el Ca^{2+} podría mediar los efectos de la adrenalina mediados por receptores α .

En algún caso el efecto de la hormona puede modificar el número o actividad de los receptores de membrana a esa u otras hormonas, así altos niveles mantenidos de corticoides (asociados a estrés crónico) pueden incrementar la presencia de receptores adrenérgicos y aumentar la sensibilidad de los hepatocitos a la liberación de glucosa.

Recientemente ha aumentado el ritmo de detección de otros receptores (para insulina, factores de crecimiento) en diversos tejidos de peces con un patrón similar al descrito en mamíferos.

Con respecto a la posible inducción/represión de la expresión génica de ciertos enzimas clave por variaciones de la oferta alimentaria de HC, los resultados son variables y, así, se ha demostrado en algunas especies la capacidad de inducir la expresión de los genes de la GK por la elevación de HC en la dieta pero, también, la falta de respuesta de los correspondientes a los enzimas gluconeogénicos, lo que se interpreta como si la reducida participación de los HC en la dieta natural de estos animales, hubiera sido la determinante, por selección natural, de la carencia de estos mecanismos mediante los que una alta ingesta de los mismos debiera reprimir la expresión de los enzimas gluconeogénicos.

Un lugar común en los estudios, incluidos los más antiguos, del metabolismo de los HC en los peces se refería a la considerablemente mayor tolerancia de los mismos, en relación con los mamíferos, a amplias fluctuaciones de los niveles de glucosa en sangre que, por ejemplo,



les permitían sobrevivir largos periodos de tiempo con glucemias casi indetectables. No obstante, en condiciones normales de alimentación, los niveles de glucosa en sangre se mantienen relativamente estables y responden de forma «convencional» a los tratamientos hormonales: glucagón, catecolaminas y glucocorticoides los aumentan, insulina los deprime.

Una peculiaridad importante con respecto a mamíferos reside en los eritrocitos de los peces que poseen núcleo y toda la maquinaria citoplasmática necesaria para oxidar la glucosa. Ahora bien, no está definitivamente claro cuál es el combustible usado preferentemente por estas células.

5.4.3. Metabolismo muscular

El compartimento tisular donde se ha estudiado con más detalle el metabolismo de estos compuestos es el músculo y ello por varias razones, no siendo la menor, la elevada contribución de este tejido al peso total del pez, así como su papel determinante en su actividad vital básica y la peculiaridad que significa la coexistencia de varios tipos de fibras, estructural y metabólicamente diferentes.

Empezando por el último aspecto, en la musculatura de los peces son claramente reconocibles, como en otros vertebrados, un tipo de fibras musculares oxidativas rojas (por su alto contenido en mioglobina) que usualmente se disponen superficialmente en la vecindad de la línea lateral y unas fibras glucolíticas blancas que forman el grueso de la musculatura. Estos dos tipos pueden coexistir con otras fibras de características intermedias.

Las fibras rojas tienen una alta capacidad aeróbica con una elevada disponibilidad de mitocondrias y un notable aporte de oxígeno. Las blancas son pobres en mitocondrias y están menos irrigadas por lo que su metabolismo es fundamentalmente anaeróbico si bien su alta densidad de elementos contráctiles y su elevado diámetro les permiten desarrollar tensiones considerables. La facilidad de separación de unas y otras ha ayudado en la comprensión de su papel fisiológico en mayor medida que en otros vertebrados.

En cierto sentido, el metabolismo de los HC en el músculo es más sencillo que en el hígado pues va encaminado esencialmente a la ob-



tención de ATP que será utilizado para diversos procesos, incluyendo la propia contracción, y no tanto para la fabricación de intermediarios que vayan a ser utilizados en rutas biosintéticas.

El músculo blanco es el principal responsable de estallidos de actividad intensos pero de corta duración. Está formado por fibras de contracción rápida y, dada su escasa capacidad oxidativa y reducido aporte sanguíneo, depende casi enteramente de los combustibles preexistentes. Inicialmente se movilizan las reservas de fosfocreatina y luego se inicia una intensa glucólisis anaeróbica que conduce a la acumulación de lactato y acidificación intracelular. Los cortos intervalos de tiempo de reposo entre las sacudidas corporales permiten la regeneración de los depósitos de fosfocreatina.

En peces muy activos, como salmónidos o túnidos, la concentración de lactato alcanza cifras tan altas como 30 mM o más y el pH cae 0.5 puntos tras un ejercicio extenuante. Esta acumulación de lactato casa bastante bien con la cantidad de glucógeno movilizado.

Para la recuperación del músculo sería necesario eliminar ese lactato; como el aporte sanguíneo es relativamente reducido, la mayoría se consume *in situ* generando energía a utilizar en la síntesis de glucógeno pero además, y como ocurre en otros ectotermos, gran parte del glucógeno muscular es regenerado a partir del lactato por un mecanismo no bien delimitado ya que el cortocircuito gluconeogénico que «salte» la PK no parece estar presente. En cualquier caso, la contribución hepática a la recirculación del lactato parece ser poco importante. Como la captación de glucosa también parece poco significativa en estas fibras musculares, el ciclo de Cori no parece ser relevante en las mismas, a diferencia de las fibras oxidativas rojas donde la captación de glucosa sí que contribuye de forma notable a la regeneración del glucógeno.

La recuperación metabólica completa es un proceso lento en peces, necesitándose hasta 24 horas para recuperar el glucógeno a niveles previos y deshacerse de la carga de lactato. En realidad, la duración del proceso parece depender también de la naturaleza del estímulo desencadenante del estallido de actividad y su persistencia o no: si se trata de una condición estresante, los altos niveles de cortisol mantenidos pueden retrasar esa recuperación pero, si tras el ejercicio extenuante



se permite a una trucha una actividad natatoria tranquila, los niveles de cortisol caen rápidamente y la recuperación energética del músculo se acelera.

El tamaño del pez también parece tener su influencia pues peces más pequeños, con menor actividad glucolítica y de acumulación de lactato, se recuperan más rápidamente tras un ejercicio extenuante.

Aunque comparativamente, la tasa de glucogenolisis en el músculo es mucho mayor que en el hígado; el mecanismo responsable, basado en la activación de la fosforilasa, parece ser el mismo si bien no están claros los intermediarios (¿ Ca^{2+} como segundo mensajero para la activación de una fosforilasa-quinasa?).

En ciertas especies la actividad natatoria es continua e intensa, particularmente en aquellas que dependen de la misma para ventilar las branquias. En este sentido, los músculos responsables se parecerían en cierto modo al músculo cardíaco. Las capacidades para una natación sostenida (200 minutos o más) implican una actividad muscular que sobrepasa claramente a los mamíferos más «atléticos». Esta actividad se debe a las fibras musculares oxidativas rojas bien provistas de riego sanguíneo y que, además, disponen de reservas intracelulares de glucógeno y grasa. Dado el carácter carnívoro de muchos de estos peces, se ha postulado con frecuencia que el catabolismo de las proteínas contribuiría de forma notable al aporte de energía para esta actividad pero estudios sobre la secuencia de utilización de sustratos durante las largas migraciones de algunas especies (salmónidos) muestran que este sustrato es el utilizado en último lugar. De hecho, estudios sobre cantidad de O_2 consumido, CO_2 y NH_3 excretados restan importancia al papel de las proteínas en este menester y refuerzan el de los HC y, sobre todo, el de los lípidos. Durante la natación sostenida la contribución de la glucosa circulante parece ser poco relevante (se libera poca desde el hígado y se capta poca por el músculo) por lo que sería el glucógeno la principal fuente carbohidratada de energía.

En cualquier caso la cantidad de mitocondrias en este tipo de fibras es impresionante, pudiendo llegar a representar hasta casi la mitad del volumen celular; esto, que también podría interpretarse como indicativo de una menor eficacia unitaria en relación con otros músculos, no parece ser sostenido por estudios sobre capacidad oxidativa de mito-



condrias aisladas, área superficial de sus crestas, etc., que resultan estar en línea con las de músculos de otros vertebrados como mamíferos y aves, por lo que ese elevado número, unido al alto nivel de acumulación de lípidos y una fácil provisión de oxígeno facilitan la alta tasa de metabolismo aeróbico en unas células tan grandes.

Como típicos ectotermos, la generalidad de los peces reflejan, en mayor o menor medida, en su temperatura corporal la del ambiente en que viven; dado que la temperatura del medio en que tienen lugar las reacciones metabólicas es un importante determinante de su cinética, los peces deben disponer de algún mecanismo que los homeotermos, en principio, no necesitarían, para mantener la integridad de su metabolismo dentro de ciertos límites frente a posibles cambios térmicos ambientales.

Durante la aclimatación al frío en un laboratorio, el músculo de los peces aumenta su capacidad aeróbica lo que mejora la posibilidad de mantener la natación sostenida. Esta respuesta se inicia con la expresión de las «*heat shock proteins*» (HSP) y continua con cambios más graduales, tanto en la composición de fosfolípidos y ácidos grasos como en los niveles de enzimas intramitocondriales (se puede modificar el número de mitocondrias o el área superficial de sus crestas). Una vez concluido el proceso (que puede llevar varias semanas), tanto las mitocondrias aisladas como el músculo en su conjunto han cambiado su capacidad oxidativa. Los estudios de aclimatización en condiciones naturales (estacionalidad) muestran resultados coincidentes con lo antes expuesto en varias especies si bien pueden existir diferencias interespecíficas reflejando la mayor o menor preeminencia de relojes endógenos.

Además de la temperatura, la capacidad oxidativa global del músculo depende de la genética, la etapa de crecimiento, la fase del ciclo reproductor, etc. Por ejemplo, al crecer el pez, aumenta el número y tamaño de sus fibras musculares así como sus capacidades metabólicas quizá en consonancia con unas diferentes necesidades locomotoras. En mamíferos el perfil metabólico del músculo es más constante; en cambio en peces, la capacidad de desarrollo de estallidos de actividad muscular aumenta en los individuos jóvenes mientras que la capacidad metabólica muscular disminuye durante la reproducción, quizá como consecuencia del destino energético preferencial hacia aquel proceso.



En general, los peces son más sensibles que los mamíferos a una amplia batería de estímulos ambientales en lo que a su metabolismo de carbohidratos se refiere, no siendo lo menos importante la mayor facilidad para cambiar el estado de hidratación de los tejidos. Finalmente, no debe dejar de tenerse en cuenta que la enorme variabilidad filogenética de los peces y la gran diversidad de hábitats que colonizan, obligan a ser extremadamente prudentes a la hora de hacer generalizaciones a partir de las 3-4 especies más comúnmente utilizadas en este tipo de estudios.

5.4.4. Sobre la pretendida «intolerancia» de los peces a la glucosa

Estudios con glucosa marcada llevados a cabo en varias especies de peces muestran que no existen diferencias esenciales con mamíferos en lo que concierne a los porcentajes de dicha glucosa que se destinan a consumo energético inmediato, se excretan en orina o aparecen en macromoléculas de reserva. Lo que sí parece claramente diferente es la tasa a que ocurren dichos procesos, claramente más reducida en peces que en mamíferos. Estudios posteriores han confirmado, por una parte, la existencia de diferencias interespecíficas dentro de los propios peces en aspectos tales como la tasa de *turn-over* de la glucosa, el tiempo de tránsito de la misma, etc. y, por otra, que la tasa general del metabolismo glucídico es claramente inferior a la de los endotermos mamíferos, lo que se interpretó como una «cierta dificultad» para la utilización metabólica de los glúcidos (sea por déficits enzimáticos o endocrinos) que restaba eficacia a la utilización de la glucosa del alimento.

Una manifestación recurrente de esta circunstancia podría surgir de la reiteración de pruebas de «*tolerancia a la glucosa*» que coincidían en que, tras la administración de una determinada dosis oral de esta sustancia, la hiperglucemia resultante era mucha más marcada y duradera que en mamíferos, aunque con diferencias interespecíficas y, así, en la carpa y otras especies herbívoras u omnívoras, esa respuesta era menos severa (menos intensa y/o menos duradera) que, por ejemplo, en seriola, dorada u otras especies carnívoras. Volveremos sobre esto más adelante.

En ocasiones, a estas hiperglucemias mantenidas seguían episodios de hepatomegalia con aumento de los niveles hepáticos de glucógeno;



una vez más, estas respuestas eran menos marcadas en especies omnívoras como ciertas tilapias o carpas.

La magnitud de estas respuestas viene condicionada, como ocurre en otros animales, por la naturaleza del HC suministrado y, así, son menos marcadas cuando se trata de polisacáridos (dextrinas y almidones), que tardan más en ser digeridos y provocan una hiperglucemia más reducida, que cuando se trata de azúcares simples como maltosa o glucosa cuyo índice glucémico es considerablemente mayor.

La hiperglucemia cursa con glucosuria, al menos en varias de las especies estudiadas, cuya magnitud es directamente proporcional a la carga dietaria de carbohidratos e inversamente proporcional a la complejidad molecular de los mismos.

Son menos abundantes los estudios sobre tolerancia a otros azúcares (galactosa, xilosa) que surgen tras la alimentación con NSPs de origen vegetal pretratados con las hidrolasas correspondientes. Estos pocos datos pintan un cuadro similar al descrito para la glucosa o incluso peor, esto es, necesidad de tiempo más prolongado para reducir los niveles circulantes de esos monosacáridos, tanto cuando se añaden a la dieta como cuando se inyectan intraperitonealmente.

Esta «intolerancia» a la glucosa podría tener, al menos, dos explicaciones básicas: (1) una baja producción de insulina, (2) una reducida utilización periférica de la glucosa por déficit de moléculas receptoras a la insulina y/o transportadoras de glucosa.

Midiendo la respuesta de los niveles circulantes de insulina a estas cargas agudas o crónicas (alimentación durante días o semanas con dietas con niveles crecientes de monosacáridos, dextrinas o almidón pregelatinizado) coincidían en señalar una débil y lenta respuesta de la hormona a la carga sanguínea de glucosa, remedando un estado similar al descrito en algún tipo de diabetes de mamíferos. Uniendo esto a la hiperglucemia mantenida citada antes, se llegó a la conclusión de que el mal uso de los HC de la dieta se debía a los bajos niveles circulantes de insulina en los peces en relación con mamíferos.

Sin embargo, estudios con radioinmunoensayo específico para la hormona en peces, muestran, al menos para algunas especies, niveles circulantes basales de insulina en línea e incluso superiores a los encontrados en mamíferos, por lo que habría que pensar, según ciertos



autores, que la de los peces carnívoros es una suerte de «*diabetes no dependiente de insulina*». De hecho, en varias especies se ha comprobado que la insulina responde más a una elevación de aminoácidos en plasma que a la de glucosa (esto ha sido invocado por algunos para explicar un efecto neto negativo sobre la liberación de insulina cuando los glúcidos se añaden a la dieta reemplazando a las proteínas), mientras que, curiosamente, la glucosa es un más eficaz estimulante de la secreción de somatostatina por las células D del páncreas; esta hormona inhibe la liberación de insulina por su vecinas células β , lo que podría explicar esa falta de respuesta de la insulina a la glucosa administrada por vía oral o intraperitoneal.

Por otra parte, no está claro en qué medida contribuyen a estos niveles «totales» de insulina circulante las posibles moléculas pro-insulina no activas. Finalmente, no se debe olvidar que, en la regulación de la glucemia, pueden estar implicadas otras hormonas distintas de la insulina como glucagon, péptidos parecidos al glucagon (GLPs), factores el crecimiento del tipo de la insulina (IGFs), la hormona del crecimiento, las catecolaminas, etc., cuyas relaciones de dependencia mutua con la insulina podrían ser diferentes a las descritas en mamíferos.

En lo que concierne a la utilización periférica de la glucosa, estudios relativamente recientes han demostrado la existencia de moléculas transportadoras (GLUT), aunque posiblemente no análogas a las de mamíferos. Está por establecer su grado de dependencia de los receptores para la insulina y los posibles mediadores implicados.

Así mismo, se ha demostrado la existencia de receptores a la insulina en el músculo de trucha y otras especies, aunque en número más reducido que en mamíferos y en mayor proporción en peces herbívoros que en carnívoros. En cualquier caso, su capacidad de unir a la glucosa no está relacionada con la cantidad de HC presentes en la dieta, por lo que la intolerancia a la glucosa detectada en peces carnívoros, no puede deberse a un déficit de insulina ni a una alteración del mecanismos de reconocimiento de la hormona por los tejidos diana, sino, quizá, a un defecto en la fosforilación del receptor (por la tirosin-quinasa), etapa inicial en la cadena de eventos disparada por la interacción receptor-hormona, o en alguna otra etapa ulterior de esta cadena.



Llama la atención el número comparativamente mayor de receptores para IGF que para la propia insulina existente en numerosas especies de peces. Los IGF están claramente relacionados con el desarrollo del individuo pero su papel en el metabolismo no es tan claro.

Hay datos de la «inducibilidad» de la GK hepática por una dieta rica en HC en contra de lo que se pensaba hasta no hace mucho. Así, en especímenes en ayunas o alimentados con una dieta alta en proteínas y baja en HC no se detectaba actividad del enzima, pero sí cuando la dieta cambiaba a otra con 23-25 % de carbohidratos.

Como hemos visto antes, la provisión de glucosa para glucolisis puede derivar de la glucogenolisis muscular y/o hepática pero también de su fabricación a partir de substratos no glucídicos (lactato, glicerol, cetoácidos) por medio de la gluconeogénesis. La glucosa-6-Pasa cataliza la reacción final de este proceso, reacción que «cortocircuita» la que, en sentido inverso, catalizan HK y/o GK. Podría pensarse que una no respuesta de aquél enzima frente a los HC en la dieta, mantuviera permanente activa una alta tasa gluconeogénica, esto es, el uso como fuentes de energía de substratos no carbohidratados que contribuiría al mantenimiento prolongado de la hiperglucemia detectada tras la ingesta de una dieta rica en HC o tras la administración oral o intraperitoneal de una carga de glucosa. Si bien se ha descrito una cierta represión de la actividad glucosa-6-Pasa en la trucha tras la ingesta de una única comida con altos niveles de hidratos de carbono, ésta no parece ser de la magnitud suficiente como para inhibir la funcionalidad del enzima, lo que llevó a reforzar la idea de que la mala utilización de los HC dietarios por esta especie se debiera a una falta de regulación de la disponibilidad de substratos para la gluconeogénesis. En perca, en cambio, sí que se ha detectado una inhibición de la glucosa-6-Pasa por el suministro de una dieta con un cierto nivel de carbohidratos.

En un estudio comparado entre pez gato, anguila y trucha se informó de que la «intolerancia» a la glucosa aumentaba en el orden citado, coincidiendo con una caída paralela en la actividad de hexoquinasa. Al estudiar en truchas y anguilas el efecto de dietas en las que parte del contenido proteico se sustituye por cantidades crecientes de almidón, además de la mejor disponibilidad de la anguila para digerir y usar para crecimiento las dietas con cantidades más altas de almidón,



se detectaron algunas diferencias en la respuesta metabólica de ambas especies como se indica más adelante.

5.5. FUENTES DE HC Y NIVELES ACONSEJABLES DE INCORPORACIÓN EN LOS PIENSOS PARA PECES

Las materias primas que aportan los HC en los piensos de animales domésticos son fundamentalmente cereales enteros o con distintos pretratamientos. En los piensos para peces que no tienen capacidad para digerir fibra, aunque niveles de hasta el 12 % pueden ser tolerados por la mayoría de las especies, cantidades superiores al 3-5 % no son recomendados, lo que descarta otra serie de fuentes vegetales en las que estos hidratos de carbono complejos tienen una presencia más elevada.

El cuadro 4 muestra algunas fuentes potenciales de HC en piensos para peces aunque no es sino una expresión reducida de la amplísima variedad existente, cuya caracterización completa podría resultar muy útil, especialmente si se trata de fuentes de bajo coste para el desarrollo de la acuicultura, principalmente en países en vías de desarrollo.

Diversos tratamientos aplicados a las fuentes, antes o durante el proceso de fabricación del gránulo de pienso, pueden mejorar su uti-

CUADRO 4.

Composición en macronutrientes (% en sustancia seca) de las principales fuentes convencionales potencialmente incorporables a piensos para acuicultura (modificado de Hasan, 2001).

	Proteína	Lípidos	HC	Fibra
Tortas y harinas de oleaginosas Sésamo, mostaza, lino, colza, copra, pepitas de palma	20-40	2-15	20-55	6-15
Soja, algodón, cacahuete	45-60	1-7	20-35	6-9
Subproductos de cereales	6-17	4-15	34-65	4-18
Granos de cereales (cebada, maíz, arroz, trigo, sorgo)	5-14	1-9	>75-80	2-5
Legumbres (cacahuete, altramuza, judías)	18-45	1-8	30-70	4-12
Tubérculos (patata, mandioca)	2-10	1-3	70-90	2-6
Harinas de hojas	11-30	2-7	38-65	4-19



lización al gelatinizar, siquiera sea parcialmente, el almidón contenido en las mismas (Cuadro 5).

Un problema que presentan las fuentes proteicas vegetales incorporadas a los piensos para peces es que aportan un porcentaje importante de carbohidratos no digestibles. Ello motiva un menor aporte de energía con la dieta y un mayor uso de la proteína con fines energéticos junto con una mayor liberación de desechos al medio. La cantidad de almidón presente en los carbohidratos vegetales es variable. Así, en el trigo, el almidón constituye aproximadamente el 60 % y el resto son NSPs (polisacáridos diferentes al almidón) del tipo 1,4-galactanos. En general los NSPs son un grupo complejo de compuestos formado predominantemente de monómeros de hexosas y pentosas, como galactosa, glucosa, arabinosa, xilosa y manosa y unidos por enlaces principalmente β -glucosídicos. En peces carnívoros enzimas β -glucanasas o β -xilanasas no existen y en omnívoros son muy escasas, por lo que la utilización de enzimas exógenas procedentes de plantas y de bacterias podría aumentar la energía digestible de los piensos que incorporan materias primas vegetales y al mismo tiempo disminuir la liberación de material no digerido al medio. Dicho proceso se ha realizado en animales de granja como cerdos y aves y ha habido algunos intentos en peces.

CUADRO 5.

Efectos de diferentes procesos de preacondicionamiento y granulación sobre el índice de gelatinización del almidón (%)
(Extracto de Stone, 2003, basado en datos de Hardy y Barrows, 2003).

	Variables del proceso		Índice de gelatinización
	Calor	Presión	
Preacondicionamiento			
Térmico	Sí, húmedo	Mínima	<50
Expansión	Sí, húmedo	Alta	>80
Granulación			
Extrusión en frío	No	Moderada	0
Compresión	Sí, seco	Moderada	<40
Extrusión en seco	Sí, húmedo	Alta	>80
UPC (<i>universal pellet cooking</i>)	Sí	Alta	60-80



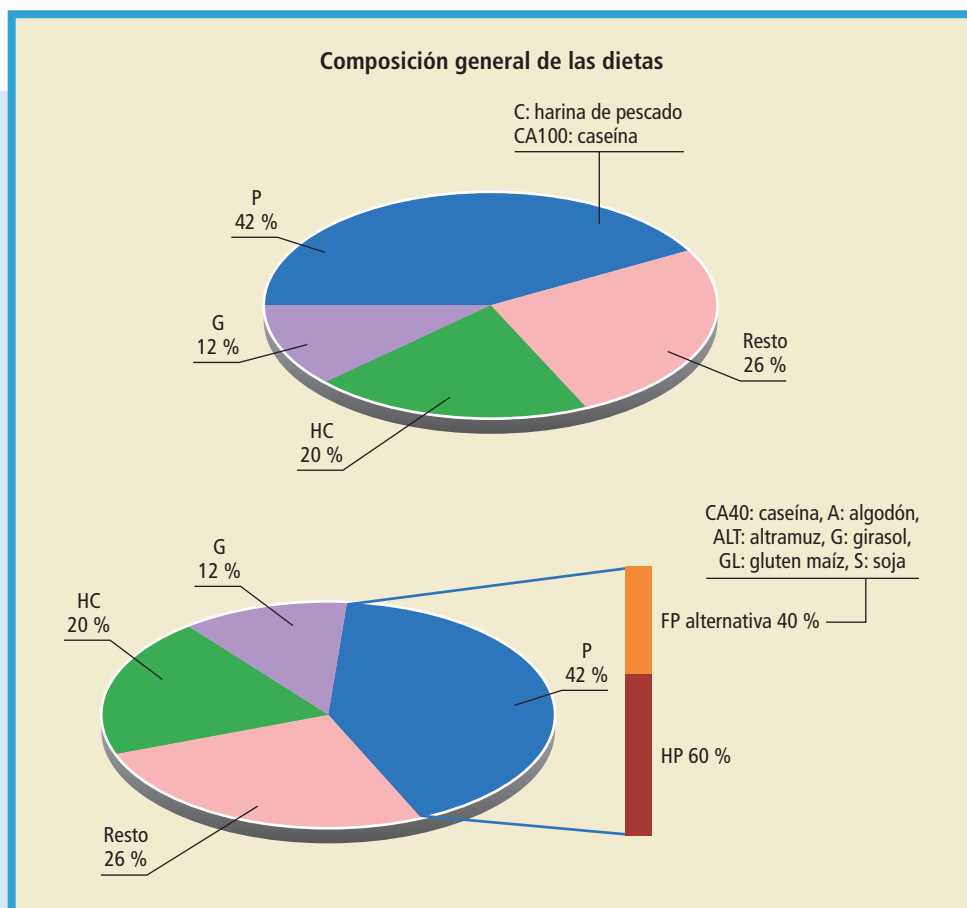
Con la incorporación de enzimas exógenas a los piensos de alguna forma se estaría simulando algo que al parecer ocurre en la alimentación natural. Se ha puesto de manifiesto que las actividades enzimáticas digestivas de presas potenciales de varios teleósteos son muy parecidas a las presentes en el tracto digestivo del consumidor, teniendo las presas de las especies bentófagas alta actividad carbohidrasa y las de los ictiófagos manifiestan también alta actividad proteinasa.

La hidrólisis de estos NSPs liberaría arabinosa, xilosa entre otros azúcares cuyo transporte y utilización metabólica no se conoce. Existen indicios de intolerancia a la galactosa y a la xilosa sobre todo en peces carnívoros. Por todo ello se requieren mas estudios que arrojen luz sobre las posibles ventajas o desventajas de hacer más digestibles los NSPs presentes en las semillas vegetales.

No cabe duda de que el mal uso digestivo del almidón y de los NSPs existentes en los vegetales (cereales, leguminosas, etc.) es uno de los inconvenientes que existen en la utilización de estos vegetales como fuentes proteicas que sustituyan parcial o totalmente a la proteína de harina de pescado. En un estudio realizado en nuestro laboratorio donde se compara la utilización nutritiva de diferentes proteínas vegetales (algodón, gluten de maíz, girasol, altramuza) sustituyendo a la proteína de harina de pescado y a la caseína, en la trucha, se pone de manifiesto como la energía digestible viene condicionada por la presencia de carbohidratos poco digestibles en las dietas formuladas con dichas materias primas (Figuras 6 y 7). La reducción de la energía digestible, motivada por la presencia de carbohidratos indigestibles, induce a un mayor uso de la proteína con fines energéticos y a una mayor liberación de desechos al medio.

Los polisacáridos complejos denominados genéricamente fibras insolubles en agua como celulosa, hemicelulosa y solubles como glucanos, pectinas, gomas y mucílagos son componentes de las dietas naturales de los peces herbívoros y omnívoros pero no carnívoros. Aunque también se encuentren formando parte de los piensos de los peces carnívoros no hay experimentos precisos que aporten información acerca de si estos peces son capaces de utilizarlos y en qué grado.

Todos los tipos de fibra, a excepción de las ligninas, pueden ser fermentados por las bacterias intestinales presentes en vertebrados terrestres. Aunque en general las solubles lo son en mayor grado que las insolubles.


FIGURA 6.

Dietas formuladas con materias primas vegetales sustituyendo parcialmente a la proteína de harina de pescado y caseína. La cantidad de proteína de todas las dietas es del 42 %.

En dos de ellas C y CA100 la proteína procede de la harina de pescado y de la caseína respectivamente. La proteína de las seis dietas restantes corresponde un 60 % a la proteína de harina de pescado y un 40 % a la proteína de la caseína, algodón, altramuz, girasol, gluten de maíz y soja. A. E. Morales. T. Doctoral. 1993.

En general, existe poca información acerca de la digestibilidad de estos compuestos en los peces, quizá debido a la dificultad de análisis. Los datos existentes muestran valores muy bajos. Un estudio comparado entre herbívoros y omnívoros alimentados con dietas ricas en algas

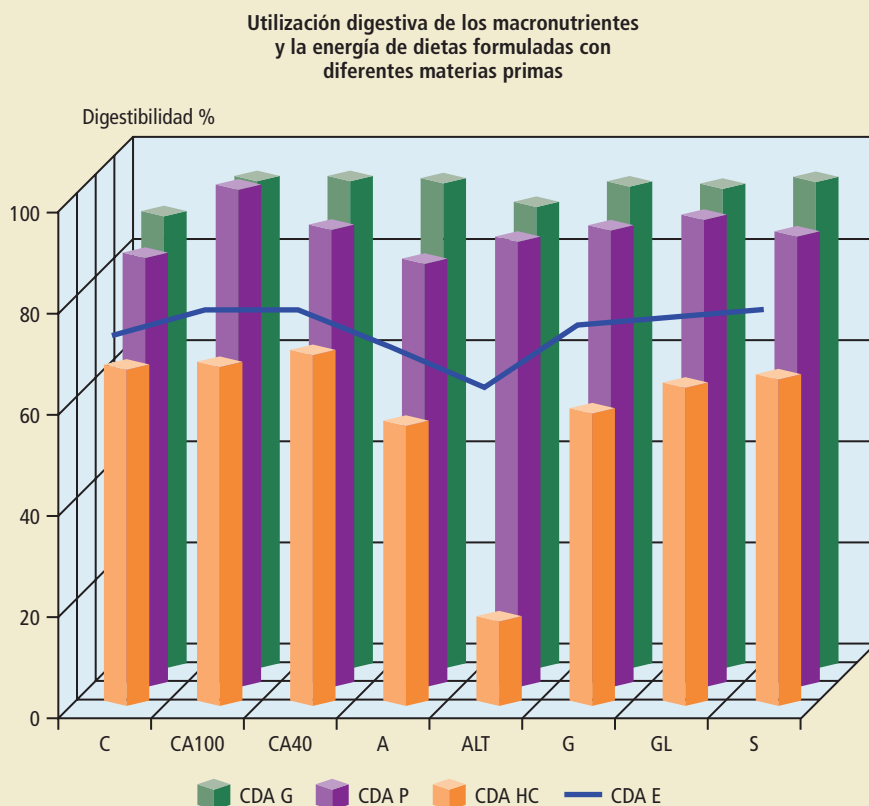


FIGURA 7.

Utilización digestiva de las dietas formuladas con diferentes proteínas sustituyendo en un 40 % a la proteína de harina de pescado. Los carbohidratos presentes en el algodón (A), girasol (G) y especialmente en el altramuza (ALT) presentan una digestibilidad (CDA) menor que la del resto de las materias primas: caseína (CA), gluten de maíz (GL) y soja (S) y ello condiciona una menor energía digestible (CDA E) de las dietas.

A. E. Morales. T. Doctral. 1993.

muestran una baja digestibilidad para la fibra y paredes celulares presentes en las mismas.

Se ha comprobado que los polisacáridos complejos pueden reducir la digestibilidad de otros nutrientes y actuar como factores antinutricionales. Ello puede ser debido a que captan agua, se unen con



minerales, intercambian cationes y adsorben compuestos orgánicos como esteroides (incluyendo las sales biliares, necesarias para correcta digestión y absorción de las grasas) y ácidos. Además en peces, al igual que en aves y mamíferos, los pocos estudios existentes revelan que aumentan la velocidad de tránsito intestinal. Por otra parte, estudios *in vitro* han demostrado que pectinas, gomas, alginatos y celulosa pueden inhibir la hidrólisis de proteína.

Procede plantear ahora, en base a lo recogido en los apartados anteriores, cuál podría ser el nivel adecuado de HC a incorporar a un pienso para peces (Cuadro 6). En sentido estricto, podríamos afirmar que, para sobrevivir, los peces no necesitan HC en su dieta habitual (de hecho, algún experimento lo ha corroborado, si bien el crecimiento no ha sido el óptimo) ya que éstos nutrientes no les aportan, hasta donde

CUADRO 6.

Niveles óptimos o máximos recomendados de HC en piensos para distintas especies de peces (Basado en Wilson, 1994).

Tipo de pez	% carbohidratos digeribles
Marino o de aguas frías	
Barramundi (Lates)	<=20
Salmón Atlántico (Salmo)	<=20
Solla (Pleuronectes)	<=20
Salmón Pacífico (Oncorhynchus)	<=20
Trucha arco iris (Oncorhynchus)	20-25
Seriola (Seriola)	<=10
Dorada (Sparus)	<20
Aguas dulces o cálidas	
Pez gato (Ictalurus)	25-30
Carpa común (Cyprinus)	30-40
Anguila (Anguilla)	20-30
Carpa herbívora (Ctenopharyngodon)	37-56
Sábalo (milkfish) (Chanos)	35-45
Corvina ocelada (Sciaenops)	~ 25
Rohu (Labeo)	40
Lubina estriada (Morone)	25-30
Tilapia (Oreochromis)	~ 40



se conoce, ningún elemento indispensable y su papel como aporte de energía podría ser eficazmente cubierto por proteínas y/o lípidos. Por otra parte, hemos visto que, en mayor o menor medida, muchas especies de peces de las cultivadas o potencialmente cultivables a medio plazo, presentan, en relación con otras especies animales objeto de explotación por el hombre, ciertos problemas digestivos, metabólicos o de ambos tipos para enfrentarse con éxito a determinados niveles de HC en el pienso.

Sin embargo, y como veremos más adelante, una serie de evidencias, más o menos recientes, empujan hacia una reconsideración al alza del papel de los HC como fuente de energía para los peces de cultivo, al menos dentro de ciertos límites. Por otra parte, las dificultades crecientes a que se enfrenta la piscicultura para la provisión de las fuentes «tradicionales» de nutrientes (subproductos de la pesca) ha incentivado la búsqueda de alternativas, entre las que merecen especial atención, por una parte, las de proteínas de origen vegetal que, a la vez que proteínas, suelen aportar una proporción mayor o menor de HC y, por otra, las específicas de energía como, por ejemplo, los almidones contenidos en distintos productos de origen vegetal.

Como ocurre en otros animales, la glucosa, producto final de la digestión de estas sustancias, es la fuente energética primordial o exclusiva de algunos tejidos (nervioso, células sanguíneas) en los peces. Aunque esa necesidad de glucosa puede ser cubierta por la gluconeogénesis a partir de aminoácidos, la provisión directa del metabolito reduciría el uso de esos aminoácidos con fines energéticos y la descarga de catabolitos nitrogenados al medio. Idénticos efectos cabría esperar, con la consiguiente mejora del uso de la proteína para crecimiento, en todos los casos en que la energía aportada por la glucosa pudiera sustituir, al menos parcialmente, a la de origen proteico. Finalmente, esta fuente barata de energía podría reducir así mismo la dependencia con respecto a las grasas para cubrir necesidades energéticas, lo que resulta especialmente relevante en el caso del aceite de pescado cuya disponibilidad, en relación con la demanda creciente, es cada vez más escasa.

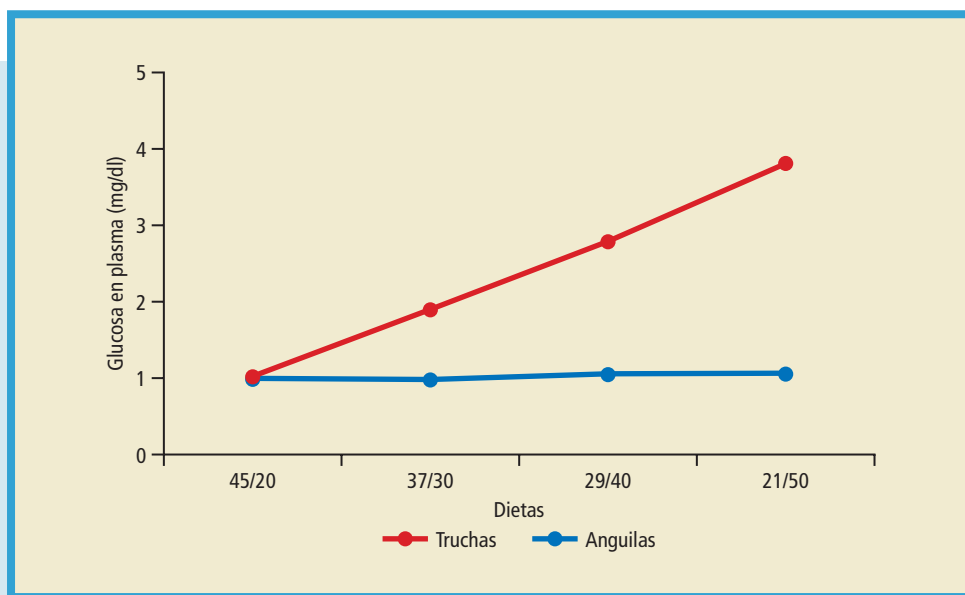
Son ya muy antiguos los intentos de inclusión de niveles crecientes de HC en los piensos para peces, incluidos carnívoros. Los descorazo-



nadores resultados iniciales con salmónidos (Phillips, 1948) sirvieron de base para generalizar la opinión de lo poco adecuado de esta manio-
bra en los piensos para piscicultura. Las repetidas aportaciones poste-
riores sobre la «intolerancia» o mal uso metabólico por parte de estos
animales de cargas de glucosa incluidas en distintas formas en el ali-
mento y la detección de algunas repercusiones patológicas asociadas
(afectaciones hepáticas, acúmulos excesivos de grasa) contribuyeron a
la generalización de esta opinión negativa.

Sin embargo, ya en época temprana se tuvo constancia de lo inapro-
piado de tal generalización. Así, como se ha indicado antes, el hábito
alimentario de la especie (omnívoros/herbívoros frente a carnívoros)
o la temperatura ambiente (peces de aguas cálidas frente a peces de
aguas frías o marinos) podría resultar determinante de una «mayor
tolerancia» o un mejor uso de la HC de la dieta, por lo que, pronto
se empezaron a detectar dos grandes grupos de especies a la hora de
definir los niveles dietarios óptimos de estos nutrientes.

La respuesta a la presencia de HC en la dieta y, en relación con ello,
a cargas plasmáticas de glucosa, difiere según los hábitos alimentarios
de la especie. Sin embargo, se han detectado algunos casos aparente-
mente anómalos que obligan a tomar con cuidado la afirmación pri-
mera. Tal es el caso de las anguilas, especies consideradas carnívoras
por los naturalistas y que, sin embargo, exhiben un patrón algo pecu-
liar al respecto. En un estudio comparado con truchas, antes citado,
nuestro equipo puso de manifiesto una situación claramente diferente
con la trucha (otra especie carnívora) en cuanto a la eficacia de los me-
canismos homeostáticos de control de la glucemia como se muestra,
entre otros datos, en la figura 8 en la que se observa que, enfrentadas
ambas especies a dietas con niveles crecientes de HC, las anguilas (*A.
anguilla*) manejaban mejor ese parámetro que las truchas que mani-
festaban más «problemas» en mantener la glucemia; ello coincidía con
una mejor respuesta en general de la primera especie frente a piensos
más ricos en HC. En un estudio posterior, usando en este caso trucha,
la anguila americana (*Anguilla rostrata*) y un pez gato (*Ameiurus ne-
las*), se volvió a mostrar que las curvas de tolerancia a la glucosa (en
este caso frente a una dosis inyectada intravenosamente) de anguila y
trucha eran claramente diferentes y así, mientras la trucha tardaba más

**FIGURA 8.**

Efecto de la relación (proteína/HC) de la dieta sobre los niveles sanguíneos de glucosa en truchas y anguilas (los datos están referidos a los valores de la dieta 45/20 considerada como control).

de 6 horas en devolver la glucemia a sus valores basales, la anguila lo hacía en menos de una hora, un tiempo más parecido al necesitado por el pez gato citado (30 min) que es considerado omnívoro. De todas formas, el tratamiento postprandial de la glucemia por una especie dada no sólo depende de la cantidad de HC presentes en la dieta sino también del tipo de los mismos (Figura 9).

Aunque los datos de las curvas de tolerancia a la glucosa no son totalmente definitorias del uso que el pez vaya a hacer de los HC del pienso (por una parte se ha reportado que una hiperglucemia mantenida podría reflejar una incapacidad de uso del metabolito y generar una suerte de «estrés metabólico» que podría afectar incluso a la calidad de la respuesta inmune de los peces pero, por otra, se opina que dicha hiperglucemia no es incompatible con un buen uso de la dieta para crecimiento), sí debe quedar claro que el hábito alimentario de la especie en su medio natural, aunque debe ser tenido en cuenta, no

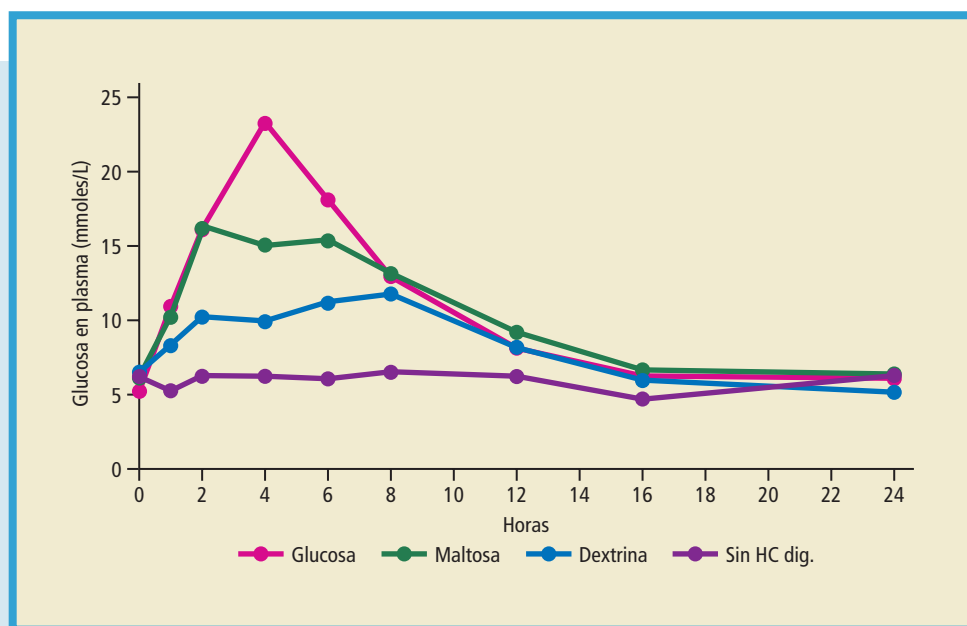


FIGURA 8.

Efecto del tipo de HC de la dieta sobre la evolución postprandial de la glucemia en *M. chrysops* x *M. saxatilis* (de Hutchins *et al.*, 1998).

tendría que ser un determinante absoluto a la hora de plantearse la incorporación de HC al pienso.

Lo que sí parece tener ese carácter de determinante es la magnitud de la «carga a procesar» por las maquinaria digestivo/metabólica de un pez es, obviamente, el nivel de inclusión de estos nutrientes en la dieta. Parece claro que, en aquellos casos en los que existan sospechas fundadas de las posibilidades de uso son limitadas (por la especie, el tipo de HC, etc.), esos niveles se deberían ajustar con cuidado antes que correr el riesgo de usar niveles demasiado altos, con resultados inciertos sobre aprovechamiento de la dieta, salud del pez, calidad del filete e impacto ambiental y, antes también de renunciar totalmente al uso de esta fuente de energía barata.

Como ejemplo, sirvan los datos de obtenidos con un híbrido del pez gato (*Clarias*) en el que, tras probar varias dietas con diversos niveles de HC (granos arroz rotos y en bruto) y lípidos, encontraron que se obtenía buenos resultados cuando los HC estaban en la dieta en pro-



porciones del 37 % hasta casi el 50 % (relación HC/lípidos de 11.24 en el último caso) pero que los datos empeoraban cuando los HC subían al 55 % o bajaban al 30 %.

En cualquier caso, muchos de los datos disponibles se basan en experimentos en los que se juega simultáneamente con cambios en las proporciones de los tres nutrientes energógenos en la dieta (proteínas, lípidos e hidratos de carbono), lo que permite valorar la magnitud del efecto de ahorro del primero por los otros dos. Así, parece ser más señalado para los lípidos en algunas especies como la trucha arco iris o el fletán mientras que en otras (la carpa india, *Catla sp.*, o el flounder, *Paralichthys sp.*) los HC son más eficaces a este respecto. Esta última circunstancia también se puso de manifiesto por nuestro grupo con la anguila europea, pese a tratarse de una especie considerada carnívora por los naturalistas como se ha comentado más arriba. Más recientemente, hemos podido reforzar esta idea general al trabajar con el esturión *Acipenser naccarii* y verificar que se puede mejorar el uso de la proteína cuando su aportación en la dieta se disminuye al tiempo que se incrementa la de lípidos y/o HC. No se debe descartar que esta situación pueda ir cambiando a medida que el animal crece y se produzcan cambios ontogenéticos en sus capacidades digestivas y/o metabólicas (Cuadros 7 y 8).

CUADRO 7.

Efecto de la edad/tamaño (P: 0.66 g; G: 4.5 g) sobre la utilización de dos hidratos de carbono por la tilapia (Modificado de Shiau, S.Y., 1997).

		Tipo de HC	
		Glucosa	Almidón
Ganancia de peso (%)	P	100.1	340.5
	G	228.4	317.5
FCR	P	2.3	1.0
	G	1.3	1.1
PPV	P	15.1	41.0
	G	31.6	37.1
Retención de lípidos	P	7.5	30.2
	G	29.2	35.4

FCR: alimento ingerido (g) / peso ganado (g).

PPV: (proteína corporal final – proteína corporal inicial) x 100 / proteína ingerida.

Retención de lípidos: (grasa corporal final – grasa corporal inicial) x 100 / grasa ingerida.



CUADRO 8.

Efecto de la proporción proteínas/almidón en la dieta sobre su rendimiento en el fletán del Atlántico (*Hippoglossus hippoglossus*) de dos edades/tamaños (P: 60 g, G: 800 g). (Modificado de Hatlen *et al.*, 2005).

		Dieta (% proteína / % almidón)			
		41/20	46/17	50/14	56/6
SGR	P	1.01	1.09	1.12	1.21
	G	0.30	0.32	0.32	0.34
FER	P	1.16	1.28	1.39	1.45
	G	0.96	1.05	1.03	1.18
PPV	P	45.2	44.1	48.1	43.3
	G	31.9	36.2	29.5	31.1
ER	P	38.0	42.4	45.9	46.7
	G	60.8	65.8	67.1	62.8

SGR: ganancia de peso (%/día).

FER: peso fresco ganado (g) / alimento seco ingerido (g).

PPV: (proteína corporal final – proteína corporal inicial) x 100 / proteína ingerida.

ER: (energía corporal final – energía corporal inicial) x 100 / energía ingerida.

Tampoco hay que olvidar que el mejor o peor resultado de un pienso que aporte una determinada cantidad de HC puede depender de los niveles de otros nutrientes y, así, aunque la presencia de HC manifieste un efecto de ahorro de la proteína para crecimiento, para que ello repercuta positivamente en el crecimiento neto, la proteína (o los aminoácidos esenciales) deben estar presentes en el alimento por encima de un cierto nivel mínimo. También ciertas vitaminas, especialmente niacina, son necesarias para el uso con provecho de los HC de la dieta. No olvidemos, a este respecto, que los polisacáridos complejos pueden reducir la digestibilidad de otros nutrientes (ver más arriba).

En lo que concierne al tipo de HC a incorporar, también se dispone de datos abundantes que contrastan formas simples con polímeros, por una parte, y polímeros en estado nativo o tras ser sometidos a pretratamiento, por otra. En buena medida, ello depende, como se ha indicado en otro apartado, de las capacidades digestivas de la especie en cuestión, si bien no se puede descartar, en directa relación con lo anterior, el mencionado efecto de la dinámica temporal de disponibilidad de glucosa en los lugares de utilización metabólica.



Muchas especies (carpa, pez gato, *rohu* (Cuadro 9), trucha, solla,...) parecen usar mejor dextrinas o almidones gelatinizados que azúcares más sencillos (glucosa, sacarosa), otras (salmón «chum») usan con provecho unos azúcares simples pero no otros, mientras que para otras (esturión blanco) se reportó un mejor uso de azúcares simples como glucosa o maltosa, que de dextrinas o almidón. Por su efecto positivo sobre la digestión, la gelatinización de los almidones, sea mediante tratamiento de la fuente antes de la mezcla con los otros ingredientes o durante el proceso de granulación, mejora su utilización digestivo/nutritiva; si bien, paradójicamente, se ha informado de algún caso de que resultaba más favorable una mezcla de almidón crudo y gelatinizado que idéntica cantidad total de almidón pretratado, quizá por una más reducida ingesta de la dieta que ofrecía los HC de esa forma.

Las interacciones entra varios determinantes del uso de los HC son amplias y se ponen de manifiesto en un trabajo con la lubina barrada (*Morone saxatilis*) y su híbrido con *M. chrysops*, de forma que, aunque en todos los casos, el híbrido mostraba mejores resultados de crecimiento y utilización del alimento, los mejores índices se obtenían con las dietas con glucosa o maltosa, mientras que, en el caso de la barra-

CUADRO 9.

Índices de rendimiento de varias dietas con diferentes niveles de proteína (P) e hidratos de carbono (HC) en *Labeo rohita* (rohu) (Modificado de Erfanullah, A.K.J., 1995).

Dieta (%P/%HC/Tipo HC)	SGR	FE	PER (%)
40/30/Glucosa	1.20	2.9	0.85
40/30/Sacarosa	1.56	2.4	0.99
40/30/Dextrina	2.14	1.7	1.45
35/35/Glucosa	1.10	3.2	0.86
35/35/Sacarosa	1.47	2.2	1.23
35/35/Dextrina	2.16	1.6	1.69
30/40/Glucosa	0.89	3.9	0.82
30/40/Sacarosa	1.40	2.3	1.41
30/40/Dextrina	2.16	1.6	1.98

SGR: $100 \times (\ln \text{ peso final (g)} - \ln \text{ peso inicial (g)}) / \text{días}$.

FE: $\text{Ingesta de alimento (g)} / \text{Ganancia de peso (g)}$.

PER: $\text{Ganancia de peso (g)} / \text{Ingesta de proteína (g)}$.

**CUADRO 10.**

Rendimiento de diversos hidratos de carbono (HC) incorporados a dietas para Tilapia en función de la frecuencia de alimentación (Modificado de Shiau, S.Y., 1997).

HC en la dieta	n.º comidas por día	FER	PPV	ER
Almidón	2	1.31	39.4	28.9
	6	1.25	43.7	32.8
Dextrina	2	1.26	31.3	23.3
	6	1.21	35.8	28.6
Glucosa	2	1.33	38.3	20.7
	6	1.19	43.9	28.7

FER: alimento ingerido (g) / peso ganado (g).

PPV: (proteína corporal final – proteína corporal inicial) x 100 / proteína ingerida.

ER: (energía corporal final – energía corporal inicial) x 100 / energía ingerida.

da lo eran con dextrina. Asimismo se detectaron diferentes respuestas frente a la misma dieta en especímenes tan próximos, en parámetros como la digestibilidad de la proteína o en la composición del hígado.

Otro factor que podría condicionar el uso de los HC en la dieta y que guarda relación con la evolución temporal de la carga de glucosa antes mencionada, sería la frecuencia de suministro del alimento y así, el fraccionamiento de la misma dosis de HC en un número mayor de comidas por día, podría mejorar su uso para crecimiento (Cuadro 10).

Resulta interesante el hallazgo reportado para varias especies de que la adaptación previa a una dieta con niveles más altos de almidón podría repercutir favorablemente en un cambio de la eficacia para la utilización metabólica de la glucosa.

Además de la temperatura ambiente, citada más arriba, la salinidad ambiental puede afectar al uso de los HC de la dieta como se detectó al estudiar varios niveles de glucosa y dextrina en las dietas para truchas arco iris. La salinidad, quizá debido al papel del intestino como órgano osmorregulador, afectaba a la digestibilidad de la proteína del pienso de forma diferente según el tipo de HC incorporado (glucosa o dextrina).

5.6. CONCLUSIÓN

De todo lo expuesto se deduce que la presencia de HC en la dieta para peces, a través de su efecto de ahorro de proteína, puede mejorar



el uso de la misma para crecimiento y disminuir la descarga de N contaminante al medio, si bien el nivel adecuado de incorporación depende de varios factores y de sus posibles interacciones; a saber:

- Hábito alimentario de la especie (con un progresivo mejor uso y tolerancia a niveles mayores de HC en el sentido carnívoro<omnívoro<herbívoro).
- Temperatura ambiente (mejor en peces de aguas cálidas que en aquellos de aguas frías y mejor a temperatura ambiental más alta cuando se trata de una sola especie).
- Edad de los individuos (tendencia general: mejor uso a mayor edad).
- Naturaleza de la fuente hidrocarbonada y tratamiento (en términos generales, aunque está por ver en algunos casos, mejor uso cuanto mayor peso molecular del HC y mediante el tratamiento adecuado que mejore su uso digestivo).
- Estrategia de dispensación de alimento (un fraccionamiento de la ingesta diaria podría mejorar el uso de los HC de la misma).
- Niveles dietarios de otros macro (lípidos, proteínas) y micronutrientes (vitaminas).

REFERENCIAS

Generales

- DABROWSKY K. y H. GUDERLEY, 2002 Intermediary Metabolism. pp. 310-367 en: Fish Nutrition. 3.^a edic. Ed. por J.E. Halver y R.W. Hardy, Academic Press, New York, USA.
- FAO. The nutrition and feeding of farmed fish and shrimp. www.fao.org/docrep/field/003/AB470E/.
- HASAN, M.R., 2001. Nutrition and feeding for sustainable aquaculture development in the third millennium. www.fao.org/docrep/003/ab412e/ab412e10.htm.
- HEMRE G.L., T .P. MOMMSEN y A.K. KROGDAHL, 2002 Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes. Aquaculture Nutrition, 8: 175-194.
- KROGDAHL, A., G.I. HEMRE y T.P. MOMMSEN, 2005. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. Aquaculture Nutrition, 11: 103-122.



- KUZMINA, V.V. y I.L. GOLOVANOV, 2003. Contribution of prey proteinases and carbohydrases in fish digestion. *Aquaculture*, 234:1-13.
- STEFFENS W. 1987. Principios fundamentales de la alimentación de los peces. Ed. Acribia, S.A., Zaragoza (España). ISBN: 84-200-0607-6
- STONE, D.A.J. 2003. Dietary carbohydrates utilization by fish. *Reviews in Fisheries Sciences*, 11(4): 337-369
- WILSON R.P. 1994. Utilization of dietary carbohydrate by fish. *Aquaculture*, 124: 67-80.

De cuadros y figuras

- ERFANULLAH, A.K. JAFRI, 1995 Protein-sparing effect of dietary carbohydrate in diets for fingerling Labeo rohita. *Aquaculture*, 136: 331-339.
- FURNÉ, M., M.C. HIDALGO, A. LÓPEZ, M. GARCÍA-GALLEGU, A.E. MORALES, A. DOMEZAIN, J. DOMEZAIN, y A. SANZ, 2005. Digestive enzyme activities in Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study. *Aquaculture*, 250: 391-398.
- FURNÉ, M., M. GARCÍA-GALLEGU, M. C. HIDALGO, A.E. MORALES, A. DOMEZAIN, J. DOMEZAIN y A. SANZ, 2008. Effect of starvation and refeeding on digestive enzyme activities in sturgeon (*Acipenser naccarii*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology* 149A: 420-425.
- GARCÍA GALLEGU, M., J. BAZOCO, M-D. SUÁREZ y A. SANZ, 1995 Utilization of dietary carbohydrates by fish: a comparative study in eel and trout. *Animal Science*, 61: 427-436.
- HATLEN, B., B. GRISDALE-HELLAND y S.J. HELLAND, 2005 Growth, feed utilization and body composition in two size groups of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed diets differing in protein and carbohydrate content. *Aquaculture*, 249: 401-408. Content. *Aquaculture*, 249: 401-408.
- HIDALGO, M.C., A. SANZ, M. GARCÍA-GALLEGU, M.D. SUÁREZ y M. DE LA HIGUERA, 1993. Feeding of the European eel *Anguilla anguilla*: I. Influence of dietary carbohydrate level, *Comparative Biochemistry and Physiology*, 105A: 165-169.
- HIDALGO, M.C., E. UREA, y A. SANZ, 1999. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities, *Aquaculture*, 170: 267-283.
- HUTCHINS, C.G., S.D. RAWLES y D.M. GATLIN III, 1998 Effects of dietary carbohydrate kind and level on growth, body composition and glycemic response of juvenile sunshine bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). *Aquaculture*, 161: 187-199.
- MORALES, A.E. 1993. Valoración de la utilización nutritiva de materias primas alternativas a la harina de pescado como componentes de dietas comerciales



para la trucha (*Oncorhynchus mykiss*). Codirectores: A.Sanz, G. Cardenete y M. de la Higuera. Facultad de Ciencias. Universidad de Granada.

MORALES, A.E., G. CARDENETE, M. HIGUERA y A. SANZ, 1994 Effects of dietary protein source on growth, feed conversion and energy utilization in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 124: 117-126.

SANZ, A., A.E. MORALES, M. DE LA HIGUERA y G. CARDENETE, 1994. Sunflower meal compared with soybean meal as partial substitutes for fish meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets: protein and energy utilization, *Aquaculture*, 128: 287-300.

SANZ, A., M.D. SUÁREZ, M.C. HIDALGO, M. GARCÍA-GALLEGO y M. DE LA HIGUERA, 1993 Feeding of the European eel *Anguilla anguilla*. III. Influence of the relative proportions of the energy yielding nutrients. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 105A: 177-182

SHIAU, S.Y., 1997 Utilization of carbohydrates in warmwater fish, with particular reference to tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Aquaculture*, 151: 79-96.

6

VITAMINAS Y MINERALES



VITAMINAS Y MINERALES

**M.^a Carmen Hidalgo Jiménez
y Amalia E. Morales Hernández**

Departamento de Biología Animal,
Universidad de Granada

Resumen

Las vitaminas son sustancias necesarias para el desarrollo adecuado del pez. Parte del éxito de un cultivo de peces depende de la idoneidad del alimento aportado, siendo las vitaminas parte importante del mismo. En el momento en que se usan piensos artificiales, éstos se deben suplementar con vitaminas hidro y liposolubles (Cuadro 1) en las cantidades apropiadas, ya que tanto su deficiencia como su exceso pueden ser causa de anomalías. Por ello se deben conocer las necesidades vitamínicas de cada especie a cultivar, así como las fuentes donde se encuentran en mayor proporción cada una de las vitaminas, los síntomas de una deficiencia o exceso de una vitamina determinada y las funciones que desempeñan.

Los minerales son necesarios para el normal funcionamiento de los procesos vitales de todos los animales, incluidos los acuáticos, ya que desempeñan funciones primordiales tanto plásticas como catalíticas. A diferencia de los animales terrestres, que dependen exclusivamente del alimento para obtener los minerales, los peces tienen la capacidad de absorber algunos elementos inorgánicos del ambiente acuático, tanto en agua dulce como salada. Este aspecto supone la principal dificultad que representa el estudio de las necesidades cuantitativas de minerales en estos organismos, ya que es difícil conseguir la ausencia de un determinado elemento tanto en la dieta como en el agua, y constituye el principal motivo por el que la información relativa a la nutrición mineral en peces sea aún incompleta.



En este capítulo se intenta una aproximación a la situación actual de los conocimientos en peces de vitaminas y minerales, terminando con consideraciones acerca del papel de las vitaminas en la inmunidad y las posibles interacciones entre los distintos componentes de la dieta.

Abstract

Vitamins are necessary substances for an adequate fish development. The success of the fish culture depends, in part, on the idoneity of the offered food, with the vitamins as an important ingredient of it. The manufactured food must be supplemented with both kinds of vitamins, hydro and liposolubles ones (Cuadro 1), in the fitting concentration, because some anomalies can be a consequence of their deficiency or their excess. That is the reason we have to know the vitamin requirements for each cultured fish species, so the products where they are in abundance, the symptoms of their deficiency or excess, and the functions they have in the organism.

Minerals are essential for the normal life processes in all organisms, including aquatic animals, since they play crucial roles either plastic and catalytic. Unlike terrestrial animals, that depend on dietary supply of minerals, fish are able to absorb some inorganic elements from their aquatic environment, either freshwater and seawater. This aspect represents the main difficulty in studying mineral requirements of these organisms, since it is difficult to secure the absence of a given test element both in diet and in water, and constitutes the main reason for the incomplete information available on mineral nutrition in fish.

This chapter is an approximation to the actual knowledge from vitamins and minerals in fish, including the relations of the vitamins with the immunity process, and the interactions with the other components of the diet.

6.1. VITAMINAS

6.1.1. Dietas experimentales y formas de inclusión de vitaminas

Gran parte de los experimentos realizados, en relación con las necesidades de vitaminas, se han llevado a cabo con dietas purificadas o semi-purificadas. La validez de los datos obtenidos para las distintas especies



difiere por distintas cuestiones, como son diferentes tasas de crecimiento o diferentes condiciones de cultivo. Por otra parte, el uso de dietas en las que el resto de los ingredientes, no objeto de estudio, se añaden en exceso, puede desvirtuar las cifras de necesidades mínimas.

En la formulación y fabricación de piensos para peces es particularmente importante la suplementación con vitaminas, ya que las necesidades de vitaminas de los peces son, en general, mayores que las de otros animales. La presencia de minerales y de colina, y el proceso de fabricación y de almacenaje, causan importantes pérdidas de vitaminas en los piensos. El uso de vitaminas en formas diferentes a las habitualmente utilizadas en la suplementación de peces, podría reducir las pérdidas por fabricación y almacenamiento. Por ello, se ha investigado la estabilidad de distintas formas de inclusión. Por ejemplo, dos formas de vitaminas, cristalina y con una cubierta lipídica, y sus pérdidas tras distintos procesos de fabricación y de almacenaje de las dietas para peces. Tras extrusión, la cantidad de vitamina existente fue menor que tras el proceso de fabricación de pellets. En los pellets, se encontró una mayor cantidad de las vitaminas cubiertas que de las formas cristalinas, especialmente en el caso del ácido ascórbico, la menadiona, piridoxina y ácido fólico. Las vitaminas cubiertas también fueron más resistentes a la extrusión que las cristalinas. A la vista de estos resultados, la forma en que se suplementan las vitaminas es un aspecto importante a tener en cuenta en la fabricación de piensos para peces.

En los estudios encaminados a conocer las necesidades cuantitativas de vitamina, deben considerarse las condiciones en las que se han realizado, intentando siempre que sean las consideradas como estándar. Las necesidades se suelen calcular en función del crecimiento y como el punto de máximo almacenamiento en hígado.

6.1.2. Vitaminas hidrosolubles

En esta categoría se incluyen 8 miembros de la familia del complejo de la vitamina B y los factores nutricionales hidrosolubles colina, inositol y ácido ascórbico (Cuadro 1). Las 8 vitaminas del grupo B se precisan en pequeñas cantidades en la dieta, pero tienen funciones muy importantes en relación con el crecimiento, la fisiología y el metabolismo del pez. Los factores nutricionales esenciales, sin embargo, se



CUADRO 1.

Grupos de vitaminas en función de su naturaleza hidro o liposoluble.

Vitaminas hidrosolubles	Vitaminas liposolubles
Tiamina (Vitamina B ₁)	Vitamina A (Retinol)
Riboflavina (Vitamina B ₂)	Vitamina D (Colecalciferol)
Piridoxina (Vitamina B ₆)	Vitamina E (Tocoferol)
Ácido pantoténico	Vitamina K (Quinona)
Niacina (Ácido nicotínico)	
Biotina	
Ácido fólico	
Vitamina B ₁₂ (Cianocobalamina)	
Inositol	
Colina	
Vitamina C (Ácido ascórbico)	

necesitan en elevadas concentraciones en la dieta y a veces aparecen como nutrientes dietarios más que como vitaminas.

6.1.2.1. Tiamina

6.1.2.1.1. Necesidades y fuentes

La tiamina es bastante estable al calor seco, pero se desnaturaliza rápidamente en soluciones neutras o alcalinas. No tiene color, pero sí un olor característico a levadura. Algunos de sus derivados son más estables y más solubles en soluciones ligeramente alcalinas, manteniendo sus funciones biológicas en animales. La acetilcolina es un antagonista de tiamina y piritiamina. En estudios de nutrición de peces se incluyen en la formulación de las dietas tanto el cloruro de tiamina como el mononitrato de tiamina.

La mínima ingesta dietaria de tiamina que supuso su máximo contenido en hígado se consideró la dieta que podía satisfacer las necesidades de esta vitamina para trucha y salmón (Cuadro 2). Desde el punto de vista de los parámetros de crecimiento, de la ausencia de signos de deficiencia y de la actividad transketolasa en hígado y riñón, las necesidades de tiamina en la trucha arco iris se establecen en 1 mg/kg de dieta.



CUADRO 2.

Necesidades de vitaminas de algunas especies de peces
(mg/kg de dieta seca, excepto para las vitaminas A y D; UI: Unidades Internacionales).

Vitaminas	Salmónidos ¹	Carpa común ²	Pez gato americano ³	Dorada ⁴
Tiamina (Vitamina B ₁)	1-10	28	14	Necesidades no cuantificadas
Riboflavina (Vitamina B ₂)	3-6	5	4.3	Necesidades no cuantificadas
Piridoxina (Vitamina B ₆)	2-10	5-10	3	1-2 5-6*
Ácido pantoténico	10-40	30-40	15-20	Necesidades no cuantificadas
Niacina (Ácido nicotínico)	10	28	14	63-83 Sin necesidades*
Biotina	0.08-0.25	0.02-0.03	≤ 1	Sin necesidades*
Ácido fólico	0.5-5	Sin necesidades	Sin necesidades	Necesidades no cuantificadas
Vitamina B ₁₂ (Cianocobalamina)	0.07-0.02	Sin necesidades	Sin necesidades	Necesidades no cuantificadas
Inositol	250	440	Sin necesidades	300-900
Colina	450-800	1500-4000	Necesidades no cuantificadas	Necesidades no cuantificadas
Vitamina C (Ácido ascórbico)	10-100	> 50 o sin necesidades (según edad/condiciones)	> 50 o sin necesidades (según edad/condiciones)	> 50
Vitamina A (Retinol)	2500-5000 UI	1000-2000 UI	1000-2000 UI	1000-2000 UI
Vitamina D (Colecalciferol)	2400 UI	Sin necesidades	Sin necesidades	Desconocidas
Vitamina E (Tocoferol)	50-100	300	30-75	Desconocidas
Vitamina K (Quinona)	0.5-1	Sin necesidades	Sin necesidades	Desconocidas

¹ En este grupo se incluyen las necesidades determinadas para varias especies de truchas y salmones.

² *Cyprinus Carpio*.

³ *Ictalurus punctatus*.

⁴ *Sparus aurata*.

* Datos correspondientes a la especie *Pagrus major*.

El contenido lipídico de la dieta puede afectar no sólo a la ingesta calórica, sino también a las necesidades de tiamina, ya que la carboxilasa participa en la oxidación de la grasa a través del α -cetoglutarato. Por tanto, los peces alimentados con dietas con altos niveles de lípidos y baja ingesta de tiamina pueden tardar más en desarrollar deficiencias, o, a la inversa, cuando dietas con altos niveles grasos se usan para



valorar las necesidades de tiamina, se obtendrán, de forma errónea, bajos niveles de necesidades aparentes.

Las semillas de distintas plantas, guisantes secos, judías, semillas de soja, cereales y levadura seca son buenas fuentes de tiamina. El tejido glandular fresco también es una buena fuente de tiamina y otras vitaminas hidrosolubles del grupo B, sin embargo esta fuente se usa poco en los piensos para peces comerciales. La tiamina se puede perder fácilmente si se mantienen almacenados demasiado tiempo los ingredientes frescos, o bien si la dieta se prepara bajo condiciones ligeramente alcalinas o en presencia de sulfito. Al ser la tiamina relativamente estable al calor seco, los gránulos secos retendrán la vitamina, a pesar de los procesos de granulación y del subsecuente proceso de almacenaje en seco. Las dietas húmedas o congeladas plantean otra problemática, ya que el contenido en humedad permite una mayor tasa de reacciones químicas y, por tanto, un aumento del peligro de hidrólisis biológica, lo que supondría una destrucción de la tiamina. Las dietas frescas o húmedas que contengan cualquier tejido fresco de peces o bivalvos deben ser usadas rápidamente o sufrirán pérdidas de tiamina a través de su hidrólisis por la tiaminasa.

6.1.2.1.2. Funciones

La tiamina es parte del coenzima cocarboxilasa, que participa en la decarboxilación oxidativa de los α -cetoácidos, especialmente pirúvico. El pirofosfato de tiamina, un coenzima del sistema transketolasa, es parte de la vía oxidativa directa del metabolismo de la glucosa que tiene lugar en el citoplasma celular. Esta función se ha utilizado para estimar el estatus de animales experimentales como salmón y trucha, y para correlacionar la ingesta de tiamina con el estado fisiológico de trucha y de peces marinos planos. El pirofosfato de tiamina se retiene durante más tiempo en el músculo que en el cerebro, por consiguiente, la deficiencia de tiamina puede progresar con distintos signos neurológicos.

La tiamina es esencial para tener buen apetito, una digestión normal, crecimiento y fertilidad. Se precisa para el funcionamiento normal del sistema nervioso, y sus necesidades se determinan en función de la ingesta calórica dietaria.



6.1.2.1.3. Síndrome de deficiencia

Los signos más importantes de la deficiencia de tiamina en la trucha arco iris son, sobre todo, neurológicos: irritabilidad e inestabilidad. Otros signos son convulsiones, rechazo del alimento, pigmentación oscura y, finalmente, mortalidad. La reducción del crecimiento es consecuencia de la anorexia o rechazo del alimento, y no específicamente de la deficiencia de tiamina. Aunque se produzcan todos estos signos neurológicos, no se observan signos histopatológicos en ningún tejido, incluyendo el cerebro y el sistema nervioso central. La actividad transketolasa tisular parece ser sensible y, por tanto, un indicador específico del status de la tiamina en la trucha arco iris. Además, los niveles plasmáticos de lactato y de piruvato séricos también están elevados en los casos de deficiencia de tiamina.

En anguila se ha detectado el síndrome de tronco sinuoso junto con hemorragias en la base de las aletas. En carpas alimentadas con dieta deficientes en tiamina aparecen hemorragias subcutáneas. Los síntomas típicos en salmónidos, carpa y pez gato americano aparecen en el Cuadro 3. También se observa deficiencia de tiamina en peces planos marinos alimentados con piensos almacenados durante un periodo de tiempo suficiente para que la tiaminasa presente hidrolice la tiamina de la dieta. En este caso los síntomas son parálisis nerviosa, con mortalidad rápida a consecuencia de un trauma físico. Síntomas similares también se han observado en varias especies de peces marinos.

El estatus del pez, en cuanto a sus niveles de tiamina, se puede conocer midiendo la actividad de la transketolasa de eritrocitos. Los niveles de tiamina también se pueden valorar por ensayos microbiológicos en tejido hepático. Como ejemplo, niveles típicos de saturación de tiamina en salmón marino están alrededor de 15-20 µg de tiamina/g de tejido hepático fresco. Juveniles de salmón «chinook» o salmón «coho», contenían 8-10 µg de tiamina/g de hígado fresco. Estos niveles de almacenamiento hepático, junto a una actividad normal de transketolasa en eritrocitos, y la ausencia de signos de deficiencia, junto con un buen crecimiento e índice de conversión, indicaría una ingesta adecuada de tiamina en esa población de peces. La actividad transketolasa de riñón o hígado también es un buen indicador del estatus o de los niveles de tiamina en la trucha.



CUADRO 3.

Síntomas de deficiencia de las vitaminas hidrosolubles.

Vitaminas hidrosolubles	Síntomas por deficiencia
Tiamina (Vitamina B ₁)	Anorexia, bajo crecimiento, desórdenes nerviosos
Riboflavina (Vitamina B ₂)	Anorexia, crecimiento pobre, cataratas, aumento de la tasa de mortalidad, erosión severa y hemorragia de las aletas, debilidad muscular, fotofobia, falta de coordinación, letargo, anemia
Piridoxina (Vitamina B ₆)	Desórdenes nerviosos, hiperirritabilidad, anorexia, rápida situación de rigor mortis, ataxia (natación anormal), edema de la cavidad peritoneal, flexibilidad excesiva de los opérculos, anemia, pérdida de equilibrio, natación rápida y errática, tasa de ventilación rápida
Ácido pantoténico	Anorexia, disminución en el crecimiento, anemia, branquias cubiertas con mucosidad, inactividad, branquias fusionadas, lesiones en piel
Niacina (Ácido nicotínico)	Anorexia, pobre crecimiento, espasmos musculares durante el descanso, edema estomacal, ataxia, coloración oscura
Biotina	Anorexia, crecimiento reducido, eficiencia alimentaria pobre, enfermedad de la mancha azul, lesiones en el colon, atrofia muscular, convulsiones espasmódicas, depigmentación
Ácido fólico	Bajo crecimiento, anorexia, letargo, anemia macrocítica normocrómica, coloración oscura, branquias pálidas
Vitamina B ₁₂ (Cianocobalamina)	Anorexia, crecimiento reducido, anemia microcítica hipocrómica, eritrocitos fragmentados
Inositol	Crecimiento reducido, abdomen distendido, prolongación de tiempo de vaciado gástrico
Colina	Crecimiento reducido, eficiencia alimenticia pobre, intestino y riñón hemorrágicos
Vitamina C (Ácido ascórbico)	Crecimiento reducido, deterioro en la formación de colágeno, escoliosis, lordosis, hemorragia intestinal/aletas, mala curación de las heridas, aumento de la tasa de mortalidad, disminución en la eclosión de huevos, filamentos branquiales deformados

6.1.2.2. Riboflavina

6.1.2.2.1. Necesidades y fuentes

La riboflavina es un pigmento amarillo-marrón, ligeramente soluble en agua y muy soluble en medio básico. Es insoluble en la mayoría de los solventes de grasas, excepto el alcohol. La riboflavina es estable frente a los agentes oxidantes en ácidos fuertes y en soluciones acuosas neutras y es estable al calor en su forma seca. Se descompone, de manera irreversible, tras irradiación con rayos ultravioleta o luz visible.

Las necesidades de riboflavina para algunas especies de peces aparecen en el Cuadro 2. Hay que tener en cuenta que las necesidades pueden variar dependiendo del balance entre otros ingredientes dietarios, la energía de la dieta y las condiciones ambientales. Muchos de



estos estudios de necesidades se han hecho con peces muy jóvenes, con lo que hay que asumir que sus necesidades vitamínicas serán mayores que las de peces más grandes, con sistemas enzimáticos más desarrollados, con la capacidad de sintetizar al menos una pequeña proporción de las necesidades para estas vitaminas.

El contenido de riboflavina en los piensos suele ser demasiado bajo para cubrir las necesidades de la mayoría de los peces. Por ello, la riboflavina se añade en los piensos para peces, como un polvo seco en el suplemento vitamínico.

Juveniles de trucha arco iris, alimentadas con dietas purificadas, precisan 4.0 mg/kg de dieta para máxima ganancia de peso. La carpa común tiene necesidades parecidas (5 mg/kg) para crecimiento máximo. Las necesidades para juveniles del pez gato americano (*Ictalurus punctatus*) se estiman en 4.3 mg/kg, basándose en la ganancia de peso, pero son de 6.0 mg/kg para que la actividad d-AAO (d-aminoácido oxidasa) sea máxima. Valores similares se observaron para la tilapia azul. Las necesidades son mayores para el salmón del pacífico, 7 mg/kg, y para el pez limón, 11 mg/kg. En juveniles de *Morone saxatilis*, un nivel de 3.45 mg de riboflavina/kg de dieta era suficiente para prevenir los signos de deficiencia; sin embargo, se precisarían 4.1 y 5.0 mg/kg para máximo crecimiento y actividad d-AAO, respectivamente.

La riboflavina está ampliamente distribuida en plantas y en tejidos animales glandulares. La leche, el hígado, el riñón, el corazón, las levaduras, los granos germinados, el cacahuete, las semillas de soja y los huevos son fuentes ricas en esta vitamina. Para evitar las pérdidas de riboflavina, por su conversión a lumiflavina, es necesario proteger de la luz solar o de la luz artificial intensa los procesos de mezcla o de molienda de materiales crudos.

6.1.2.2.2. Funciones

La riboflavina, como constituyente del flavin-mononucleótido (FMN) y del flavin adenin dinucleótido (FAD), funciona como un coenzima para muchas enzimas oxidasas y reductasas, y consecuentemente juega un importante papel en el metabolismo energético; el FMN y el FAD facilitan el desdoblamiento enzimático de los nutrientes liberadores de energía, tales como los ácidos grasos, aminoácidos y



ácido pirúvico. Por ello la riboflavina es esencial para el metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas. La riboflavina participa, junto a la piridoxina, en la conversión de triptófano a ácido nicotínico, siendo muy importante en la respiración de tejidos poco vascularizados como la córnea del ojo. La riboflavina también está relacionada con la adaptación a la luz de los pigmentos de la retina, y su ausencia causa visión doble y fotofobia en animales experimentales, incluidos los peces.

6.1.2.2.3. Síndrome de deficiencia

Una deficiencia de riboflavina supone un daño en el metabolismo energético. Un resumen de los signos de deficiencia en peces está en el Cuadro 3. Las reservas de riboflavina en los tejidos se agotan en salmónidos jóvenes tras 10-12 semanas cuando son alimentados con dietas deficientes en riboflavina. Se detectan poco apetito y baja eficiencia de la dieta como primeros síntomas, seguidos de fotofobia, cataratas mono o bilaterales, vascularización de la córnea, hemorragia en el ojo, descoordinación, y anemia. En salmón aparece una pigmentación oscura, junto con constricciones estriadas en la pared abdominal. Para otras especies de peces también se ha encontrado atrofia de la piel, así como una pigmentación anormal tanto en la piel como en el iris. La inclusión de riboflavina en la dieta reduce los síntomas, excepto cuando las cataratas se han desarrollado y se ha perdido la estructura proteica de las lentes del ojo. Esta condición irreversible continuará como una catarata monolateral durante toda la vida del pez, mientras que las cataratas bilaterales tienen como consecuencia, en general, el ayuno y la muerte del animal.

El hígado de un salmón activo contiene entre 6 y 8 μg de riboflavina/g de tejido fresco. En agua dulce, peces jóvenes tenían una reserva hepática de riboflavina de 3.5-4.0 $\mu\text{g/g}$. El contenido de riboflavina en la dieta se puede conocer mediante métodos microbiológicos, pudiéndose así conocer la ingesta de esta vitamina. En peces, el estatus o presencia de riboflavina se puede determinar mediante la glutatión reductasa de eritrocitos, en presencia de FAD. En la trucha arco iris, la actividad D-aminoácido oxidasa parece ser un buen indicador de la concentración de riboflavina.



6.1.2.3. Piridoxina (Vitamina B₆)

6.1.2.3.1. Necesidades y fuentes

El grupo B₆ consta de la piridoxina, el piridoxal, la piridoxamina y algunos otros derivados con actividad biológica o que pueden ser convertidos en piridoxal, la forma más activa biológicamente. El hidrocloreto de piridoxina es soluble en agua y estable al calor, tanto en soluciones ácidas como alcalinas. La piridoxina es sensible a la luz ultravioleta en soluciones neutras o alcalinas.

Las necesidades de esta vitamina en algunos salmónidos, ciprínidos, ictalúridos y espáridos, aparecen en el Cuadro 2. En dorada, el nivel dietario a partir del cual no se observaron síntomas de deficiencia fue de 1.97 mg de piridoxina /kg de pienso seco. La actividad alanino aminotransferasa (AAT) hepática, sin embargo, seguía mostrando deficiencia de piridoxina incluso a esos niveles.

La piridoxina está presente en levaduras, cereales, yema de huevo, hígado y tejidos glandulares. Los compuestos fosforilados de piridoxina, presentes en los productos agrícolas, son bastante estables, pero son muy lábiles a la acción de la luz ultravioleta. Los ingredientes para fabricar las dietas deben protegerse de la luz solar. Alguna proporción de piridoxal fosfato se perderá con la exposición al aire. Las formas libres de piridoxal y la piridoxamina se destruyen rápidamente por la acción del aire, de la luz y del calor cuando están en preparaciones húmedas. La forma más aconsejable de incluirla en la dieta es como hidrocloreto de piridoxina.

6.1.2.3.2. Funciones

La piridoxina en la forma de éster de fosfato (el fosfato de piridoxal) funciona como coenzima en casi todas las reacciones involucradas en la degradación no oxidativa de los aminoácidos, que incluye transaminaciones, deaminaciones, decarboxilaciones y sulfhidraciones. Por lo cual, la piridoxina juega un papel vital en el metabolismo proteínico. Muchas neurohormonas requieren la presencia de piridoxal fosfato como coenzima para su síntesis. Está implicado en el metabolismo de grasas, especialmente en el relacionado con los ácidos grasos esenciales. El fosfato de piridoxal también se requiere para el desdoblamiento



metabólico del triptofano a ácido nicotínico, la síntesis de hemoglobina, del acetil coenzima A y el ARN mensajero; así como para facilitar la liberación del glucógeno a partir del músculo e hígado del animal, en el metabolismo de los carbohidratos.

6.1.2.3.3. Síndrome de deficiencia

Los signos de deficiencia de piridoxina en peces aparecen en el Cuadro 3. Ya que las necesidades proteicas para los jóvenes están entre el 40 y el 50 % de la ración, las reservas de piridoxina se agotan rápidamente cuando los peces son alimentados con dietas deficientes en esta vitamina. Signos graves de deficiencia aparecen en salmones tras 14-21 días de ser alimentados con una dieta sin piridoxina, y la población entera muere en 28 días cuando se alimentan con dietas con un 50 % ó más de proteína. Al estar la piridoxina implicada en el metabolismo cerebral y en la homeostasis de la serotonina, aparecen casos similares a la epilepsia. También se detectan desórdenes nerviosos, hiperirritabilidad y alteración en el control de la contracción de los melanóforos. Tras la muerte, el rigor mortis aparece rápidamente. Una observación común en algunos peces son las boqueadas rápidas y el movimiento de los opérculos, así como edema en la cavidad peritoneal con un fluido seroso incoloro. Salmón, trucha, carpa y pez limón exhiben rigor premortem unas cuantas horas antes de la muerte, y cuando la deficiencia sigue progresando, la recuperación es poco frecuente, a menos que los peces se inyecten con piridoxal fosfato. En ictalúridos con deficiencia se observa tétanos, desórdenes nerviosos y aparece un color azul-verde. Anguilas japonesas mostraron anorexia y convulsiones tras 3-4 semanas de ingerir dietas deficientes. El manejo de los animales generalmente induce más daño que los posibles beneficios de la administración de vitamina. Los signos de deficiencia desaparecen en un día o dos después de que se aporte la piridoxina en la dieta.

Una buena herramienta para conocer la situación, en cuanto a los niveles de piridoxina de un animal, es la actividad transaminasa en plasma y eritrocitos. Una elevada concentración de triptófano en la dieta aumenta las necesidades de vitamina B₆ y lleva a conclusiones erróneas, en cuanto a las medidas de actividad transaminasa. La cantidad de piridoxina almacenada en hígado, medida por métodos micro-



biológicos, fue de 5-6 μg de vitamina B₆ activa/g de hígado fresco de salmón, mientras que juveniles de salmón alimentados con una dieta con un 50 % de proteína y mantenidos en agua dulce, tenían 2-3 $\mu\text{g/g}$ de tejido fresco. También se ha relacionado la actividad alanina aminotransferasa con la ingesta de vitamina B₆ en truchas. En salmón también se ha usado la actividad aspartato transaminasa de eritrocitos para determinar el estatus de la piridoxina.

6.1.2.4. Ácido Pantoténico

6.1.2.4.1. Necesidades y fuentes

En las dietas para peces se suele añadir en forma de sal cálcica. Esta sal es un polvo cristalino de color blanco, soluble en agua y en ácido débil y prácticamente insoluble en solventes de grasas. Es estable frente a agentes oxidantes y reductores y a la autoclave, pero es lábil frente al calor seco, álcalis calientes o ácidos calientes.

Las necesidades dietarias para salmón, trucha y otros peces aparecen en el Cuadro 2.

El pantotenato, la panteteína y el CoA están presentes en los alimentos y pueden ser usados como fuentes de pantotenato. Los procesos de absorción, captación y excreción parecen no diferir entre especies. El pantotenato a bajas concentraciones en el lumen intestinal es absorbido por un mecanismo de transporte Na-dependiente específico, mientras que a concentraciones elevadas se absorbe por difusión simple. La panteteína se absorbe en el intestino más rápidamente que el pantotenato, y una parte se hidroliza a pantotenato durante el proceso.

Buenas fuentes del ácido pantoténico son cereales, levaduras, hígado, riñón, corazón, bazo y pulmón. La carne de pescado es una fuente relativamente rica, aunque su contenido en ácido pantoténico representa solo el 20 % del de los tejidos glandulares animales. La jalea real quizás sea la fuente con un mayor contenido, ya que contiene alrededor de 500 μg de pantotenol/g de peso seco. Hay algunas pérdidas en autoclave y también debería evitarse el calor excesivo en la preparación de las dietas. Ya que el ácido libre es lábil al calor, a los ácidos y a las bases, hay pérdidas durante la preparación, por la humedad, el calor, o bien durante el almacenamiento húmedo. Algunos



salvados de cereales pueden tener ácido pantoténico en una forma no accesible para los peces, debido a los bajos coeficientes de digestibilidad y, por ello, no deben usarse como fuente de ácido pantoténico en la dieta. También puede haber pérdidas cuando el pez fresco o los tejidos glandulares animales se someten al proceso de pasteurización, en dietas húmedas.

6.1.2.4.2. Funciones

El ácido pantoténico en la forma de 3-fosfoadenosin-5-difosfato-pantoteína (comúnmente conocido como acetil coenzima A), funciona como un coenzima que desempeña un papel fundamental en todas las reacciones de acetilación (p. ej. reacciones que involucran la formación o transferencia de un grupo acetil 2-carbono). Este coenzima se encuentra en distintas vías de la oxidación de ácidos grasos, de la síntesis del colesterol, síntesis del grupo hemo, catabolismo de aminoácidos, síntesis de acetilcolina, etc. Y es esencial para el desarrollo del sistema nervioso central. El ácido pantoténico está implicado en la función adrenal y en la producción de colesterol. El coenzima A también participa en otras etapas del metabolismo intermediario de carbohidratos, grasas y proteínas. Es un nutriente necesario para una normal fisiología y metabolismo en peces en crecimiento.

6.1.2.4.3. Síndrome de Deficiencia

Los signos de su deficiencia aparecen en el Cuadro 3. Bajo condiciones estándar, trucha y salmón alimentados con una dieta deficiente en ácido pantoténico, agotan sus reservas en 8-12 semanas. En el pez limón aparecieron síntomas de deficiencia después de tan sólo 10-14 días.

Los peces muestran un amplio rango de signos cuando el pantotenato es deficiente en distintos periodos de tiempo: tasa reducida de crecimiento, disminución de la ingesta y de los índices de conversión del alimento, llevando a la muerte; lesiones en la piel; desórdenes en el sistema nervioso; degeneración de la mielina de los nervios, llevando a una parálisis y a la descoordinación muscular; desórdenes gastrointestinales, como úlceras gástricas e intestinales, diarreas; reducción de la función inmune; deterioro de las funciones adrenales, como la altera-



ción de la síntesis de corticosterona y necrosis hemorrágica; alteración del metabolismo de lípidos y carbohidratos; alteración del sistema reproductivo; alteración de la formación de la sangre.

Muestran dermatitis, con erosiones en la piel, y una enfermedad de las branquias manifestada por lamelas cubiertas por un exudado y en forma de garrote. Los peces deficientes en pantotenato tienen una acumulación o degeneración de grasa en el hígado.

Tras añadir ácido pantoténico a la dieta la recuperación es rápida para los peces que aún comen y las branquias típicas en forma de porra desaparecen a las 4 semanas; sin embargo, durante esta recuperación se mantienen la necrosis y las cicatrices en los filamentos y lamelas branquiales.

Para un análisis correcto del contenido de ácido pantoténico en materiales crudos, se debe proceder a una hidrólisis previa. Salmones marinos alimentados muestran un contenido hepático de ácido pantoténico de 18-20 $\mu\text{g/g}$ de tejido fresco. Juveniles de salmón en agua dulce tenían una concentración de 14-16 μg de ácido pantoténico/g de hígado fresco.

6.1.2.5. Niacina

6.1.2.5.1. Necesidades y fuentes

La forma activa es la amida del ácido nicotínico o niacinamida. Es un sólido cristalino blanco, soluble en agua y alcohol y en álcali. Es estable en seco y puede ser autoclavada durante periodos de tiempo cortos sin que se destruya. Es también estable al calor en ácidos y álcalis. La niacinamida se suele encontrar como niacinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP). Poseen actividad biológica la niacina, la niacinamida, NAD y algunos derivados de NAD y de NADP.

Las necesidades de niacina de peces jóvenes, analizadas experimentalmente, aparecen en el Cuadro 2. Las necesidades de niacina varían mucho entre las distintas especies de peces, con valores desde los 10 mg/kg en la trucha arco iris, los 28 mg/kg en la carpa común, los 63-83 mg/kg en la dorada hasta los 121 mg/kg en la tilapia híbrida. Los juveniles de ictalúridos parecen necesitar alrededor de 14 mg/kg.

Las necesidades pueden variar en función de la eficacia del triptófano como precursor de la niacina. En algunas especies de salmón y trucha el



triptófano es un precursor ineficaz de la niacina. También parece darse el mismo caso en *Ictalurus punctatus* y la tilapia híbrida, basándose en que los signos de deficiencia aparecen con dietas sin niacina, independientemente de que se incluyan niveles elevados de proteína en las mismas. Por tanto, a través de evidencias indirectas, parece que los peces son incapaces de sintetizar NAD(P) a partir del triptófano. Sin embargo, en algunos trabajos se ha encontrado una relación de actividades enzimáticas que hace pensar en la capacidad de sintetizar NAD(P) a partir de triptófano en la carpa, la tilapia, el pargo japonés, la chopa y *Chanos chanos*.

La niacina se encuentra en la mayoría de los tejidos animales y vegetales. Fuentes ricas en esta vitamina son levaduras, hígado, riñón, corazón, legumbres y vegetales verdes. El trigo contiene más niacina que el maíz. La vitamina también está en el huevo y en la leche y sus derivados. La niacina que se añade a la dieta como suplemento se mantiene relativamente inalterada durante la manufactura, procesamiento y almacenaje de la dieta.

6.1.2.5.2. Funciones

Las principales funciones de la niacina en el NAD y en el NADP son la eliminación del hidrógeno de los sustratos y transferir el hidrógeno o los electrones a otro coenzima en la cadena de transporte de hidrógeno. Muchos de estos sistemas enzimáticos funcionan alternando el estado de los coenzimas NAD-NADH y NADP-NADPH entre sus formas oxidadas y reducidas. Ambos, NAD y NADP están implicados en la síntesis de moléculas de fosfato con enlaces ricos en energía. La niacina está también relacionada con el metabolismo lipídico, metabolismo de proteínas y aminoácidos. Hay una interrelación entre tiamina y niacina, ya que ambas vitaminas participan en los sistemas de coenzimas del metabolismo de carbohidratos en cuanto a la generación de sistemas de energía en el metabolismo intermediario.

6.1.2.5.3. Síndrome de Deficiencia

Los signos de deficiencia en peces se recogen en el Cuadro 3. Las reservas de niacina se agotan más lentamente en condiciones experimentales que las de otras vitaminas, lo que hace que los síntomas se desarrollen también de forma más lenta y estén menos definidos.



Los signos de deficiencia, en la mayoría de las especies, son pérdida de apetito, bajo crecimiento y aumento de la mortalidad, aunque también puede aparecer fotosensibilidad o quemaduras solares en la trucha arco iris, hemorragias y lesiones en piel y aletas en la carpa común, mandíbulas deformes y anemia en el pez gato americano (*Ictalurus punctatus*), morro deforme y edema en las branquias en la tilapia híbrida y natación anormal y ataxia en la anguila japonesa. Todos estos efectos, tan diversos, no sorprenden, ya que NAD y NADP participan en numerosas reacciones metabólicas, incluyendo un importante papel en la respiración mitocondrial y en el metabolismo de aminoácidos, lípidos y carbohidratos.

En salmón marino, las reservas en hígado oscilaban entre 70-80 µg de niacina/g de tejido hepático fresco. En juveniles de salmón en agua dulce, alimentados con dietas con un 40-50 % de proteína y suplementos de niacina de 500-750 mg/kg de dieta seca, estas reservas eran la mitad de las ya citadas.

6.1.2.6. Biotina

6.1.2.6.1. Necesidades y fuentes

La biotina es un ácido monocarboxílico poco soluble en agua y en alcohol e insoluble en disolventes de grasas. Las soluciones acuosas o el material seco son estables a 100 °C y a la luz. La vitamina se destruye por acción de ácidos, álcalis y por agentes oxidantes como peróxidos y permanganato. La biocitina es una forma de biotina aislada de levaduras, plantas y tejidos animales. Otras formas generalmente pueden ser liberadas por la digestión péptica.

Las necesidades aparecen en el Cuadro 2. Por ejemplo, las necesidades se cifran en 0.1 mg/kg en la trucha de arroyo, 0.05-0.14 mg/kg en la trucha arco iris, 0.02-0.03 mg/kg en la carpa común y 2.0-2.5 mg/kg en otros ciprínidos. Atendiendo a la ganancia de peso, las necesidades de biotina en el juvenil del híbrido de tilapia se cifran en alrededor de 0.06 mg/kg de dieta.

Fuentes ricas en biotina son hígado, riñón, levadura, productos lácteos y yema de huevo. La dieta debe ser protegida frente a agentes oxidantes fuertes o a las condiciones que puedan suponer una oxidación de los ingredientes. La clara de huevo cruda, sin tratar, no se debe



incorporar en dietas húmedas para peces. Para inactivar la avidina, este material se debe calentar. Los ingredientes naturales utilizados en la mayoría de las dietas para peces contienen suficiente biotina para que haya buen crecimiento.

6.1.2.6.2. Funciones

La biotina funciona como un coenzima en aquellas reacciones tisulares que involucran la transferencia del bióxido de carbono de un compuesto a otro (p. ej. reacciones de carboxilación). Ya que estas enzimas tienen un papel en la gluconeogénesis, la síntesis y degradación de ácidos grasos y funcionan en el ciclo de Krebs, la biotina es importante para el metabolismo de aminoácidos, carbohidratos y lípidos. La biotina también participa en la síntesis de purina y en el proceso de elongación de ácidos grasos.

6.1.2.6.3. Síndrome de Deficiencia

Algunos signos de la deficiencia de biotina en salmónidos son cambios en la piel, atrofia muscular, lesiones en el colon, pérdida de apetito. La hematología revela fragmentación de eritrocitos. Un bajo crecimiento es un síntoma común observado en salmónidos, carpa común, carpín dorado, pez gato americano (*Ictalurus punctatus*) y anguila. En la trucha de arroyo, *Salvelinus fontinalis*, la enfermedad de la mancha azul viscosa parece ser típica de la deficiencia de biotina. En peces mantenidos en agua a 10-15 °C las reservas de biotina desaparecen a las 8-12 semanas y los primeros síntomas son anorexia, bajos índices de conversión y estado de languidez, de apatía, antes de que se detecten los síntomas más graves de la deficiencia. Se reducen las actividades hepáticas de acetil coenzima A carboxilasa y piruvato carboxilasa, hay una degeneración de las células acinares en el páncreas, y acúmulo de glucógeno en los túbulos renales. En ictalurónidos la piel se aclara y disminuye la actividad piruvato carboxilasa.

También se han estudiado los efectos metabólicos de la deficiencia en *S. fontinalis* y trucha arco iris. Estos estudios indican que la dieta puede tener influencia sobre la naturaleza de la deficiencia en biotina. Por ejemplo, en *S. fontinalis* alimentadas con dietas conteniendo aceite de soja parcialmente hidrogenado, los síntomas no fueron claros



(comparados con las alimentadas con una dieta sin lípidos), aunque los ácidos oleico y linoleico tendían a acumularse en estos peces, debido a una depresión del sistema de elongación de los ácidos grasos. En truchas arco iris deficientes se observó un aumento del tamaño del hígado, debido al acúmulo de glucógeno. Este efecto podría deberse a un desajuste de la glucólisis surgido de una supuesta acumulación de lactato como consecuencia de la reducción de los niveles de los intermediarios del ciclo de Krebs, como resultado de una actividad piruvato decarboxilasa disminuida. También en la trucha arco iris, algunos aspectos secundarios de la deficiencia estarían relacionados con la composición de la dieta.

La actividad de la piruvato carboxilasa hepática refleja el estatus de la biotina en peces. Salmones marinos tienen contenidos hepáticos de biotina de 10-12 $\mu\text{g/g}$ de tejido hepático fresco. La concentración en el hígado de salmones jóvenes de agua dulce está entre 6 y 8 μg de vitamina/g de tejido. Peces con estos niveles de biotina en el hígado probablemente tienen un estatus nutricional sano, en cuanto a esta vitamina.

6.1.2.7. Ácido fólico (Folacina)

6.1.2.7.1. Necesidades y fuentes

El ácido fólico es soluble en agua y en alcohol diluido. Se puede precipitar con sales de metales pesados. En ácido se destruye fácilmente por el calor y se deteriora cuando se expone a la luz solar o cuando se almacena durante largos periodos de tiempo. Hay algunos análogos con actividad biológica.

En el Cuadro 2 se reseñan las necesidades de ácido fólico. Las necesidades son similares para trucha y salmón. La deficiencia combinada de ácido fólico y vitamina B₁₂ acelera la aparición de anemia.

El ácido fólico se encuentra en levaduras, vegetales verdes, hígado, riñón y vísceras de pescado. Los insectos contienen xantopterina, sustancia que tiene actividad biológica como la del ácido fólico. Probablemente, los insectos contribuyan a cubrir las necesidades de ácido fólico en peces silvestres. Las bacterias intestinales pueden sintetizar algo de ácido fólico, sobre todo las presentes en especies de peces de agua



caliente. La actividad se pierde si el almacenamiento es largo y cuando el material se expone a la luz solar.

6.1.2.7.2. Funciones

El ácido fólico se necesita para la formación normal de las células sanguíneas y participa como coenzima en los mecanismos en que se transfiere un carbono. El ácido fólico participa en la conversión de la médula ósea megaloblástica en normoblástica. Juega un papel en la regulación de la glucosa en sangre y mejora la función de la membrana celular y en la incubación de los huevos.

6.1.2.7.2. Síndrome de Deficiencia

En algunos animales experimentales, incluidos los peces, aparece anemia macrocítica normocrómica cuando son alimentados con dietas sin folacina o ácido fólico. Se observa un aumento del número de células viejas conforme progresa la deficiencia, aunque en peces deficientes sólo se encuentran unas pocas células viejas y en proceso de degeneración. En el riñón anterior aparecen sólo células adultas y ninguna en formación. Otros signos propios de la deficiencia son bajo crecimiento, anorexia, anemia general, letargia, aletas frágiles, pigmentación oscura de la piel en varias especies de peces. En *Ictalurus punctatus* la deficiencia indujo crecimiento reducido y una mayor sensibilidad a la infección bacteriana.

Los salmones marinos, y los juveniles de salmón, alimentados con dietas ricas en folacina, tienen reservas hepáticas de 3-4 µg de ácido fólico/g de tejido fresco. Los análisis hematológicos se usan en peces para detectar hemopoyesis. Los ensayos microbiológicos son los usados para conocer el total de vitámeros para la folacina en materiales crudos, usados en las dietas para peces, ya que la actividad biológica total que se mide incluye todas las formas de coenzimas y los análogos del ácido fólico. El conocer los niveles dietarios de la folacina y la ingesta de los peces, es importante en el cultivo intensivo de peces de aguas frías. Cuando el tipo de cultivo permite que se alimenten de forma natural de insectos acuáticos y terrestres, algas y otros alimentos, la suplementación con ácido fólico no es tan necesaria como en los casos en que los peces depen-



den enteramente del suplemento vitamínico. Al ser el ácido fólico susceptible de inactivación durante el almacenaje, generalmente se añade en exceso durante la fabricación de las dietas, para prevenir el posible daño que pudiera sufrir su molécula ante un largo o inapropiado almacenaje. La realización de análisis hematológicos de forma rutinaria haría posible asegurar un estado nutricional apropiado para máxima producción y salubridad. El ácido fólico también parece tener un papel importante en la resistencia a enfermedades, de manera que cuando hay contaminación del agua o cualquier otra circunstancia negativa, los lotes de peces deficientes en ácido fólico son los primeros que muestran síntomas agudos de enfermedad.

6.1.2.8. Vitamina B₁₂

6.1.2.8.1. Necesidades y fuentes

La vitamina B₁₂, o cianocobalamina, es un compuesto cristalino de color rojo. El material cristalino o en solución acuosa es estable ante calor moderado en soluciones neutras, pero se destruye rápidamente por calentamiento en ácidos diluidos o en álcalis o por exposición a la luz. Los concentrados crudos son más inestables y pierden actividad rápidamente.

Ha habido dificultades al intentar cuantificar las necesidades de vitamina B₁₂. Algunas de estas dificultades son las complicaciones para medir el contenido de vitamina B₁₂ en las dietas, los largos periodos necesarios para el desarrollo de una anemia, o los problemas a la hora de cuantificar los depósitos hepáticos de esta vitamina. A pesar de todo ello, en el Cuadro 2 aparecen los datos más aproximados a las necesidades de la vitamina B₁₂.

Fuentes ricas en el factor animal proteico o vitamina B₁₂, son la harina de pescado, las vísceras de pescado, el hígado, el riñón, tejidos glandulares y harina de matadero. Las bacterias intestinales de peces son capaces de sintetizar algo de vitamina B₁₂ y pueden contribuir a la disponibilidad de vitamina B₁₂ por parte del pez. Este fenómeno justificaría la suplementación de las dietas para peces con trazas de cobalto. La síntesis de vitamina B₁₂ por las bacterias intestinales fue suficiente para suplir las necesidades de la tilapia (*Tilapia nilotica*). Al ser la vita-



mina B₁₂ lábil al almacenamiento y destruirse por calentamiento en soluciones ácidas diluidas, se debe tener especial cuidado a la hora de fabricar dietas que contengan trozos de carne mal almacenada a bajo pH y después pasteurizada o esterilizada. Por todo ello, el almacenamiento debe ser en frío y de corta duración, para asegurar la máxima retención de vitamina B₁₂ activa cuando se consuma el pienso.

6.1.2.8.2. Funciones

La cianocobalamina y el ácido fólico están implicados en la hematopoyesis. Es necesaria para el crecimiento. Forma parte de coenzimas en reacciones metabólicas de un carbono. Un coenzima, que contiene vitamina B₁₂, actúa en la metilación del anillo de la purina, durante la síntesis de tiamina. La vitamina B₁₂ también está relacionada con el metabolismo del colesterol, en la biosíntesis de purinas y pirimidinas y en el metabolismo de glicoles.

6.1.2.8.3. Síndrome de Deficiencia

Los depósitos de cianocobalamina en peces se agotan lentamente, y así tras 12-16 semanas de experimentación aparecen los síntomas en poblaciones de salmones deficientes. Se observan eritrocitos fragmentados, con la aparición de un gran número de formas aberrantes. Los contenidos en hemoglobina son muy variables entre peces, y el recuento de eritrocitos muestra un amplio rango que va desde una anemia a un patrón próximo al normal. Antes de que se detecte la anemia, se observan síntomas como poco apetito, bajo crecimiento, malos índices de conversión y cierta pigmentación oscura. Salmones «chinook» o «coho», alimentados con dietas sin vitamina B₁₂, pero con cantidades adecuadas de ácido fólico, muestran una típica anemia microcítica hipocrómica, con eritrocitos fragmentados y muchas formas inmaduras.

Hay una rápida respuesta de los peces cuando se inyecta vitamina B₁₂ sola o en combinación con ácido fólico, con una relación de 1 parte de vitamina B₁₂ y 100 partes de ácido fólico. En los peces deficientes en vitamina B₁₂ la hematología se caracteriza por la existencia de tipos variados de células sanguíneas, mientras que en la deficiencia de ácido fólico sólo aparecen células seniles, algunas con núcleo picnótico, ca-



racterístico de la anemia macrocítica normocrómica. Por ello, la caracterización de la anemia es fundamental para diferenciar los síntomas de un factor antianémico de otro.

6.1.2.9. Ácido ascórbico (Vitamina C)

6.1.2.9.1. Necesidades y fuentes

La forma activa (ácido ascórbico) o reducida (ácido dihidroascórbico) es un compuesto cristalino blanco, sin olor, soluble en agua e insoluble en solventes de lípidos. El ácido dihidroascórbico se oxida fácil y rápidamente a ácido dehidroascórbico, que es menos activo biológicamente que la forma reducida. El isómero óptico de la forma activa, el ácido D-ascórbico, no tiene actividad y compite por los sitios de la vitamina en algunas reacciones enzimáticas. El ácido ascórbico forma sales y es lábil ante el oxígeno libre. La forma reducida del ácido ascórbico es muy estable en soluciones ácidas, pero se hidroliza rápidamente y pierde su actividad en soluciones alcalinas. El cobre y los metales pesados favorecen la oxidación. El paso de la forma oxidada a reducida puede producirse con la participación de agentes reductores como el glutatión y el NADPH. La vitamina C es muy lábil al calor y a la oxidación atmosférica, especialmente en presencia de cobre, hierro u otros metales. La forma reducida es la más activa biológicamente, pero se pueden formar varios derivados o sales con distintos grados de actividad ascorbato. Un derivado, el L-ascorbato sulfato (vitamina C_{2S}), es una forma estable al calor que sintetizan los salmónidos a partir del ácido L-ascórbico (vitamina C₁) en exceso en la dieta, y se usa como depósito tisular de esta vitamina. También se ha encontrado en los quistes de artemia y en otros animales, y es resistente a la oxidación en el estado de sulfato. Como fuente de vitamina C en las dietas para peces se usa una forma sintetizada químicamente, el L-ascorbato fosfato (C_{2P}).

La capacidad de sintetizar ácido ascórbico está ausente en invertebrados, primates y peces. Aunque algunas especies de peces son capaces de sintetizar ácido ascórbico «ex novo», la mayoría de los teleósteos no puede producir suficiente cantidad de vitamina C para satisfacer sus necesidades específicas.

Los experimentos de absorción «in vivo» del ácido ascórbico (AA) y sus derivados revelan diferencias en función del tipo de dieta (basadas en caseína-gelatina o harina de pescado).



Los tejidos que sintetizan AA contienen la enzima L-gulonolactona oxidasa (GLO). Esta enzima cataliza el paso final en la síntesis de AA, en el que la L-gulonolactona es convertida en 2-oxo-L-gulonolactona, que, de forma espontánea, isomeriza a L-ácido ascórbico. La presencia de GLO puede influir en el nivel necesario de AA con que se suplementan las dietas, para cubrir necesidades y mantener concentraciones adecuadas de AA en los tejidos. Las especies incapaces de sintetizar AA carecen de esta enzima. Teleósteos, como los salmónidos y el pez gato americano, *Ictalurus punctatus*, no son capaces de sintetizar AA. Sin embargo, en riñón e hígado de algunas especies de teleósteos de aguas templadas, como la carpa común, *Cyprinus Carpio*, el mújol, *Mugil cephalus*, y el carpín dorado, *Carasius auratus*, sí hay síntesis de AA. La actividad GLO también se ha detectado en riñones de peces primitivos actinoptergios, como los elasmobranquios y el pez pulmonado africano *Protopterus aethiopicus*. El esturión blanco, *Acipenser transmontanus*, sintetiza AA. La concentración de AA puede afectar la actividad GLO. Sin embargo, en el esturión siberiano, *Acipenser baeri*, un aumento de la concentración de AA no tiene efectos sobre la actividad GLO.

La trucha arco iris ha sido el pez con el que se han realizado más estudios, con diferentes tipos de dietas purificadas y distintas ingestas de vitamina C. En estos peces hay distintas necesidades, dependiendo del criterio utilizado para medir la necesidad. Atendiendo a los depósitos de vitamina C, sería suficiente una ingesta de alrededor de 100 mg de vitamina C/kg de dieta seca. Sin embargo, cuando los experimentos se centran en la reparación de las heridas, o cuando los peces están sometidos a otro tipo de estrés, las necesidades se doblan o triplican. El salmón «coho» parece precisar alrededor de la mitad de estas necesidades para tener depósitos titulares adecuados y una tasa máxima en la reparación de sus heridas. Estos datos se muestran en el Cuadro 2, incluyendo crecimiento y reparación de tejidos en la trucha y en el salmón «coho». Por tanto, las necesidades de ácido ascórbico se deben relacionar con el estrés, con la tasa de crecimiento, el tamaño del animal y con el resto de los nutrientes presentes en la dieta. Valores de alrededor de 200 mg de ácido ascórbico/kg de dieta en trucha y salmón, mantenidos en agua dulce entre 10 y 15 °C, asegurarían depósi-



tos tisulares adecuados, e incluso con algo de exceso para poder hacer frente a condiciones de estrés suave y a las pérdidas de ácido ascórbico de la dieta por oxidación durante la preparación y el almacenamiento. Las carpas grandes pueden sintetizar alguna cantidad de ascorbato y, así, las necesidades para esta especie dependerían del tamaño del pez y de las condiciones ambientales de mantenimiento. Los peces también necesitan más vitamina C cuando están expuestos a enfermedades infecciosas. Los procesos reproductivos también pueden aumentar las demandas de vitamina C.

Las necesidades varían mucho entre especies, y pueden verse modificadas por una serie de condiciones fisiológicas y ambientales, incluyendo la temperatura. Alteraciones en el comportamiento también pueden tener un impacto sobre las necesidades; por ejemplo, en las especies de aguas frías, el contenido de vitamina C durante el invierno debe ser aumentado, y así corregir la menor ingesta, permitiendo que se mantengan los depósitos corporales de vitamina C.

En *Pseudosciaena crocea*, alimentados con dietas con cantidades crecientes de vitamina C (de 0.1 a 489 mg de ácido ascórbico/kg de dieta, en forma de LAPP), no aparecieron grandes síntomas de deficiencia. La tasa de supervivencia aumentó de forma paralela al contenido de vitamina C en la dieta. Basándose en la supervivencia, las necesidades se estimaron en 28.2 mg/kg, y en 87 mg/kg en cuanto al contenido hepático de vitamina C. Con el incremento de vitamina C se mejora la respuesta inmune del pez. La infección de los peces con *Vibrio harveyi* mostró que en los peces alimentados con suplementación de vitamina C hubo una menor mortalidad. Estos resultados sugieren que la vitamina C tiene una influencia significativa en la respuesta inmune y la resistencia a enfermedades.

En juveniles del rodaballo *Paralichthys olivaceus*, los peces alimentados con dietas carentes de vitamina C mostraron síntomas de deficiencia. Los resultados sugieren que las necesidades de vitamina C para buen crecimiento serían de 93 mg AA/kg, y mayores de 150 mg AA/kg de dieta para la saturación de vitamina C en los tejidos de este pez.

El ácido ascórbico está ampliamente distribuido en la naturaleza, siendo buenas fuentes los cítricos, la col, el hígado y el riñón. Se encuentran cantidades elevadas de vitamina C en tejido glandular de



peces y cantidades apreciables en las harinas de pescado elaboradas con peces enteros. Sin embargo, se debe considerar la adición de vitamina sintética para asegurar una ingesta adecuada, necesaria para crecimiento normal, reparación de los tejidos y funciones fisiológicas en general. Los insectos frescos y los tejidos de peces contienen una razonable cantidad de vitamina. Cuando se usa el ácido ascórbico, el alimento debe ser protegido de la oxidación aeróbica y cualquier dieta húmeda debe protegerse cuidadosamente de agentes oxidantes, del aire y del cobre, hierro, y otros metales que catalizan la oxidación del ácido ascórbico, pasando a convertirse en una forma biológicamente inactiva. Hay disponibles algunas formas de ascorbato estables frente al calor y a la oxidación, que pueden ser utilizadas como fuentes de esta vitamina en las dietas para peces. C2P es la forma que resulta más rentable, desde el punto de vista económico, y es la que se usa generalmente en la formulación de las dietas, aunque el fosfato puede ser hidrolizado fácilmente por las fosfatasas presentes en algunos ingredientes y, de esta forma, liberarse el ácido ascórbico, oxidarse y perderse como fuente de vitamina C. Además, se ha intentado mejorar la estabilidad del ácido ascórbico incluyendo el uso de envoltas o cápsulas.

6.1.2.9.2. Funciones

El ácido ascórbico y su producto de oxidación, el ácido dehidro-L-ascórbico actúan como antioxidantes fisiológicos al facilitar el transporte de hidrógeno dentro de la célula animal. El ácido ascórbico también se requiere para numerosas reacciones de hidroxilación dentro del cuerpo, incluyendo la hidroxilación del triptofano, tirosina, lisina, fenilalanina y prolina. De las reacciones de hidroxilación arriba mencionadas, probablemente la más importante es la formación de hidroxiprolina a partir de la prolina, ya que ambos aminoácidos son constituyentes importantes del colágeno, mucopolisacáridos y del sulfato de condroitina (substancia intracelular cementante de las células óseas, células de los capilares sanguíneos y células del tejido conectivo). El ácido ascórbico, por lo tanto juega un papel vital en el mantenimiento de la integridad del tejido conectivo, vasos sanguíneos, tejido óseo y reparación del tejido dañado. También se requiere el ácido ascórbico para la conversión



del ácido fólico a su forma metabólicamente activa, el ácido tetrahidrofólico, para la conversión de triptofano a serotonina y para la síntesis de hormonas esteroideas por la corteza adrenal. De forma sinérgica con la vitamina E, la vitamina C juega un papel en el mantenimiento de los antioxidantes intracelulares y de los atrapadores de radicales libres. También de forma sinérgica con vitamina E y selenio, mantiene la actividad de glutathion peroxidasa y de superóxido dismutasa.

La vitamina C parece ser uno de los nutrientes más importantes relacionados con la inmunidad en peces. Sin embargo, en algunos estudios con peces no hubo mejora en los procesos inmunitarios del pez. En la lubina japonesa se ha encontrado esta correlación, sugiriendo que los niveles elevados de vitamina C pueden mejorar la inmunidad de este pez, y que se necesita más ácido ascórbico para una función inmune óptima que para máximo crecimiento. Usualmente, las dietas para peces incluyen cantidades de vitamina C suficientes para un crecimiento normal. Sin embargo, se precisan mayores cantidades de vitamina C para acelerar la curación de las heridas y para un aumento de la resistencia a enfermedades, aunque hay algunos estudios que sugieren que estas cantidades elevadas de vitamina C no son beneficiosas para la respuesta inmune y la resistencia a enfermedades. Así, para obtener máximos beneficios, tanto el crecimiento óptimo como la inmunidad deben ser tenidos en cuenta en la práctica, a la hora de suplementar con ácido ascórbico.

En peces, está establecido el papel del ácido ascórbico en la reproducción, aunque el mecanismo directo de acción no se conoce. La deficiencia de vitamina C reduce la movilidad del esperma y la concentración, fecundidad y supervivencia de los embriones, lo que lleva a la conclusión de que el nivel de vitamina C necesario para crecimiento es insuficiente para peces en fase de reproducción, pudiendo causar problemas durante este proceso.

6.1.2.9.3. Síndrome de Deficiencia

Los signos de deficiencia en peces generalmente están relacionados con una anormal formación de colágeno. Los peces muestran pronto hiperplasia de colágeno y cartílago, con escoliosis, lordosis, hemorragias internas, con resorción de los opérculos, y un cartílago



de soporte dañado en branquias, espina y aletas, con hiperplasia en las mandíbulas y en el morro. Estos síntomas se han observado en un gran número de especies de peces. Histológicamente se han observado hipertrofia del tejido adrenal y hemorragias en la base de las aletas en el salmón «coho». Los signos de deficiencia dejan de desarrollarse y el crecimiento se vuelve normal cuando se incluye vitamina C en la dieta. Eventualmente se puede desarrollar una anemia en peces con deficiencias extremas, y la escoliosis y la lordosis extremas no se pueden reparar, pero estos signos mejoran con nuevo crecimiento alrededor de las áreas afectadas de la espina, cuando la vitamina C se añade a la dieta.

En la gran carpa india, se indujo experimentalmente la deficiencia en vitamina C durante 330 días, seguida de una recuperación de 30 días. Crecimiento retardado y una mayor mortalidad, acompañados de deformidades estructurales como lordosis y escoliosis, aumentaron a lo largo de la deficiencia. Los estudios hematológicos y hematopoyéticos revelaron la aparición de anemia macrocítica hipocrómica, acompañada de anisocitosis.

En doradas alimentadas con dietas deficientes en vitamina C aparecieron ciertos signos patológicos como un daño extensivo tubular, glomerulonefritis y respuesta inflamatoria del tejido hematopoyético, produciendo granuloma, y, en algunos casos, extendiéndose a tejidos y órganos próximos. Sin embargo, los peces alimentados con dietas suplementadas con 50 mg de ascorbato/kg de dieta, sólo mostraron daño en los túbulos renales. Los grandes signos de deficiencia observados fueron anorexia, pérdida de talla, depigmentación y hemorragias internas y externas. La mortalidad llegó a valores altos tras el primer mes de experimentación. La respuesta relacionada con la curación de las heridas, mostró una correlación directa con el nivel de ascorbato en la dieta.

En el rodaballo atlántico deficiente en AA aparecen cristales de tiro-sina en el riñón y en el bazo. En el ayu, *Plecoglossus altivelis*, se observa un comportamiento anormal en el cardumen. Sin embargo, los rodaballos juveniles no desarrollan ningún síntoma de deficiencia cuando se les alimenta con una dieta sin vitamina C durante un periodo de tres meses.



Normalmente se acude a medir el contenido de ascorbato en los tejidos para conocer el estatus de la vitamina C en los animales experimentales. Los primeros ensayos que se utilizaron medían el ascorbato total y no el activo biológicamente (ácido dihidroascórbico). En los peces, el análisis de distintos tejidos, de sangre y de hígado no refleja adecuadamente la ingesta y el estatus del ácido ascórbico, pero el riñón anterior, que contiene el tejido adrenal, es un sitio bastante representativo de depósito de esta vitamina. El estrés reduce rápidamente el contenido de ácido ascórbico de este tejido, en paralelo con la producción aumentada de esteroides adrenales. El examen del cartílago de los filamentos branquiales permitiría la detección precoz de la hipovitaminosis C, antes de que sean detectables los síntomas graves de deficiencia. El contenido en el colágeno vertebral se puede usar para conocer el estatus de vitamina C en la trucha y en el pez gato americano *Ictalurus punctatus*. Además de medir el ascorbato total en el riñón anterior, se pueden usar técnicas que determinen concentración de C₁ en sangre.

6.1.2.10. Inositol

6.1.2.10.1. Necesidades y fuentes

Una de las formas activas es el mio-inositol. Este compuesto es un polvo cristalino de color blanco, soluble en agua e insoluble en alcohol y éter. Puede ser sintetizado, pero se aísla con facilidad del material biológico en su forma libre o combinado.

El mio-inositol es el isómero biológico del inositol más abundante en la naturaleza, y existe como componente estructural del fosfatidilinositol en las membranas celulares. El inositol se clasifica como un nutriente similar a una vitamina y suele añadirse a los piensos para peces.

Las necesidades dietarias de inositol en los peces no están muy claras. Las necesidades cuantitativas de mio-inositol se conocen en algunos peces como el salmón atlántico, la carpa común y el pargo japonés, con cifras de 300, 440 y 550-900 mg/kg de dieta, respectivamente. En juveniles de tilapias híbridas, las necesidades para máximo crecimiento estarían alrededor de los 400 mg/kg de dieta. Sin embargo, no se han demostrado estas necesidades en el pez gato americano *Ictalurus punctatus*, ni en la lubina asiática. En juveniles de lubina blanca la síntesis «de novo» del



inositol es suficiente para un crecimiento y concentraciones tisulares normales. Las bacterias intestinales son capaces de sintetizar esta sustancia y, en el pez gato americano, también se ha encontrado la síntesis «de novo» de inositol en el hígado. En carpa, la suplementación con inositol hizo que mejorara el crecimiento y las lesiones cutáneas.

Se puede decir que el mio-inositol se encuentra en grandes cantidades en todos los tejidos biológicos. Fuentes ricas en esta sustancia son el germen de trigo, los guisantes secos y las semillas. En cuanto a fuentes de origen animal, son ricos en inositol, biológicamente activo, el cerebro, el corazón y los tejidos glandulares. También contienen inositol la pulpa de los frutos cítricos y la levadura seca. Este compuesto es estable, por ello una preparación y almacenamiento normales de la dieta hacen que esté disponible y que su ingesta sea adecuada para el crecimiento de los peces jóvenes.

6.1.2.10.2. Funciones

El mio-inositol, como constituyente de fosfolípidos, es un componente estructural importante del esqueleto, corazón y tejido cerebral. Aunque el papel fisiológico del mio-inositol aún no es claro, se cree que desempeña un rol importante en el crecimiento de las células del hígado y células de la médula ósea, en el transporte de lípidos en el hígado (colesterol), y en la síntesis del ARN. Posee actividad lipotrópica, por lo que previene de la acumulación de colesterol en la enfermedad del hígado graso, y participa, junto a la colina, en la homeostasis del metabolismo lipídico. Es una fuente de carbohidratos de emergencia en el músculo y es el componente mayoritario en las estructuras de fosfolípidos de los tejidos animales. El fosfatidil-inositol está implicado en distintos procesos metabólicos como señal de transducción.

6.1.2.10.3. Síndrome de deficiencia

Tras largos periodos de uso de dietas deficientes en inositol, en salmón, trucha, carpa, pargo japonés e ictaluros, se han observado síntomas como bajo crecimiento, aumento del tiempo de vaciamiento gástrico, edema, color oscuro y estómagos distendidos. El signo más importante de deficiencia es la ineficiencia en la digestión y utilización del alimento, con el concomitante crecimiento bajo, y provocando el que en



la población los peces aparezcan con el abdomen distendido. También se ha detectado una cierta pérdida de actividad colinesterasa y amino-transferasa en trucha, pargo japonés, anguila, pez loro y pez limón.

La valoración del inositol en peces se ha basado en la falta de síntomas de deficiencia, junto con un buen índice de conversión del alimento. Salmones marinos, poseían 1-1.5 mg de inositol/g de hígado fresco, mientras que juveniles de salmón de agua dulce contenían 600-700 mg/g de hígado. Quizás se deba hacer una mejor valoración, basándose en un análisis del inositol libre o del total en el músculo o en la carcasa completa.

6.1.2.11. Colina

6.1.2.11.1. Necesidades y fuentes

La colina es muy hidróscopica y muy soluble en agua, es estable al calor en soluciones ácidas, pero se descompone en soluciones alcalinas. La colina reacciona con muchos compuestos químicos, por ser una base fuerte. Un derivado, la acetilcolina, es el encargado de la transmisión del impulso nervioso en gran número de sinapsis.

Las necesidades se muestran en el Cuadro 2. Los salmones «chino-ok» y «coho» parecen necesitar la misma ingesta dietaria de colina. Las necesidades de la carpa están alrededor de 100 mg/kg de peso corporal/día, suficientes para prevenir el desarrollo de hígado graso en peces jóvenes. En trucha, se ha sugerido que alrededor del 50 % de las necesidades de colina podrían ser suplidas por betaína.

Fuentes ricas en colina son el germen de trigo, la soja y otras harinas de semillas, el cerebro y el corazón. Una forma usual de suplementación en las dietas para peces es la colina hidrocloreto, sustancia que reacciona con el α -tocoferol y la vitamina K, probablemente inactivando estas vitaminas durante la preparación de las dietas. Por ello, la colina debe ser añadida disuelta en agua, y las vitaminas liposolubles a través de aceites, para así poder evitar reacciones por contacto directo de estas vitaminas con esta base fuerte.

6.1.2.11.2. Funciones

La colina es un componente de los fosfolípidos de las membranas celulares. La colina es esencial para el crecimiento y para obtener



buenos índices de conversión del alimento en peces. Es un factor lipotrópico y antihemorrágico y previene el desarrollo de hígados grasos. Está implicado en la síntesis de fosfolípidos y en el transporte de lípidos. La acetilcolina transmite el impulso nervioso en las sinapsis ganglionares del sistema nervioso vegetativo, y en las uniones neuromusculares.

6.1.2.11.3. Síndrome de Deficiencia

Los signos de deficiencia incluyen bajo crecimiento y malos índices de conversión, con fallos en el metabolismo lipídico. En truchas aparecen riñones e intestino hemorrágicos y en salmón se ha observado un aumento del tiempo de vaciamiento gástrico. Signos similares se han observado en pez gato americano, carpa, anguila y trucha de arroyo.

El estatus en colina de un pez se puede estimar determinando el contenido de colina en los ingredientes dietarios y por la ausencia de signos de deficiencia. El depósito hepático máximo puede no ser un buen criterio, aunque ha sido usado como una aproximación a las necesidades descritas para dos especies de salmón.

6.1.3. Vitaminas liposolubles

Las vitaminas liposolubles con actividad fisiológica son diferentes formas químicas de las vitaminas A, D, E y K (Cuadro 1). Difieren de las hidrosolubles en su acción acumulativa. Hay pocas evidencias de hipervitaminosis en el caso de las vitaminas hidrosolubles, ya que estos compuestos se metabolizan y excretan rápidamente cuando su ingesta excede la capacidad de almacenamiento del hígado o de otros tejidos. Sin embargo, la hipervitaminosis es usual en peces y en otros animales cuando se ingieren elevadas cantidades de vitaminas liposolubles (Cuadro 5). A veces los signos de estas hipervitaminosis son similares a los de las hipovitaminosis, como ocurre en el caso de la vitamina A y de la D. Los síntomas de toxicidad, por exceso de vitaminas E o K, son más discretos. Por lo general, las dietas para peces incluyen grandes cantidades de harina de pescado o de vísceras de pescado, así como aceites de pescado para incrementar la concentración de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta. En estos casos, suele haber un exceso de ingesta de vitaminas liposolubles.



6.1.3.1. Vitamina A

6.1.3.1.1. Necesidades y fuentes

Hay varias formas activas de vitamina A. La vitamina A₁ (retinol) se ha encontrado en peces marinos, mientras que la A₂ (retinol₂) es más abundante en los peces de agua dulce. En los tejidos vivos de peces hay interconversión de una forma en otra. La conversión oxidativa de retinol a A₂ se produce en trucha y tilapia, y la vitamina A₂ se puede generar a partir de caroteno, cantaxantina y otros carotenoides. La vitamina A, como alcohol, es un aceite viscoso ligeramente coloreado, lábil al calor y sujeto a la oxidación al aire. Como β-caroteno es un compuesto cristalino naranja, más estable al calor y a la oxidación. Las formas de vitamina A son insolubles en agua pero son solubles en grasa y solventes orgánicos.

Los estudios de las necesidades de retinoides en peces usan factores como la mortalidad y el crecimiento, junto con signos de deficiencia (Cuadro 2). Se han determinado necesidades de vitamina A para crecimiento en peces expuestos a la luz, pero no en los que estaban en oscuridad. Así, las necesidades para máximo crecimiento y reproducción se relacionan con la exposición a la luz y supone el que se consigan crecimientos casi normales con una baja ingesta de vitamina A en ambientes protegidos, donde los peces no están expuestos al estrés, la infección y la radiación ultravioleta.

Para juveniles del rodaballo atlántico, *Hippoglossus hippoglossus*, el nivel óptimo de retinoides en la dieta está alrededor de 2.5 mg/kg. Las necesidades de la lubina blanca para óptimo crecimiento están por encima de 0.5 mg de retinol/kg y por debajo de 40 mg de retinol/kg, basándose en el crecimiento, la mortalidad, la retención y conversión de vitaminas A₁ y A₂, la distribución del antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA) en células positivas y en un aumento de los niveles de proteínas por choque de calor 70 (HSP70).

Para peces de agua dulce, las necesidades se estiman en 0.6-1.2 mg de retinol/kg para mantener un crecimiento adecuado.

El aceite de hígado de bacalao es un aceite estándar de referencia que contiene relativamente poca cantidad de vitamina A, mientras que los aceites de otros peces contienen 100 veces más. Puede aparecer hipervitami-



nosis A cuando se usan vísceras de atún, tiburón u otros en la preparación de dietas húmedas. Hay disponibles preparaciones sintéticas de vitamina A, como la vitamina A palmitato, que pueden ser usadas para suplementar dietas con baja proporción de harina de pescado, vísceras de pescado o carotenos. Algunos peces parecen tener la capacidad de utilizar el β -caroteno como una fuente de vitamina A, mientras que en otros es necesario añadir a la dieta vitamina A en forma de retinol o ácido retinoico. Algunos carotenoides pueden ser convertidos en vitamina A en el hígado de peces.

6.1.3.1.2. Funciones

A la vitamina A se le reconocen funciones en relación con el control de la diferenciación de ciertas células y por sus efectos en la visión, el crecimiento, la reproducción y la resistencia a infecciones. La vitamina A es esencial para mantener las células epiteliales y para una visión normal. La vitamina A se necesita en vertebrados para la regeneración de la rodopsina sensible a la luz en la retina.

La vitamina A se reconoce como un importante factor en el desarrollo embriológico, a través de la regulación de la diferenciación y proliferación celular, en situaciones de estrés y en la función del sistema inmune. Se ha propuesto que los retinoides, tanto en exceso como en deficiencia, son factores importantes en la modulación de la pigmentación y metamorfosis en los peces planos

6.1.3.1.3. Síndrome de Deficiencia o Exceso

Juveniles de salmón atlántico alimentados durante 3 meses con concentraciones de vitamina A por debajo de las necesidades o en exceso, no mostraron los signos clásicos de deficiencia o de toxicidad, aunque sí una situación de estrés con una menor deposición de energía en el hígado y un crecimiento algo reducido. Esto sugiere que la exposición crónica a niveles no adecuados de vitamina A en la dieta podría causar efectos negativos que no son fáciles de detectar a través de la supervivencia o de parámetros de crecimiento en periodos de algunas semanas e incluso meses. Por ello es aconsejable encontrar parámetros que detecten rápidamente la ingesta de niveles inadecuados de vitamina A.

La hipovitaminosis de vitamina A se caracteriza por bajo crecimiento, mala visión, queratinización del tejido epitelial, xeroftalmia,



ceguera nocturna, hemorragia en la cámara anterior del ojo, hemorragia en la base de las aletas y deformación de los huesos (Cuadro 4). La hipervitaminosis de vitamina A se ha descrito en peces y otros animales y está relacionada con un agrandamiento de hígado y bazo, crecimiento anormal, lesiones en la piel, queratinización epitelial, hiperplasia del cartílago de la cabeza y deformación ósea, resultando en anquilosis y fusión de las vértebras (Cuadro 5). La hipervitaminosis por vitamina A se refleja en un elevado contenido de esta vitamina en hígado y en valores elevados de fosfatasa alcalina sérica. La eliminación del exceso de vitamina A en la dieta promueve una rápida recuperación.

Tanto el exceso como la deficiencia de retinoides tienen como consecuencia la aparición de malformaciones durante el desarrollo embriológico. Niveles inapropiados de retinoides afectan a algunos órganos como el corazón, las vértebras, algunas estructuras cráneo-faciales, el sistema nervioso central, células pigmentarias y la formación del eje corporal. Además de los efectos sobre el desarrollo, el mantenimiento

CUADRO 4.

Síntomas de deficiencia de las vitaminas liposolubles.

Vitaminas liposolubles	Síntomas por deficiencia
Vitamina A (Retinol)	Crecimiento reducido, exoftalmia, depigmentación, engrosamiento y formación de nubes en el epitelio corneal, degeneración de la retina
Vitamina D (Colecalciferol)	Crecimiento reducido, anorexia, tetania, alteración de la homeostasis del calcio
Vitamina E (Tocoferol)	Retardo en el tiempo de coagulación, anemia, hemorragias en branquias, ojos, tejido vascular
Vitamina K (Quinona)	Bajo crecimiento, ascitis (acumulación de líquido en el abdomen), anemia, aumento de la mortalidad, fragilidad de los eritrocitos, degeneración/daño muscular, eritrocitos inmaduros y de distintos tamaños, reducción de la eficiencia de desove/tasa de eclosión

CUADRO 5.

Síntomas de toxicidad, por exceso, de las vitaminas liposolubles.

Vitaminas liposolubles	Síntomas por exceso (toxicidad)
Vitamina A (Retinol)	Disminución del crecimiento, necrosis o erosión de aletas, escoliosis, lordosis, aumento de la mortalidad, hígado amarillo
Vitamina D (Colecalciferol)	Pobre crecimiento y eficiencia alimentaria, letargo, coloración oscura
Vitamina E (Tocoferol)	Disminución del crecimiento, mortalidad, reacción tóxica en el hígado



de los tejidos epiteliales durante todo el ciclo vital depende de un acceso correcto a los retinoides, tanto para la proliferación celular como para la diferenciación.

El hígado parece ser el órgano de almacenamiento de la vitamina A en los peces. El exceso de ingesta parece poder ser manejado por el animal por distintos mecanismos. En juveniles de algunas especies de peces se ha encontrado un componente saturable en la absorción transapical del retinol, indicando un transporte mediado por un transportador en el intestino delgado, cuando los niveles excedían los estimados como necesidades (Cuadro 2). Se ha sugerido que la transformación de vitamina A₁ a vitamina A₂ podría ser la forma de almacenar una forma inactiva de la vitamina.

El estatus de vitamina A se puede comprobar con la ausencia de signos de deficiencia y midiendo el contenido de vitamina A en la grasa del hígado.

6.1.3.2. Vitamina D

6.1.3.2.1. Necesidades y fuentes

Hay distintas formas biológicamente activas de vitamina D. La vitamina D (colecalfiferol) es un compuesto cristalino blanco, soluble en grasas y solventes orgánicos, y estable al calor y la oxidación en soluciones de ácidos o álcalis débiles.

Las necesidades de vitamina D en peces se reflejan en el Cuadro 2. No se ha demostrado la síntesis de sustancias activas tipo vitamina D en peces alimentados con dietas carentes de vitamina D o la existencia de precursores de vitamina D.

La mayoría de los teleósteos posee grandes depósitos de vitamina D en el hígado y en el tejido graso, y la vitamina es más abundante en los peces marinos.

Al ser una vitamina liposoluble y acumularse en las reservas lipídicas del organismo, el aceite de hígado de pescado es una buena fuente de esta vitamina. El contenido en vitamina D varía enormemente entre los distintos tipos de aceite de hígado. El aceite de hígado de bacalao contiene de 100 a 500 UI/g, mientras que hay alrededor de 200.000 UI/g en el aceite de hígado de atún. Una unidad internacional (UI) es igual a 0.025 µg de vitamina D₂ cristalina.



6.1.3.2.2. Funciones

La vitamina D está relacionada con la actividad de la fosfatasa alcalina, promueve la absorción intestinal de calcio e influye en la acción de la paratohormona en el hueso. Un derivado de la vitamina D, el 1, 25-dihidrocolecalciferol, estimula la absorción de calcio desde el intestino. Pero, a diferencia de los animales terrestres, los peces pueden captar gran parte de sus necesidades de calcio directamente del agua.

Todavía son escasos los conocimientos de la función de la vitamina D en los peces. Los resultados obtenidos en peces son contradictorios, en relación al papel jugado por la vitamina D en la homeostasis del calcio y del fósforo. La vitamina D, inductora de hipercalcemia, se ha encontrado en el pez gato macho (*Clarias batrachus*), en la anguila de agua dulce (*Amphipnous cuchia*), en la anguila americana (*Anguilla rostrata*), y en los ciprínidos machos (*Cyprinus Carpio*), mientras que un efecto similar no se encontró en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentada con un exceso de vitamina D. En la tilapia *Tilapia mossambica*, la vitamina D probablemente no participa en el metabolismo del calcio y del fósforo.

La mayoría de los peces contienen grandes cantidades de vitamina D en sus hígados. Los teleósteos que viven en agua dulce y los marinos son capaces de convertir la vitamina D en metabolitos más polares, y, en el plasma de algunas especies, se han encontrado niveles circulantes de vitamina D y de varios de sus metabolitos. Estudios recientes han indicado diferentes funciones de los distintos metabolitos, dependiendo del ambiente de los peces y de su exposición. Tanto los peces de agua dulce como los marinos poseen una mayor absorción de Ca^{2+} en el intestino y una concentración en el plasma de Ca^{2+} más elevada tras una larga exposición (24 h) a alguno de los metabolitos de la vitamina D. Por el contrario, la perfusión del intestino con uno de los metabolitos de la vitamina D en algunas especies marinas, como el bacalao atlántico (*Gadus morhua*), hace que decrezca la absorción intestinal de Ca^{2+} tanto a concentraciones farmacológicas como fisiológicas.

En el salmón atlántico, los pequeños cambios encontrados en la concentración plasmática de distintos metabolitos de la vitamina D, indicarían



un papel de dichos metabolitos durante la esmoltificación, aunque no se sabe si el aumento de estos niveles está causado por una mayor síntesis de los metabolitos o por una menor unión a los receptores o excreción.

6.1.3.2.3. Síndrome de Deficiencia o Exceso

Se ha observado raquitismo y formación del hueso anormal en peces alimentados con dietas con bajo contenido en vitamina D en aguas pobres en calcio. Otros síntomas son un desequilibrio en la homeostasis del calcio, con tétanos en el músculo blanco y cambios estructurales en las fibras musculares. Asimismo, hay un aumento de la triyodotiro-nina en plasma.

También está documentada la hipervitaminosis D (Cuadro 5). En truchas comunes alimentadas con dosis altas de vitamina D hubo bajo crecimiento, letargia y coloración oscura. Una ingesta elevada de vitamina D moviliza fósforo y calcio de hueso y tejidos y, como consecuencia, los huesos se vuelven frágiles, hay bajos niveles de crecimiento y poco apetito. Este síndrome, por exceso de vitamina D en peces, es un campo en el que se debe profundizar, ya que el uso en las dietas de vísceras de pescado puede llevar implícito un elevado contenido en vitamina D. Por ejemplo, el aceite de hígado de atún puede contener de 100 a 1.000 veces más cantidad de vitamina D activa que el aceite de hígado de bacalao.

Estudios realizados en la marinización del salmón atlántico (*Salmo salar*) indican que la especie, en ese estado, es resistente al exceso dietario de vitamina D. No se encontraron diferencias en peso, longitud, tasa de crecimiento específico, mortalidad o concentración de calcio renal entre salmones atlánticos alimentados con distintos niveles de vitamina D. En ningún grupo se observaron malformaciones en el esqueleto o cambios histopatológicos. Estos resultados sugieren que los juveniles de salmón atlántico son muy tolerantes a megadosis de vitamina D durante un periodo de tiempo.

La absorción máxima en la región del ultravioleta se puede usar para detectar provitaminas D en la fracción no saponificable de los aceites. Cuando se precisa determinar el material biológicamente activo en el aceite de hígado de pescado, se acude a la reacción del tricloruro de antimonio de Carr-Price.



6.1.3.3. Vitamina E

6.1.3.3.1. Necesidades y fuentes

El grupo de la Vitamina E lo forman compuestos conocidos como tocoferoles o derivados del tocol. Se conocen 8 tipos de derivados del tocoferol. Los tocoferoles puros son aceites liposolubles que son capaces de esterificación para producir compuestos cristalinos. Los tocoferoles son estables al calor y los ácidos en ausencia de oxígeno, pero se oxidan rápidamente en presencia de oxígeno, peróxidos y otros agentes oxidantes. Los tocoferoles son sensibles a la luz ultravioleta y son excelentes antioxidantes en su forma libre, mientras que los ésteres de tocoferol tienen poca capacidad antioxidante «in vitro». Los ésteres son más estables y son los que se usan normalmente en los suplementos dietarios, para su posterior hidrólisis intestinal y su absorción como alcohol libre para actuar como un antioxidante intra e intercelular. Los productos de oxidación del α -tocoferol pueden ser reducidos con hidrosulfito a α -tocoferilhidroquinona o, en presencia de ácido ascórbico, a α -tocoferol.

En el Cuadro 2 se muestran las necesidades de vitamina E de algunos peces. Los aceites poliinsaturados de pescado pueden suponer una mayor necesidad de antioxidantes intracelulares. La cantidad de tocoferol necesitada también dependerá de la forma que se use, del método de preparación de la dieta y de las condiciones de almacenamiento de los piensos.

Se han demostrado las necesidades de vitamina E en varias especies de peces, como en el salmón atlántico, 120 mg/kg, en *Ictalurus punctatus*, de 30 a 50 mg/kg, y en la carpa común, de 200 a 300 mg/kg. Un aumento de los niveles de PUFA en la dieta causa un aumento de las necesidades de vitamina E en la carpa y en el salmón atlántico. En juveniles híbridos de tilapia las necesidades óptimas de vitamina E serían de 40-44 y 60-66 mg con 50 y 120 g de lípidos/kg, respectivamente. La suplementación en rodaballos de tamaño comercial, con al menos 550 mg de α -tocoferil acetato/kg durante 2 meses antes de su venta, mejoró la calidad de la carne. Aumentar la concentración de vitamina E en dietas con un 30 % de lípidos, de 300 a 1.500 mg/kg, puede reducir la tasa de oxidación lipídica en la carne del pez y la for-



mación de malos sabores. En alevines de *Labeo rohita*, las necesidades de vitamina E para óptimo crecimiento serían de 131.91 mg/kg, en la lubina blanca de 28 mg/kg y en *Sebastes schlegelii* (gallineta coreana) de 45 mg/kg.

Fuentes ricas de tocoferol son el aceite de germen de trigo, el aceite de soja y el de maíz. En las dietas se suele usar α -tocoferol sintético en forma de fosfato o de acetato esterificado. Estos ésteres son más estables que la forma libre, que se pierde rápidamente por oxidación al aire o en presencia de compuestos lábiles como los aceites ricos en ácidos grasos poliinsaturados. Los aceites de trigo, maíz o judías son muy estables y, cuando se incorporan a la dieta, tienden a estabilizar los ácidos grasos lábiles presentes. Hay una interrelación entre las vitaminas E, C y A para proteger la molécula lábil de vitamina A. Por ello, es esencial preparar y almacenar las dietas con aceites de pescado en el mínimo tiempo para prevenir pérdidas de tocoferol y, como consecuencia, la rápida destrucción de las vitaminas E, C y A. La adición de antioxidantes, como el BHA (butilhidroxianisol) y el BHT (butilhidroxitolueno) o la etoxiquina, serviría para proteger grasas y otros compuestos susceptibles de oxidación presentes en la dieta, pero estos antioxidantes tienen poca actividad como antioxidantes intracelulares para los peces en crecimiento.

6.1.3.3.2. Funciones

La vitamina E funciona como antioxidante y protege las membranas biológicas, las lipoproteínas y los depósitos lipídicos frente a la oxidación. Los tocoferil acetatos no actúan como antioxidantes, pero son hidrolizados por las enzimas digestivas antes de su absorción. La vitamina E es un nutriente indispensable para mantener la calidad de la carne, la resitencia normal inmune de los glóbulos rojos a la hemólisis, la permeabilidad de los capilares y el músculo cardíaco.

Como antioxidantes fisiológicos, usualmente protegen a las vitaminas susceptibles de oxidación y a los ácidos grasos insaturados. La vitamina E funciona, junto con el selenio y el ácido ascórbico, en las enzimas glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa para detener la cadena de reacciones de la peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados. Los tocoferoles actúan como captadores de los radicales li-



bres para así detener la reacción en cadena que tiene lugar durante la formación de peróxidos y estabilizan los enlaces de los ácidos grasos insaturados o poliinsaturados y otros compuestos de cadenas largas lábiles. La vitamina E, por su capacidad antioxidante, está implicada en el mantenimiento de una permeabilidad normal de los capilares del músculo cardíaco. Del mismo modo, puede estar también relacionada con la permeabilidad de las membranas de los embriones y con la viabilidad de los huevos de peces. Se necesita al grupo de la vitamina E, junto con el selenio y la vitamina C, para una actividad reproductiva normal y para prevenir la distrofia muscular nutricional en pez limón y carpa.

Sólo unos pocos trabajos han examinado la influencia de diferentes situaciones nutricionales en las enzimas antioxidantes de los peces. La suplementación de α -tocoferil acetato en piensos para *Clarias gariepinus* (pez gato africano), fue efectiva reduciendo el grado de peroxidación lipídica tisular, bajo condiciones de un estrés oxidativo aumentado. Así, esa mayor resistencia a la oxidación post-mortem podría mejorar la estabilidad de los productos de este pez gato destinados al consumo humano.

Se han estudiado también los efectos de la vitamina E en la dieta sobre los mecanismos de defensa antioxidante, en juveniles de rodaballo (*Scophthalmus maximus*), halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) y dorada (*Sparus aurata*). El crecimiento y la supervivencia sólo se afectaron de forma significativa en la dorada cuando era alimentada con la dieta con el nivel más bajo de vitamina E. Se observó una gradación en los niveles tisulares de vitamina E y de la relación PUFA/vitamina E, en respuesta a los niveles de vitamina E en la dieta, y para todas las especies estudiadas. Las actividades hepáticas de las principales enzimas antioxidantes, catalasa, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa, generalmente reflejaban los niveles de vitamina E en la dieta y en los tejidos, siendo mayores en los peces alimentados con los niveles más bajos de vitamina E. Los indicadores de peroxidación lipídica fueron mayores en los peces alimentados con la dieta no suplementada, y menores en los peces alimentados con la dieta con un mayor nivel de vitamina E.

En la trucha arco iris el α -tocoferol activó, de forma significativa, la actividad de las enzimas catalasa (CAT), peroxidasa (POD) y glutatión



reductasa (GSSG-Rx). Sin embargo, los niveles de peroxidación lipídica disminuyeron significativamente con el tratamiento con α -tocoferol. Todo ello sugiere que el α -tocoferol debe tener una tendencia pro-oxidante a altas dosis y causa un ligero estrés oxidativo que podría modular la señal de transducción en cascada, redirigir la expresión génica e influenciar algunas respuestas celulares como la proliferación, diferenciación y reproducción.

El papel de la vitamina E como antioxidante lipídico se ha relacionado con la vitamina C. El radical α -tocoferil (radical de la vitamina E tras su papel como antioxidante) debe ser eliminado del sistema para permitir al α -tocoferol mantener su actividad antioxidante. Esto es posible recicándolo de nuevo a α -tocoferol, ayudado por un grupo de compuestos denominados α -tocoferol co-antioxidantes. La vitamina C es el más importante de estos compuestos, debido a su elevada concentración en plasma.

También se sabe que la vitamina E tiene un papel importante en la reproducción de los peces, aunque no se conoce el mecanismo de actuación. Con vitamina C y selenio, la vitamina E mejora el proceso reproductivo, como el crecimiento de los ovarios en la carpa común, la supervivencia y primeras fases de vida en el ayu, y un mayor porcentaje de huevos viables y de la fecundidad en la dorada. La acumulación de tocoferol en los ovarios del salmón atlántico, tiene lugar a partir de la vitamina depositada en el músculo, siendo transportada vía hígado, y teniendo un papel importante en la vitelogénesis.

6.1.3.3.3. Síndrome de Deficiencia o Exceso

Los signos de deficiencia en peces se detallan en el Cuadro 4. Uno de los primeros signos en peces alimentados con cantidades normales de ácidos grasos poliinsaturados es fragilidad de los eritrocitos, seguida por anemia, xeroftalmia, bajo crecimiento, malos índices de conversión, epicarditis y depósitos ceroides en bazo e hígado. La distrofia muscular y la xeroftalmia se han descrito en pez limón y carpa. En truchas y salmones deficientes se ha observado una eritropoyesis defectuosa, fragmentación de eritrocitos y una mayor susceptibilidad al estrés por manejo. Signos similares de deficiencia se han encontrado en especies marinas y de agua caliente, alimentadas con dietas con



bajo contenido de vitamina E y niveles elevados de aceites ricos en ácidos grasos poliinsaturados. En algunos peces alimentados con grandes cantidades de ácidos grasos poliinsaturados y cantidades inadecuadas de tocoferol, se han descrito condiciones degenerativas de varios tipos celulares.

La hipervitaminosis E supone bajos crecimientos, reacción tóxica en el hígado y muerte (Cuadro 5).

El test de fragilidad eritrocitaria indica el estado fisiológico de los peces. La ausencia de ceroides, histológicamente detectables, en el hígado y en el bazo de peces es un buen signo de la presencia de cantidades adecuadas de antioxidantes fisiológicos.

6.1.3.4. Vitamina K

6.1.3.4.1. Necesidades y fuentes

Los vitámeros de la vitamina K son compuestos liposolubles, bastante estables, pero son lábiles a la oxidación y a la exposición de la luz ultravioleta. La menadiona (vitámero K) es muy reactiva y, en medio acuoso, está sujeta a interacciones químicas y a la formación de compuestos y complejos que pueden interferir con su actividad fisiológica.

La importancia de la producción intestinal de vitamina K en los peces no se conoce bien. Las fuentes de vitamina K son los vegetales verdes, de hoja. Las hojas de alfalfa son una de las mejores fuentes para esta vitamina. La menadiona sintética es un buen suplemento para una ingesta adecuada de vitamina K. La vitamina K procedente de la alfalfa es bastante estable, pero la sintética debe protegerse de la exposición a la luz ultravioleta y de las condiciones muy oxidantes o reductoras. La dieta debe mantenerse seca, debe prepararse con la mínima exposición a la oxidación por aire, y ser ingerida lo antes posible, para evitar las pérdidas de vitamina K por almacenaje, interreacción y destrucción oxidativa. La forma de vitamina K que se usa normalmente como suplemento en dietas para peces es la menadiona sodio bisulfito (MSB) y la menadiona dimetilpirimidol. La menadiona no es biológicamente activa por sí misma. La mayoría de la menadiona ingerida se excreta, y sólo una parte se transforma en la forma activa, la MK-4. Por ello, la MSB se añade en exceso.



6.1.3.4.2. Funciones

La función biológica de la vitamina K se centraría en ser un cofactor en la coagulación sanguínea. Sin embargo, recientemente, se ha observado que la vitamina K juega un papel importante en el desarrollo óseo de mamíferos. También se reconoce como función de la vitamina K la de actuar como cofactor en la carboxilación de proteínas, entre ellas algunas relacionadas con proteínas captadoras de calcio como la osteocalcina y la proteína matrix-Gla. En *Fundulus heteroclitus*, la incidencia de anormalidades óseas es aparentemente alta en peces alimentados con dietas sin vitamina K, lo que indicaría que la vitamina K es necesaria para un desarrollo óseo normal.

Formas de vitamina K pueden ser bacteriostáticos potentes y pueden ser útiles como mecanismo de defensa de infecciones bacterianas. La vitamina K, junto con la A, la E y el ácido ascórbico, está implicada en la homeostasis de las vitaminas A y E fisiológicamente activas. La vitamina K puede también estar relacionada con los compuestos tipo coenzima Q, que actúan entre flavoproteínas y citocromos en los mecanismos de transporte de electrones. La principal función de la vitamina K es mantener una tasa de velocidad de coagulación normal, lo que es muy importante para los peces, al vivir en el medio acuático.

6.1.3.4.3. Síndrome de Deficiencia o Exceso

Los principales signos de deficiencia siguen siendo baja velocidad de coagulación de la sangre y hemorragia, anemia severa y muerte en los peces heridos (Cuadro 4). Las áreas hemorrágicas suelen aparecer en tejidos frágiles como las branquias.

La velocidad de coagulación, en salmones alimentados con dietas sin vitamina K, disminuye de tres a cinco veces, y durante periodos prolongados de deficiencia, aparecen anemia y áreas hemorrágicas en branquias, ojos y tejidos vasculares. En otros peces, alimentados con dietas con bajo contenido de vitamina K, se observa también un aumento del tiempo de coagulación. Ingestas de 2000-3000 mg de vitamina K/kg de dieta pueden ser bien tolerados por la trucha, pero niveles más altos pueden causar toxicidad hepática y muerte.

El estatus de la vitamina K en un pez puede determinarse midiendo el tiempo de coagulación de la sangre. Hay métodos que permiten



determinar la concentración de menadiona, para conocer la magnitud de sus depósitos, usando 2,4-dinitrofenilhidrazona, y midiendo espectrofotométricamente.

6.1.4. Aspectos ontogénicos de las necesidades de vitaminas en los peces

Las necesidades de vitaminas en los peces pueden estar relacionadas con el tamaño corporal, en relación con la ontogénesis, ya que las necesidades nutricionales, en general, cambian durante el crecimiento del pez.

En los huevos de truchas arco iris se observó que los niveles de vitamina A y E dependían de las cantidades de vitaminas incluidas en los piensos de reproductores, pero los de vitamina D parecían independientes de la nutrición de los progenitores. Es posible que al comienzo de la alimentación exógena la susceptibilidad a la deficiencia de vitaminas difiera, dependiendo de la historia nutricional parental. En otro salmónido, *Plecoglossus altivelis*, se encontró que las hembras alimentadas con una dieta deficiente en vitamina E mostraron un retraso en el desarrollo de los huevos y en la puesta, y los huevos producidos eran de menor calidad que los de las hembras alimentadas con piensos completos.

Los síntomas de deficiencia varían con las distintas vitaminas y con la edad del pez, siendo la mortalidad el primer síntoma en los peces más jóvenes. En trucha arco iris las deficiencias en piridoxina, ácido pantoténico, tiamina, riboflavina e inositol, tuvieron como consecuencia la muerte, siendo la más rápida la provocada por la deficiencia de piridoxina y la más lenta la provocada por deficiencia en inositol.

Los síntomas de deficiencia tardan más en aparecer cuando el desarrollo del pez es mayor. Es lo que sucede en el caso de las vitaminas B₆, E, C y A. Los síntomas de deficiencia de piridoxina se manifiestan rápidamente en salmónidos y pez gato.

También puede haber cambios en la disponibilidad de los precursores de vitaminas en relación con la ontogenia del pez. La suplementación de dietas con β -caroteno, de igual actividad que la vitamina A palmitato, resultó en una no mejora del crecimiento de alevines de trucha de arroyo, cuando se les comparaba con los controles. A mayores



temperaturas, el crecimiento de los peces mejoró con el β -caroteno, pero la conversión a vitamina A fue sólo parcial.

6.1.5. Las vitaminas y su relación con la resistencia a enfermedades

De los 15 compuestos que se consideran esenciales para los peces (vitaminas y compuestos similares), la vitamina C es la que destaca en cuanto a su influencia en procesos inmunológicos y de resistencia a las enfermedades, cuando se añade a la dieta en grandes cantidades (de 10 a 100 veces las necesidades mínimas para los peces). La vitamina E es la vitamina liposoluble más ampliamente estudiada en sus efectos en la respuesta inmune. Estas dos vitaminas tienen algunas funciones metabólicas diferentes, pero ambas poseen propiedades antioxidantes. Una hipótesis, que explicaría la mejora de la respuesta inmune, sugiere que la presencia de estos nutrientes, en concentraciones mayores que las de mantenimiento, supone una reserva disponible para su uso por los sistemas de defensa del animal. Estas vitaminas afectan a la producción del complemento y de anticuerpos, así como a varios aspectos de la función de macrófagos, incluyendo las enzimas relacionadas con los procesos respiratorios y de muerte celular, y a mecanismos protectores para prevenir el daño tisular ocasionado por los radicales libres.

En *Ictalurus punctatus*, dosis muy elevadas de vitamina C en la dieta, provocaron una mejora de la respuesta de anticuerpos, de la actividad del complemento y de la supervivencia, tras una infección con *Edwardsiella ictaluri*, y aumentó la resistencia a la infección por *E. tarda*. Sin embargo, otros estudios no han encontrado respuestas positivas en este pez, alimentado con dietas con grandes cantidades de vitamina C. En algunos estudios con trucha arco iris, concentraciones relativamente altas de vitamina C en la dieta favorecieron la curación de las heridas y la respuesta inmune. En el salmón atlántico se observó un aumento de la actividad del complemento cuando era alimentado con un suplemento dietario de 2.750 mg de vitamina C/kg de dieta. En otro estudio con salmón atlántico, la suplementación con 4.770 mg de ascorbato sulfato/kg de dieta, mejoró la producción de anticuerpos tras la vacunaci3n, aunque no aumentó la supervivencia frente a una infecci3n por *Yersinia ruckeri*. En la misma especie, en el salm3n atlán-



tico, se observó un aumento de la resistencia a la forunculosis tras una suplementación con 4.000 mg de vitamina C/kg de dieta. Además, en peces alimentados con este nivel de vitamina C, la producción de anticuerpos específicos fue mayor, junto con la actividad de la lisozima del riñón anterior, la actividad del complemento y la concentración de hierro séricos, en los peces que sobrevivieron a la infección bacteriana. En contraste con estos resultados, no se observó ningún efecto de un nivel elevado de vitamina C en la producción de anticuerpos, actividad bactericida del suero o susceptibilidad del salmón atlántico a *Vibrio* o a *Aeromonas salmonicida*. Salmones «chinook» (*Oncorhynchus tshawytscha*) alimentados con dietas con concentraciones crecientes de vitamina C, hasta un máximo de 2.500 mg/kg de dieta, no mostraron ningún aumento a la resistencia a *Aeromonas salmonicida* o a *Renibacterium salmoninarum*.

Doradas mantenidas a alta densidad y alimentadas con una dieta suplementada con 250 mg de ascorbil fosfato/kg de dieta, mostraron una menor lisozima sérica, en comparación con las alimentadas con dieta sin suplementar, aunque la actividad alternativa del complemento y las respuestas de aglutinación no se afectaron. Algunos estudios «in vitro» también han mostrado una mejora en la respuesta inmune, como la proliferación de leucocitos y la activación de macrófagos, así como la migración de leucocitos y la fagocitosis, cuando la vitamina C se añade al medio de cultivo.

En el esturión siberiano, el ácido ascórbico dietario mejora la respuesta inmune ante la exposición a una infección bacteriana simulada. Sin embargo, el ácido ascórbico endógeno puede no ser siempre suficiente para conseguir una respuesta inmune óptima y máxima en el esturión siberiano, especialmente en los estadios tempranos de desarrollo.

Un tipo de mero, la especie *Epinephelus malabaricus*, necesita una cantidad de 45.3 mg de ácido ascórbico/kg de dieta para crecimiento óptimo. Sin embargo, se sugiere una cantidad al menos seis veces mayor para mejorar la inmunidad no específica y mantener la supervivencia en peces infectados con *V. carchariae*.

La vitamina E juega un importante papel en la respuesta inmune del pez, como un componente importante de la membrana celular, y tiene



un papel específico como antioxidante, controlando la peroxidación de los ácidos grasos insaturados. En trucha arco iris inmunizadas frente a *Yersinia ruckeri*, las dietas deficientes en vitamina E reducen la fagocitosis de los macrófagos y la función de los linfocitos T y B; en salmón atlántico reducen la actividad del complemento; también en trucha arco iris desajustan la respuesta de los anticuerpos; en salmón atlántico reducen la actividad antibacteriana de los macrófagos del riñón anterior; en *Ictalurus punctatus* reducen la respuesta de los macrófagos peritoneales; en dorada reduce la actividad alternativa del complemento.

En doradas sometidas a estrés por alta densidad, la suplementación con 250 mg de vitamina E/kg de dieta, supuso el mantenimiento de la actividad alternativa del complemento.

Rodaballos japoneses (*Paralichthys olivaceus*), alimentados con dietas con distintos niveles de vitamina E, fueron infectados con *Edwardsiella tarda*. La ingesta del nivel más elevado de vitamina E (213 mg de α -tocoferol/kg de dieta) disminuyó la mortalidad y retrasó el día de aparición del primer caso de mortalidad. Además, la vitamina E y los HUFA n-3 tienen un efecto sinérgico en las respuestas inmunes no específicas y en la resistencia a enfermedades.

La vitamina A también se ha considerado en relación con la inmunocompetencia del pez. Truchas arco iris se alimentaron con dietas que contenían vitamina A, o astaxantina, o ambas. En los peces alimentados con dietas que carecían de estas sustancias disminuyó la actividad antiproteásica sérica y la actividad clásica del complemento sérico. La falta de vitamina A, en presencia o en ausencia de astaxantina, también tendía a reducir la migración de los leucocitos, mientras que no se vieron afectados, por la carencia de vitamina o de astaxantina, el nivel total de inmunoglobulina en el suero, el nivel específico de inmunoglobulina tras una infección con *Aeromonas salmonicida*, la actividad de la lisozima sérica y la actividad respiratoria de los macrófagos. En contraste con estos hechos, salmones atlánticos alimentados con una dieta suplementada con astaxantina, mostraron una mayor resistencia a la infección por *A. salmonicida*, aunque la actividad hemolítica del suero, el nivel de anticuerpos específicos y la actividad de la lisozima del riñón anterior no se afectaron. En los peces alimentados con la dieta con astaxantina se observó un nivel más alto de retinol y de tocoferol, tanto en hígado como en músculo.



En doradas, se estudió la respuesta inmune innata con dosis elevadas de retinol acetato, inyectado intraperitonealmente, o incluido en la dieta. Los resultados muestran que el retinol acetato juega un importante papel en el sistema inmune celular no específico debido a sus propiedades antioxidantes. También es importante la forma en que se suministra el retinol, a través de la dieta o por inyección intraperitoneal.

6.2. MINERALES

6.2.1. Introducción

Todos los animales, incluidos los acuáticos, necesitan minerales para el normal funcionamiento de sus procesos vitales. A diferencia de los animales terrestres, los peces no dependen exclusivamente del alimento para obtener los minerales, sino que tienen la capacidad de absorber algunos elementos inorgánicos del ambiente acuático, tanto en agua dulce como salada. Este aspecto supone la principal dificultad que presenta el estudio de las necesidades cuantitativas de minerales en peces, ya que es difícil formular dietas deficientes en minerales asegurando, al mismo tiempo, la ausencia de los mismos en el agua.

Aunque la mayoría de los 90 elementos de la tabla periódica están presentes en todos los organismos vivos, 29 de ellos son considerados esenciales para la vida animal. La proporción de cada uno de estos elementos, como constituyentes de la materia viva, determina las necesidades. Así, carbono, hidrógeno, nitrógeno, oxígeno, fósforo y azufre son los seis macroelementos estructurales básicos de la materia viva, necesitándose gramos de los mismos para cubrir las necesidades. También calcio, magnesio, sodio, potasio y cloro se necesitan en cantidades elevadas (gramos). El resto de elementos esenciales, denominados oligoelementos o elementos traza, están presentes en muy bajas proporciones en el organismo pero, aunque sus necesidades también son bajas (miligramos o microgramos), su presencia es imprescindible para el mantenimiento de los procesos vitales. La mayoría de estos oligoelementos han sido detectados en los tejidos de peces, pero su esencialidad sólo ha sido demostrada para algunos de ellos.



CUADRO 6.

Fuentes, principales funciones e interacciones de los minerales en peces.

Mineral	Fuentes	Funciones	Interacciones
Calcio	Agua Materias primas de origen animal Sales inorgánicas	Crecimiento óseo, coagulación sanguínea, cofactor enzimático, contracción muscular, integridad de membranas celulares, transmisión nerviosa	Vitamina D P, Zn, Mg
Fósforo	Materias primas de origen animal y vegetal Sales inorgánicas	Crecimiento óseo, metabolismo energético, constituyente de membranas celulares, ARN y ADN, constituyente de coenzimas	Ca, Mg, Mn Vitamina B ₁ Vitamina B ₆
Magnesio	Agua Materias primas de origen animal y vegetal Sales inorgánicas	Crecimiento, integridad muscular, transmisión nerviosa, osmorregulación, mineralización ósea, respiración celular, metabolismo energético, cofactor enzimático	Ca, P Proteínas
Potasio	Materias primas de origen vegetal	Regulación enzimática, osmorregulación, equilibrio iónico intracelular, contracción muscular, transmisión nerviosa	Na
Sodio	Materias primas de origen animal	Regulación enzimática, osmorregulación, equilibrio iónico intracelular	K, Cl
Hierro	Agua Materias primas de origen animal (harinas de sangre) Cl ₂ Fe, SO ₄ Fe Citrato	Respiración celular, constituyente de proteínas (hemoglobina, mioglobina, citocromos), coagulación sanguínea, cofactor enzimático	Cu, Co, Mn, Zn Ácido fólico
Cobre	Agua Materias primas de origen animal SO ₄ Cu	Constituyente enzimático, utilización del Fe	Zn, Se, Fe Vitamina C
Manganeso	Agua Materias primas de origen animal SO ₄ Mn	Cofactor enzimático	Ca, P Ácido fólico
Yodo	Agua	Síntesis de hormonas tiroideas	
Cinc	Agua Materias primas de origen animal SO ₄ Zn	Constituyente de metaloenzimas, regulador de actividades enzimáticas, replicación y transcripción del ADN, metabolismo de prostaglandinas	Ca, P Ácido fólico
Selenio	Agua Harina de pescado SeO ₃ Na ₂	Constituyente de la glutatión peroxidasa, prevención de la oxidación lipídica, cofactor enzimático, protección frente a la toxicidad de Cd y Hg	Vitamina E



6.2.2. Minerales esenciales para peces

6.2.2.1. Calcio y Fósforo

Calcio y fósforo están íntimamente relacionados con el desarrollo y el mantenimiento del sistema esquelético ya que, como en el resto de vertebrados, éste está constituido por una sólida base de fosfato cálcico. Además, ambos minerales participan en diversos procesos fisiológicos como el mantenimiento del equilibrio ácido-base. A diferencia de los animales terrestres, en los que el hueso es el principal lugar de regulación del Ca, en los peces el metabolismo y la deposición de este mineral se lleva a cabo principalmente en las escamas, siendo la tasa de intercambio de Ca en estas estructuras tres veces superior a la de los huesos. Claros reflejos de esta situación son la disminución de la cantidad de Ca en las escamas de tilapia, carpín dorado, carpa y salmón durante la migración y el ayuno, así como la relación Ca:P en las escamas de peces, que oscila entre 1.5 y 2.1 mientras que dicha relación es de 0.4-0.5 en el conjunto de la masa corporal.

El calcio es uno de los cationes más abundantes en el cuerpo de los peces. Además de su importancia en la formación y el mantenimiento del sistema esquelético, el Ca desempeña un papel fundamental en la contracción muscular, la coagulación sanguínea, la transmisión nerviosa, el mantenimiento de la integridad de las membranas celulares y la activación de importantes enzimas. Como integrante de las membranas celulares, el Ca se une a los fosfolípidos controlando la permeabilidad de la membrana y, por tanto, regulando la captación de nutrientes por parte de la célula.

El intercambio gaseoso a través de las branquias proporciona a los peces un acceso continuo a un reservorio ilimitado de Ca. Así, la mayor parte de las necesidades de Ca de los peces son satisfechas gracias a su capacidad para absorber este elemento directamente del ambiente acuático. En peces marinos, las aletas y el epitelio oral también intervienen en este proceso, pero es a nivel branquial donde se produce la principal regulación de la entrada y salida de Ca, tanto en peces marinos como continentales. No obstante, se ha observado que tanto los niveles dietarios de Ca como la concentración de este elemento en



el agua influyen sobre la proporción relativa de Ca que es captada por branquias o a través del tracto gastrointestinal.

El fósforo es un elemento esencial en la dieta de todos los animales vertebrados. Su papel fundamental, junto con el Ca, en la formación de tejidos duros (huesos, dientes, escamas) es ampliamente conocido. En los tejidos blandos, el fósforo desempeña importantes funciones estructurales y metabólicas. Es un componente fundamental de los fosfolípidos, principales constituyentes de las membranas celulares, así como del ADN y el ARN. Como constituyente del ATP, participa en el principal sistema proveedor de energía para los procesos metabólicos y para la contracción muscular. Además, su presencia en los fluidos extracelulares es fundamental para el mantenimiento de la presión osmótica, el equilibrio ácido-base y la actividad neuronal.

A diferencia de lo indicado para el Ca, la mayor parte de las necesidades de fósforo de los peces deben ser satisfechas mediante el aporte dietario ya que, aunque puede ser captado del agua, los niveles de fósforo son bajos tanto en agua dulce como salada. Este hecho también implica que la regulación del fósforo sea más crítica, ya que los peces deben poseer un sistema efectivo para la absorción, almacenamiento, movilización y conservación de este elemento esencial. La tasa de absorción de P depende de los niveles de este elemento tanto en la dieta como en el animal. Así, cuando aumentan los niveles dietarios de P el coeficiente de absorción disminuye. También se observa que la absorción de P es mayor en animales deficientes en este elemento que en aquellos cuyas necesidades están satisfechas.

Los conocimientos acerca de los mecanismos de absorción y transporte de fósforo en peces son escasos. Se sabe que, como en vertebrados superiores, la homeostasis de este elemento está mediada por la absorción en el intestino, la reabsorción a nivel renal y la deposición en el hueso. Sin embargo, quedan aún por esclarecer los mecanismos moleculares encargados de dicha regulación así como el posible papel de la vitamina D y de la relación Ca:P.

6.2.2.1.1. Necesidades de Ca y P

Las necesidades de Ca de los peces están influenciadas por la composición química del agua, el nivel de P en la dieta y la especie.



La mayor parte de las necesidades de Ca en los peces se satisfacen mediante la absorción a nivel branquial y a través de la piel en agua dulce y a partir del agua que ingieren en el caso de peces marinos. Las necesidades de Ca dietario son mínimas en la mayoría de las especies, oscilando entre 0.03 y 0.65 % de la dieta en peces cultivados en agua dulce con bajo contenido en Ca. Algunos estudios indican que dietas con niveles de Ca de 2 % o superiores interfieren con el uso de elementos traza y afectan negativamente al crecimiento de los peces.

Las necesidades de P dietario en peces oscilan entre 0.3-0.9 % de la dieta, siendo aproximadamente 0.45 % en la mayoría de las especies estudiadas. El salmón Atlántico presenta necesidades de P similares tanto en agua dulce como salada.

En cuanto a la posible importancia de la relación Ca:P en peces, la información disponible es escasa. Se sugiere que niveles dietarios de Ca que permitan mantener relaciones Ca:P menores de 2:1 evitarían efectos negativos sobre el crecimiento. Dado que la mayoría de peces necesitan 0.45 % de fósforo en la dieta, presumiblemente el máximo nivel tolerado de Ca sería 0.9 %.

Tanto en *Salmo salar* mantenido en agua dulce como en *Melanogrammus aeglefinus* en el agua salada se ha observado una reducción del crecimiento, pobre utilización del alimento y elevada mortalidad cuando ingieren dietas con niveles de P superiores a 1.2 %.

6.2.2.1.2. Deficiencia de Ca y P

Generalmente, el Ca presente en los ingredientes de los piensos es suficiente para satisfacer las necesidades de la mayoría de los peces. No obstante, se han observado signos de deficiencia en algunas especies como trucha arco iris, anguila japonesa, pargo (*P. major*) y tilapia (Cuadro 7).

Los signos de deficiencia de P observados en peces incluyen crecimiento reducido, pobre eficiencia alimentaria, reducción de la mineralización ósea, deformidades craneales y esqueléticas en general, aumento de la actividad hepática de algunas enzimas gluconeogénicas, aumento del contenido lipídico de la carcasa y disminución de los niveles plasmáticos de P.



CUADRO 7.

Signos de deficiencia de minerales observados en algunas especies de peces.

Mineral	Signos de deficiencia
Calcio	Disminución del crecimiento, pobre índice de conversión, anorexia, descalcificación de huesos y escamas
Fósforo	Disminución del crecimiento, pobre índice de conversión, anorexia, deformidades de cráneo y vértebras, desmineralización, aumento de los depósitos lipídicos, disminución del glucógeno hepático, disminución del P sanguíneo y del hematocrito
Magnesio	Disminución del crecimiento, degeneración muscular, inactividad, deformidad de vértebras, disminución de la concentración tisular de Mg, calcinosis renal, convulsiones, cataratas, aumento del volumen del fluido extracelular, disminución de la actividad SOD
Potasio	Disminución del crecimiento, anorexia, convulsiones, tétanos, mortalidad
Hierro	Disminución del crecimiento, pobre conversión del alimento, anemia hipocrómica microcítica, bajos niveles plasmáticos de Fe
Cobre	Disminución del crecimiento, cataratas, baja actividad Cu,Zn-SOD hepática y citocromo c oxidadaasa cardiaca, aumento de la sensibilidad a las infecciones
Manganeso	Disminución del crecimiento, pérdida de equilibrio, anomalías esqueléticas, acortamiento del cuerpo, cataratas, disminución de actividad enzimática, disminución de las concentraciones ósea y corporal de Mn, baja fecundidad, elevada mortalidad
Yodo	Hiperplasia tiroidea
Cinc	Disminución del crecimiento, anorexia, cataratas, acortamiento del cuerpo, erosión de piel y aletas, hemorragias externas, baja fecundidad, disminución de la concentración corporal de Zn y de las concentraciones óseas de Zn y Ca, bajos niveles de Zn en suero
Selenio	Disminución del crecimiento, anemia, cataratas, distrofia muscular, peroxidación lipídica, alteraciones en el patrón isoenzimático de la SOD, disminución de la actividad glutatión peroxidasa, disminución de la resistencia a patógenos

6.2.2.1.3. Fuentes de Ca y P

Las materias primas de origen animal presentan las mayores concentraciones de Ca y P. Entre los ingredientes comúnmente usados en los piensos para peces, las harinas de pescado y de carne son las fuentes más ricas de estos elementos, siendo la fracción esquelética de ambas la que contribuye en mayor medida a su elevado contenido en P (1.5-3.2 % en harinas de pescado y 3.5-5.5 % en harinas de carne). La mayor parte del P presente en estas fuentes está en una forma inorgánica, mientras que la pequeña fracción restante se encuentra formando complejos orgánicos con proteínas, lípidos y carbohidratos.

En peces, la biodisponibilidad de P en las harinas de pescado es muy superior a la de las materias primas vegetales debido a que en estas últimas la mayor parte del P está en forma de fitatos. La mucosa intestinal de la mayoría de los peces carece de la enzima fitasa, encargada



de hidrolizar el ácido fítico, lo que hace que la biodisponibilidad del P presente en esas formas sea muy baja. La adición de fitasa a las dietas parece ser efectiva aumentando la disponibilidad de P de las fuentes proteicas vegetales en algunas especies de peces.

Además de la forma en que esté presente en las dietas, la disponibilidad de P también se ve afectada por la digestibilidad de la dieta, el tamaño de partícula, la interacción con otros nutrientes, el procesamiento del alimento y las características químicas del agua.

6.2.2.2. Magnesio

El magnesio es un catión mayoritario a nivel intracelular, donde desempeña un papel fundamental como cofactor de numerosas reacciones enzimáticas de las principales rutas metabólicas. Participa como cofactor de enzimas implicadas en procesos vitales como la respiración celular y la obtención de energía mediante la transferencia de fósforo entre ATP, ADP y AMP. El Mg extracelular es vital para el normal funcionamiento de procesos como la conducción del impulso nervioso, la función muscular, la osmorregulación y la mineralización ósea. La mayor parte del Mg en los peces se localiza en el hueso. El resto se encuentra en los fluidos intracelulares de los tejidos blandos.

Los peces de agua dulce obtienen el Mg mediante captación del medio acuático o a partir de la dieta, aunque no existen evidencias de captación a nivel branquial. La captación de Mg en los peces marinos se realiza a partir del agua que ingieren. Tanto en agua dulce como salada, la excreción urinaria es la encargada del mantenimiento de la homeostasis del Mg.

En peces de agua dulce que habitan ambientes pobres en Mg se observa un aumento de la captación de cobre, cadmio, estaño y plomo. Parece que el papel del Mg sería competir por los sitios de unión de esos elementos a nivel branquial, reduciendo la captación de esos metales de elevada toxicidad.

6.2.2.2.1. Necesidades de Mg

El contenido de Mg del agua dulce es demasiado bajo (1-3 mg/litro) para satisfacer las demandas metabólicas de los peces y debe ser aportado en la dieta. Se considera que un contenido dietario de Mg de



0.06 % es suficiente para satisfacer las necesidades de la mayoría de los peces de agua dulce. El elevado contenido de Mg del agua salada (1.350 mg/litro) hace prácticamente innecesario el aporte de este mineral en las dietas para peces marinos.

6.2.2.2.2. Deficiencia

La mayoría de los signos de deficiencia de Mg han sido descritos en peces de agua dulce (Cuadro 7). Entre ellos, y dependiendo de las especies, se ha observado crecimiento reducido, anorexia, inactividad, elevada mortalidad, reducción de los niveles óseos y corporales de Mg, calcificación renal, defomidad de las vértebras, degeneración de las fibras musculares, convulsiones y cataratas. Debido al elevado contenido en Mg del agua salada, no se han encontrado signos de deficiencia en las especies marinas estudiadas. Sin embargo, la transferencia de truchas arco iris a agua salada suele inducir la aparición de calcinosis renal. También en trucha arco iris se han observado signos de calcificación renal cuando ingiere una dieta deficiente en Mg y con niveles de Ca de 2.6 % o superiores. Un menor contenido dietario de Ca o la suplementación con Mg evita dichos síntomas.

6.2.2.2.3. Fuentes

Como se ha indicado, el agua salada es la principal fuente de Mg para los peces marinos. En cuanto a los ingredientes comúnmente usados en las dietas para peces, el contenido en Mg de las proteínas vegetales es bajo (0.4-0.6 %). Dado que el contenido de Mg de las harinas de pescado oscila entre un 2.5 y un 3 % de la materia seca, se recomienda que los peces cultivados que tengan que ser alimentados con grandes cantidades de esta materia prima deberían recibir un elevado aporte de Mg en la dieta.

6.2.2.3. Sodio, Potasio y Cloro

Sodio y cloro son los principales electrolitos presentes en los fluidos extracelulares, mientras que potasio y Mg son los principales cationes intracelulares. Sodio, potasio y cloro son los principales solutos implicados en la regulación de la presión osmótica y del equilibrio ácido-base. Además, el cloro es el anión mayoritario en el jugo gástrico y en la sangre.



Los peces absorben estos elementos del ambiente acuático. La absorción se realiza a nivel de las branquias en el caso de los peces de agua dulce y a nivel intestinal en los marinos.

6.2.2.3.1. Necesidades

Los estudios acerca de las necesidades de sodio, potasio y cloro son prácticamente inexistentes debido su gran disponibilidad en el ambiente acuático y a la facilidad con que pueden ser absorbidos por los peces. Además, la abundancia de estos elementos en las materias primas usadas en la formulación de dietas para peces hace innecesaria la suplementación en la mayoría de los casos. En el salmón «chinook» mantenido en agua dulce es necesario suplementar las dietas con un 0.8 % de potasio para obtener un crecimiento máximo. Sin embargo, esta suplementación no es necesaria en el agua salada debido a la abundancia de este mineral en ese medio.

6.2.2.3.2. Deficiencias

Es difícil que se produzcan signos de deficiencia de Na, K y Cl debido a la facilidad con que los peces los obtienen del ambiente acuático. Sin embargo, el exceso de estos minerales sí induce efectos negativos sobre el crecimiento y la eficiencia alimentaria en algunas especies como el salmón «coho» y la trucha arco iris. Se ha observado que la mortalidad derivada de la transferencia al agua salada del salmón Atlántico y del salmón «coho» se reduce alimentando a estas especies con dietas enriquecidas con cloruro sódico durante un corto periodo de tiempo antes de la transferencia. Esto se debe a que la sal dietaria eleva los niveles de la enzima Na^+, K^+ -ATPasa branquial, facilitando la adaptación fisiológica al medio marino.

6.2.2.3.3. Fuentes

Los niveles de Na son elevados en la mayoría de concentrados proteicos usados en las dietas para peces, particularmente en las harinas de pescado, mientras que las fuentes vegetales son pobres en este elemento. Algo parecido a lo indicado para el Na ocurre con el Cl. Por el contrario, las fuentes proteicas vegetales son ricas en K mientras que las harinas de pescado son una pobre fuente de este elemento. Inde-



pendientemente de la fuente que los aporte, estos tres elementos están presentes en formas iónicas altamente disponibles para los peces.

6.2.2.4. Hierro

El hierro es un elemento esencial para los procesos de respiración celular. En este sentido, la mayor parte del hierro presente en el organismo forma parte de la hemoglobina, encargada del transporte de oxígeno hasta los tejidos, y de la mioglobina, que se une al oxígeno para su uso en las células musculares. Además de este papel fundamental en el transporte de oxígeno, el hierro actúa como co-factor de enzimas del metabolismo intermediario. Las enzimas mitocondriales dependientes de Fe son esenciales para la producción oxidativa de energía para las células. El metabolismo aeróbico depende del Fe ya que desempeña un importante papel en la mayoría de las enzimas del ciclo de Krebs y como transportador de electrones en los citocromos.

La absorción de Fe en los peces está influenciada por la edad, el estado de salud, el contenido de Fe corporal y las condiciones del tracto gastrointestinal. La forma química y la cantidad de Fe ingerido así como la proporción relativa de componentes orgánicos e inorgánicos presentes en las dietas también puede afectar la absorción de hierro en los peces.

Tanto el Fe inorgánico como el presente en los complejos Fe-proteínas presentes en el alimento debe ser reducido hasta el estado ferroso para poder estar disponible para su absorción. Este proceso es llevado a cabo por los jugos gástricos y otras secreciones digestivas. Además, la presencia de sustancias reductoras, como la vitamina C, aumenta la capacidad de los peces para absorber Fe. Por el contrario, los fitatos y las proteínas de soja reducen su absorción.

Los procesos de absorción de Fe en peces han sido poco estudiados, considerándose que serían muy similares a los que tienen lugar en otros vertebrados. Aunque se produce una cierta absorción a nivel de la membrana branquial, la absorción de Fe se lleva a cabo mayoritariamente en la mucosa intestinal. La transferrina, detectada en varias especies de peces, sería la encargada del transporte sanguíneo del Fe absorbido.



6.2.2.4.1. Necesidades, deficiencia y toxicidad

Aunque la esencialidad del Fe ha sido demostrada en varias especies de peces, las necesidades cuantitativas de este mineral sólo se han establecido para algunas de ellas (Cuadro 8).

La aparición de signos de deficiencia de este elemento no es habitual en peces cultivados, aunque en diversos estudios se han inducido dichos signos experimentalmente mediante el suministro de dietas pobres en Fe. En estos casos, la mayoría de los síntomas afectaron a parámetros hematológicos.

Un exceso de Fe en la dieta puede dar lugar a la aparición de signos de toxicidad. Crecimiento reducido, pobre eficiencia alimentaria, aumento de la mortalidad, aumento de la peroxidación lipídica en hígado y corazón y daños histopatológicos en hígado han sido algunos de los signos de toxicidad descritos en algunas especies. Elevados niveles de Fe en el agua también provocan signos de toxicidad pero, en este caso, se producen alteraciones respiratorias derivadas del acúmulo de Fe en la superficie del epitelio branquial que daría lugar al bloqueo físico de las branquias.

6.2.2.4.2. Fuentes

La concentración de Fe en las materias primas es muy variable y puede estar influenciada por la contaminación durante el procesado. La mayoría de los granos de cereal contienen 30-60 mg Fe/kg. El con-

CUADRO 8.
Necesidades nutricionales de minerales de algunas especies de peces.

Especie	P	Ca ¹	Mg	K	Fe	Cu	Mn	Zn	I	Se
Salmón del Atlántico	0.6		0.04	E	30-60	5	10-20	37-67	E	E
Salmón del Pacífico	0.6		E ²	0.8	E	E	E	E	06-1.1	E
Pez gato americano	0.45		0.04	0.26	30	5	2.4	20	1.1	0.25
Carpa común	0.65	0.3	0.05	E	150	3	13	15-30	E	E
Tilapia	0.9		0.06	E	E	3.5	12	10-20	E	E
Trucha arco iris	0.6		0.05	E	E	3	13	15-30	1.1	0.15-0.4
Anguila japonesa	0.3	0.27	0.04	E	170	E	E	E	E	E
Pargo japonés	0.7	0.34			150	E	E	E	E	E

P, Ca, Mg, K: % de la materia seca; Fe, Cu, Mn, Zn, I, Se: ppm.

¹ En agua dulce pobre en Ca, las necesidades oscilan entre 0.03 y 0.65 % de la dieta.

² Elemento esencial pero necesidades no determinadas.



tenido de leguminosas y semillas oleaginosas oscila entre 100 y 200 mg/kg. Los alimentos de origen animal, excepto los derivados la leche, son ricas fuentes de Fe. Las harinas de pescado y de carne contienen entre 150 y 800 mg Fe/kg.

Se conoce muy poco acerca de la forma en que el Fe está presente en las materias primas y su biodisponibilidad para los peces. Se sabe que la disponibilidad de Fe para los animales está influenciada por la composición de la dieta, los métodos de procesamiento usados en la obtención de harina de sangre, ingesta de Fe en relación a las necesidades, forma química en la que el hierro es aportado y la cantidad y proporción de otros componentes dietarios que pueden interactuar metabólicamente con el Fe.

6.2.2.5. Cobre

El cobre es esencial para todos los animales, incluidos los peces. La distribución de este elemento en los peces es especialmente abundante en cerebro, corazón, hígado y ojos. Desempeña una importante función reguladora de la actividad enzimática ya que numerosas enzimas relacionadas con el metabolismo intermediario, la producción de energía celular, las defensas antioxidantes y la producción de colágeno son Cu-dependientes. El cobre también está relacionado con la utilización del hierro, ya que está unido a la ceruloplasmina, una proteína que interviene en la transformación del Fe en una forma que puede ser transportada a los tejidos. La alimentación con dietas deficientes en Cu produce una disminución de los niveles de Fe corporal en peces.

El metabolismo del Cu no está bien estudiado en peces, a pesar del gran número de estudios realizados acerca de su toxicidad.

6.2.2.5.1. Necesidades, deficiencia y toxicidad

Las necesidades dietarias de Cu dependen del estado fisiológico del pez, de la concentración de Cu en el agua y del nivel de elementos antagonistas del Cu, como hierro, zinc, cadmio y molibdeno.

La abundancia de Cu tanto en los alimentos como en el ambiente acuático hace que la aparición de signos de deficiencia en los peces sólo ocurra en situaciones muy extremas. Algunos de los síntomas observados son una menor actividad de enzimas Cu-dependientes en el



pez gato americano y crecimiento reducido y formación de cataratas en carpa.

La mayoría de los peces pueden tolerar elevadas concentraciones de Cu en la dieta. La cantidad de Cu dietario necesario para provocar toxicidad varía dependiendo de la especie, del tamaño del pez y de su fase de desarrollo. En salmón Atlántico y trucha arco iris, el máximo nivel de tolerancia de Cu en la dieta es aproximadamente 100 y 500 mg/kg, mientras que el pez gato americano parece tolerar niveles menores. La toxicidad derivada de la presencia de Cu en el agua depende de la especie, dureza del agua, pH y temperatura, pero se sabe que el Cu disuelto en el agua es generalmente más tóxico para los peces que el presente en el alimento y que pequeñas cantidades de Cu en el agua pueden ser muy tóxicas para algunas especies. Las branquias son el primer órgano diana afectado por la toxicidad del Cu en el agua dulce. La acumulación de Cu en las branquias está influenciada por la competencia de otros cationes (Na^+ , Ca^{2+} , H^+) así como por la formación de complejos con la materia orgánica disuelta, hidróxidos y carbonatos, lo que hace disminuir la disponibilidad del Cu. Hígado y riñón también se ven afectados por la intoxicación con Cu.

6.2.2.5.2. Fuentes

El contenido de Cu de los ingredientes usados en la alimentación de peces, tanto de origen animal como vegetal, suele variar dependiendo del procesado y de la presencia de contaminantes. Los solubles de pescado suelen presentar un elevado contenido de Cu (superior a 85 mg/kg). Los niveles de este elemento oscilan entre 5 y 30 mg/kg en la mayoría de fuentes proteicas de origen animal y vegetal.

6.2.2.6. Manganeso

El manganeso es un elemento esencial que actúa como cofactor activando un amplio número de enzimas, como quinasas, transferasas, hidrolasas y descarboxilasas. También forma parte integral de importantes metaloenzimas relacionadas con el metabolismo intermediario y las defensas antioxidantes.

La captación de Mn en agua dulce ha sido ampliamente demostrada. Sin embargo, los posibles mecanismos de esa captación a través



de las branquias o del tracto gastrointestinal son poco conocidos. La tasa de absorción del Mn presente en el alimento es muy elevada en los peces, pero la eficiencia del proceso puede verse disminuida por la presencia de elevados niveles de Ca y P.

6.2.2.6.1. Necesidades y deficiencia

Los datos disponibles acerca de las necesidades de Mn de los peces son escasos. Se ha establecido que las necesidades de pez gato americano, trucha arco iris y salmón Atlántico serían 2.4, 12-13 y 10-20 mg/kg de dieta, respectivamente. También se ha indicado que, si bien esos niveles serían suficientes para satisfacer las necesidades de juveniles, los reproductores necesitarían un mayor nivel dietario de Mn y, dado que las materias primas usadas en la formulación de dietas para peces aportan bajos niveles de este elemento, la suplementación de las dietas sería imprescindible. La suplementación debería incrementarse en dietas con niveles elevados de P.

Los principales signos de deficiencia de Mn observados en peces son crecimiento reducido, deformidades esqueléticas, disminución de la concentración de Ca y Mn en las vértebras, cataratas e inhibición de las actividades Cu,Zn-superóxido dismutasa y Mn-superóxido dismutasa en corazón e hígado. En reproductores de trucha alimentados con una dieta sin suplementación de Mn se observa una puesta reducida y con un bajo contenido en Mn de los huevos.

6.2.2.6.2. Fuentes

En general, las fuentes proteicas de origen animal aportan niveles muy escasos de Mn, siendo particularmente pobres en este elemento las harinas de arenque y de capelin. El contenido en Mn del resto de harinas de pescado oscila entre 4-38 mg/kg.

6.2.2.7. Yodo

El yodo es esencial para la síntesis de las hormonas tiroideas. Estas hormonas tienen una importante influencia sobre el crecimiento, funciones neuromusculares, dinámica circulatoria, funcionamiento de otras glándulas endocrinas y metabolismo de los principales nutrientes.



Los peces obtienen el yodo principalmente del agua, mediante captación branquial, y en menor medida del alimento, de modo que cuando los niveles dietarios de este elemento son bajos o nulos los peces son capaces de mantener sus niveles plasmáticos de yodo mediante la captación del agua y la movilización de las reservas corporales de este elemento.

6.2.2.7.1. Necesidades

Las necesidades mínimas de yodo no han sido establecidas para la mayoría de las especies de peces. Parece que esas necesidades están influenciadas por la edad, sexo, fase de crecimiento, estado fisiológico, situaciones de estrés ambiental, patologías y contenido de yodo del ambiente acuático.

6.2.2.7.2. Fuentes

El yodo está ampliamente distribuido en la naturaleza. Es relativamente abundante en animales y plantas de origen marino. Los peces marinos contienen más niveles de yodo que los de agua dulce. Las harinas de pescado blanco Atlántico contienen 60-90 mg l/kg, mientras que en las de arenque y capelin los niveles son de 5-10 mg/kg. En el resto de fuentes proteicas de origen animal distintas del pescado los niveles de este elemento son insignificantes. En los concentrados proteicos de origen vegetal los niveles de yodo son muy bajos (30-100 µg/kg).

6.2.2.8. Cinc

La esencialidad del cinc para todos los organismos vivos se debe a su implicación en un amplio número de funciones biológicas ejerciendo un importante papel catalítico, estructural y/o regulador. Como constituyente estructural de numerosas metaloenzimas, el Zn regula la mayoría de los procesos relacionados con el metabolismo de proteínas, lípidos y carbohidratos. También desempeña un importante papel catalítico regulando la actividad de numerosas enzimas Zn-dependientes. El Zn es necesario para la replicación y la transcripción del ADN y también está implicado en el metabolismo de prostaglandinas.

Los peces obtienen Zn tanto del alimento como del ambiente acuático, aunque el Zn dietario es utilizado más eficientemente. Existe poca



información acerca de la absorción de Zn en peces así como de los mecanismos que regulan el proceso. Al igual que en mamíferos, parece que tanto el control de la captación a nivel gastrointestinal como los mecanismos de excreción (principalmente a través de riñón y branquias) serían los responsables del mantenimiento de la homeostasis de Zn en peces. Estudios con trucha arco iris parecen indicar que estos mecanismos homeostáticos son muy eficientes en peces, ya que animales alimentados con niveles elevados de Zn no mostraron signos de acumulación de este elemento en ningún tejido. Estos estudios también parecen indicar que la captación de Zn del agua probablemente es independiente de la captación intestinal del Zn presente en la dieta.

Se sabe que la absorción de Zn se ve afectada por el estado del animal en cuanto a su contenido en Zn, el nivel de Zn en la dieta y la biodisponibilidad de este elemento en los componentes dietarios. Son numerosos los factores dietarios que afectan la disponibilidad y, por tanto, la absorción de Zn: fuente de este elemento, presencia de fitatos, algunos aminoácidos y la presencia o ausencia de otros cationes divalentes como Fe, Ca y Cu. En general, una elevada ingesta de Fe, Ca y fitatos reducen la disponibilidad de Zn para su absorción, mientras que algunos aminoácidos, como histidina y cisteína, la aumentan. También el nivel de Ca en el agua afecta a la captación branquial de Zn, ya que ambos elementos usan la misma vía de captación e inhiben competitivamente la entrada de uno y otro a través del epitelio branquial.

6.2.2.8.1. Necesidades, deficiencia y toxicidad

Las necesidades mínimas de Zn de algunas especies de agua dulce han sido establecidas mediante el uso de dietas purificadas. No obstante, como ya se ha indicado, existe un gran número de factores dietarios que pueden afectar la disponibilidad de este elemento.

La presencia del Zn tanto en el agua como en los ingredientes dietarios hace muy improbable la aparición de signos de deficiencia en condiciones normales de cultivo y alimentación. Los principales signos de deficiencia observados experimentalmente en diversas especies son crecimiento reducido, elevada mortalidad, inapetencia, cataratas, disminución de los niveles óseos de Zn y Ca, signos de estrés oxidativo y erosión de aletas y piel.



La toxicidad del Zn deriva de su presencia en el agua. El aumento de la concentración de este elemento en el medio acuático altera gravemente las funciones de transporte de la membrana branquial. El Zn afecta de modo severo la captación branquial de Ca en peces de agua dulce ya que, como se ha indicado, Ca y Zn compiten por los mismos sitios de unión a nivel branquial. El aumento de los niveles de Zn en el agua da lugar a hipocalcemia y puede llegar a ocasionar la muerte de los animales.

6.2.2.8.2. Fuentes

La mayoría de fuentes proteicas de origen animal contienen aproximadamente 30 mg Zn/kg materia seca. Los moluscos bivalvos son la mayor fuente de Zn, con un contenido aproximado de 1200 mg/kg. El contenido medio de las harinas de pescado oscila entre 80 y 100 mg Zn/kg. En cuanto a los concentrados proteicos de origen vegetal, su contenido en Zn es de 40-80 mg/kg.

En todos los casos, es importante conocer la biodisponibilidad del Zn en cada uno de los componentes dietarios. Como se ha indicado, Fe, Ca y fitatos reducen la disponibilidad de Zn. En el caso de las harinas de pescado, la disponibilidad de este elemento se ve afectada por los niveles de fosfato tricálcico. En todos estos casos se hace necesaria la suplementación con Zn.

6.2.2.9. Selenio

La esencialidad del selenio deriva de su papel como componente de la enzima glutatión peroxidasa, fundamental en la protección de las membranas celulares frente a la acción de los radicales libres. El Se también desempeña un importante papel como cofactor en el metabolismo de la glucosa y protege frente a la toxicidad de metales pesados como cadmio y mercurio.

6.2.2.9.1. Necesidades, deficiencia y toxicidad

Las necesidades mínimas de Se de los peces varían con la forma en que el elemento es ingerido, la disponibilidad del Se en la dieta, el nivel dietario de vitamina E y la concentración de Se en el ambiente acuático. Las necesidades mínimas de Se en la dieta de trucha arco iris



son 0.15-0.38 mg/kg, considerándose que niveles de 13 mg/kg serían tóxicos. Niveles de 0.25 mg Se/kg de dieta cubrirían las necesidades del pez gato. Las necesidades mínimas de Se de otras especies no se han estimado.

Los signos de deficiencia de Se observados en distintas especies son depresión del crecimiento y disminución de la actividad glutathione peroxidase en hígado y plasma.

Uno de los aspectos más estudiados respecto al selenio se refiere a su toxicidad. Parece que los peces son más susceptibles a los efectos teratogénicos del Se que los mamíferos, aunque el grado de susceptibilidad varía ampliamente dependiendo de la especie, del estado fisiológico, de la forma química del selenio y de la edad de los animales, siendo los juveniles menos tolerantes al Se que los adultos. También se ha observado que la deficiencia de vitamina E aumenta la toxicidad del Se en los peces. Basado en numerosos estudios, se estima que 2 mg/kg (materia seca) sería el nivel máximo tolerable de Se en la dieta para evitar la aparición de efectos adversos en los peces.

Hay una serie de elementos traza (antimonio, arsénico, bismuto, cadmio, cobre, mercurio) que pueden afectar el uso del Se en los peces atenuando, por tanto, su toxicidad. Elevados niveles de Cu reducen la retención de Se en los tejidos de peces. La interacción antagonista de selenio y mercurio se considera de gran significado en el caso de los peces de cara a la seguridad alimentaria y la protección ambiental. Aunque se ha informado de la bioacumulación simultánea de estos elementos, no existen evidencias de la deposición conjunta de ambos en los peces.

6.2.2.9.2. Fuentes

El selenio está presente en aguas marinas y continentales, aunque a bajas concentraciones (0.09 µg/L y 0.2-10 µg/L, respectivamente). También forma parte de los alimentos y materias primas en la forma de complejos inorgánicos. El nivel de Se en las materias primas de origen vegetal varía dependiendo de la composición del suelo. Las harinas de pescado y los subproductos de origen marino representan la mejor fuente de Se para las dietas de peces, aunque algunas harinas pueden tener una baja biodisponibilidad de este elemento debido a la presen-



cia de otros metales pesados. El uso de suplementos es común para compensar las deficiencias de las materias primas, pero en algunos países el límite máximo permitido de suplementación en los alimentos para peces es de 0.1 mg Se/kg.

6.2.3. Interacciones entre vitaminas, minerales y la composición de la dieta en peces

Las necesidades de un nutriente pueden estar afectadas por el nivel de otro nutriente, a nivel de la dieta o a nivel metabólico. Hay una serie de factores que pueden afectar la interacción entre nutrientes. Entre estos factores estaría la composición de la dieta, el procesamiento en la fabricación de la dieta, la edad y la especie, y factores ambientales. Por otra parte, a nivel experimental, los resultados pueden verse alterados en relación con el diseño de las dietas, las técnicas de alimentación, los análisis, etc.

Las vitaminas y los minerales parecen tener efectos aditivos o reductores en las respuestas inmunes de los peces. Por ello, se debe intentar conocer la interacción y las relaciones entre vitaminas (A, C y E) y minerales (Se, Zn, Cu, Mn y Fe) en la inmunidad del pez. En la tilapia las vitaminas A, C y E, junto con los minerales (Se, Zn, Cu, Mn y Fe) pueden ser suficientes para mejorar la proliferación de macrófagos, la viabilidad y la actividad de la lisozima, al mismo tiempo que disminuye la producción de superóxido y de NO. Sin embargo, dosis elevadas de vitaminas y/o minerales, o combinaciones inadecuadas, pueden ser perjudiciales para las células.

La vitamina C tiene un efecto protector sobre la peroxidación lipídica, mejorando el metabolismo de lípidos, como la lipólisis, participando en la síntesis de la carnitina. En trucha arco iris, el ácido ascórbico también tiene influencia sobre el nivel de lípidos plasmáticos. En juveniles de rodaballo japonés *Paralichthys olivaceus* hay una interacción entre ascorbato y los HUFA n-3 en cuanto a la ganancia de peso, conversión del alimento y concentración de ácido ascórbico en el hígado. En la dorada negra (*Acanthopagrus schlegelii*), la vitamina C activó la lipólisis. En contraste, la vitamina E limita la peroxidación lipídica. Sin embargo, su efecto sobre el metabolismo lipídico en peces no se conoce bien. La vitamina C regeneraría la vitamina E a partir del radical de vitamina E.



En el pargo japonés, *Pagrus major*, y en la dorada negra, la vitamina C tendría influencia sobre el metabolismo lipídico, no siendo así en el caso de la vitamina E. La vitamina C aceleró la absorción de vitamina E y/o previno la oxidación de la vitamina E. La capacidad de ser un antioxidante lipídico parece ser mayor en la vitamina C que en la E. Incluso podría haber un efecto prooxidante a altos niveles de vitamina E. Además, las vitaminas C y E podrían mejorar, de forma sinérgica, la vitalidad del pez.

Una cuestión importante es si se deben reformular las necesidades diarias de vitamina C y E, basándose en su interacción, en comparación a cuando se estiman sus necesidades de forma individual.

La suplementación con estas dos vitaminas es crucial para mejorar el proceso reproductivo, además de su potencial antioxidante. La interacción de estas dos vitaminas se conoce en algunas especies de peces como la trucha arco iris, el salmón atlántico, el esturión lacustre. En la perca amarilla (*Perca flavescens*) la suplementación con vitamina C y E mejora la tasa de crecimiento. Durante el ciclo de maduración, la suplementación con vitamina C mejora la calidad del semen y puede tener un efecto de ahorro sobre la vitamina E del esperma, en función de los depósitos de vitamina E en los tejidos.

La interacción entre las vitaminas C y E se ha observado tanto «in vivo» como «in vitro». Hay dos mecanismos implicados en dicha interacción. Uno es la protección simultánea de las fases acuosa y lipídica frente a la oxidación, y el otro es la regeneración de la vitamina E, a partir de los radicales de vitamina E, gracias a la vitamina C.

En el piracuru, *Arapaima gigas*, parece que la interacción entre las vitaminas C y E no presenta efectos sinérgicos en los índices de glóbulos rojos o en el sistema inmune del pez.

En la dorada, las vitaminas C y E están implicadas en el eje hipotálamo-simpático-células cromafines, y también intervienen en las respuestas terciarias al estrés, como la inmunodepresión, en la que protegen las funciones leucocitarias.

La morfogénesis de la lubina se ve afectada por los niveles de vitamina A y de ácidos grasos poliinsaturados en los primeros estadios de desarrollo. Los genes implicados en la morfogénesis pueden ser modulados entre los días ocho y trece tras la eclosión, y los retinoides



y los ácidos grasos influyen en dos vías moleculares que, a su vez, implican dos cascadas de genes, teniendo como resultado dos tipos de malformaciones. La hipervitaminosis de vitamina A retrasa el desarrollo, reduciendo el número de segmentos vertebrales y modificando la formación de los huesos de la región cefálica. Un exceso de PUFA aceleraría el proceso de diferenciación de los osteoblastos. Todo ello sugiere que la composición de las dietas utilizadas en larvas de peces marinos, tiene un efecto determinante antes del día trece de desarrollo de la larva y de los juveniles de peces.

La interrelación entre vitamina B₁₂ y el metabolismo del folato aparece claramente en una situación de deficiencia de cualquiera de las dos vitaminas, con la aparición de una anemia macrocítica megaloblástica. La relación metabólica entre ambas tiene lugar en la conversión de homocistina a metionina, catalizada por la metionina sintetasa. El grupo metilo transferido a la homocistina es donado por el 5-metil-tetrahidropteril-poli-glutamato (5-metilTHF). Una deficiencia de la vitamina B₁₂ trae consigo una menor actividad de la metionina sintetasa, enzima dependiente de la vitamina B₁₂, lo que resultaría en una deficiencia de folato al aumentar la proporción de folato como 5-metilTHF.

Una deficiencia de cualquiera de las dos vitaminas produce una anemia en la que los glóbulos rojos aparecen como anormales, fragmentados o inmaduros. En *Labeo rohita*, los efectos de una deficiencia combinada de vitamina B₁₂-ácido fólico eran aditivos en relación con el desarrollo de una anemia que se aceleró y fue más pronunciada.

El selenio parece tener efecto, sobre todo, a través de la enzima glutatión peroxidasa (GSH-PX), mientras que la vitamina E es un antioxidante de membranas y/o un capturador de radicales libres. Así los dos nutrientes trabajan juntos para proteger las membranas biológicas frente a la peroxidación lipídica. En el salmón atlántico se precisan ambas sustancias para prevenir la distrofia muscular nutricional. En contraste, en la trucha arco iris y en *Ictalurus punctatus* no se observaron signos de deficiencia en selenio, siempre que la dieta tuviera niveles adecuados de vitamina E. Puede que haya diferencias ligadas a la especie, a la edad, a la composición de la dieta (diferentes niveles de lípidos) y a las condiciones ambientales (temperatura del agua) en la interacción entre vitamina E y selenio en los peces.



Muchos de los estudios de nutrición animal se enfocan en relación con los efectos de la vitamina C en la disponibilidad mineral. En carpa y trucha arco iris, tanto la toxicidad como la retención de cobre del agua se vió afectada por el ácido ascórbico dietario. Sin embargo, no se pudo determinar de qué manera afectaba el ácido ascórbico a la captación o al metabolismo-excreción del cobre del agua. En contraste, otros estudios indican que el ácido ascórbico tiene pocos efectos sobre la captación y/o el metabolismo del cobre de la dieta en la trucha arco iris. Esto podría indicar que, en la trucha arco iris, el metabolismo y las necesidades de ácido ascórbico no se verían afectadas por niveles elevados de cobre en la dieta y en los tejidos (hasta niveles de toxicidad de cobre en la dieta). Además, en la trucha arco iris la suplementación de la dieta con cantidades elevadas de ácido ascórbico (hasta 10 000 mg/kg) no afectaría a los niveles de cobre corporales, en riñón y en hígado. Por tanto, el ácido ascórbico no parece afectar de forma importante la absorción o el metabolismo-excreción de cobre dietario en la trucha arco iris. Esto sería contrario a los efectos del ácido ascórbico sobre el cobre proveniente del agua, en la carpa y en la trucha.

Como en otros animales, en los peces el ácido ascórbico también está implicado en el metabolismo del hierro. En la trucha arco iris, una deficiencia de ácido ascórbico provoca una reducción de los niveles de hierro sérico y una redistribución de las reservas de hierro tisular y una reducción de los niveles de hemoglobina y hematocrito en *Ictalurus punctatus* y trucha. El tipo de anemia, producida por una deficiencia de ácido ascórbico, progresa desde una anemia normocrómica-normocítica a una anemia hipocrómica-macroscítica.

A pesar de la interacción entre el ácido ascórbico y el metabolismo del hierro en peces, sorprende el observar que un aumento de los niveles de ácido ascórbico no parece afectar la absorción de hierro dietario, cuando está en forma reducida (Fe^{2+}).

El hierro es uno de los principales metales implicados en la oxidación de los lípidos, siendo la forma ferrosa más potente en la peroxidación lipídica que la forma férrica. La forma ferrosa cataliza la formación de hidroperóxidos y peróxidos, aportando un radical libre iniciador, en presencia de ácidos grasos insaturados y oxígeno. Las dietas para truchas tienen niveles elevados de lípidos poolinsaturados y, por ello, podría esperarse que la



suplementación de las dietas con hierro ferroso pudiera afectar a la estabilidad de la dieta y, en particular, el nivel de ácido ascórbico.

Hay algunas evidencias de que el hierro puede afectar el metabolismo del ácido ascórbico en la trucha. El aumento de los niveles dietarios de hierro hace disminuir los niveles de ácido ascórbico en hígado y en riñón anterior. Sin embargo, esta interacción aparente se podría deber a los efectos de la suplementación con hierro en el enrrianciamiento de la dieta y en la estabilidad del ácido ascórbico dietario. Además, en truchas alimentadas con niveles altos de hierro (mayores de 86 mg/kg de dieta), ingesta y crecimiento se redujeron como consecuencia del enrrianciamiento de la dieta. Esto podría también afectar la ingesta de ácido ascórbico y, como consecuencia, los niveles de ácido ascórbico en hígado y riñón anterior.

En los animales domésticos es conocido el efecto de ahorro sobre la tiamina de la proteína y la grasa, cuando sustituyen a los hidratos de carbono dietarios. En el caso de las truchas, cuando se las alimenta con dietas deficientes en tiamina y con niveles elevados de carbohidratos, desarrollan signos de deficiencia y mortalidad de forma más rápida que las alimentadas con dietas deficientes en tiamina y niveles altos de grasa. Esto podría indicar que los niveles elevados de carbohidratos podrían afectar, y quizá acelerar, el metabolismo de la tiamina en la trucha.

Aumentos de la proteína dietaria traerían consigo unas mayores necesidades de piridoxina (vitamina B₆). En los peces, como en otros animales, la deficiencia en vitamina B₆ trae consigo una importante reducción de la aminotransferasa en músculo, hígado y plasma.

En las truchas de arroyo (*Salvelinus fontinalis*), alimentadas con una dieta alta en proteína, aparecieron los signos de deficiencia antes que en las alimentadas con niveles más bajos de proteína. Esto podría indicar que los animales alimentados con un nivel más alto de proteína tuvieran mayores necesidades de vitamina B₆. Sin embargo, en el salmón «chinook» no se encontró este efecto. Ante esta controversia en los resultados, se precisarían más estudios para profundizar en esa posible interacción vitamina B₆-proteína.

También la calidad de la proteína podría afectar las necesidades de vitamina B₆. En peces, la mayoría de los estudios de necesidades de



vitamina B₆ se han hecho con dietas semipurificadas, por lo que es posible que en los peces alimentados con dietas en las que la fuente proteica es harina de pescado o alguna de origen vegetal, las necesidades de vitamina B₆ sean diferentes. Además, el procesamiento de las dietas puede modificar la calidad de la proteína, por lo que sería otro factor a tener en cuenta en relación con las necesidades de esta vitamina.

En los peces, las necesidades de vitamina E, cuando la dieta es baja en lípidos o baja en PUFA, parecen ser específicas de cada especie. Sin embargo, en la trucha se observó como el grado de insaturación de la grasa afectaba a los niveles de vitamina E en los tejidos. También en la trucha, los síntomas de deficiencia de vitamina E eran más evidentes cuando la dieta incluía aceite de pescado, en comparación con dietas con manteca de cerdo. Por tanto, las necesidades de vitamina E aumentan cuando lo hace el nivel de PUFA en la dieta. El mecanismo de esta interacción se asume que está relacionado con la función antioxidante de la vitamina E en relación con las membranas. Los signos de deficiencia de la vitamina E en peces (distrofia muscular, aumento de la hemólisis, depigmentación de la piel, etc.) se parecen a los de deficiencia de un ácido graso esencial. Este hecho no sorprende si se tiene en cuenta que la vitamina E previene la peroxidación lipídica, y podría indicar algún tipo de implicación de la vitamina E en el metabolismo de lípidos. Algunos estudios indican que las necesidades de vitamina E pueden aumentar cuando la temperatura del agua está por debajo de la óptima para la especie. Sabiendo que la temperatura del agua también puede afectar el metabolismo y la composición de ácidos grasos en el pez, es muy posible que la interacción entre vitamina E y PUFA se viera afectada por una reducción de la temperatura.

BIBLIOGRAFÍA

- AGRAWAL, N.K., and C.L. MAHAJAN, 1980 Nutritional deficiency disease in an Indian major carp, *Cirrhina mrigala* Hamilton, due to avitaminosis C during early growth. J. Fish Diseases 3: 231-248.
- Ai, Q., Mai, K., ZHANG, C.X., XU, W., DUAN, Q.Y., TAN, B., and Z. LIUFU, 2004 Effects of dietary vitamin C on growth and immune response of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. Aquaculture 242: 489-500.



- AI, Q., MAI, K., TAN, B., XU, W., ZHANG, W., MA, H., and Z. LIUFU, 2006 Effects of dietary vitamin C on survival, growth, and immunity of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. *Aquaculture* 261: 327-336.
- ALEXIS, M.N., KARANIKOLAS, K.K., and R.H. RICHARDS, 1997 Pathological findings owing to the lack of ascorbic acid in cultured gilthead bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture* 151: 209-218.
- AMERIO, M., VIGNALI, C., ITALIA, A., and J. GABAUDAN, 2000 Blood and liver concentration of ascorbic acid in *Sparus aurata* fed Rovimix Stay C-25. *J. Appl. Ichthyol.* 16: 273-275.
- BAKER, R.T.M., and S.J. DAVIES, 1996 Changes in tissue α -tocopherol status and degree of lipid peroxidation with varying α -tocopheryl acetate inclusion in diets for the African catfish. *Aquaculture Nutrition* 2: 71-79.
- CLEARWATER, S. J., A. M. FARAG, and J. S. MEYER, 2002 Bioavailability and toxicity of dietborne copper and zinc to fish. *Comparative Biochemistry and Physiology* 132C: 269-313.
- CUESTA, A., ORTUÑO, J., RODRÍGUEZ, A., ESTEBAN, M.A., and J. MESEGUER, 2002 Changes in some innate defence parameters of seabream (*Sparus aurata* L.) induced by retinol acetate. *Fish & Shellfish Immunology* 13: 279-291.
- DABROWSKI, K., 1986 Ontogenetical aspects of nutritional requirements in fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 85A: 639-655.
- DENG, D.-F., and R.P. WILSON, 2003 Dietary riboflavin requirement of juvenile sunshine bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*). *Aquaculture* 218: 695-701.
- GRAFF, I.E., HØIE, S., TOTLAND, G.K., and Ø. LIE, 2002 Three different levels of dietary vitamin D₃ fed to first-feeding fry of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): effect on growth, mortality, calcium content and bone formation. *Aquaculture Nutrition* 8: 103-111.
- GRAFF, I.E., STEFANSSON, S.O., AKSNES, L., and Ø. LIE, 2004 Plasma levels of vitamin D₃ metabolites during parr-smolt transformation of Atlantic salmon *Salmo salar* L. *Aquaculture* 240: 617-622.
- GULCIN, I., BEYDEMIR, S., and O. HISAR, 2005 Effect of alpha-tocopherol on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Acta Vet. Hung.* 53: 425-433.
- HALVER, J.E. 2002 The vitamins, pp. 61-141 in *Fish Nutrition*, Third Edition, edited by J.E. HALVER and R.W. HARDY. Academic Press, Amsterdam.
- HIDALGO, M.C., EXPÓSITO, A., PALMA, J.M., and M. DE LA HIGUERA, 2002 Oxidative stress generated by dietary Zn deficiency: studies in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 34: 183-193.



- HILTON, J.W., 1989 The interaction of Vitamins, Minerals and Diet Composition in the Diet of Fish. *Aquaculture* 79: 223-244.
- HUNG, S.-W., TU, C.-Y., and W.-S. WANG, 2007 In vivo effects of adding singular or combined anti-oxidative vitamins and/or minerals to diets on the immune system of tilapia (*Oreochromis hybrids*) peripheral blood monocyte-derived, anterior kidney-derived, and spleen-derived macrophages. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 115: 87-99.
- Ji, H., OM, A.D., YOSHIMATSU, T., HAYASHI, M., UMINO, T., NAKAGAWA, H., ASANO, M., and A. NAKAGAWA, 2003 Effect of dietary vitamins C and E fortification on lipid metabolism in red sea bream *Pagrus major* and black sea bream *Acanthopagrus schlegeli*. *Fisheries Science* 69: 1001-1009.
- KAUSHIK, S.J., GOUILLOU-COUSTANS, M.F., and C.Y. CHO, 1998 Application of the recommendations on vitamin requirements of finfish by NRC (1993) to salmonids and sea bass using practical and purified diets. *Aquaculture* 161: 463-474.
- KAUSHIK, S., 2001 Mineral Nutrition, pp 169-181 in *Nutrition and Feeding of Fish and Crustaceans*, edited by J. Guillaume, S. Kaushik, P. Bergot and R. Métailler. Springer-Praxis Publishing, UK.
- KISSIL, G.W., COWEY, C.B., ADRON, J.W., and R.H. RICHARDS, 1981 Pyridoxine requirements of the gilthead bream, *Sparus aurata*. *Aquaculture* 23: 243-255.
- LALL, S. P., 2002 The minerals, 259-308 in *Fish Nutrition* (3rd edition), edited by J. E. HALVER and R. W. HARDY. Academic Press, San Diego.
- LEE, K.-J., and K. DABROWSKI, 2004 Long-term effects and interactions of dietary vitamins C and E on growth and reproduction of yellow perch, *Perca flavescens*. *Aquaculture* 230: 377-389.
- LIN, M.-F., and S.-Y. SHIAU, 2005 Dietary L-ascorbic acid affects growth, non-specific immune responses and disease resistance in juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*. *Aquaculture* 244: 215-221.
- LIN, Y.-H., and S.-Y. SHIAU, 2005 Dietary vitamin E requirement of grouper, *Epinephelus malabaricus*, at two lipid levels, and their effects on immune responses. *Aquaculture* 248: 235-244.
- MAELAND, A., and R. WAAGBØ, 1998 Examination of the qualitative ability of some cold water marine teleosts to synthesise ascorbic acid. *Comp. Biochem. Physiol.* 121A: 249-255.
- MARCHETTI, M., TOSSANI, N., MARCHETTI, S., and G. BAUCE, 1999 Stability of crystalline and coated vitamins during manufacture and storage of fish feeds. *Aquaculture Nutrition* 5: 115-120.
- MENEZES, G.C., TAVARES-DIAS, M., ONO, E.A., ANDRADE, J.I.A., BRASIL, E.M., ROUBACH, R., URBINATI, E. C., MARCON, J.L., and E.G. AFFONSO, 2006 The influence of



- dietary vitamin C and E supplementation on the physiological response of piracuru, *Arapaima gigas*, in net culture. *Comp. Biochem. Physiol.* 145A: 274-279.
- MONTERO, D., TORT, L., ROBAINA, L., VERGARA, J.M., and M.S. IZQUIERDO, 2001 Low vitamin E in diet reduces stress resistance of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Fish & Shellfish Immunology* 11: 473-490.
- MOREN, M., OPSTAD, I., BERNTSSSEN, M.H.G., ZAMBONINO INFANTE, J.-L., and K. HAMRE, 2004 An optimum level of vitamin A supplements for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) juveniles. *Aquaculture* 235: 587-599.
- MORITO, C.L.H., CONRAD, D.H., and J.W. HILTON, 1986 The thiamin deficiency signs and requirement of rainbow trout (*Salmo gairdneri*, Richardson). *Fish Physiol. and Biochem.* 1: 93-104.
- NG, W.-K., SERRINI, G., ZHANG, Z., and R.P. WILSON, 1997 Niacin requirement and inability of tryptophan to act as a precursor of NAD⁺ in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture* 152: 273-285.
- National Research Council, 1981 Nutrient Requirements of Coldwater Fishes. National Academic Press, Washington, DC.
- National Research Council, 1983 Nutrient Requirements of Warmwater Fishes and Shellfishes. National Academic Press, Washington, DC.
- National Research Council, 1993 Nutrient Requirements of Fish. National Academy Press, Washington, DC.
- National Research Council, 2005 Mineral Tolerance of Animals. National Academies Press, Washington, DC.
- NIYOGI, S., and C. M. WOOD, 2003 Effects of chronic waterborne and dietary metal exposures on gill metal-binding: implications for the Biotic Ligand Model. *Human and Ecological Risk Assessment* 9: 813-846.
- ORTUÑO, J., ESTEBAN, M.A., and J. MESEGUER, 2003 The effect of dietary intake of vitamins C and E on the stress response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish & Shellfish Immunology* 14: 145-156.
- PUANGKAEW, J., KIRON, V., SATOH, S., and T. WATANABE, 2005 Antioxidant defence of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in relation to dietary n-3 highly unsaturated fatty acids and vitamin E contents. *Comp. Biochem. Physiol.* 140C: 187-196.
- SAU, S.K., PAUL, B.N., MOHANTA, K.N., and S.N. MOHANTY, 2004 Dietary vitamin E requirement, fish performance and carcass composition of rohu (*Labeo rohita*) fry. *Aquaculture* 240: 359-368.
- SHIAU, S.-Y., and Y.-H. CHIN, 1999 Estimation of the dietary biotin requirement of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Aquaculture* 170: 71-78.



- SMITH, C.M., and W.O. SONG, 1996 Comparative nutrition of pantothenic acid. *Nutritional Biochemistry* 7: 312-321.
- SUGIURA, S. H., R. W. HARDY, and R. J. ROBERTS, 2004 The pathology of phosphorous deficiency in fish-a review. *Journal of Fish Diseases* 27: 255-265.
- TOCHER, D.R., MOURENTE, G., VAN DER ECKEN, A., EVJEMO, J.O., DIAZ, E., BELL, J.G., GEURDEN, I., LAVENS, P., and Y. OLSEN, 2002 Effects of dietary vitamin E on antioxidant defence mechanisms of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.), halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) and sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture Nutrition* 8: 195-207.
- UDAGAWA, M., 2001 The effect of dietary vitamin K (phylloquinone and menadione) levels on the vertebral formation in mummichog *Fundulus heteroclitus*. *Fisheries Science* 67: 104-109.
- VIELMA, J., and S.P. LALL, 1998 Phosphorus utilization by Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared in freshwater is not influenced by higher dietary calcium intake. *Aquaculture* 160: 117-128.
- VILLENUEVE, L.A., GISBERT, E., MORICEAU, J., CAHU, C.L., and J.L. ZAMBONINO INFANTE, 2006 Intake of high levels of vitamin A and polyunsaturated fatty acids during different developmental periods modifies the expression of morphogenesis genes in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Br. J. Nutr.* 95: 677-687.
- WAHLI, T., VERLHAC, V., GIRLING, P., GABAUDAN, J., and C. AEBISCHER, 2003 Influence of dietary vitamin C on the wound healing process in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 225: 371-386.
- WALTON, M.J., COWEY, C.B., and J.W. ADRON, 1984 Effects of biotin deficiency in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed diets of different lipid and carbohydrate content. *Aquaculture* 37: 21-38.
- WANG, X., KIM, K., and S.C. BAI, 2002 Effects of different dietary levels of L-ascorbyl-2-polyphosphate on growth and tissue vitamin C concentrations in juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel). *Aquaculture Research* 33: 261-267.
- WEBSTER, C. D., and C. LIM, 2002 Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- World Health Organization, 1998 Copper. *Environmental Health Criteria* 200. World Health Organization, Geneva.
- Xie, Z., Niu, C., Zhang, Z., and L. Bao, 2006 Dietary ascorbic acid may be necessary for enhancing the immune response in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*), a species capable of ascorbic acid biosynthesis. *Comp. Biochem. Physiol.* 145A: 152-157.

7

FORMULACIÓN, INGREDIENTES Y PIENSOS, ADITIVOS, FACTORES ANTINUTRITIVOS, SOSTENIBILIDAD



FORMULACIÓN, INGREDIENTES Y PIENSOS, ADITIVOS, FACTORES ANTINUTRITIVOS, SOSTENIBILIDAD

Nina Coolsaet

Skretting

7.1. FORMULACIÓN

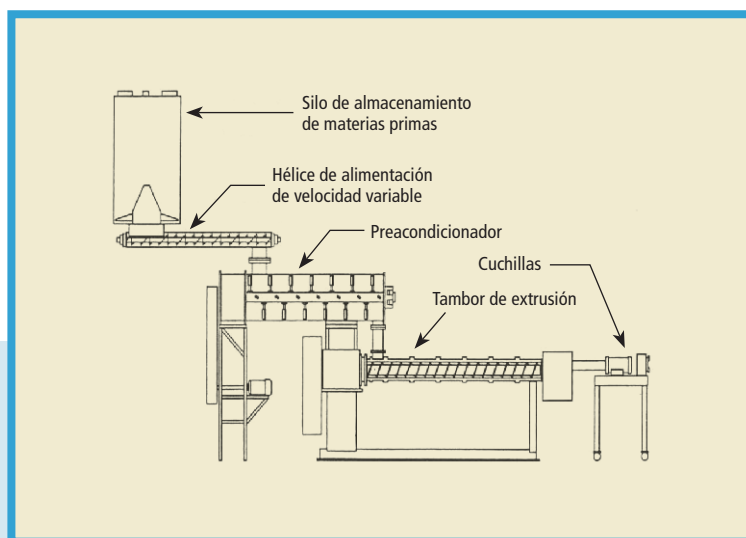
Formular un pienso para peces es más que sólo nutrición. Se debe tener en cuenta muchos factores que no están relacionados con el crecimiento del pez. Aquellos factores son:

7.1.1. Calidad física del pienso

La extrusión se ha convertido en la herramienta más importante para procesar alimentos para acuicultura. El procesado a través de la extrusión ha demostrado una mejora de la digestibilidad de los nutrientes y otros aspectos nutricionales. Durante la extrusión, el pienso y sus constituyentes moleculares están sujetos a una sucesión de tratamientos casi instantáneos.

El proceso (ver figura) es una combinación de precondicionar (añadir agua o vapor) y extrusionar (a temperaturas altas y presión) que hacen que se aglomeren las materias primas y se gelatinicen los almidones presentes en la mezcla. Es por ello que las materias primas que contienen almidón son imprescindibles para formular un pienso. No sólo es el contenido total de almidón pero sobre todo en calidad, es decir el tipo (amilosa-amilopectina) de almidón, los que determinan la procesabilidad y calidad física del pienso.

Los efectos sobre el valor nutritivo de los alimentos son esenciales para formular dietas en la industria de piensos. Los componentes más estudiados incluyen almidón, proteína, grasa y vitaminas. Diversos es-



tudios indican que el grado de gelatinización del almidón, de desnaturalización de la proteína y de retención de nutrientes dependen del tipo de materiales procesados, de las condiciones de procesado y de la configuración de la extrusora.

7.1.2. Sostenibilidad

La acuicultura es uno de los sectores de producción de alimentos de crecimiento más rápido de todo el mundo y se le reconoce como uno de los factores que pueden contribuir de manera significativa a la mitigación de la pobreza, la seguridad alimentaria y la generación de ingresos. No obstante, algunas de las prácticas de producción se han calificado, razonablemente, como insostenibles. Un ejemplo claro es el suministro de aceite de pescado que se verá limitado en el futuro debido a la falta de disponibilidad. Es una materia prima proveniente de pescado salvaje y su población a nivel mundial es estable desde la década de los ochenta. Por otro lado, la demanda aumenta un 10 % por año. Hoy en día se debe tener en cuenta este factor en la formulación, para llegar a una acuicultura sostenible donde se sustituye una gran parte del aceite de pescado por aceite vegetal (ver capítulo sostenibilidad).



7.1.3. Seguridad alimentaria

Hoy en día, la seguridad alimentaria es un tema todavía controvertido donde toda la cadena alimentaria está implicada. La formulación es la segunda etapa en la cadena, después de la producción de materias primas.

Por supuesto hay que cumplir la ley y estar por debajo de los límites legales de sustancias indeseables. Los ejemplos más evidentes son los metales pesados, dioxinas y PCBís similares a las dioxinas que son bioacumulables y directamente relacionados con los niveles en las materias primas utilizadas.

El objetivo final de formular un pienso seguro es la seguridad y calidad del producto final, es decir, el pescado, teniendo en cuenta el consumo medio por persona. Todos los límites legales y en muchos casos los límites internos de las casas de pienso se basan en valores referenciales muy bajos que han demostrado que no tienen ningún efecto negativo a largo plazo para la salud del consumidor.

7.1.4. Mercado, consumidor

Además, se deben cumplir los criterios establecidos por las grandes superficies que están más enfocados hacia el consumidor y que dependen de su percepción, no siempre justificable. El ejemplo representativo se da con los organismos genéticamente modificados (OGMs) y la harina de sangre o hemoglobina. Aunque no se haya demostrado ningún efecto perjudicial para la salud humana, el consumidor lo considera como uno de los factores más importantes para la seguridad alimentaria. Se pueden considerar estos criterios como una herramienta de marketing, más que una preocupación por la salud humana.

7.1.5. Calidad óptima del producto final

El criterio principal del producto final (pescado) es que sea un producto sano para la salud humana. Además de dicha seguridad, el consumidor o las grandes superficies requieren que cumpla otros requerimientos que se definen como calidad óptima. Los criterios más conocidos son: un porcentaje máximo de grasa en filete o parte del filete y el color de la carne o de la piel. En el futuro podría darse, por ejemplo, una cantidad mínima de HUFA (omega-3) en el filete.



Existen diferentes factores que influyen en la calidad, de los cuales algunos son conocidos pero existen otros que están por descubrir. Primero, la genética define la capacidad de crecer o engordar y de la acumulación de grasa en el filete y perivisceral para cada especie. Segundo, influye la alimentación que determina la toma total de energía y el equilibrio de los nutrientes (proteína-lípidos). En general, una especie que crece más rápido acumulará más grasa. Por otro lado, se ha demostrado que el ayuno o la alimentación con pienso menos energético durante unas semanas anteriores a la cosecha disminuye significativamente la grasa corporal (Gregorakis y Alexis, 2005, Rasmussen *et al*, 2000, Einen *et al*.). Por último, también algunas materias primas determinan la calidad final. Se ha demostrado en muchas especies cultivadas que el perfil de ácidos grasos del alimento se refleja con una relación directa en el perfil de los ácidos grasos del pescado (Bell *et al*, 2004, Bell *et al*, 2005, Izquierdo *et al*, 2003, Mourente *et al*, 2005).

7.1.6. Economía

Por último para formular un pienso que sea rentable para el cultivo de peces, se debe tener en cuenta el coste de formulación y de las materias primas utilizadas. Existen materias primas que nutricionalmente pueden ser muy interesantes pero aumentan mucho el coste, por lo cual se deben utilizar en cantidades limitadas o sustituirse por otras más rentables, siempre teniendo en cuenta los requisitos nutricionales

7.2. INGREDIENTES

Dentro de los ingredientes se pueden hablar de macro y micro ingredientes. Los macro ingredientes son las fuentes de proteína, grasa y carbohidratos. En este capítulo se describen sólo los macro ingredientes. Los micro ingredientes serán descritos en el siguiente capítulo «aditivos».

Los macro ingredientes más importantes utilizados para piensos para peces son productos de origen animal (pescado y animales terrestres) y (sub)productos de origen vegetal (soja, maíz, trigo, colza, girasol, guisantes, habas, etc).



La base de la nutrición no son los ingredientes sino el equilibrio de los nutrientes y sus cantidades mínimas y máximas. Es un concepto muy importante para formular piensos para animales. Además de tener limitaciones para el uso de materias primas según sus constituyentes, pueden haber límites máximos de unos ingredientes de origen vegetal debido a su contenido en factores antinutritivos. Se trata de un tema muy complejo, que se verá en un capítulo por separado.

Por otro lado, también se puede necesitar una cantidad específica de un ingrediente, no sólo para conseguir una dieta más equilibrada, sino debido a otros motivos que pueden ser una mejor palatabilidad, un color más atractivo o la estabilidad del alimento en el agua.

Otro factor para determinar la selección de los ingredientes es la naturaleza de la especie. Una especie carnívora tiende a necesitar más fuentes de origen animal que una especie herbívora.

Cada uno de los ingredientes tiene ventajas y desventajas. A continuación se van a tratar por separado los ingredientes más utilizados en piensos para peces.

7.2.1. Materias primas de origen animal

La inclusión de materias primas de origen animal para especies acuáticas todavía es alta comparada con su uso en piensos para especies terrestres. Las razones son diversas: su digestibilidad, sus nutrientes indispensables y su palatabilidad. No tienen componentes de tipo celulosa ni factores antinutritivos. Por otro lado, tienen desventajas en comparación con las materias primas de origen vegetal, como la inestabilidad de su composición y calidad.

7.2.1.1. Harina de pescado

La harina de pescado ha sido siempre considerada la mejor materia prima del pienso para peces, debido a su equilibrio y contenido en nutrientes, su digestibilidad, palatabilidad y sus ventajas para el procesamiento de los piensos.

7.2.1.1.1. Nutrición

Como fuente de proteína es una materia prima muy adecuada por su alto contenido en aminoácidos. Además, el perfil de aminoácidos



de una harina procedente de pescado es lógicamente muy similar al perfil de un pescado de cultivo. El perfil puede variar según el origen de la harina, sobre todo para el aminoácido histamina.

Una harina de pescado tiene alrededor de 10 % de grasa, la cual no sólo es una buena fuente de energía sino también por su contenido en ácidos grasos poli-insaturados de cadena larga (DHA y EPA) (ver aceite de pescado).

La harina de pescado es igualmente una fuente importante de minerales (calcio, fósforo, magnesio) y oligoelementos. No sólo por la cantidad sino también por su disponibilidad. No están ligados al ácido fítico (ver también factores antinutritivos) que puede influir en la absorción intestinal de minerales y su biodisponibilidad, sobre todo del fósforo y el calcio.

Por último, la harina de pescado aporta vitaminas esenciales. En cantidades importantes se dan las vitaminas B₁₂, A, D₃, colina, inositol y en cantidades menores todas las otras vitaminas existentes excepto la vitamina C.

Composición química (media % peso total).

Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas	Fibra	Almidón
7	67	10	14	1	0

7.2.1.1.2. Proceso de fabricación

El proceso de producción de harina de pescado consta, básicamente, de las siguientes etapas: descarga del pescado, molienda, cocinado mediante inyección de vapor, prensado continuo en un tornillo, secado con vapor indirecto y empackado. El proceso es seguido de la centrifugación del líquido extraído durante el prensado, para separar el aceite de la materia proteica suspendida, y se completa con la reducción de la humedad por evaporación de este material, el cual se vende, o bien se retorna al proceso de secado.

7.2.1.1.3. Origen

Existen dos tipos de harina de pescado:

1. de pesca específica para fabricación de harina de pescado (alrededor de $6,3 \times 10^6$ toneladas anuales). La mayoría de las ha-



rinas fabricadas a nivel internacional provienen del Hemisferio Sur (Perú y Chile) o Norte (Escandinavia, Islandia y Dinamarca) (especies: ver tabla)

2. producida de subproductos de pescado y descartes (de salmón, atún etc.) proveniente del procesado de diversos productos destinados al consumo humano (alrededor de 4×10^6 de toneladas anual)

TABLA 1.

Fuentes de las harinas de pescado: origen y especie usada.

País/región	Producción 1999/2003 (10³ ton)	Especie
Perú	1.849	Anchoa
Chile	800	Jurel caballo, Anchoa, Sardina, Otros
Islandia	275	Capelán, Bacaladilla, Arenque
Noruega	235	Capelán, Bacaladilla, Lanzón
Dinamarca	297	Lanzón, Espadín, Bacaladilla, Arenque, Otros
Otro UE	134	Lanzón, Espadín, Bacaladilla, Arenque, Otros
China	600	Varios
Tailandia	390	Varios
E.U	337	Icha tirana, Abadejo de Alaska
Sudáfrica	102	Anchoa, Pilchard
Otros	1.307	Sobre todo Anchoa
TOTAL	6.326	

7.2.1.1.3. Calidad

Una buena harina de pescado debe ser producida de peces enteros, pesca fresca. Durante y después de la producción, se debe estabilizar con antioxidantes (etoxiquina es el antioxidante más utilizado hoy en día).

Una harina de calidad inferior se caracteriza principalmente por los siguientes puntos:

- La fracción de soluble no ha sido re-incorporada antes del secado final, el contenido soluble de proteína inferior al 20 % y usualmente el rango es de 5 a 15 %.



- La harina proviene de deshechos de fileteo y no de peces enteros. El contenido en fosfolípidos, fósforo disponibles y aminoácidos es inferior.
- El pescado está en descomposición antes de ser procesado, la actividad bacteriana produce compuestos tóxicos como bacterio-toxinas, histamina y nitrógeno total volátil («TVN»).
- La harina no está protegida con antioxidantes durante y después del proceso, la fracción de lípidos presenta radicales libres y peróxidos («POV»).

La calidad es muy variable y depende del origen, de la fluctuación de las especies capturadas, de la estación del año, y del proceso de fabricación.

Aparte de la composición analítica (humedad, proteína, grasa, cenizas,...) se deben observar los siguientes aspectos para cualificar la calidad de la harina:

- Oxidación de los lípidos (POV)
- Frescura de la proteína (histamina y TVN)
- Palatabilidad y crecimiento (proteína soluble)

La desventaja del uso de harina de pescado es su variabilidad y su contenido en sustancias indeseables que son, principalmente, los metales pesados, dioxinas y PCBs similares a las dioxinas.

7.2.1.2. Aceite de pescado

7.2.1.2.1. Nutrición

El aceite de pescado es la mejor fuente de ácidos grasos altamente insaturados de cadena larga, denominados EPA y DHA. Dichos ácidos grasos son esenciales no sólo para peces, sino sobre todo para la salud humana. Son conocidos como omega-3 o n-3 HUFAs.

Aparte de unas algas específicas (p.e. *Porphyra Yezoensis*, *Scytosiphon lomentaria*, etc) el aceite de pescado es la única fuente de n-3 HUFA. No hay que confundir este tipo de ácidos grasos con los omega-3 provenientes de aceites vegetales que son cadena mas corta (máximo 18 carbonos o C18).

El perfil de los ácidos grasos depende del origen. El aceite de pescado Sud-americano (Chileno o Peruano) contiene alrededor de 33 % de



(n-3) HUFAs, más del doble que un aceite de origen Escandinavo (N-Atlántico) (ver tabla). La desventaja del aceite peruano o chileno es que tiene un contenido muy alto de ácidos grasos saturados (+/- 30 %), que puede disminuir la digestibilidad de la grasa de un pienso, sobre todo a temperaturas bajas de cultivo.

Perfil ácidos grasos aceite de pescado según origen (% de la grasa).

Ac. Grasos	Ac pescado N-Atlántico	Ac pescado S-Americano
C18:1n-9	6,8	10,3
C18:2 n-6	0,8	1,1
C18:3 n-3	0,5	0,7
Suma saturados	16,5	29,7
Suma monoenes	61,5	24,2
Suma n-6	2,0	4,0
Suma n-3	14,6	33,2
n-6/n-3	0,1	0,1

7.2.1.2.2. Proceso de fabricación

El aceite de pescado se produce durante la producción de la harina de pescado. Después del cocinado, el pescado sufre una fase de prensado, extrayéndose del mismo la proteína soluble (llamada agua de cola) y el aceite. El agua de cola se separa del aceite por un proceso de centrifugado y el aceite resultante se almacena en recipientes. Normalmente las fábricas de harina de pescado no añaden etoxiquina al aceite sino otros antioxidantes, como el BHT.

7.2.1.2.3. Origen

Ver Tabla 1 («harina de pescado»).

7.2.1.2.4. Calidad

El criterio de calidad de un aceite de pescado se basa sobre todo en su grado de oxidación. Esto es debido al alto contenido en ácidos grasos altamente saturados que se oxidan fácilmente. El valor de oxidación (POV) debe ser inferior a 5 meq/kg.



Al igual que la harina de pescado, el aceite de pescado tiene también dioxinas y PCBs similares a las dioxinas. Estos compuestos son liposolubles y suponen un gran problema por el hecho de ser muy estables y bioacumulables. Por esta razón están presentes en todos los aceites de pescado, pero su contenido depende del origen o grado de contaminación de los últimos cien años. Aceite procedente del Hemisferio Norte (Escandinavia, Dinamarca e Islandia) contiene hasta diez veces más dioxinas y PCBs similares a las dioxinas que un aceite procedente del Hemisferio Sur (Chile, Perú).

7.2.1.3. Otros (sub)productos de pescado

Los subproductos de pescado provienen del proceso de estabilización de desechos de pescado y/o pescados enteros de bajo valor comercial, mediante la adición de ácidos orgánicos, inorgánicos, sal, mezclas de ellos o fermentación bacteriana por medio de una fuente de carbohidratos (Windsor and Barlow 1982). La presencia de ácidos orgánicos o minerales aumentan la fermentación láctica y disminuyen el pH, el cual inhibe el desarrollo bacteriano, permitiendo el almacenamiento del ensilado por periodos prolongados (Green *et al.* 1983).

7.2.1.4. Harina de sangre

Es un producto obtenido por desecación de sangre de animales terrestres de sangre caliente. Debe estar exento de sustancias extrañas. La sangre está formada por plasma, fracción celular y fracción fibrilar. El plasma contiene en solución diversas sustancias como lipoproteínas, ácidos grasos no esterificados, azúcares, proteínas solubles (albúminas y globulinas) y sales minerales. La fracción celular (eritrocitos, leucocitos y plaquetas) es rica en hemoglobina.

Más recientemente se han desarrollado sistemas (Spray, ring o flash drying) en los que la sangre se divide en pequeñas partículas y se seca a elevadas temperaturas ($> 300\text{ }^{\circ}\text{C}$) en corriente de aire o de vapor en un período de tiempo muy corto. El producto resultante tiene una calidad nutritiva muy superior, particularmente en cuanto a su contenido en lisina disponible, en relación a las harinas de sangre tradicionales. Finalmente, se controlan las condiciones higiénicas de la harina de



sangre, para garantizar la ausencia de patógenos (*Salmonella*, *Coliformes*, *Staphylococcus aureus* y *Clostridios*).

Si el procesado se realiza por métodos adecuados, la harina de sangre es un ingrediente palatable y muy rico en proteína (85-90 %) de alta calidad. Tiene una concentración muy elevada de lisina, valina y leucina y alta de treonina, pero es deficiente en arginina, metionina e isoleucina.

Composición química (media % peso total).

Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas	Fibra	Almidón
9	86	1	4	0	0

7.2.1.4.1. Materias primas de origen vegetal

Hoy en día ya se utilizan muchas materias primas de origen vegetal para sustituir los productos de pescado y serán todavía mas importantes como sustitutos en el futuro (ver «sostenibilidad»). Las ventajas de estas materias primas de origen vegetal son su disponibilidad y la estabilidad de su calidad.

7.2.1.5. Productos de soja

Los productos de soja constituyen una excelente fuente de energía y proteína. Es la proteína vegetal más utilizada en la alimentación.

Sin embargo, a pesar de su elevado valor nutritivo, el haba de soja cruda contiene un buen número de factores antinutritivos (ver «factores antinutritivos») que se eliminan en gran parte por un procesado térmico en condiciones de tiempo y temperatura adecuadas. Además, la proteína es relativamente deficitaria en metionina y triptófano.

Existen diferentes productos. El producto menos procesado es la haba de soja tostada («FullFat Soya») que se obtiene a través de un tratamiento de calor (tostado) de la haba entera sin extraer la grasa, por lo cuál la harina tiene entre 18 y 20 % de grasa.

Los productos mas utilizados, debido a sus valores nutritivos y valor económico, son la harinas con proteína más concentrada (entre 44 y 48 %) llamadas «Hipro soja». Una harina con 44 % de proteína se obtiene tras un proceso de extracción de la grasa por disolvente, y la harina



con 47 % a partir del descascarillado parcial de esta última. Otro producto es la soja concentrada con un contenido en proteína entre 60 y 65 % que se obtiene mediante un proceso de extracción. En este proceso la proteína se extrae con agua y etanol, por lo que su contenido en oligosacáridos y otros factores antinutritivos se reduce. Con ello, aumenta el contenido proteico y mejora la digestibilidad de la proteína.

El contenido en proteína de la soja varía desde un 38 % en la semilla entera hasta el 90 % en el concentrado de proteína. La digestibilidad de la proteína y los aminoácidos varía mucho según la especie alimentada. Hay especies como el salmón que son muy sensibles por la soja por lo cuál su utilización es relativamente limitada.

Composición química (media % peso total).

Haba de soja tostada («FullFat soya»)					
Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas	Fibra	Almidón
9	36	20	5	5	0,4

Hipro soya					
Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas	Fibra	Almidón
12	47	2	6	5	0,5

Soja concentrada					
Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas	Fibra	Almidón
7	64	1	6	4	0

7.2.1.6. Maíz gluten

El maíz gluten es una harina amarilla que constituye un concentrado de proteína altamente digestible para todas las especies y una fuente importante de proteína. Su valor energético es alto para todas las especies, como consecuencia de la elevada digestibilidad de la mayor parte de sus componentes.

Se obtiene tras un fraccionamiento del grano de maíz por vía húmeda. En este proceso se separa en primer lugar la parte soluble y posteriormente se divide por centrifugación en almidón y gluten. Este último contiene la mayor parte de la proteína del endospermo del grano (zeína), junto con pequeñas cantidades de fibra y almidón, no purificadas



en el proceso. La proteína del gluten tiene una concentración aceptable de metionina y treonina, pero es muy deficiente en lisina y triptófano.

El maíz gluten es muy deficitario en casi todos los minerales esenciales y tiene además un contenido apreciable de xantofilas (entre 200 y 300 ppm), con una alta proporción de zeaxantina, por lo cuál el uso puede ser limitado en salmónidos de carne blanca porque la colorea amarilla o, también, a altos niveles para otras especies que pueden ver alteradas el color de su piel.

Composición química (media % peso total).

Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas	Fibra	Almidón
10	60	3	2	2	17

7.2.1.7. Productos de colza

La harina de colza es una buena fuente de proteína y económicamente muy rentable para sustituir la harina de pescado y complementar el uso de la soja.

Los principales productos de colza utilizados actualmente en alimentación animal se obtienen de las variedades *Brassica napus* y *campestris*. La concentración en proteína varía con el origen de la colza: 36-37 % (Canadá), 35 % (Europa) y 38 % (India, China).

La utilización de productos de colza en piensos para peces está limitada por su contenido en fibra (13 %), lignina y taninos (1,6-3,1 %). Los límites de incorporación podrían aumentarse usando harinas descascarilladas, con menor contenido en taninos, fibra bruta (8 %), lignina (3 %) y glucosinolatos y mayor contenido proteico (45 %).

La semilla entera de colza tiene un nivel muy elevado (40 %) de grasa rica en ácido oleico y linoleico. La proteína de la colza tiene una utilización digestiva alta y su perfil de aminoácidos esenciales se complementa bien con el de los granos de leguminosas. También es rica en S, Se, biotina, colina y niacina, aunque es deficitaria en Cu.

Composición química (media % peso total).

Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas	Fibra	Almidón
11	38	2	9	13	0



7.2.1.8. Harina de girasol

La harina de girasol es una materia prima muy rentable como fuente de proteína con un contenido muy bajo en factores antinutritivos. La principal limitación para el uso de girasol corresponde a su alto contenido en fibra (18 %) y en lignina. La proteína es deficitaria en lisina pero rica en aminoácidos azufrados y triptófano.

La composición química de los productos de girasol es muy variable en función del método de extracción utilizado y de las diferencias en la calidad dependiendo del origen de la semilla. En la mayoría de los casos la semilla se somete a un descascarillado previo y a una extracción con disolventes. Algunas extractoras no separan la cascarilla de la semilla obteniendo harina integral de girasol.

Para la harina suelen establecerse tres categorías de acuerdo con el contenido en proteína resultante: 28-30 % (harina integral), 32-34 % y 36-38 %.

Composición química (media % peso total).

Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas	Fibra	Almidón
10	35	2	7	18	2

7.2.1.9. Guisantes

El guisante es, aparte de una fuente de proteína interesante, una materia prima que aporta una cantidad importante de almidón muy digerible y se caracteriza por una alta proporción de amilopectina que mejora la gelatinización de un pienso extruido.

Las variedades de guisantes utilizadas en piensos compuestos corresponden a la subespecie *Pisum sativum*. Existen variedades de invierno y de primavera con una pequeña diferencia (2 %) en el contenido en almidón y proteína. Pero la principal diferencia nutritiva es el menor contenido en factores antinutritivos de las variedades de primavera. Su principal origen es Australia y Francia, aunque recientemente se ofrecen también guisantes de China y Canadá.

Al igual que otros granos de leguminosas, su proteína es deficitaria en aminoácidos azufrados y triptófano, pero muy rica en lisina. La di-



gestibilidad de la proteína y los aminoácidos es relativamente elevada (ligeramente inferior a la de la soja).

El guisante tiene un bajo nivel de grasa (1,5 %), siendo ésta altamente insaturada (49 % de linoleico y 11 % de linolénico) y, en general, tiene un contenido en minerales bajo. El contenido en proteína bruta varía en un rango comprendido entre el 17,9 y el 24,1 %, dependiendo en gran medida de la variedad utilizada. La fracción hidrocarbonada representa cerca de un 70 % del peso total incluyendo, además, un alto contenido en almidón.

Composición química (media % peso total).

Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas	Fibra	Almidón
12	21	2	3	6	41

7.2.1.10. Habas

Las habas (*Vicia faba* L.) tienen unas características muy parecidas a los guisantes referente a sus propiedades para aglomerar, pero con un nivel mas alto en proteína. Las habas utilizadas en alimentación piscícola proceden de variedades cultivadas en invierno y primavera. Las primeras son más productivas y más ricas en proteína y almidón (3 y 5 unidades porcentuales, respectivamente).

La fracción proteica de las habas (25 % de PB) es rica en lisina, pero deficitaria en aminoácidos azufrados y triptófano. Las habas tienen un bajo contenido en grasa (1,5 %) bastante insaturada (50 % de ácido linoleico).

Su contenido en minerales es generalmente bajo, especialmente en calcio, sodio, cloro y magnesio. El nivel de fósforo es aceptable, pero una elevada proporción (50 %) se encuentra en forma de ácido fítico, por lo que resulta poco utilizable.

Las habas tienen un mayor contenido en factores antinutritivos que los guisantes, por lo cuál sus niveles de utilización deben ser inferiores en piensos. El tratamiento por calor aumenta su valor energético al inactivar los factores antinutritivos termolábiles. También el decorticado permite eliminar su contenido en taninos además de elevar su contenido en proteína y almidón en 4 y 3 unidades porcentuales, respectivamente.

Composición química (media % peso total).

Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas	Fibra	Almidón
12	25	1	3	9	35

7.2.1.11. Aceites vegetales

Entre los aceites más utilizados se encuentran la soja, el girasol, la colza, la oliva y la palma.

El aceite de soja es la grasa de origen vegetal de mayor disponibilidad en el mercado mundial pero presenta el nivel más alto de ácido linoleico (53 %) que pueda limitar su uso en piensos para peces. El aceite de palma crudo puede ser económicamente el aceite más interesante. Tiene altos contenidos en ácidos grasos saturados y, por tanto, su valor energético es menor y limita mucho su uso en la alimentación para peces. Sin embargo, en el resto del mercado de la alimentación es el más utilizado.

El aceite de girasol contiene altos niveles de linoleico (62 %) y por tanto, su valor energético es similar e incluso superior al del aceite de soja.

Una buena alternativa para sustituir el aceite de pescado manteniendo los niveles de omega 6 (linoleico) suficientemente bajos, es el aceite de colza, muy rico en oleico (ácido graso monosaturado) y bajo en linoleico (20 %).

El aceite de oliva abunda en el mercado nacional y se caracteriza por su alto contenido en insaponificables. Su valor económico limita su uso en la alimentación animal.

Perfil Ac. Grasos (% Grasa)		Soja	Girasol	Colza	Palma	Oliva
Mirístico	C14:0	tr.	–	tr.	1,0	tr.
Palmitico	C16:0	10,1	6,1	5,0	39,6	10,0
Estearico	C18:0	4,5	4,0	2,0	4,3	3,5
Oleico	C18:1	22,4	22,5	57,5	42,2	79,0
Linoleico	C18:2	53,0	62,2	20,5	10,3	6,3
Linolénico	C18:3	7,8	<1,0	8,5	0,3	tr.

tr. = trazas.



7.3. ADITIVOS

Aditivos son ingredientes que se añaden a niveles de milli o micro gramos por kilo en los piensos para compensar nutrientes (minerales y vitaminas), preservación y estabilización del pienso (antioxidantes), mejorar la palatabilidad del pienso (aromas), cambiar el aspecto del producto final (pigmento) o por motivos de salud animal (medicamentos o alternativas).

En este capítulo trataremos los aditivos más utilizados en piensos para peces que son los minerales, las vitaminas, los antioxidantes y los pigmentos.

7.3.1. Minerales

El pez, a diferencia de los animales terrestres, puede absorber algunos minerales (elementos inorgánicos) no sólo de sus dietas sino también de su ambiente acuático. El calcio (Ca), magnesio (Mg), sodio (Na), potasio (K), hierro (Fe), zinc (Zn), cobre (Cu), y selenio (Se) son principalmente extraídos del agua para satisfacer la mayor parte de las exigencias alimenticias. Los fosfatos y los sulfatos, sin embargo, son obtenidos del alimento con más eficiencia.

Los minerales son elementos imprescindibles para los procesos vitales del pez. Sus funciones principales incluyen la formación de su estructura esquelética, transferencia de electrones, regulación de equilibrio ácida-alcalinidad y osmoregulación. Los minerales son también componentes importantes de hormonas y enzimas y además son activadores de enzimas.

7.3.2. Vitaminas

Las vitaminas son compuestos orgánicos que son esenciales en concentraciones de traza de una fuente externa (por lo general la dieta) para su crecimiento normal, reproducción, y salud. Las vitaminas son clasificadas como hidro- y liposolubles. Ocho vitaminas hidrosolubles son requeridas en cantidades relativamente pequeñas, y tienen principalmente funciones coenzimáticas, y son conocidas como el complejo vitamina B. Otras tres hidrosolubles, la colina, inositol, y vitamina C, son requeridas en cantidades más grandes y tienen otras funciones.



Las vitaminas A, D, E, y K son liposolubles que funcionan independientemente de las enzimas y, en algunos casos como la vitamina K, pueden tener la función de coenzima. En todos los animales vivos la ausencia o falta de vitaminas conduce a enfermedades de carencia específicas.

7.3.3. Pigmentos

Muchas plantas y animales contienen pigmentos naturales que pueden colorear la carne, la piel y los huevos del pez en amarillo, naranja o rojo. Uno de los grupos más importantes de pigmentos naturales en las plantas y el reino animal son los carotenoides. El pez no puede sintetizar estos pigmentos y por lo tanto deben estar presentes en la dieta.

En salmónidos, dos carotenoides, astaxantina (3,3'-dihidroxi-4,4'-diketo- β -caroteno) y cantaxantina (4,4'-diketo- β -caroteno) son responsables del color naranja o rojo, respectivamente, de la carne.

Astaxantina es el pigmento principal de los salmónidos salvajes, proveniente principalmente del zooplankton. Algunas plantas (e.g. en maíz, alfalfa) contienen también carotenoides que son luteína (3,3'-dihidroxi- α -caroteno) y zeaxantina (3 R,R'- β -caroteno-3,3'-diol). Luteína produce en salmónidos un color amarillo mientras que zeaxantina imparte un color amarillo anaranjado, colores no deseables en la carne de pescado destinado al consumo humano.

7.3.4. Antioxidantes

Los antioxidantes se usan generalmente en piensos para peces debido a su alto contenido en ácidos grasos altamente insaturados que se oxidan fácilmente. Los antioxidantes frenan la reacción de oxidación, pero a costa de destruirse ellos mismos. El resultado es que la utilización de antioxidantes retrasa la alteración oxidativa del alimento, pero no la evita de una forma definitiva.

La reacción de oxidación es una reacción en cadena, es decir, que una vez iniciada, continúa acelerándose hasta la oxidación total de las sustancias sensibles. Con la oxidación, aparecen olores y sabores a rancio, se altera el color y la textura.



La peroxidación de los lípidos o ranciedad afecta el valor nutritivo de los lípidos, de las vitaminas sensibles a oxidación, y otros componentes y además, los productos formados en la oxidación pueden llegar a ser nocivos para la salud.

Tocoferoles naturales (vitamina E) tienen una actividad antioxidante; sin embargo, la vitamina sintética E se suministra generalmente en la dieta bajo la forma de ésteres, que tienen poca actividad antioxidativa hasta que se hidroliza en el intestino a alcohol.

Sin embargo, a causa de la influencia positiva antioxidativa de la vitamina E en la calidad del producto final (pescado) y la correlación entre su nivel alimenticio y deposición en la carne, el contenido de α -tocoferol de la dieta debería ser mayor que las exigencias nutricionales (Gatta *et al.*, 2000).

Hoy en día se utilizan sobre todo antioxidantes sintetizados, de los cuales la etoxiquina es el más conocido y eficaz. Sin embargo, tiene una desventaja muy importante y es que se trata de un plaguicida que no está permitido como aditivo en los alimentos para consumo humano.

Otros antioxidantes sintéticos usados son BHT (Butil-hidroxi-tolueno), BHA (Butil-hidroxi-anisol) y galato de propilo. La concentración máxima de BHA y BHT permitido por el FDA («Food and Drug Administration») es el 0.02 por ciento de la grasa; para etoxiquina, son 150 mg./kg. del peso total. (<http://www.cfsan.fda.gov>).

7.4. FACTORES ANTINUTRITIVOS

La presencia de factores antinutritivos endógenos en las materias primas vegetales se considera el principal factor que limita su utilización en grandes proporciones en los piensos compuestos para peces. Si bien la toxicidad de cada uno de estos factores para los peces puede variar, una gran parte de ellos puede destruirse o desactivarse mediante tratamiento térmico (Tacon y Jackson, 1985). Sin embargo, sobre la mayoría de estos factores antinutritivos no existen estudios toxicológicos; en general, su concentración elevada en alimentos no tratados suele ocasionar anorexia, disminución del crecimiento y escasa eficiencia del pienso.



Los factores antinutritivos naturales más conocidos incluyen: Inhibidores de tripsina (proteasas), Ácido fítico, Fitoheماغلутininas, Gossipol, Ácido ciclopropenóico, Glucosinolatos y Saponinas.

Producto	Factor antinutricional ¹
Cereales	
Trigo (<i>Triticum vulgare</i>)	1,2,5,8, 9,11,18,
Maíz (<i>Zea mays</i>)	1,5,8,19
Legumbres	
Haba común (<i>Vicia faba</i>)	1,2,5,7,9
Altramuz blanco (<i>Lupinus albus</i>)	1,
Guisante (<i>Pisum sativum</i>)	1,2,4,5,6,12
Alfalfa (<i>Medicago sativa</i>)	1,6,8,12
Semillas oleaginosas	
Semilla de colza (<i>Brassica campestris napus</i>)	1,3,5,7
Soya (<i>Glycine max</i>)	1,3,5,6,8,11,12,14,16,17
Girasol (<i>Helianthus annuus</i>)	1,7,20
Semillas de algodón (<i>Gossypium spp.</i>)	5,8,10,12,21
Linaza (<i>Linum usitatissimum</i>)	4,8,13,15

1: Inhibidor de proteasa, 2: Fitoheماغلутininas, 3: Glucosinolatos, 4: Cianógenos, 5: Ácido fítico, 6: Saponinas, 7: Taninos, 8: Factores estrógenos, 9: Dihidroxiifenilalanina, 10: Gossipol, 11: Factor de flatulencia, 12: Factor antivitaminas E, 13: Factor antivitaminas A, 14: Factor antivitaminas A, 15: Factor antipiridoxina, 16: Factor antivitaminas D, 17: Factor antivitaminas B₁₂, 18: Inhibidor de amilasa, 19: Inhibidor de invertasa, 20: Inhibidor de arginasa, 21: Ácido ciclopropenóico.

(Fuentes: Kay, 1979; Liener, 1980).

7.4.1. Inhibidores de tripsina

Las sojas crudas contienen proteínas globulares cristalinas que actúan como inhibidores de tripsina (Mickelsen y Yang, 1966; Liener y Kakade, 1980) y, como consecuencia, disminuyen la digestibilidad de la proteína. También los cereales contienen los mismos compuestos para regular la movilización de proteínas, pero en concentraciones mucho más bajas. Como las proteínas sólo actúan como inhibidores a concentraciones altas, como en el caso de soja, su papel como factor antinutritivo en cereales es insignificante.

Estas proteínas, que forman complejos irreversibles con tripsina y en menores cantidades con quimotripsina y elastasa, pueden ser in-



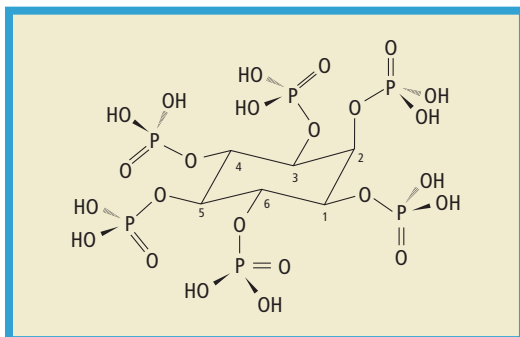
activadas por un procesamiento de calor. Sin embargo, la calefacción excesiva reduce la disponibilidad de ciertos aminoácidos, en particular la lisina. La temperatura, presión, humedad y tiempo de procesamiento son factores muy conocidos y estudiados hoy en día.

La investigación ha mostrado que la sensibilidad a inhibidores de tripsina varía según la especie, siendo los salmónidos más sensibles (Sandholm *et al.*, 1976; Smith, 1977) que siluro *Ictalurus punctatus* (Robinson *et al.*, 1985; Wilson y Poe, 1985) o carpa (Dabrowski y Kozak, 1979). La diferencia de la naturaleza y el sistema digestivo de la especie explica la sensibilidad y tolerancia a los inhibidores procedentes de materias vegetales. Una especie herbívora tiene lógicamente mas resistencia a dichos factores.

7.4.2. Acido fítico

Aproximadamente el 70 por ciento del fósforo en las materias primas de origen vegetal está en forma de ácido fítico, formado de inositol esterificado con 6 moléculas de dihidrogenofosfatos (ver figura).

Para vertebrados su disponibilidad es muy baja, hasta insignificante, porque no poseen la enzima necesaria, llamada fitasa, para hidrolizar los enlaces con los ésteres, que las bacterias sí poseen (Ketola, 1985). Los ácidos fíticos actúan como quelatores fuertes y forman complejos con la proteína de tal forma que pueden reducir la disponibilidad de la proteína (Spinelli *et al.*, 1983) y de los minerales, como cinc, manganeso, cobre, molibdeno, calcio, magnesio e hierro (Rackis, 1974; Smith, 1977). Por esta razón se puede hablar de un factor antinutritivo.



Estructura del filato o ácido *myo*-inositol 1,2,3,4,5,6-hexakis (dihidrogenofosfato).



La reducción de la disponibilidad de minerales o en parte de la proteína se puede solucionar suplementando aquellos compuestos o añadiendo la enzima fitasa que permite utilizar menos suplementos y bajar el impacto ambiental deponiendo menos fósforo en el agua.

7.4.3. Fitohemaglutininas

Los leguminosos, y sobre todo los guisantes (*Pisum sativum*) contienen fitohemaglutininas que son proteínas o mejor dicho lectinas, que pueden causar la aglutinación in vitro de los glóbulos rojos de diferentes animales (Jaffe, 1980). La propiedad específica de las hemaglutininas es su afinidad por los polisacáridos, incluyendo los de las membranas celulares. Las lectinas tienen un efecto antinutricional fijándose sobre los enterocitos y de esta manera inhibe sus funciones adsorbentes.

Las fitohemaglutininas se pueden desactivar mediante la cocción. Sin embargo existen fitohemaglutininas resistentes al calor.

7.4.4. Gosipol

El uso de harina de las semillas de algodón está bastante limitada en piensos para peces debido a su contenido en gosipol. Gosipol es un polifenol que se encuentra en las glándulas de pigmentación del algodón y puede alcanzar hasta un 2.4 por ciento del peso de la semilla en ciertas variedades (Berardi y Goldblatt, 1980).

La cantidad tolerada de gosipol depende de la especie, pero en general se puede decir que en concentraciones excesivas deprimen el crecimiento disminuyendo la digestibilidad de la proteína y causan daño a varios órganos como el riñón, el hígado y el bazo.

Gosipol también ha sido identificado como un cancerígeno como la aflatoxina B en la trucha de arco iris (Sinnhuber *et al.*, 1968).

Un procesamiento con calor húmedo consigue formar complejos que inactivan el gosipol en un 90 %. Se están obteniendo variedades muy productivas de algodón sin glándulas, y por eso sin gosipol, que se podrían utilizar en acuicultura.

7.4.5. Ácido ciclopropenóico

Aparte de gosipol, las semillas de algodón también son la fuente principal de los ácidos grasos con anillos de ciclopropeno o «CFAs»



(ácido estercúlico y ácido malválico). Los CFAs están presentes en todas las variedades de la semilla del algodón y no se elimina completamente por el proceso de extracción del aceite (Mickelsen y Yang, 1966). En los aceites comerciales estos ácidos grasos se eliminan mediante refinado o hidrogenación.

Lo CFAs causan lesiones, aumentan la deposición de glicógeno, y aumentan la concentración de ácidos grasos saturados en el hígado de la trucha *Arco Iris* debido la inhibición de las desaturasas de los ácidos grasos (Struthers *et al.*, 1975a, b).

7.4.6. Glucosinolatos

Los glucosinolatos se encuentran en las oleaginosas como la colza y la soja. Los compuestos en sí no causan ningún daño, pero a través de una hidrólisis enzimática estos compuestos liberan tiocianato, isotiocianato, goitrina y nitritos. Todos estos compuestos funcionan como agentes potentes de antitiroideos. El tiocianato inhibe la absorción de yodo mientras el isotiocianato y nitrito probablemente son precursores de tiocianato. Los efectos de estos compuestos pueden ser mejorados suplementando yodo en la dieta.

El tratamiento de calor inactiva la enzima mirosinasa, que hidroliza los glucosinolatos a sus subproductos tóxicos, pero el calor no elimina los glucosinolatos ni iguala el crecimiento.

7.4.7. Saponinas

Las saponinas son glucósidos amargos que pueden causar hemólisis en los eritrocitos. Son extremadamente tóxicos para animales de sangre fría (anfibios y peces) debido a su propiedad de disminuir la tensión superficial. Poseen diferentes tipos de estructura química, pero todas ellas tienen la propiedad de producir espuma. Se pueden extraer con agua o etanol. La hidrólisis da el aglicón sapogenina y diferentes azúcares (hexosas, pentosas, etc.). En sí, estas sustancias tienen tres propiedades distintivas que son: sabor amargo; potentes surfactantes y producen hemólisis sobre los eritrocitos (Birk and Peri, 1980).

Se encuentran ampliamente en materias primas vegetales como la soja, alfalfa y guisantes.



7.5. SOSTENIBILIDAD

La sostenibilidad es proporcionar los mejores resultados para la humanidad y la naturaleza tanto ahora como en el futuro indefinido. Está relacionada con la continuidad de todos los aspectos económicos, sociales, institucionales y ambientales de la sociedad humana, así como con el ambiente no humano. Es un medio para configurar la civilización y la actividad humana de modo que la sociedad, sus miembros y sus economías sean capaces de encontrar sus necesidades y expresar su mayor potencial en el presente, conservando la biodiversidad y los ecosistemas naturales. Se debe planear e interpretar para mantener estos ideales a un muy largo plazo. La sostenibilidad afecta a cada nivel de la organización.

Las potencialidades de la acuicultura como actividad económica rentable y sobre todo sostenible, se encuentran en optimizar el uso de materias primas y buscar otras nuevas, implantar una acuicultura más integrada con el entorno, desarrollar nuevos cultivos o diversificar en la producción.

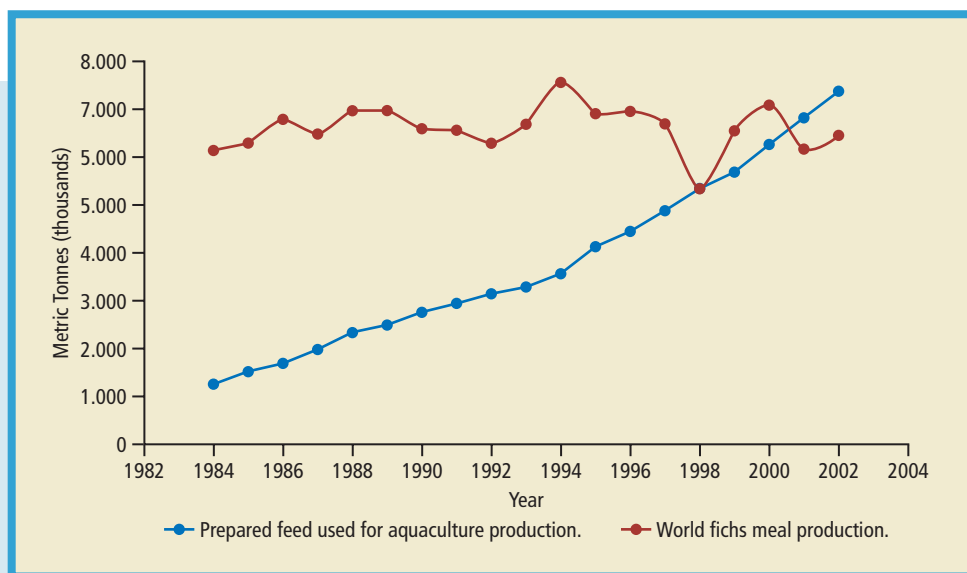
A continuación, se profundiza en el análisis de las dos materias primas empleadas en la alimentación acuícola, las cuales son las más críticas en su sostenibilidad a corto y largo plazo: la harina y el aceite de pescado.

Los datos de la FAO («Food and Drug Administration») de los últimos 20 años indican que la producción anual de harina y aceite de pescado en todo el mundo ha permanecido bastante estable durante los últimos 20 años (ver figura). Se han empleado entre 6.2 y 7.4 millones de toneladas y entre 1.0 y 1.7 millones de toneladas para harina y aceite de pescado respectivamente, excepto durante los años de «El Niño», 1992 y 1998.

A estas cifras se deben añadir 4 millones de toneladas al año obtenidas a partir de subproductos de pescado utilizado para el consumo humano y descartes.

La harina de pescado no sólo se utiliza en acuicultura, sino también para el cultivo de animales terrestres.

Debido al aumento de la demanda para acuicultura, se ha centrado el uso en el cultivo de animales terrestres sólo en reproductores y dietas



(Fuente: Shepherd *et al.*, 2005).

de destete. El aceite de pescado, antes usado en gran parte para productos como las margarinas y repostería, se usa ahora principalmente para acuicultura. Pequeñas cantidades van a productos nutraceuticos como cápsulas de omega-3 para el consumo humano.

Durante el período del crecimiento rápido de acuicultura no hubo tendencia ascendente de la producción de harina de pescado. Además el cambio de la disminución del uso de la harina de pescado para animales terrestres y el aumento para la acuicultura podría ser visto como factor positivo para la sostenibilidad porque los peces son mas eficientes (conversión más baja). Tacon (2005) ha estimado que 2.94 millones de toneladas de harina de pescado y 0.80 millones de toneladas de aceite fueron usados para acuicultura en 2003 (es decir el 53 % y el 87 % de la producción total respectivamente). La demanda para salmónidos para estos productos es muy alta, sobre todo para aceite de pescado. El uso total de 535 toneladas, es más de la mitad de la producción global. Sin embargo, el uso en el futuro probablemente caerá debido a los importantes esfuerzos de sustituir aceite de pescado por aceite vegetal. Tacon (2004) estima que para 2010 pasará de 25-30 %



a sólo 8 % en piensos para salmón. También ha demostrado que la producción de 1 tonelada de salmón sólo se necesitará 1.3 tonelada de pescado salvaje. En 2003 se necesitaban entre 3 y 4 toneladas.

Pike (2005) ha ido un paso más adelante todavía y concluyó que se aumentará la eficacia de alimentación y substitución por otras materias primas, resultando en una acuicultura que proveerá más pescado que el que consume.

Por ello, es imprescindible en el futuro una sustitución gradual de productos de pescado por otros productos sostenibles para que la acuicultura sea eco-eficaz y sostenible.

REFERENCIAS

- BELL, G., B.TORSTENSEN and J. SARGENT, 2005 Replacement of marine fish oils with vegetable oils in feeds for farmed salmon. *Lipid Technology* 17: 7-11
- BELL, J.G., R.J. TOCHER, D.R. HENDERSON and J.R. SARGENT, 2004 Replacement of dietary fish oil with increasing levels of linseed oil: Tailoring flesh fatty acid compositions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) using a fish oil finishing diet. *Lipids* 39: 223-232
- BERARDI, L. C. and L. A. GOLDBLATT, 1980 Gossypol. Pp. 183-237 in *Toxic Constituents of Plant Foodstuffs*, 2d ed., I. E. Liener, ed. New York: Academic Press.
- BIRK, Y. and I. PERI, 1980 Saponins. In: *Toxic constituents of foodstuffs*. Liener, I. (Ed.) Academic Press, Inc. 2th edition, pp. 161-182, N.Y.
- DABROWSKI, K. and B. KOZAK, 1979 The use of fishmeal and soybean meal as a protein source in the diet of grass carp fry. *Aquaculture* 18: 107-114.
- EINEN O, B. WAAGEN, M.S. TOMASEN, 1998 Starvation prior to slaughter in Atlantic salmon (*Salmo salar*) I. Effects on weight loss, body shape, slaughter and fillet yield, proximate and fatty acid composition. *Aquaculture* 166: 85-104
- GATTA, PIRINI, TESTI, VIGNOLA, MONETTI, 2000 The influence of different levels of dietary vitamin E on sea bass *Dicentrarchus labrax* flesh quality. *Aquaculture Nutrition* 6 (1): 47-52.
- GREEN, S., WISEMAN, J. and COLE D J A, 1983 Fish silage in pig diets. *Pig News Info.* 3:356.
- GRIGORAKIS, K. and M.N. ALEXIS 2005 Effect of fasting on the meat quality and fat deposition of comercial-size farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) fed different dietary regimes. *Aquaculture Nutrition* 11:341-344.



- IFFO, 2004. Fishmeal & Fish Oil Statistical Yearbook. See also Digest of Statistics 1998, 1991 and 1985.
- IZQUIERDO, M.S., A.OBACH, L., ARANTZAMENDI, D. MONTERO, L. ROBAINA and G. ROSEN-LUND, 2003 Dietary lipid sources for seabream and seabass: growth performance, tissue composition and flesh quality Aqua. Nutr., 9: 397-407
- JAFFE, W. G., 1980 Toxic constituents of plant foodstuffs. Pp. 73-102 in Toxic Constituents of Plant Foodstuffs, I. E. Liener, ed. New York: Academic Press.
- KAY, D.E., 1979 Crop and product digest, No. 3. *Food legumes*. Londres, Tropical Products Institute, 435 pp.
- KETOLA, H. G., 1985 Mineral nutrition: Effects of phosphorus in trout and salmon feeds on water pollution. Pp. 465-473 in Nutrition and Feeding of Fish, C. B. COWEY, A. M. MACKIE, and J. G. BELL, eds. New York: Academic Press.
- LIENER, I. E. and M. L. KAKADE, 1980 Protease inhibitors. Pp. 7-71 in Toxic Constituents of Plant Foodstuffs, 2d ed., I. E. Liener, ed. New York: Academic Press.
- LIENER, I.E., 1980 *Toxic constituents of plant foodstuffs*. Academic Press, Londres y Nueva York, 502 pp.
- MICKELSEN, O. and M. G. YANG, 1966 Naturally-occurring toxicants in foods. FASEB 25: 104-123.
- MOURENTE, G., J.E. GOOD and J.G. BELL, 2005 Partial substitution of fish oil with rapeseed, linseed and olive oils in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) effects on flesh fatty acid composition, plasma prostaglandins E₂; and F_{2α}, immune function and effectiveness of a fish oil finishing diet. Aquacul. Nutr. 11: 25-40
- PIKE, I.H., 2005. Eco-efficiency in aquaculture: global catch of wild fish used in aquaculture. International Aquafeed 8: (issue 1) 38-40
- RACKIS, J. J., 1974 Biological and physiological factors in soybeans. J. Am. Oil Chem. Soc. 51: 162A-174A.
- RASMUSSEN, R.S., T.H.OSTENFELD, B. RONSHOLDT and E. MC LEAN, 2000 Manipulation of end-product quality of rainbow trout with finishing diets. Aquaculture Nutrition 6: 17-23
- ROBINSON, E. H., J. K. MILLER, U. M. VERGARA and G. A. DUCHARME, 1985 Evaluation of dry extrusion-cooked protein mixes as replacements for soybean meal and fishmeal in catfish diets. Prog. Fish-Cult. 47: 102-109.
- SANDHOLM, M., R. R. SMITH, J. C. H. SHIH and M. L. SCOTT, 1976 Determination of antitrypsin activity on agar plates: Relationship between antitrypsin and biological value of soybean for trout. J. Nutr. 106: 761-766.
- SHEPHERD, C.J., I.H. PIKE, S.M. BARLOW, 2005. Sustainable feed resources of marine origin. European Aquaculture Society Special publication no 35. June 2005, pp 59-66.



- SINNHUBER, R. O., J. H. WALES, J. L. AYRES, R. H. ENGBRECHT and D. L. AMEND, 1968 Dietary factors and hepatoma in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). 1. Aflatoxins in vegetable protein feedstuffs. J. Natl. Cancer Inst. 41: 711-718.
- SMITH, R. R., 1977 Recent research involving full-fat soybean meal in salmonid diets. Salmonid 1: 8,18.
- SPINNELLI, J., C. R. HOULE and J. C. WEKELL, 1983 The effect of phytates on the growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed purified diets containing various quantities of calcium and magnesium. Aquaculture 30: 71-83.
- STRUTHERS, B. J., D. J. LEE and R. O. SINNHUBER, 1975a Altered lipid metabolism in livers of rainbow trout fed cyclopropenoid fatty acids. Exp. Mol. Pathol. 23: 181-187.
- STRUTHERS, B. J., J. H. WALES, D. J. LEE and R. O. SINNHUBER, 1975b Liver composition and histology of rainbow trout fed cyclopropenoid fatty acids. Exp. Mol. Pathol. 23: 164-170.
- TACON, A.G.J. and A.J. JACKSON, 1985 Utilization of conventional and unconventional protein sources in practical fish feeds. In Nutrition and feeding in fish, edited by C.B. COWEY, A.M. MACKIE and J.G. BELL, Academic Press, London & New York, pp. 119-146.
- TACON, A.G.J., 2004 Use of fish meal and fish oil in aquaculture; a global perspective. Aquatic Resources, Culture and Development 1 (1), 1-12
- TACON, A.G.J., 2005 Salmon aquaculture dialogue, Brussels 29th April. WWF. In Press.
- WILSON, R. P. and W. E. POE, 1985 Effects of feeding soybean meal with varying trypsin inhibitor activities on growth of fingerling channel catfish. Aquaculture 46: 19-25.
- WINDSOR, M. and S. BARLOW, 1982 Introduction fo fishery by products. Fishing News Book Ltda. p 84-100.

8

SEGURIDAD ALIMENTARIA EN LA ALIMENTACIÓN ANIMAL, ACUICULTURA



SEGURIDAD ALIMENTARIA EN LA ALIMENTACIÓN ANIMAL, ACUICULTURA

Raúl Andrés Grijalvo

Licenciado en Biología y en Bioquímica
Skretting

8.1. INTRODUCCIÓN

«La seguridad alimentaria existe cuando todas las personas tienen en todo momento acceso material y económico a los suficientes alimentos inocuos y nutritivos para satisfacer sus necesidades alimenticias y las preferencias alimentarias, a fin de llevar una vida activa y sana.»(FAO).

Esta definición y su significado se trataron en la cumbre mundial sobre la alimentación de Roma (1996), en la que se redactó la «Declaración de Roma sobre la seguridad alimentaria mundial». La importancia de esta declaración a efectos de seguridad alimentaria en alimentación animal, radica en el compromiso segundo: «aplicaremos políticas que tengan por objeto erradicar la pobreza y la desigualdad y mejorar el acceso físico y económico de todos en todo momento a alimentos suficientes, nutricionalmente adecuados e inocuos, y su utilización efectiva.»

En este capítulo vamos a tratar únicamente el compromiso de inocuidad adquirido por los representantes de 186 países firmantes. La inocuidad de un alimento, contempla la ausencia de daño a su consumidor. Este concepto también debe tener en cuenta la perspectiva temporal, algo que será patente en el breve desglose sobre sustancias indeseables que realizaremos en este capítulo, puesto que la inocuidad debe asegurar que el consumo regular de un alimento en el medio y



largo plazo tampoco provocará daño, o en su caso el riesgo de provocarlo sea lo suficientemente bajo. Este es el concepto clave, máxime cuando la mayoría de sustancias indeseables debido a sus características químicas son bioacumulables y se produce una potenciación de sus efectos en la exposición continuada al consumidor.

En el transcurso del capítulo, vamos a realizar un breve recorrido por las principales sustancias indeseables catalogadas como tal en la legislación sobre alimentación animal española y europea.

Por cuestiones prácticas no se han tratado algunas sustancias que presentan bajo riesgo en acuicultura, como el grupo de impurezas botánicas más propio de forrajes. Los principales grupos tratados en este capítulo son:

- Compuestos Orgánicos.
- Iones y Elementos.
- Micotoxinas.

El desglose de cada sustancia tiene como objeto conocer la características fisicoquímicas del compuesto, los riesgos y efectos que tiene sobre la salud humana y animal, y los requisitos legales que le aplican.

8.2. COMPUESTOS ORGÁNICOS

Este es un amplio grupo de sustancias químicas carbonadas, generalmente antropogénicas y que su presencia en el medioambiente deriva de un uso industrial directo (en el cual la sustancia tenía un uso concreto, como el caso de PCBs) ó indirecto (derivado de otros procesos, como combustiones en el caso de Dioxinas).

Entre las características más importantes de este tipo de sustancias están su alta persistencia y dispersión ambiental. Tienen baja solubilidad en agua, lo que favorece su absorción y acumulación en tejidos grasos y derivado de este hecho poseen una alta tasa de bioacumulación en la cadena trófica.

8.2.1. Dioxinas

Las Dioxinas, también denominadas Policlorodibenzodioxinas (PCDD) son un grupo de 75 compuestos. La más estudiada y más tóxica es la 2, 3, 7, 8 - tetracloro-dibenzo-pdioxina, conocida comúnmente como 2,3,7,8-TCDD: N° CAS 1746-01-6.

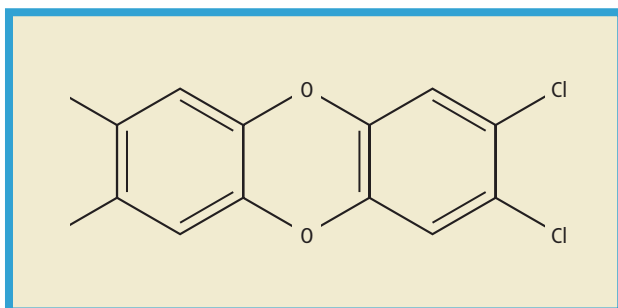


FIGURA 1.
Estructura tipo de una
Policlorodibenzo-p-dioxina
(PCDD).

La característica química que las diferencia de otros compuestos son dos anillos aromáticos unidos por dos átomos de oxígeno, con distintos grados de sustitución por átomos de cloro. El grado de cloración de los anillos y de la posición de estos átomos de cloro es lo que confiere la toxicidad a cada molécula.

Son subproductos de otros procesos industriales, ya que solos no tienen ninguna aplicación, y son formados a partir de cloro orgánico o inorgánico mediante procesos térmicos de entre 300 y 800 °C con presencia de oxígeno. Estas condiciones se dan en procesos de combustión, procesos químicos e industriales (como blanqueo de papel o fabricación de PVC).

La principal fuente de emisión atmosférica es la incineración de residuos. Esto se debe a la presencia de productos clorados en dichos residuos (entre otros: PVC, plaguicidas, disolventes). Algunos procesos de fabricación generan dioxinas, como el caso de la 2,3,7,8, tetraclorodebenzodioxina, que se produce como subproducto durante la síntesis del ácido 2,4,5-Triclorofenoxiacético (usado en el sector eléctrico, como líquido hidráulico).

Son integrantes del grupo denominado POP's (Persistent Organic Pollutant) debido a un largo proceso de degradación, ya que son muy estables, requiriendo temperaturas superiores a los 1.000 °C para descomponerse completamente. Otros integrantes de este grupo son los PCB (Policlorobifenilos) y PCDF (Policlorodibenzofuranos). Los POP son tan «parecidos» desde el punto de vista contaminante, que los PCB's son utilizados como indicadores de la presencia de dioxinas en alimentos (Decisión 1999/449/CE), y los PCDF se legislan junto con la suma

de PCDD. (Directiva 2001/102/CE del Consejo de 27 de noviembre de 2001).

Debido a que son prácticamente insolubles en agua, las dioxinas se adsorben rápidamente a las partículas en suspensión. La disponibilidad biológica es escasa, pero ejerce efectos altamente tóxicos sobre los organismos acuáticos.

Las dioxinas se distribuyen por todo el cuerpo con mayor proporción de depósito en hígado y tejido adiposo, seguido de piel y músculo. La eliminación se produce a nivel hepático se convierten en metabolitos polares que se eliminan vía biliar. También se ha descrito que este tipo de sustancias cloradas, se secretan a la luz intestinal y se eliminan vía fecal sin ninguna modificación. Los principales efectos que se han descrito son: inmunotoxicidad, neurotoxicidad, carcinogenicidad y toxicidad hepática, dérmica y gastrointestinal.

La exposición habitual, en el 95 % del total, es alimentaria, sobre todo en alimentos de origen animal, debido a su liposolubilidad y por tanto capacidad bioacumulativa en la cadena trófica.

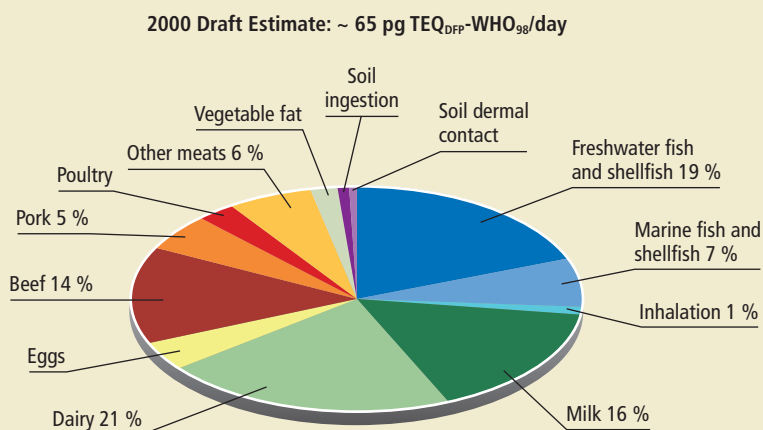


FIGURA 2.

Desglose de la exposición a PCDD / PCDF / DL-PCBs de un adulto medio en EEUU. Fuente U.S. EPA, Dioxin reassessment: the current state of scientific understanding. William H. Farland, Ph.D., 2004.



Una exposición continuada, provoca una serie de efectos crónicos como son:

Cloracné, inmunosupresión, incremento en la prevalencia de niveles elevados de hormona luteinizante y disminución de niveles de testosterona. La IARC ha catalogado a las dioxinas dentro del Grupo-1 (carcinógeno en humanos). Hay evidencia limitada y sugerente de su potencial de incrementar el riesgo de desarrollo de cáncer de pulmón, traquea, laringe, próstata, mieloma, espina bífida y porfiria.

El tiempo de vida media de las dioxinas en el suelo asciende a más de 10 años (ROTARD, 1987) y en el cuerpo humano es de hasta 6 años (BECK *et al.*, 1987). Existe el riesgo de inhalación aunque la evaporación a 20 °C es despreciable, pero se alcanza una concentración nociva de partículas en el aire cuando se dispersa.

La Agencia de Protección Ambiental (EPA) ha establecido un límite de 0,03 nanogramos de dioxina 2,3,7,8- TCDD por litro de agua potable. Ingesta semanal tolerable (IST) (Dioxinas y PCB similares a Diox): 14 pg de equivalente tóxico (EQT-OMS) por kg de peso corporal, Comité Científico de la Alimentación Humana (CCAH), 30 de mayo de 2001. La Administración de Drogas y Alimentos de EE. UU. (FDA, por sus siglas en inglés) recomienda no consumir pescados y mariscos con concentraciones de dioxina superiores a 50 partes por trillón (50 ppt).

Estudios realizados en cultivo de salmón, han determinado que los niveles actuales de dioxinas en esta especie acuícola, están por debajo del 14 % de los límites vigentes en la legislación europea (Gordon, 2004), hecho que sin duda es mejorable por la creciente incorporación de materias primas vegetales que sustituyen a las de origen marino, principal fuente de incorporación de contaminantes orgánicos persistentes a la alimentación acuícola.

En lo que respecta a la alimentación animal, mediante el Real Decreto 465/2003, de 25 de Abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal, se han establecido una serie de niveles máximos permitidos en diferentes matrices, aquellas que tienen relación con la alimentación acuícola son:



CUADRO 1.

Niveles máximos de Dioxina (suma de policlorodibenzoparadioxinas (PCDD) y policlorodibenzofuranos [PCDF] expresada en equivalentes tóxicos de la Organización Mundial de la Salud (EQT-OMS), utilizando los factores de equivalencia de tóxica de la misma organización (FET-OMS, 1997).

PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL	CONTENIDO MÁXIMO (PPM) referido a un contenido de 12 % humedad
Materias primas para la alimentación animal de origen vegetal, excepto los aceites vegetales y sus subproductos.	0,75 ng EQT PCDD/F OMS/kg
Aceites vegetales y sus subproductos.	0,75 ng EQT PCDD/F OMS/kg
Aceite de pescado.	6,0 ng EQT PCDD/F OMS/kg
Harina de pescado y otros subproductos hasta un 20 % de grasa	1,25 ng EQT PCDD/F OMS/kg
Premezclas.	1,0 ng EQT PCDD/F OMS/kg
Piensos para peces.	2,25 ng EQT PCDD/F OMS/k

CUADRO 2.

Niveles máximos de Suma de dioxinas y de PCB similares a las dioxinas [suma de policlorodibenzoparadioxinas (PCDD), policlorodibenzofuranos (PCDF) y bifenilos policlorados (PCB)] expresada en equivalentes tóxicos de la Organización Mundial de la Salud (EQTOMS), utilizando los factores de equivalencia de toxicidad de la misma organización (FET-OMS, 1997).

PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL	CONTENIDO MÁXIMO (PPM) referido a un contenido de 12 % humedad
Materias primas para la alimentación animal de origen vegetal, excepto los aceites vegetales y sus subproductos.	1,25 ng EQT PCDD/F OMS/kg
Aceites vegetales y sus subproductos.	1,5 ng EQT PCDD/F OMS/kg
Aceite de pescado.	24,0 ng EQT PCDD/F OMS/kg
Harina de pescado y otros subproductos hasta un 20 % de grasa	4,5 ng EQT PCDD/F OMS/kg
Premezclas.	1,5 ng EQT PCDD/F OMS/kg
Piensos para peces.	7 ng EQT PCDD/F OMS/kg

Los límites se han fijado sobre la base de factores de equivalencia tóxica establecido por la Organización Mundial de la Salud (OMS), de forma que cada sustancia posee una toxicidad determinada y que debe ser utilizada en los cálculos para obtener un valor final en función de las concentraciones detectadas de cada congénere. Este valor final se expresa en Equivalente Tóxicos OMS (ng EQT OMS/ kg) y es el utilizado por la legislación europea para evaluar los contenidos máximos permitidos.



8.2.2. Furanos

Los Policlorodibenzofuranos (PCDF) es un grupo formado por 135 congéneres que contienen entre uno y ocho átomos de cloro unidos a su precursor dibenzofurano.

Los congéneres más nocivos son aquellos que poseen los átomos de cloro en las posiciones 2,3,7,8 del dibenzofurano.

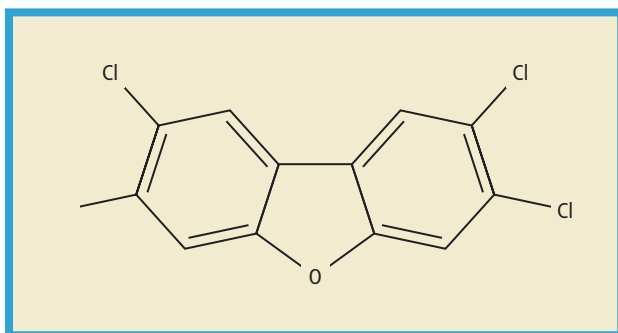


FIGURA 3.
Estructura tipo de un
Policlorodibenzofurano (PCDF).

Al igual que las dioxinas, son productos no fabricados industrialmente, ya que no tienen ningún uso conocido y suelen encontrarse asociados a las mismas. Se producen en los incendios o averías condensadores, transformadores y otros equipos eléctricos (por ejemplo, dispositivos de luz fluorescente) que contienen bifenilos policlorados (PCB) y que liberan altos niveles de Policlorodibenzofuranos formados por la degradación térmica. También son producidos como compuestos indeseables durante la producción de sustancias químicas para el tratamiento de la madera, algunos metales y productos de papel. Otra forma de generar PCDF es la combustión de residuos en incineradoras, los gases de combustión de gasolina con plomo, y en menor medida de la combustión del carbón, la madera o el aceite utilizado para la calefacción del hogar y la generación de electricidad.

Los PCDF están presentes en el aire principalmente como partículas sólidas y en mucho menor grado como vapores. Ciertas cantidades son destruidas en la fase de evaporación al reaccionar con radicales hidroxilos que están presentes en forma natural en la atmósfera.

Los dibenzofuranos policlorados pueden permanecer en el aire por un promedio superior a 10 días dependiendo del compuesto presente. Una vez en el aire, los dibenzofuranos policlorados pueden ser transportados a largas distancias.

No obstante, se estima que más del 90 % de la ingestión total diaria de PCDF en la población adulta en general se produce por el consumo de alimentos.

En el ámbito de la alimentación animal, su control esta ligado a la presencia de dioxinas, junto con las cuales forma un tandem legislativo, como hemos tratado en la parte de dioxinas existen valores máximos de presencia en materias primas y piensos conjunta en el Real Decreto 465/2003, de 25 de Abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

8.2.3. PCB's

Los PCB's (Policlorobifenilos) también pertenecen al grupo de los POP's (Persistent Organic Pollutant) al igual de dioxinas y furanos. Son líquidos aceitosos o sólidos de apariencia que varía de incoloros a amarillo claro. Algunos son volátiles y pueden existir en forma de vapor en el aire. No tienen olor o sabor conocidos y son liberados al medioambiente en forma de mezclas que contienen una variedad de componentes individuales de bifenilos policlorados. Siete tipos de mezclas de PCBs fueron producidas comercialmente a partir de los 209 congéneres conocidos, que oscilan en su composición en virtud al número de átomos de cloro (entre 1 y 10) y la posición que ocupan entre los dos anillos fenil.

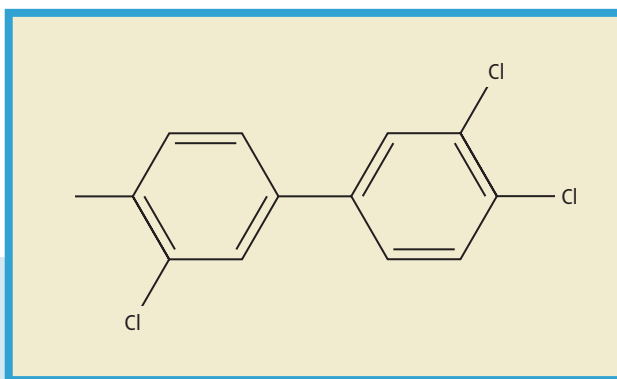


FIGURA 4.
Estructura tipo de un
Policlorobifenilo (PCB).



Son unos compuestos fabricados por el hombre, debido a que no se encienden fácilmente y constituyen buenos materiales aislantes, fueron usados extensamente como refrigerantes y lubricantes en transformadores, condensadores y en otros artículos eléctricos.

La producción de BPCs cesó en EEUU en agosto del año 1977 (fuente EPA) a raíz de evidencia de que se acumulan en el ambiente y que pueden causar efectos perjudiciales.

Aún hoy podemos encontrar PCB's en algunos tubos fluorescentes antiguos, dispositivos o artículos eléctricos que contienen condensadores antiguos, aceite de microscopio y aceite hidráulico antiguos.

Durante su manipulación en el pasado, los PCB's entraron en contacto con agua, aire y suelo.

Actualmente también existe una pequeña fuente de generación, derivada de la incineración de determinados residuos.

El problema derivado de la capacidad de evaporación de algunos PCB's reside en el transporte atmosférico a largas distancias, lo que ha resultado en una dispersión global (los de menor peso molecular alcanzan distancias más grandes). Estos compuestos vuelven a la superficie terrestre en forma de lluvia que inevitablemente acaban en los lechos marinos.

Los PCB's son biocumulables debido a su capacidad lipofílica, encontrándose las mayores concentraciones en peces y especialmente en mamíferos marinos como focas y ballenas (EPA), habiéndose detectado niveles hasta 1.000 veces las detectadas en el agua. En el hombre, los PCB's se acumulan en grasa y en el hígado, se ha observado su presencia en la grasa de la leche materna. Los síntomas de su exposición son acné y salpullidos, irritación de la nariz y los pulmones, malestar gastrointestinal, alteraciones de la sangre y el hígado, depresión y fatiga. Tanto la EPA como la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) han determinado que son sustancias carcinogénicas en seres humanos.

Respecto a la alimentación animal, hasta la fecha solo existe una regulación legislativa europea entorno a los PCB similares a dioxinas (Dioxin Like PCB's, DL-PCB's). Este es un grupo de PCB's formado por 12 congéneres con una toxicidad mayor que el resto y con efectos similares a los de las dioxinas, por lo que se utilizan como indicadores del total de 209 congéneres.



Estos límites máximos están expresados en el Real Decreto 465/2003, de 25 de Abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal, junto con las suma de PCDD y PCDF, tal y como ha quedado reflejado en el apartado dedicado a las dioxinas.

8.2.4. «Retardantes de llama bromados» (Brominated flame retardants, BFR's)

Los «retardantes de llama bromados» traducción libre de Brominated Flame Retardants (BFRs) forman parte del un extenso grupo de compuestos retardantes de la combustión y del que son integrantes diversos compuestos bromados, clorados, fosforados, nitrogenados (como las melaminas, de reciente actualidad en el momento de la redacción de este capítulo, por haber sido detectadas en exceso en algunas materias primas provenientes de China y a las que se añadió intencionadamente con el objetivo de aumentar el contenido proteico «aparente» de la materia prima, dado que su naturaleza nitrogenada interfiere en las analíticas convencionales de análisis de proteína bruta. La consecuencia de este fraude y la causa de que haya salido a la luz pública, ha sido gran número de muertes en perros y gatos de EEUU tras la ingesta de piensos para mascotas que contenían los lotes de materias primas adulterados) e inorgánicos.

Son todas sustancias antropogénicas, con el objeto como su propio nombre indica de aumentar la resistencia al fuego y en cualquier caso retrasar la combustión. Los compuestos bromados son los utilizados debido a mayor eficacia y reducido coste.

Dentro del grupo de BFRs existen varios tipos distintos de sustancias (obviamente todas bromadas) en que destacan por su uso: Difeniléteres (PBDEs de sus siglas en inglés), Naftalenos, Bifenilos (PBBs de sus siglas en inglés) y Polímeros (epoxi, poliestirenos, policarbonatos, etc.)

Principalmente son utilizados en aparatos eléctricos, móviles, ordenadores, muebles, en sistemas pasivos de prevención de incendios, etc. Pese a que su presencia reduce en cierta forma la liberación de infinidad de contaminantes derivados de la combustión de plásticos y otros materiales al retardarla o evitarla (La UE calcula que han reducido un 20 % el número total de incendios en los últimos 15 años), su presencia es en si misma contaminante.



En UK científicos del gobierno han estimado que los BFRs salvaron unas 3000 vidas en el periodo de 1988-2000, dato abrumador sobre su importancia ante la reducción de incendios.

La alarma ante estas sustancias se suscita al detectarse un incremento constante de los valores residuales de BFRs en el medioambiente, máxime cuando se trata de sustancias «recientes», cuyos efectos a largo plazo sobre los diferentes organismos, no están muy definidos. Algunos síntomas a la exposición son las alteraciones del sistema endocrino (sobre todo relacionados con la hormona tiroidea), y efectos diversos en el sistema nervioso.

Existen tres tipos de exposición del ser humano a este tipo de residuo: la inhalación, el contacto por piel y la ingesta de alimentos contaminados.

Respecto a la ingesta, los niveles más altos de BFRs se han detectado en pescado, especialmente PBDEs, debido a la presencia de estos compuestos en el medio marino y a sus conocidas propiedades de bioacumulación.

No existen límites de su contenido máximo en legislación. La mayoría de los compuestos integrados en este grupo, especialmente los congéneres de PBDE (penta- BDE y octa- BDE) han sido prohibidos en la Unión Europea desde 2004, y también han dejado de producirse en EEUU. Con toda probabilidad en un futuro cercano se establezcan límites máximos en contenido de BFRs en materias primas de uso en alimentación animal.

8.2.5. Hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs)

Estos compuestos denominados PAH (Polycyclic aromatic hydrocarbons), se originan cuando existe una combustión directa sobre algunas materias primas o alimentos (ej. Desecados a la llama) mediante la cual restos de los combustibles utilizados entran en contacto directo con ellas.

Las materias primas grasas y aceites tienen una mayor presencia de PAH, derivado de algunos métodos de extracción que contemplan un secado directo a la llama y calentamientos a altas temperaturas, o procesos de ahumando. Es necesario revisar dichos métodos sustituyéndolos por otros menos generadores de PAH.



En su opinión de 4 de Diciembre de 2002, el comité científico en alimentos de la comisión concluyó que un cierto número de PAHs eran carcinogénicos, y por tanto aconsejó que la presencia de estas sustancias en la cadena alimentaria debería ser reducida en lo posible.

Otra de las conclusiones fue que el Benzo(a)pireno puede ser utilizado como marcador de la presencia de PAHs en los alimentos y se establecieron límites máximos de contenido de esta sustancia en diversas matrices: como ejemplo el contenido máximo autorizado de Benzo(a)pireno en filete de pescado es de 2 $\mu\text{g/kg}$, frente a los 5 $\mu\text{g/kg}$ en filete de pescado ahumado, 1 $\mu\text{g/kg}$ en alimentos para bebés, a 10 $\mu\text{g/kg}$ para moluscos bivalvos.

Actualmente, no existen niveles de contenido máximo indicados para alimentación animal.

8.2.6. Plaguicidas

La diversidad de sustancias consideradas como integrantes del grupo denominado plaguicidas, hace en si mismo imposible un desglose ni remotamente detallado, en un capítulo que pretende dar breves pinceladas sobre los principales compuestos a ser tenidos en consideración en el ámbito de la seguridad en alimentación animal.

Una clasificación general dada por la Agencia de Protección Ambiental de EEUU (EPA) los agrupa de la siguiente forma:

Plaguicidas de naturaleza química:

- Organofosforados: afectan al metabolismo de la acetilcolina (neurotransmisor). La mayoría son utilizados como insecticidas y son considerados de baja persistencia en el medioambiente.
- Carbamatos: afectan al metabolismo de la acetilcolina, sus efectos son reversibles.
- Organoclorados: muy utilizados en el pasado, pero actualmente prohibidos debido a su larga persistencia ambiental y graves efectos sobre la salud.
- Piretroides: derivados sintéticos de la piretrina (plaguicida natural encontrado en el crisantemo) Son de persistencia ambiental media y afectan al sistema nervioso.



Plaguicidas de naturaleza biológica: derivados de sustancias naturales encontradas en animales, plantas, bacterias y minerales. Son clasificados en tres grupos:

- Plaguicidas microbianos: en el que un microorganismo es el principio activo que controla una determinada plaga. Ej. El *Bacillus thuringiensis* genera una proteína que mata específicamente por toxicidad un tipo de larva de insecto al interactuar con receptores específicos.
- PIP's : «Protectores incorporados a la planta», es un proceso por el cual una planta es capaz de sintetizar una sustancia con propiedades plaguicidas mediante material genético «añadido», como ejemplo se puede tomar el gen de *Bacillus thuringiensis* responsable de generar la proteína insecticida e introducirlo en la planta y que sea ella quien genere dicha proteína.
- Plaguicidas bioquímicos: son agentes que controlan plagas mediante procesos no tóxicos, un ejemplo clave es el uso de feromonas, u sustancias atrayentes provenientes de extractos vegetales etc.

Cada uno de estos grupos posee un sinnúmero de sustancias integrantes, por ello únicamente trataremos el grupo de Plaguicidas Organoclorados, al ser éstos los directamente considerados en la legislación de sustancias indeseables para la alimentación animal (obviando el hecho de que cientos de plaguicidas están regulados a nivel legislativo como residuos fitosanitarios mediante la asignación de LMR, al igual que otras sustancias no-plaguicidas).

Los plaguicidas organoclorados pertenecen al grupo de POP's ya que son contaminantes orgánicos persistentes, son liposolubles acumulándose por tanto en tejido graso y favoreciendo la bioacumulación en la cadena trófica.

Puesto que los organoclorados son sustancias poco solubles en agua, cuando ocurre una exposición súbita la sangre se satura rápidamente, debido al proceso de filtrado que efectúa el glomérulo, para luego ser reabsorbido por el túbulo renal (debido a su membrana liposoluble). Como consecuencia de esta saturación, los organoclorados se acumulan en los tejidos grasos, pudiendo causar intoxicaciones crónicas.



El problema con este grupo es que pese a su prohibición de uso en Europa y EEUU, existen países en desarrollo que siguen utilizando alguno de ellos por ejemplo en el control de vectores portadores de malaria.

El metabolismo de los organoclorados se lleva a cabo lentamente en el hígado por acción de las enzimas microsomales, a través de mecanismos de oxidación (epoxidación) y conjugación, transformando así a las moléculas liposolubles en hidrosolubles que sí pueden ser eliminadas por el riñón.

8.2.6.1. Aldrin/dieldrin

Ambos son insecticidas de estructura química similar, el aldrín se degrada rápidamente a dieldrin en el cuerpo y en el medio ambiente.

Se utilizaron hasta los años 70 en cultivos de maíz y algodón. Actualmente su uso está prohibido. La forma habitual en el medioambiente es el dieldrin, siendo muy persistente (forma parte del grupo de POP's) siendo almacenado en grasa.

Los efectos sobre la salud ante una exposición prolongada son dolores de cabeza, mareo, irritabilidad, vómitos y movimientos musculares sin control. Los animales expuestos a cantidades altas de aldrín o dieldrin también sufrieron efectos del sistema nervioso. En animales, la exposición oral prolongada a niveles bajos afectó al hígado y al sistema inmune. La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) ha determinado que el aldrín y el dieldrin no son clasificables en cuanto a carcinogenicidad en seres humanos.

Los animales más sensibles a este plaguicida son los peces, en los que se ha determinado un nivel tóxico de 0.36 mg/kg frente a los 10 mg/kg de dieldrin y 1 mg/kg de aldrin en aves. (EFSA, 2005). El límite de contenido máximo en piensos de peces es de 0.02 mg/kg para ambos compuestos de forma separada o conjunta, expresados en concentración de dieldrina, en materias grasas y aceites el límite está fijado en 0.1 mg/kg expresado de igual forma.

8.2.6.2. Canfecloro (toxafeno)

El Toxafeno es un terpeno clorado, con propiedades insecticidas que contiene más de 670 productos químicos, y es también conoci-



do como canfeclor, clorocanfeno o policlorocanfeno. Ha sido uno de los plaguicidas de mayor uso a nivel mundial y se utilizó ampliamente como tratamiento pre cosecha en cultivos de algodón, granos, cereales, legumbres, frutas, y en tratamiento de ectoparásitos en ganado.

Existen referencias de la Agencia de Protección Ambiental de US-EPA, sobre el uso en el pasado de este plaguicida en la eliminación masiva de peces no deseados en lagos (dato definitivo sobre la posible toxicidad en peces). Hoy en día el Toxafeno presenta una gran acumulación en el medio acuático, por lo que existe una alta concentración de varios congéneres en peces, mamíferos y aves marinas.

Estudios en animales que comieron alimentos o que tomaron agua con toxafeno describieron efectos al hígado, a los riñones, la glándula adrenal y el sistema inmunitario. El toxafeno actúa como una neurotoxina, interfiriendo la transmisión de los impulsos nerviosos, especialmente en el cerebro (órgano diana). Una vez absorbido, pasa rápidamente a todos los órganos del cuerpo y tiende a concentrarse en los tejidos adiposos y la masa muscular en la que se elimina lentamente. Cuando está en circulación, se metaboliza principalmente por oxidasas hepáticas y sus metabolitos se excretan en las heces y la orina. Clasificado por la IARC en el Grupo 2B (posiblemente carcinógeno para el hombre).

Es altamente tóxico para los peces y los invertebrados acuáticos, se han descrito niveles tóxicos en peces de 0.02 mg/kg PC/d (LOAEL) y medianamente tóxico para aves 0.05 mg/kg PC/d (LOAEL).

Normalmente se utilizan tres congéneres indicadores para expresar el contenido total y son el Toxafeno 26, 50 y 62. A nivel legislativo, el contenido máximo permitido se expresa en la suma de estos tres congéneres, así, en el R.D. 465/2003 se expresa un valor máximo de 0.05mg/kg en piensos para peces, 0.2 mg/kg en aceite de pescado y 0.02 mg/kg en materias primas derivadas de peces.

Este es sin duda uno de los plaguicidas de más riesgo en la alimentación acuícola, por su elevada dispersión en el medio acuático y alta toxicidad para los peces. Es necesario realizar un seguimiento exhaustivo en materias primas de riesgo (harinas y aceites de pescado) para mantener niveles de seguridad en piensos compuestos de uso en acuicultura.



8.2.6.3. Clordan

El clordan es una mezcla de hidrocarburos clorados que contiene varios isómeros y compuestos estrechamente afines. La composición aproximada es la siguiente: transclordano (24 %), isómeros del clordano (22 %), heptacloro (10 %), nonacloro (7 %), otros componentes (19 %).

El mayor uso ha sido como insecticida, tanto en cosechas como preservante de madera (control de termitas).

Es un plaguicida de alta persistencia, se degrada muy lentamente y puede permanecer en suelo más de 20 años y es bioacumulable en grasa corporal.

El clordano afecta al sistema nervioso, digestivo y al hígado, entre otros síntomas provoca dolores de cabeza, irritabilidad, confusión, debilidad, problemas de la vista, vómitos, calambres estomacales, diarrea e ictericia. La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) ha determinado que no es posible clasificar al clordano en cuanto a carcinogenicidad en seres humanos.

Es altamente tóxico para peces, como ejemplo la CL50 en trucha arco iris esta comprendida entre 42 - 90 mg/L/96h.

En lo referente a la alimentación animal, la Unión Europea el nivel admitido es de 0.02 mg/kg para todos los piensos y 0.05 mg/kg para materias grasas y aceites (ambos como suma de isómeros cis, trans y oxiclordanos y calculados en forma de clordán)

8.2.6.4. DDT-DDE-DDD

El DDT (diclorodifeniltricloroetano) fue utilizado como insecticida y controlador de vectores portadores de malaria y tifus. El DDT en principio es una mezcla de tres formas de DDT: *p,p'*-DDT (85 %), *o,p'*-DDT (15 %) y de pequeñas cantidades de *o,o'*-DDT. También puede estar contaminado con DDE (diclorodifenildicloroetileno) y DDD (diclorodifenildicloroetano), ambos productos de la degradación del DDT.

En el medioambiente, estos compuestos son sometidos a innumerables ciclos de evaporación/condensación que propicia su gran dispersión, mientras que su degradación es muy lenta y se produce por acción de microorganismos.

La alimentación es el principal punto de exposición en el ser humano, y una vez se ha introducido en el cuerpo, el DDT suele degradarse



a DDD y DDE que son almacenados en el tejido graso. A medida que cesa la exposición, poco a poco los niveles de DDT van disminuyendo eliminados por la orina.

Los efectos en el organismo son sobre el sistema nervioso, en forma de temblores, excitabilidad e incluso convulsiones, dolores de cabeza, náuseas, vómitos y mareo. Una exposición moderada al DDT afecta al hígado y la glándula adrenal la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (*IARC*, por sus siglas en inglés) ha determinado que el DDT es posiblemente carcinogénico en seres humanos.

Las restricciones de uso en alimentación animal están reguladas por el Real Decreto 465/2003, de 25 de abril, sobre sustancias indeseables en alimentación animal, estableciendo un contenido máximo de la suma de isómeros de DDT, TDE y DDE, (calculada en forma de DDT) de 0,05 mg/kg en todos los piensos (el concepto piensos engloba tanto materias primas como piensos completos y complementarios) y 0,5 mg/kg en materias grasas.

8.2.6.5. Endosulfán

El endosulfán es un plaguicida que se utiliza en el control de insectos en cosechas de alimentos tales como cereales, té, frutas y hortalizas y en cosechas no-comestibles como por ejemplo tabaco y algodón. También se usa como preservativo para madera. Su utilización en la Unión Europea está prohibida.

La composición comercial de endosulfán es una mezcla de dos formas diferentes (llamadas α -y β -endosulfán) en una proporción 70/30 y que son metabolizados a sulfato de endosulfan y endosulfan diol.

La exposición para la población es a través del consumo de alimentos contaminados, tales como aceite, grasas, frutas y verduras. Otra fuente detectada es el consumo de tabaco con residuos de endosulfán (ATSDR,2000)

Provoca, en exposición breve a cantidades muy altas, efectos adversos sobre el sistema nervioso (hiperexcitabilidad, temblores y convulsiones) además de efectos al estómago, la sangre, el hígado y los riñones.

En exposición baja y prolongada, se ven afectados los riñones, los testículos y el hígado.



En alimentación animal, la fuente de mayor riesgo en presencia de endosulfán son los aceites vegetales crudos y en menor medida las semillas oleaginosas y sus derivados. Han sido establecidos al efecto unos contenidos máximos de 1 mg/kg en aceites y 0,5 mg/kg en semillas oleaginosas y sus derivados.

Según información de EFSA, los niveles tóxicos (expresados en kg dieta) en peces son de 100 g, frente a los 30mg establecidos en aves. Esta alta toxicidad para los peces ha propiciado un muy bajo contenido máximo en piensos completos para peces de 0,005 mg/kg en comparación a los 0,1 mg/kg del resto de piensos completos.

8.2.6.6. Endrin

Plaguicida fuera de uso en la mayoría de países, fue empleado en el control de plagas de insectos (acaricida), roedores y pájaros. Poco se sabe de las propiedades del aldehído de endrina (una impureza y producto de degradación de endrina) o de la cetona de endrina (un producto de endrina cuando se expone a la luz).

Posee una alta capacidad de ser absorbido tanto a nivel gastrointestinal como por vía dérmica, provocando un mayor riesgo de efectos tóxicos agudos que otros plaguicidas de menor velocidad de absorción.

Tiene capacidad de provocar bioacumulación y biomagnificación. Considerado de gran toxicidad para los peces y aves, según EFSA los niveles tóxicos en peces son de 0.2 mg / kg de dieta y 1 mg/kg en aves, frente a los 7 mg/kg en conejos.

En humanos, la exposición al endrín produce efectos nocivos tales como lesiones graves al sistema nervioso (cerebro y médula espinal) produciendo síntomas tales como dolores de cabeza, mareo, nerviosidad, confusión, náusea, vómitos y convulsiones.

El marco legal europeo sitúa el contenido máximo de endrín junto con deltacetoendrín en piensos destinados a alimentación animal de 0.01 mg/kg y en materias grasas y aceites de 0.05 mg/kg.

8.2.6.7. Heptacloro

Plaguicida utilizado ampliamente hasta mediados de los años 80, es un producto de degradación del clordano (y componente en un 10 %



peso de éste). Aun se sigue utilizando en algunos países como insecticida (ej, contra termitas en madera).

La forma epóxido de heptacloro es una sustancia proveniente de la degradación bacteriana de una parte del heptacloro (20 %). Ambos son lipofílicos y por tanto se acumula en grasa.

En el cuerpo humano, el heptacloro es transformado a epóxido de heptacloro y a otras sustancia químicas relacionadas. La mayoría de estas sustancias abandonan el cuerpo en las heces unos días después de la exposición. Cierta porción de heptacloro y epóxido de heptacloro se almacena en la grasa corporal durante mucho tiempo.

La principal exposición en el ser humano es alimentaria y la absorción habitual es por vía Gastrointestinal. La principal acción tóxica la ejerce sobre el sistema nervioso (órgano diana), es capaz de atravesar la barrera placentaria y también se ha detectado presencia en leche materna. Una exposición aguda Produce malestar, cefalea, náusea, vómito, mareo, temblores, depresión severa de los sistemas respiratorio y nervioso central y coma. Durante la fase aguda también pueden presentarse leucocitosis, hipertensión, taquicardia, arritmias y necrosis hepática. La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) ha determinado que el heptaclor esta clasificado en el grupo 2B (posible carcinógeno en humanos).

Las restricciones de uso en alimentación animal están reguladas por el Real Decreto 465/2003, de 25 de abril, sobre sustancias indeseables en alimentación animal, estableciendo un contenido máximo de la suma de heptacloro y del heptacloroepóxido, calculada en forma de heptacloro de 0,01 mg/kg en todos los piensos (el concepto piensos engloba tanto materias primas como piensos completos y complementarios) y 0,2 mg/kg en materias 0.1 mg/kg. La dosis fatal para el hombre se ha estimado de 65 mg/kg. grasas y aceites. En EEUU se ha fijado un límite único para todos los productos de alimentación en 0.1 mg/kg.

8.2.6.8. Hexaclorociclohexano

Es un plaguicida formado por un grupo de 8 isómeros, entre los que destacan 4 (Alfa, Beta, Delta y Gamma). El más utilizado es el isómero gamma (γ -HCH), también conocido como Lindano. Ha sido ampliamente utilizado como plaguicida en frutas y hortalizas. La mezcla



técnica incluye, cinco isómeros de HCH en las siguientes proporciones: alfa-HCH (53–70 %), beta-HCH (3–14 %), gamma-HCH (11–18 %), delta-HCH (6–10 %) y epsilon-HCH (3–5 %).

El γ -HCH es el único que tiene propiedades insecticidas y para conseguir una Tm de γ -HCH se obtienen entre 6 y 10 Tm de otros isómeros que hay que eliminar.

En el medioambiente, el HCH está catalogado como POP (contaminante orgánico persistente) tiene una gran capacidad de dispersión (aérea). En el suelo, los sedimentos o el agua, el HCH es degradado por algas, hongos y bacterias a sustancias menos tóxicas, pero es un proceso muy lento. El HCH puede acumularse en el tejido graso de peces.

Se estima que el γ -HCH tiene un período de semidesintegración de 2-13 días en el aire, de 30-300 días en el agua, y dos años en suelo.

La exposición al HCH ocurre principalmente al comer alimentos contaminados o respirar aire contaminado en el trabajo. La exposición a altos niveles de HCH puede causar enfermedades de la sangre, mareo, dolores de cabeza, convulsiones, y alteraciones en el nivel de hormonas sexuales. El HCH ha producido cáncer en animales. La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) ha clasificado al HCH (todos los isómeros) como posiblemente carcinogénico en seres humanos. Se ha demostrado que el HCH puede atravesar la placenta en mujeres embarazadas y también se ha detectado en leche materna.

La presencia de HCH en alimentación animal está regulada por el Real Decreto 465/2003, de 25 de abril, sobre sustancias indeseables en alimentación animal, en base a la presencia de tres isómeros:

- α -HCH: contenido máximo en piensos compuestos para peces 0.02 mg/kg, 0.01 mg/kg en materias primas y 0.02 mg/kg en materias grasa y aceites ,
- β -HCH: 0.01 mg/kg en piensos compuestos para peces.
- γ -HCH: 0.2 mg/kg en piensos compuestos para peces y 2.0 mg/kg en materias grasas y aceites.

8.2.6.9. Hexaclorociclobenceno

Plaguicida con estructura de hidrocarburo aromático clorado, con propiedades fungicidas, microbicida e insecticida.



Aunque actualmente esta prohibido su uso en la CE y EEUU, se sigue liberando ciertas cantidades, como subproductos de otros compuestos industriales (fabricación de municiones y en la manufactura de caucho sintético, preservantes de madera,Ö) e incluso en incineración de residuos.

Pertenece al grupo de los POP, como contaminante orgánico persistente, ya que su degradación es muy lenta, en suelo la mitad del HCB desaparece en 3-6 años. No se disuelve fácilmente en el agua y se acumula en grasa de peces y otros organismos acuáticos.

En exposición aguda provoca porfiria y daños hepáticos, orina de color rojo, ulceración de la

piel, artritis y problemas en el hígado, el sistema nervioso y el estómago. La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) ha clasificado al HCB en el Grupo 2B (probablemente carcinogénico para los seres humanos).

La principal fuente de exposición es la ingestión de alimentos (se encuentra con frecuencia en la carne, la leche y los huevos). Al igual que otros compuestos organoclorados, se acumula en el tejido graso mamario y en madres lactantes, es una importante vía de eliminación.

Resultados de estudios sobre una variedad de especies han indicado que la exposición repetida a dosis relativamente altas de HCB pueden afectar a la reproducción de los machos. Hay posibles interacciones con hierro como complemento de la dieta puede aumentar el daño hepático producido por el HCB. La exposición a la luz solar puede incrementar los efectos del HCB, especialmente en piel contaminada o después de la contaminación.

En alimentación animal su contenido máximo en piensos es de 0.01 mg/kg y en materias primas grasas y aceites 0.2 mg/kg.

8.3. IONES Y ELEMENTOS

8.3.1. Arsénico

El arsénico (As) es un elemento ampliamente distribuido en la corteza terrestre. El arsénico elemental es una sustancia de apariencia metálica de color gris acero, pero normalmente se encuentra combi-



nado con otros elementos como por ejemplo oxígeno, cloro y azufre. El arsénico combinado con estos elementos se conoce como arsénico inorgánico. El arsénico combinado con carbono e hidrógeno se conoce como arsénico orgánico y es menos tóxica que el inorgánico. La mayoría de los compuestos inorgánicos y orgánicos de arsénico son polvos de color blanco que no se evaporan, inoloros e insípidos.

El arsénico inorgánico ocurre naturalmente en el suelo y en muchos tipos de rocas, especialmente las que contienen minerales con cobre o plomo. Cuando estos minerales se calientan en hornos, la mayor parte del arsénico se elimina a través de la chimenea y entra a la atmósfera en forma de un polvo fino. Las fundiciones pueden recuperar este polvo y remover el arsénico en la forma de un compuesto llamado trióxido de arsénico (As_2O_3). Actualmente, aproximadamente 90 % del arsénico que se produce es usado como preservativo para madera (denominada presurizada), en forma de cobre cromato arsenado (CCA). Desde 2003 se esta sustituyendo esta práctica por otro tipo de preservativos para maderas.

Los compuestos orgánicos de arsénico, específicamente el ácido cacodílico, el arsenato de metilo bisódico (DMSA) y el arsenato de metilo monosódico (MSMA), aun se usan como plaguicidas, principalmente en algodón. El uso más extenso del arsénico en aleaciones es en baterías para automóviles, en semiconductores y en diodos que emiten luz.

Otras fuentes son la incineración tanto de carbón como de residuos, ya que poseen arsénico en su composición. El arsénico no puede ser destruido en el ambiente, solamente puede cambiar de forma o puede adherirse o separarse de partículas.

Muchos compuestos comunes de arsénico pueden disolverse en agua. Por lo tanto, el arsénico puede pasar a lagos, ríos o al agua subterránea disolviéndose en el agua de lluvia o la nieve o en desagües industriales. Al final, la mayor parte del arsénico termina en el suelo o en el sedimento de los lechos fluviales.

Algunos organismos acuáticos acumulan arsénico orgánico de baja toxicidad, en la forma denominada arsenobetaina (llamada comúnmente arsénico de pez) y arsenocolina. Algunas algas marinas pueden contener formas inorgánicas de arsénico que pueden ser más peligrosas.



En el hombre, en el hígado se transforma cierta cantidad a su forma orgánica, y ambas son excretadas por orina. Los síntomas de exposición son dolor de estómago, náuseas, vómitos, diarrea, reducción de glóbulos rojos y blancos, arritmias, hormigueo en manos y pies. Aunque la más clásica son las alteraciones en piel, oscurecimiento y aparición de callos y verrugas.

La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) ha determinado que el arsénico inorgánico es carcinogénico en seres humanos.

Respecto a la alimentación en acuicultura el mayor riesgo es la presencia en harinas y aceites de pescado, que si bien no suelen sobrepasar los 15 mg/kg de Arsénico total, determinados por la legislación europea, suelen tener contenidos que oscilan entre 4-8 mg/kg según (EFSA 2005), y por tanto es una sustancia indeseable a vigilar en estas materias primas.

El Real decreto 465/2003, de 25 de abril, sobre sustancias indeseables en alimentación animal marca unos niveles generales de 2 mg/kg para materias primas, excepto para derivados de pescado y otros animales marinos 15 mg/kg, derivados de algas marinas 40 mg/kg y marca un nivel máximo para piensos de uso en acuicultura de 6 mg/kg.

8.3.2. Cadmio

El cadmio (Cd) es un elemento que se presenta de forma natural en forma inorgánica en forma de rocas sedimentarias y erupciones volcánicas. Las fuentes antropogénicas más importantes son los abonos fosforados de uso agrícola.

En general se considera al Cadmio como un contaminante ubicuo.

En el hombre, la exposición al Cadmio provoca toxicidades en hígado, riñón, sistema neuronal, carcinogénesis, genotoxicidad, problemas endocrinos y reproductivos. Ante todo se considera al riñón como el órgano diana de este elemento.

En animales, en los rumiantes se da una absorción baja entorno al 1 % (Underwood y Suttle, 1999), pero la retención en el organismo es alta, por lo que el riesgo es mayor en rumiantes ya que la vida media es de varios años. En el caso de acumulaciones, estas se producen principalmente en hígado y riñón. La lenta eliminación hace que sea uno



de los compuestos de más difícil gestión por los efectos que conlleva a muy largo plazo.

En el ámbito de la alimentación acuícola, la mayor fuente de cadmio es sin duda las harinas de pescado, observándose en este componente grandes diferencias entre procedencias de captura, suele ser más alto en zonas de pesca de Sudamérica en comparación con harinas de pescado escandinavas. También se han detectado niveles muy altos de cadmio en harinas de krill (Mooren, 2006).

Actualmente su contenido está limitado en Europa, a 1 mg/kg en materias primas vegetales y 2 mg/kg en el resto de materias primas (incluyendo harinas de pescado), y 1 mg/kg para piensos completos de uso en acuicultura.

8.3.3. Flúor

El flúor es un gas natural que se combina con metales para producir fluoruros tales como el fluoruro de sodio y el fluoruro de calcio. También se combina con hidrógeno para producir fluoruro de hidrógeno, un gas incoloro que se disuelve en agua formando ácido fluorhídrico.

El flúor y el fluoruro de hidrógeno se usan para fabricar ciertos compuestos químicos. El ácido fluorhídrico se usa para trabajar el vidrio. Otros compuestos de fluoruros se usan para fabricar acero, sustancias químicas, cerámicas, lubricantes, colorantes, plásticos, y plaguicidas.

El flúor no puede ser destruido en el ambiente; solamente puede cambiar de forma, como sales con minerales en el suelo. El gas fluoruro de hidrógeno será absorbido por la lluvia, las nubes y la niebla y formará ácido fluorhídrico, el que caerá a la tierra.

El fluor absorbido es parcialmente excretado en la orina y la acumulación en el organismo se produce en el tejido óseo y en menor medida en riñón, por lo que los aportes de las carnes a la dieta son muy bajos.

En el hombre, pequeñas cantidades de fluoruro ayudan a prevenir las caries dentales, pero cantidades altas pueden perjudicar su salud. En adultos, la exposición a altos niveles de fluoruro puede aumentar la densidad de los huesos. Sin embargo, si la exposición es suficientemente alta, estos huesos pueden ser más frágiles y quebradizos y el riesgo de sufrir fracturas puede ser mayor. En animales, la exposición a dosis de fluoruro



extremadamente altas puede producir una disminución de la fertilidad y de los espermatozoides y daño de los testículos. El flúor y el fluoruro de hidrógeno producen severa irritación de la piel, los ojos y las vías respiratorias. En altos niveles, como podría ocurrir en un accidente industrial, el fluoruro de hidrógeno también pueden dañar el corazón.

La principal vía de entrada de fluor en la alimentación animal es por la utilización de fosfatos ricos en fluor, harinas de krill y algas marinas, vermiculita. Etc. Unos años atrás, la utilización de harinas de huesos era una fuente importante de fluor, por su tendencia a acumular en hueso (actualmente no está autorizada como materia prima para la alimentación animal como medida preventiva frente a EEB).

El Real decreto 465/2003, de 25 de abril, sobre sustancias indeseables en alimentación animal indica unos niveles máximos de 500 mg/kg para materias de origen animal, excepto krill (3.000 mg/kg) y algas marinas (1.000 mg/kg). EN piensos completos de uso en acuicultura el nivel máximo permitido es de 150 mg/kg.

8.3.4. Mercurio

El mercurio existe en varias formas distintas en el medio ambiente: mercurio metálico (llamado también mercurio elemental), mercurio inorgánico y mercurio orgánico.

El mercurio metálico es un metal brillante de color blanco-plateado en forma líquida a temperatura ambiente y es la forma pura de mercurio (no está combinado con otros elementos). A temperatura ambiente, alguna cantidad formará vapores de mercurio.

El mercurio inorgánico se producen cuando el mercurio se combina con elementos tales como el cloro, azufre u oxígeno, formando sales.

El mercurio orgánico se crea cuando se combina con carbono, el más común en el ambiente es el metilmercurio y también la forma más tóxica, ya que puede acumularse en peces y en mamíferos acuáticos.

El mercurio metálico líquido tiene muchos usos diferentes. Se usa en la producción de cloro gaseoso y soda cáustica, y en la extracción de oro de minerales o de artículos que contienen oro. También se usa en termómetros, barómetros, baterías e interruptores eléctricos. Las empastaduras bucales de color plateado contienen típicamente cerca de 50 % de mercurio metálico.



Aproximadamente el 80 % del mercurio que es liberado por actividades humanas es mercurio elemental liberado al aire, principalmente como consecuencia del uso de combustibles fósiles, la minería, fundiciones y de la incineración de desecho sólido. Cerca del 15 % del total se libera al suelo y proviene de abonos, fungicidas y desecho sólido municipal (por ejemplo, de basura que contiene baterías, interruptores eléctricos o termómetros). Un 5 % adicional es liberado al agua ambiental desde aguas residuales de industrias.

Los microorganismos (bacterias, fitoplancton en el océano y hongos) convierten al mercurio inorgánico a metilmercurio. El metilmercurio liberado por los microorganismos puede entrar al agua o al suelo y permanecer ahí durante mucho tiempo, especialmente si se adhiere a pequeñas partículas en el suelo o el agua, y es esta forma la que puede entrar a los alimentos y acumularse en la cadena alimentaria ya que también es bioacumulable. Los peces de agua salada (especialmente tiburones y pez espada) que viven muchos años y que pueden alcanzar grandes tamaños tienden a tener los niveles de mercurio más altos.

Las plantas (tales como maíz, trigo y guisantes) tienen niveles de mercurio muy bajos, aun cuando se cultiven en suelos que tienen niveles de mercurio considerablemente más altos que los niveles normales.

Los síntomas de una exposición al mercurio son cambios de personalidad (irritabilidad, timidez, nerviosidad), temblores, alteraciones de la visión (reducción del campo visual), sordera, incoordinación muscular, pérdida de la sensación y dificultades de la memoria.

La mayor fuente de exposición de al mercurio en la alimentación animal son las harinas de pescado y sus derivados. De hecho es la única materia prima en la que se contemplan límites máximos en el Real decreto 465/2003, de 25 de abril, sobre sustancias indeseables en alimentación animal (0.1 mg/kg) junto con el carbonato cálcico (0.5 mg/kg).

En lo que respecta a piensos compuestos el contenido máximo permitido es 0.3 mg/kg referido a un contenido de humedad del 12 %.

8.3.5. Plomo

El plomo se presenta en la naturaleza en su forma inorgánica y ha sido su uso industrial el que ha propiciado su dispersión y aumento en otros medios (suelos, agua y aire).



La fuente principal de contaminación es la minería y el uso agrícola de posibles lodos contaminados.

Las consecuencias de exposición al plomo en humanos, son entre otras hipertensión, enfermedades cardiovasculares, distribuyéndose su acumulación principalmente en tejido óseo, riñón, hígado. El hecho de que se acumule en el tejido óseo, parece minimizar inicialmente los efectos de una exposición leve, ya que no afecta tan directamente a órganos clave, retrasando los síntomas mencionados al ir liberando lentamente su contenido a sangre.

La eliminación del plomo en productos tan diversos como cañerías, gasolina, soldaduras en latas de conserva o pinturas, ha reducido en gran medida la exposición humana a este metal quedando la alimentación como principal exposición al metal.

8.3.6. Nitritos

La generación de nitritos se debe a la acción bacteriana en dos posibles vías: como un paso intermedio hacia el producto final nitratos y como una descomposición desde nitratos en el tracto digestivo.

La mayor fuente de nitritos en el medio ambiente es sin duda el uso de fertilizantes agrícolas, mediante el uso bien de fertilizantes nitrogenados o bien mediante el uso de purines y otros residuos orgánicos. En animales monogástricos los nitritos son absorbidos en tracto digestivo, eliminando en forma de nitratos y nitrosaminas la parte residual.

Un exceso de nitritos en la alimentación animal conlleva problemas respiratorios y de coordinación.

La regulación europea como sustancia indeseable para la alimentación animal, solo contempla en el ámbito de materias primas límites en el caso de la harina de pescado (60 mg/kg, expresado en nitrito de sodio). En piensos compuestos los niveles máximos permitidos son 15 mg/kg, (expresado en nitrito de sodio). (R.D. 465/2003)

8.4. MICOTOXINAS

El término micotoxina deriva de las palabras griegas «mykes» (hongos) y «toksicons» (veneno) y en dicha categoría se encuentran englobados los metabolitos secundarios tóxicos (no todos lo son) de origen fúngico. Son produ-



cidos en la etapa final del crecimiento exponencial de una colonia fúngica y no tienen aparentemente una importancia en el crecimiento o metabolismo de estos organismos. Diferente es el caso de los metabolitos primarios que son esenciales para el crecimiento del microorganismo (Jay, 2000).

Los efectos adversos de los hongos y sus metabolitos están documentados desde la Edad Media, mediante los brotes de ergotismo (también llamado fuego de San Antonio, ya que se creía que una peregrinación a su santuario mitigaba las picazones propias de la enfermedad), y que se producía por ingesta de pan elaborado con trigo contaminado por cornezuelo de trigo. (Van Dongen, 1995 citado por M. Peraica *et al.* 2000).

Estos hongos pueden crecer en diversas materias primas para la alimentación animal principalmente granos antes y después de ser cosechados, en su transporte o su almacenamiento. Su presencia en niveles superiores a los tolerables representa una amenaza para la inocuidad de los alimentos y un riesgo importante en salud alimentaria.

Las micotoxinas más comunes provienen de dos géneros de hongos denominados *Aspergillus* y *Fusarium*. Cuando estos hongos encuentran condiciones adecuadas (principalmente condiciones de humedad superiores a 14 %, sustratos adecuados, altas temperaturas) proceden a generar metabolitos en forma de sustancias tóxicas.

Frecuentemente puede existir una presencia simultánea de varios tipos de micotoxinas que ejercen acciones sinérgicas potenciando los efectos adversos tanto en animales como en humanos. Los diferentes tipos de hongos generadores de toxinas, pueden verse en el siguiente cuadro (Miller 1994).

CUADRO 3.

Tipos de hongos generadores de toxinas y sus metabolitos (Millar, 1994).

Especie de Hongo	Metabolitos
<i>Aspergillus parasiticus</i>	Aflatoxinas B1, B2, G1 y G2
<i>Aspergillus flavus</i>	Aflatoxinas B1 y B2
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	Toxina T-2
<i>Fusarium graminearum</i>	Desoxinivalenol (o nivalenol) Zearalenona
<i>Fusarium moniliforme</i> (<i>F. verticillioides</i>)	Fumonisin B1
<i>Penicillium verrucosum</i>	Ocratoxina A
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Ocratoxina A



Existen autores que clasifican las hongos susceptibles de generar micotoxinas en dos tipos: «hongos de campo» y «hongos de almacenaje» según el momento en el que son susceptibles de generar metabolitos (y por tanto de encontrar las condiciones idóneas para su desarrollo).

Los efectos conocidos sobre alimentación animal de forma general son merma en crecimientos, disminución de tasas de conversión, inmunodepresión, toxicidades en hígado, e incluso en algunos casos abortos, tumores y cáncer.

Algunas actúan inhibiendo la fosforilación oxidativa celular, inhibiendo la síntesis proteica (tricotecenos, deoxinivalenol), modificando los microfilamentos y microtúbulos celulares, alterando los niveles de hormonas y provocando crecimiento de masa en el útero (zearalenona). Algunas son generadores de temblor, actuando sobre el sistema nervioso central e induciendo temblores generalizados en animales. Otras como el caso de las aflatoxinas provocan el desarrollo de tumores en hígado y en corteza renal. (Guzmán, E. 1993).

Las micotoxinas no son volátiles, la exposición suele deberse a inhalación directa de hongos o de esporas (en las cuales se ha comprobado que existe concentración elevada de toxinas) o de un substrato contaminado (por ejemplo, polvo de grano).

Dada la compleja ecología de la proliferación de los mohos y la producción de micotoxinas, pueden producirse mezclas de en alimentos y piensos, especialmente en cereales. La presencia simultánea de diversas micotoxinas puede influir (Miller, 1991) tanto en el nivel de producción de micotoxinas como en la toxicidad del material contaminado.

La FAO indica que existen estimaciones de que un 25 %-30 % de las cosechas anuales de granos son afectados. Existen fluctuaciones entre los tipos de micotoxinas que puede variar, por ejemplo, por las condiciones climáticas entre años en una misma zona (Whitlow *et al.*, 1998). De aquí la importancia de controlar las concentraciones presentes ya que es prácticamente imposible garantizar su ausencia total (como ocurre en la mayoría de sustancias indeseables en la alimentación animal).

El rango de temperaturas en el que crecen los distintos hongos varía entre las temperaturas elevadas necesarias para *Aspergillus* y *Penicillium* y las más frías en el caso de *Fusarium* (llegando este último a temperaturas cercanas al punto de congelación, Joffe (1986)).



Existen ciertos aspectos preventivos que eviten la aparición de micotoxinas en materias primas para la alimentación animal, tales como la actividad de agua, de forma que obtener un factor mínimo de 0,60 puede evitar en gran medida el crecimiento. En los casos que esto no es posible, pueden utilizarse variables como ausencia de oxígeno (la mayoría de hongos son aerobios) y pH ácidos (motivos para el «sellado» de ensilados y utilización de acidificantes en algunas materias primas).

Las micotoxinas, o sus metabolitos, pueden ser detectadas en la carne, órganos viscerales, leche y huevos. Su concentración en los alimentos suele ser bastante inferior a los niveles que se dan en los piensos consumidos por los animales y no es probable que causen intoxicaciones agudas en los humanos. No obstante, los residuos de micotoxinas carcinógenas, como las aflatoxinas B1 y M1, y la ocratoxina A, cuando se hallan presentes en productos animales, crean una amenaza para la salud humana por lo que deben vigilarse y controlarse sus niveles. Especialmente importante resulta en este caso el control de individuos que hayan padecido hepatitis B, ya que la potencia de las aflatoxinas en portadores es considerablemente mayor que en individuos no portadores. No se conoce bien el grado de acumulación de micotoxinas en tejidos ícticos por el consumo de piensos contaminados

Enfocando el problema a la alimentación de peces, los grandes riesgos sobre la posible presencia de micotoxinas en piensos son las materias primas ya contaminadas, ya que los piensos completos compuestos utilizados en acuicultura, fabricados mediante extrusión y posterior secado, garantizan unos niveles de actividad de agua muy bajos, expresados en humedades por debajo del 10 % sobre el total.)

Existen varios tipos, las 7 más comunes micotoxinas encontradas en los alimentos: Aflatoxinas B1, zearalenona, toxina T-2, desoxinivalenol (vomitoxin), ocratoxina A, fumonisina y patulina, siendo además importantes otras como nivalenol, citrinina, ácido fumárico, ácido penicílico (FAO, 2003).

8.4.1. Aflatoxinas

En los años 60, se detectó en Inglaterra un aumento espectacular de los casos de cáncer de hígado en avicultura. Las sustancias implicadas



eran generadas por los hongos *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* y se denominaron aflatoxinas.

Cuando la materia prima esta contaminada, son contaminantes casi inevitables en el pienso, ya que son difíciles de eliminar al ser son estables al calor y a la mayoría de procesamientos.

Existen varios subtipos:

- Tipo-B (B1, B2, B2a) y G (G1, G2, G2a), denominadas así por la fluorescencia azul y verde emitida por excitación a 365 nm.
- Tipo-M (M1 y M2) aisladas en leche del cultivo de *A. flavus* y de los cacahuetes enmohecidos.
- Tipo-R0 llamada también aflatóxico (3).

La más tóxica de las aflatoxinas es la AFB, denominada comúnmente B1 que da una respuesta muy positiva en el test de Ames y al de carcinogenicidad sobre ratas y truchas, considerándose que es una de las sustancias conocidas con mayor poder mutágeno y cancerígeno. Es también un tóxico para la reproducción y tiene actividad inmunodepresora y es uno de los agentes causantes de cáncer de hígado más potentes que se conocen.

Los efectos de las aflatoxinas en alimentos para peces como la trucha arco iris pueden provocar: daños al hígado, decoloración o branquias pálidas, disminución de la concentración de células rojas en el torrente sanguíneo, reducción de la eficiencia del alimento o ganancia de peso, disminución del tiempo de coagulación de la sangre. En el bagre del canal, los efectos observados y provocados por las aflatoxinas incluyen daños en el hígado, epitelio de cubierta o revestimiento del estomago, intestinos, vaso, hígado y riñones.

En el Real Decreto 465/2003, se consignan valores máximos materias primas para la alimentación animal de 0.02 mg/kg. En piensos compuestos completos de uso en acuicultura 0.01 mg/kg y en piensos complementarios 0.005 mg/kg referidas todas ellas a un contenido de humedad de 12 %.

8.4.2. Ocratoxina

Las ocratoxinas son producidas por varias especies de los géneros de hongos del género *Aspergillus*, siendo la especie más importan-



te *A. ochraceus*. Otras especies de importancia son *A. Sulfureus*, *A. melleus*, *Penicillium viridicatum*, *P. commune*, entre otras especies (Jurado, 1989).) Esos hongos son ubicuos y hay amplias posibilidades de contaminación de alimentos para seres humanos y para animales. Estas se producen principalmente en zonas templadas del hemisferio norte donde se cultiva trigo y cebada (IARC, 1993). Puede producirse cantidades considerables de toxina a temperaturas de sólo 4 °C y con una actividad de agua de sólo 0,86.

La más conocida es ocratoxina A (OA), siendo a su vez la más tóxica, posee cloro en su molécula. Se conoce además la ocratoxina B (sin cloro en su molécula) y ocratoxina C (con cloro y es un etilester) (Jurado, 1989; Jay, 2000).

La LD 50 oral para truchas de 6 meses de edad es de 4.7 mg/kg y los signos patológicos causados por estas toxinas en estos peces son necrosis del hígado y riñones, riñón pálido y alta mortalidad, entre otros. La producción máxima de OA se alcanza a una temperatura óptima de 30 °C pudiendo crecer (*A. ochraceus*) a temperaturas entre 8 y 37 °C. La actividad hídrica óptima para la producción de OA es de 0,95, pudiéndose desarrollar el hongo desde 0,79. Tiene una dosis letal media en ratas (LD50) de 20 a 22 mg/kg, siendo principalmente nefrotóxica y hepatotóxica (FAO, 2003; Jay, 2000).

La más importante es la ocratoxina A (OTA), aislada por primera vez a partir de cultivos de *Aspergillus ochraceus*. La OTA es una micotoxina presente en las contaminaciones de productos vegetales (cereales y legumbres) de regiones geográficas tanto templadas como frías y húmedas. Es una de las micotoxinas más frecuentes en la contaminación de los granos de cereales, junto a las aflatoxinas y las toxinas del género *Fusarium*.

Una de las propiedades toxicocinéticas más significativas de la OTA es su alta afinidad por proteínas plasmáticas. En la mayoría de los mamíferos la acumulación de la OTA se da principalmente en el riñón, seguido de otros órganos como hígado, páncreas e intestino. El principal mecanismo de acción implicado en la toxicidad de la OTA es la inhibición de la síntesis de proteínas. Este mecanismo provoca una gran variedad de efectos tóxicos, ya que se puede producir la carencia de determinadas enzimas.



En peces, la eliminación de la micotoxina por filtración renal está sujeto a unión con macromoléculas específicas, por lo que se favorece la eliminación por otras rutas y es el sistema de excreción hepatobiliar el más importante. Por este motivo su permanencia sanguínea tiene una vida media menor que en otros animales.

En humanos se absorbe fácilmente del tracto gastrointestinal. Presenta una alta afinidad por las proteínas plasmáticas, lo que determina una larga persistencia en el organismo. Los órganos más sensibles a la acción de la ocratoxina son los riñones y el hígado, causando necrosis tubular en los riñones y enteritis en el intestino delgado.

La eliminación principal es la excreción renal, condicionado por la unión de la OTA a proteínas plasmáticas. Excepcionalmente, presenta una eliminación lenta, debido a la reabsorción durante la circulación enterohepática, a la reabsorción que se efectúa también en la orina tras la secreción tubular y a una fuerte unión a proteínas plasmáticas.

Es una enfermedad estacionaria, familiar pero no hereditaria, que se presenta, casi exclusivamente, en individuos de edades comprendidas entre 35 y 55 años, y progresa lentamente hasta muerte, afectando más frecuentemente a mujeres que a hombres.

Los signos patológicos hallados en los enfermos fallecidos como consecuencia de NEB son: una marcada reducción del tamaño del riñón y ciertos cambios en sus tejidos.

Aunque los cereales se consideran la principal fuente de OA en la alimentación humana, se ha indicado (IARC, 1993e) que los productos de cerdo pueden ser también una fuente importante de esta toxina, la especie más sensible a esta micotoxina, que ha detectado en riñón, sangre e hígado.

Se cree que la ocratoxina A está relacionada con la nefropatía endémica de los Balcanes, una enfermedad renal crónica mortal que afecta a los habitantes de algunas regiones de Bulgaria, la ex Yugoslavia y Rumania, así como de la aparición de algunos tumores del tracto urinario.

La OA ocasiona toxicidad renal, nefropatía e inmunodepresión en varias especies de animales y es cancerígena en animales de experimentación. Existen pruebas suficientes obtenidas en estudios con animales de experimentación de la carcinogenicidad de la OA (IARC, 1993e).



En 1993, la agencia internacional de Investigación de Cancer (IARC) clasificó a la ochratoxin A como posible carcinógeno humano (grupo 2B), basándose en evidencias de carcinogenicidad en animales de experimentación. Causa daños en riñones de cerdos, desarrollo de cancer, es teratogénica y tiene propiedades inmunodepresoras, siendo los rumiantes más resistente (Jay, 2000). En las aves se caracteriza por la producción de esclerosis renal y periportal, enteritis, supresión de la hematopoyesis de la médula ósea. En cánidos las OA causan anorexia, pérdida de peso, vómito, conjuntivitis y necrosis renal, entre otras afecciones (Jurado, 1989).

No están descritos dosis mínimas tóxicas en piensos de uso en acuicultura, (200 ppb y 400 ppb en monogástricos y rumiantes respectivamente, (EFSA 2004)).

En la recomendación 2006/576/CE de la Comisión, de 17 de agosto de 2006, no se consignan valores máximos en piensos compuestos completos y en piensos complementarios de uso en acuicultura, pero sí para cerdos (0.05 ppm) y aves de corral (0.1 ppm) referidas a un contenido de humedad de 12 %.

8.4.3. Tricotecenos

Conocidos unos 148 tipos distintos, los tricotecenos son producidos por los hongos *Fusarium*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*, *Trichothecium*, *Myrothecium*, otros hongos y algunas plantas superiores.

Son solubles en agua, pueden encontrarse en forma de aerosoles, son estables a la acción de la luz (al contrario de las aflatoxinas). Su característica química es un anillo tetracíclico de scirpenol.

Sólo un pequeño número de los tricotecenos conocidos contaminan los alimentos para seres humanos o para animales, entre ellos el deoxinivalenol (DON), el nivalenol (NIV), el diacetoxiscirpenol (DAS) y la toxina T-2 y, con menos frecuencia, ciertos derivados (3-Ac-DON, 15-Ac-DON, fusarenon-X y toxina HT-2).

Son inmunosupresores e inhiben la síntesis de proteínas a nivel ribosómico y son absorbidos rápidamente a nivel intestinal. También provocan episodios teratogénos y embriotóxicos. Se transforman por hidrólisis, epoxidación, hidroxilación y glucoronación en otros metabolitos menos tóxicos.

Pueden contaminar los alimentos a los granos destinados a la alimentación, induciendo emesis y hemorragia en los pulmones y el ce-



rebrotado y daño en la médula ósea debido a que inhibe la síntesis de proteína y de ADN.

De todos los tricotecenos, el que se encuentra más a menudo en alimentos para seres humanos y para animales es el DON y la Toxina T-2, ambas son eliminadas rápidamente por heces y orina.

8.4.3.1. Deoxinivalenol

Deoxinivalenol (DON) también denominada vomitoxina por los síntomas eméticos que causa.

Pertenece al grupo de los tricotecenos igual que la Toxina T-2 y es una micotoxina producida por hongos del género *Fusarium*: *Fusarium culmorum* y *Fusarium graminearum*, que son abundantes en cereales en periodos de frecuentes lluvias seguidas de un corto periodo seco.

En esta como en la mayoría de las micotoxinas, el factor preventivo más importante es el almacenamiento de grano a niveles de humedad por debajo de 14 % de humedad, siendo rangos de 22-23 % los óptimos para su crecimiento. (Diekman y Green, 1992).

Es un compuesto muy estable ya que no se degrada ni ante altas temperaturas (Eriksen and Alexander, 1998).

El mecanismo de acción de DON es la inhibición de la síntesis de DNA, RNA y proteína a nivel ribosomal. Niveles altos provoca vómitos en cerdos y dosis bajas reduce crecimiento y consumo de pienso, ambos procesos están relacionados con su interacción con receptores de serotonina (Eriksen and Alexander, 1998).

Toxicidad, La LD50 oral es 46 mg/kg en ratón. Niveles inferiores se caracterizan por vómitos, rechazo de alimento, pérdida de peso y diarrea. Una exposición continuada provoca necrosis tisular. (Fioramenti et al 1993 citados por Eriksen and Alexander, 1998)

En la recomendación 2006/576/CE de la Comisión, de 17 de agosto de 2006, se consignan valores de 5 mg/kg En piensos compuestos completos y en piensos complementarios de uso en acuicultura con un contenido de humedad de 12 %.

8.4.3.2. Toxina T-2

Micotoxina perteneciente al grupo de tricotecenos y obtenida por extracción alcohólica de los hongos *Fusarium sporotrichioides*



y *F. poae* (Jurado, 1989). La toxina T-2 se produce en cereales y como otras micotoxinas, está relacionada en particular con períodos prolongados de tiempo lluvioso durante la cosecha. Es la causa de la «aleucia tóxica alimentaria» (ATA), (IARC, 1993b) cuyos síntomas comprenden fiebre, vómitos, inflamación aguda del aparato digestivo y diversas alteraciones sanguíneas. Aunque el efecto más importante de la toxina T-2 es su actividad inmunodepresora. Provoca una reducción de la ingesta en cerdos con 0,5 ppm, además de infertilidad acompañada de lesiones en útero y ovarios (Rafai *et al.*, 1995).

Hasta la fecha, no han sido establecidos límites máximos o recomendaciones para esta micotoxina en el ámbito europeo.

8.4.4. Zearalenona

La Zearalenona es una micotoxina estrogénica de amplia distribución producida por los hongos del género *Fusarium*, *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. Equiseti* y *F. crookwellense*. (FAO, 2003) Han sido detectadas principalmente en Maíz, aunque también en trigo, cebada, avena y sorgo. A diferencia de otras micotoxinas también se pueden presentar en climas fríos.

Es un compuesto estable durante las fases de almacenamiento, molienda y extrusión involucrados en la fabricación de piensos de uso en acuicultura. Es por tanto estable a altas temperaturas.

Químicamente la zearalenona corresponde a una lactona ácida resorcílica, y es capaz de estimular receptores celulares para estrógenos, causando síntomas de hiperestrogenismo en algunas especies. Por lo que en algunos mamíferos se dan problemas vinculados al sistema reproductivo e infertilidad. El sistema genital inmaduro de estos animales sufre grandes cambios al ser expuesto a ZEA, los que incluyen tumefacción e incremento del tamaño y peso de la vulva, dilatación mamaria y, en casos extremos, prolapso vaginal y rectal (Diekman y Green, 1992). En hembras preñadas esta micotoxina causó muerte neonatal, momificación fetal, crías mortinatas, entre otros efectos (Diekman y Green, 1992). Las especies animales más afectadas son hembras porcinas jóvenes en las cuales ocasiona una toxicosis conocida como «vulvovaginitis porcina».



Se conoce la capacidad del hongo *F.graminearum* para producir zearalenona junto con desoxinivalenol, siendo esta combinación posible causa en algunos brotes de micotoxicosis agudas en personas.

De forma independiente, la ZEA tiene baja toxicidad en administración oral como intraperitoneal en ratones, LD50 oral con valores >20,000 mg/kg (Kuiper-Goodman *et al.* 1987, JECFA 2000).

En humanos la excreción se produce por la orina (Kuiper-Goodman *et al.* 1987), en forma de conjugados glucurónicos.

En la recomendación 2006/576/CE de la Comisión, de 17 de agosto de 2006, se consignan valores de 2 mg/kg en materias primas para piensos y 3 mg/kg de forma específica en maíz y derivados. No existe recomendación para piensos completos de uso en acuicultura, aunque simplemente como referencia podemos decir que el valor más restrictivo se ha recomendado en pienso de lechones y cerdas nulíparas, con 0,1 mg/kg para piensos con un contenido de humedad de 12 %.

8.4.5. Fumonisin

Producidas por el hongo *F. moniliforme*, un moho presente en todo el mundo y que se encuentra con frecuencia en el maíz (IARC, 1993d).

Fusarium verticillioides, solo se presentan en maíz. Las fumonisin bloquean la síntesis de esfingolípidos complejos y causan lesiones en tejido nervioso y en otros órganos

La mayor incidencia se da en equinos causando «leucoencefalomalacia de los caballos» (necrosis de la sustancia blanca del cerebro) y el «edema pulmonar en los cerdos» (acumulación de líquido en el pulmón). Estudios posteriores han demostrado que ocasionan cáncer de hígado en ratas y cáncer esofágico en primates. En humanos se considera que las fumonisin son potenciales carcinógenos ya que, estudios epidemiológicos indican una fuerte correlación entre el consumo de maíz contaminado y la incidencia de cáncer esofágico, particularmente en ciertas regiones de China y Sudáfrica.

Actúan a nivel celular, impidiendo el crecimiento y la diferenciación celular, generando apoptosis en diferentes tipos de células.

Fumonisin B1 (FB1) es soluble en agua lo cual en el caso de maíz contaminado ayuda a reducir su contenido mediante molindas húme-



das (obtención de almidón de maíz), sin en cambio una molienda seca de maíz contaminado genera gluten y harinas contaminadas.

En caso de contaminación, la eliminación es rápida, excepto una cierta cantidad persistente en hígado y riñón. Es la más importante aunque se conocen otras 6 toxinas: FB2, FB3, FB4, FA1, FA2 y FA3 (Jay, 2000).

El hongo más importante productor de FB1 es *F. moniliforme*, el que requiere una actividad hídrica mínima de 0,87 una temperatura mínima de 3 °C y una actividad hídrica máxima de 0,99 una temperatura máxima de 37 °C, y en pH entre 3 y 9,5.

Respecto a la producción animal, se han detectado menores tasas de crecimiento en cerdo, con afectación de la calidad de la carne en el tramo final del engorde descrito como incremento del depósito de grasa y menor producción de carne magra. En ganado lechero se detecta una disminución de producción de leche (Whitlow y Hagler, 2002) pero no existe pérdida de peso en ganado de carne, posiblemente por detoxificaciones en el rumen (actividad protozoaria).

Desde el punto de vista regulatorio, en la recomendación 2006/576/CE de la Comisión, de 17 de agosto de 2006, se consignan valores de 60 mg/kg en maíz y derivados. Existe una recomendación específica para piensos completos y piensos complementarios para peces de 10 mg/kg para piensos con un contenido de humedad de 12 %.

8.4.6. Patulina

Es una micotoxina producida por varias especies de *Aspergillus* y *Penicillium*. Se encuentra en el jugo de manzana y uva no fermentado (manzanas podridas contaminadas con *Penicillium expansum*) y en cosechas.

Otros hongos que la producen son: *P. patulatum*, *P. expansum*, *P. claviforme*, *Aspergillus clavatus*, *A. terreus*, *Byssoschlamys nivea* y *B. fulva* (Jay, 2003).

Tiene ciertas propiedades antibióticas y ha sido demostrado que es carcinogénico y mutagénico y ocasiona daño cromosómico en sistemas biológicos. En vacas intoxicadas se observa una incoordinación de movimientos, a veces temblores y excitación, parálisis y caídas. En el plano de la digestivo se observa anorexia, suspensión de la rumia



y constipación (Jurado, 1989) y puede alterar el metabolismo de los nutrientes por los microorganismos del rumen, pudiendo afectar negativamente la salud y la productividad del animal.

Algunos hongos productores de esta micotoxina pueden desarrollarse por debajo de los 2 °C y con 0,81 de actividad hídrica. *P. patulatum* y *P. espanxum* se han desarrollado con 0,83 y 0,81 de actividad hídrica, respectivamente. La producción de patulina se ve favorecida cuando el medio tiene un pH de entre 4,5 y 5 (Jurado, 1989; Jay 2003).

Hasta la fecha, no han sido establecidos límites máximos o recomendaciones para esta micotoxina en el ámbito europeo.

8.4.7. Cornezuelo del centeno

Cornezuelo es el nombre dado a los esclerocios (cuerpos de especies de hongos pertenecientes al género *Claviceps*. Los alcaloides que provienen del ergot se denominan ergoalcaloides y tienen como características una estructura tetracíclica llamada ergolina. Los tres grupos de alcaloides se denominan: ergotoxina, ergotamina y ergonovina.

Los alcaloides del cornezuelo (ergolinas) son derivados del ácido lisérgico. Los alcaloides del cornezuelo producen dos modalidades diferentes de enfermedad, según el hongo de que se trate (*C. purpurea*, *C. fusiformis*). El ergotismo, provocado por los alcaloides ergotamina-ergocristina producidos por *C. purpurea*, se caracteriza por producir gangrena seca de las extremidades, además de síntomas gastrointestinales y estimulación a nivel central del sistema nervioso. La intoxicación resultante de la ingestión del alimento contaminado por *C. fusiformis* se caracteriza principalmente por síntomas gastrointestinales y está relacionada con los alcaloides de tipo clavina. La Ergotamina es metabolizada en el hígado y el 90 % de los metabolitos se excretan en la bilis. Solamente trazas de la toxina no metabolizada se pueden encontrar en orina y heces.

La eliminación de la membrana del cornezuelo por medios mecánicos asegura la eliminación de aproximadamente el 80 %. Otra disminución de la presencia en materias primas de alimentación animal es que, a diferencia de algunas micotoxinas, los alcaloides del grupo de la ergotamina son destruidos a altas temperaturas, por tanto hay un menor riesgo de su presencia en los piensos de uso en acuicultura (extruidos).



El Real decreto 465/2003, de 25 de abril, sobre sustancias indeseables en alimentación animal, refleja un límite máximo en piensos que contengan cereales no molidos (en los piensos completos de uso en acuicultura que los contienen son molidos previamente) de 1.000 mg/kg expresado para piensos con un contenido de humedad del 12 %.

BIBLIOGRAFÍA

- ALMUDENA ANTÓN y JESÚS LIZASO. PCBs Y DIOXINAS Fundación Ibérica para la Seguridad Alimentaria . Madrid España.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), 2000. Reseñas Toxicológicas de la diferentes plaguicidas. Atlanta GA. USA. <http://www.atsdr.cdc.gov>.
- Codex Alimentarius: supplement to volume 1B. General requirements (food-hygiene). Rome, Food and Agricultural Organization of the United Nations, 1997.
- Decisión 1999/449/CE: Establece niveles máximos provisionales de PBC como indicadores fiables de la contaminación por Dioxinas (garantizarían las dioxinas presentes en un alimento en niveles residuales no peligrosos).
- Directiva 2001/102/CE del Consejo de 27 de noviembre de 2001, por la que se modifica la Directiva 1999/29/CEE del Consejo, relativa a las sustancias y productos indeseables en la alimentación animal.
- EFSA 2004, The EFSA journal 2004.
- ERIKSEN and ALEXANDER, 1998. «Fusarium toxins in cereals - a risk assessment».
- FIN-Fishmeal Information Network, BFRs guide, August 2005. www.fin.org.uk.
- FSA- UK Food Standards Agency, <http://www.food.gov.uk/>
- IFFO, International Fishmeal and Fish Oil Organisations Media release. August 2004.
- JESÚS MÉNDEZ BATÁN METALES PESADOS EN ALIMENTACIÓN ANIMAL, XVII Curso de Especialización FEDNA.
- J. GORDON BELL, FIONA MCGHEE, JAMES R. DICK and DOUGLAS R. TOCHER Dioxin and dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCBs) in Scottish farmed salmon (*Salmo salar*): effects of replacement of dietary marine fish oil with vegetable oils Institute of Aquaculture, University of Stirling, Stirling FK9 4LA, Scotland, UK.
- M.C.MARTÍ SOLÉ, R.M.^a ALONSO ESPADALÉ, A.CONSTANS AUBERT Micotoxinas (aflatoxinas y tricotecenos) en ambientes laborales. CENTRO NACIONAL DE CONDICIONES DE TRABAJO.



- M.PERAICA, B.RADIC, M.PAVLOVIC, Efectos tóxicos de las micotoxinas en el ser humano, Boletín de la Organización Mundial de la Salud, Recopilación de Artículos N.º 2, 2000.
- REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre sustancias indeseables en alimentación animal.
- RECOMENDACIÓN DE LA COMISIÓN de 17 de agosto de 2006 sobre la presencia de deoxinivalenol, zearalenona, ocratoxina A, toxinas T-2 y HT-2 y fumonisinas en productos destinados a la alimentación animal (2006/576/CE).
- US-EPA- U.S.Environmental Protection Agency (1998) *Arsenic, Freshwater Human Health Criterio for fish consumption*. www.epa.gov.
- US-EPA- (2000) *Technical Studies*. www.epa.gov/lead/leadpdf.htm.
- US-EPA, Office of Research and Development. 2002 Características toxicológicas de los contaminantes orgánicos persistentes incluidos en la Convención de Estocolmo.
- REGULACIÓN DE LA COMISIÓN (EC) No 208/2005 de 4 Febrero de 2005, sobre Hidrocarburos aromáticos policíclicos.
- VAN DONGEN PWJ, DE GROOT ANJA. History of ergot alkaloids from ergotism to ergometrine.
- WILLIAM H. FARLAND, Ph.D., 2004- .U.S. EPA, Dioxin reassessment: the current state of scientific understanding.



9

LA ALIMENTACIÓN DURANTE LA ETAPA LARVARIA EN PECES. DESDE LA APERTURA DE LA BOCA HASTA EL FINAL DE LA METAMORFOSIS



LA ALIMENTACIÓN DURANTE LA ETAPA LARVARIA EN PECES. DESDE LA APERTURA DE LA BOCA HASTA EL FINAL DE LA METAMORFOSIS

M. Yúfera

Instituto de Ciencias Marinas
de Andalucía (CSIC)

9.1. INTRODUCCIÓN

En la industria de la acuicultura de peces marinos, el mantenimiento de una producción estable de alevines precisa de una gran cantidad de larvas que crezcan y se desarrollen saludablemente. La etapa larvaria en peces comienza con la eclosión de los huevos y dura varias semanas o meses, durante los cuales las larvas en desarrollo crecen a un ritmo muy elevado. De hecho, las larvas de peces constituyen los organismos que manifiestan un crecimiento más rápido entre los vertebrados. Además, esta fase se caracteriza por una permanente transformación de los órganos y estructuras anatómicas, especialmente las relacionadas con la obtención y procesamiento del alimento. Sólo cuando todos estos caracteres adquieren su desarrollo y funcionalidad definitivos se puede considerar que se ha alcanzado la etapa de juvenil, es decir que el alevín está completamente formado. En el juvenil las características externas y la funcionalidad de los órganos principales se asemejan a las del adulto exceptuando la función reproductiva. Cuando esta transformación se ha completado, el peso inicial a la eclosión se ha incremen-



tado en más de 1.000 veces en escasas semanas y los hábitos pueden haber cambiado drásticamente (Figura 1). Las demandas energéticas y nutricionales para mantener dicho desarrollo y un crecimiento de tal magnitud son muy elevadas y estrictas, por lo que cualquier fallo o carencia en el suministro de la alimentación adecuada se manifiesta como alteraciones del desarrollo, aparición de malformaciones, reducción del crecimiento, aumento de la vulnerabilidad ante los patógenos, descenso de la supervivencia e incluso mortalidades masivas. En definitiva una alimentación larvaria inadecuada trae como consecuencia un descenso del número de alevines viables y saludables para iniciar la etapa de preengorde, así como un descenso del rendimiento de producción.

En la naturaleza, esta etapa de la vida de los peces se ha considerado como una fase muy sensible en la que la mortalidad puede ser muy elevada (Hunter 1981, Theilacker 1986) debido en gran medida a la falta de presas adecuadas, sobre todo al iniciarse la alimentación, y a la predación por los animales planctívoros. De forma similar, en acuicultura las dificultades para criar y alimentar las larvas de peces de una forma satisfactoria, hacen de la etapa larvaria una de las fases críticas que puede limitar la producción final. La producción de juveniles viables en el laboratorio es de hecho aún una limitación para el cultivo de muchas especies de peces potencialmente interesantes para la industria acuícola.

No se puede desligar la alimentación de otros procesos del cultivo pero constituye una parte esencial. La ingestión de alimento es la única entrada de materia y energía para estos organismos en crecimiento, pero además hay que considerar que el alimento forma parte de ecosistema de cultivo, y que la viabilidad de las larvas se ve afectada por las características medioambientales del sistema, tanto fisicoquímicas (temperatura, iluminación, pH del medio, concentración de oxígeno, concentración de iones nitrogenados, turbulencia) como bióticas (densidad de larvas, concentración y calidad de presas, estado microbiano del medio) y ambas se pueden ver afectadas por el alimento ya sea vivo o inerte.

Un aspecto que merece especial mención es la amplia variabilidad que hay entre especies cuando se considera el tipo de desarrollo que



presentan y que está relacionado con sus respectivos hábitats y modos de vida. Así se pueden encontrar especies que se desarrollan en aguas frías, templadas o tropicales; en aguas continentales, transicionales o marinas; que presentan un crecimiento larvario normal o manifiestamente acelerado; que al nacer presentan aún un estado de desarrollo muy incipiente o por el contrario un desarrollo precoz relativamente avanzado; que los huevos y las larvas que nacen de ellos sean relativamente pequeños (1 mm o menos) o grandes (más de 3 mm); que las larvas lleven una vida pelágica durante toda la fase o que tornen a bentónicas para alcanzar la etapa de juvenil; y que cuando lleguen a juvenil su alimentación definitiva será herbívora, carnívora u omnívora. En la naturaleza esta amplia variabilidad de las modalidades de desarrollo y de la secuenciación temporal de los cambios se muestran adaptados a unos ambientes que le suministran la variedad de presas requeridas para desarrollarse hasta alevín. En los sistemas de cultivo la diversidad de presas se reduce a una o pocas especies, limitando la capacidad de elección y la variedad de los nutrientes ingeridos.

La práctica más común en larvas de peces consiste en una primera etapa de alimentación con presas vivas antes de pasar a los piensos preparados comerciales, cambio que generalmente se realiza al final de la fase. La cría larvaria y el uso de alimentos preparados presentan menos problemas en aquellas especies que tienen larvas de mayor tamaño y con un sistema digestivo desarrollado al iniciar la alimentación, mientras que las especies que tienen un tubo digestivo inmaduro presentan mas dificultades y requieren alimentarse con presas vivas por periodos mas prolongados.

La producción de peces marinos en los sistemas de cultivo intensivo está generalmente constituida por un ciclo biológico completo y cíclico. Es difícil señalar cual es la primera etapa o la más importante, ya que todas ellas son necesarias e indispensables. No obstante, la fase larvaria es tan complicada y sensible que puede limitar seriamente la producción. Tanto el éxito como la rentabilidad de la cría de larvas hasta la fase de alevín precisan de experiencia y tecnología en larvas y cultivo de plancton. En este capítulo se van a describir los eventos anatómicos y fisiológicos y prácticas más generales relacionadas con la alimentación de peces marinos en cultivo.

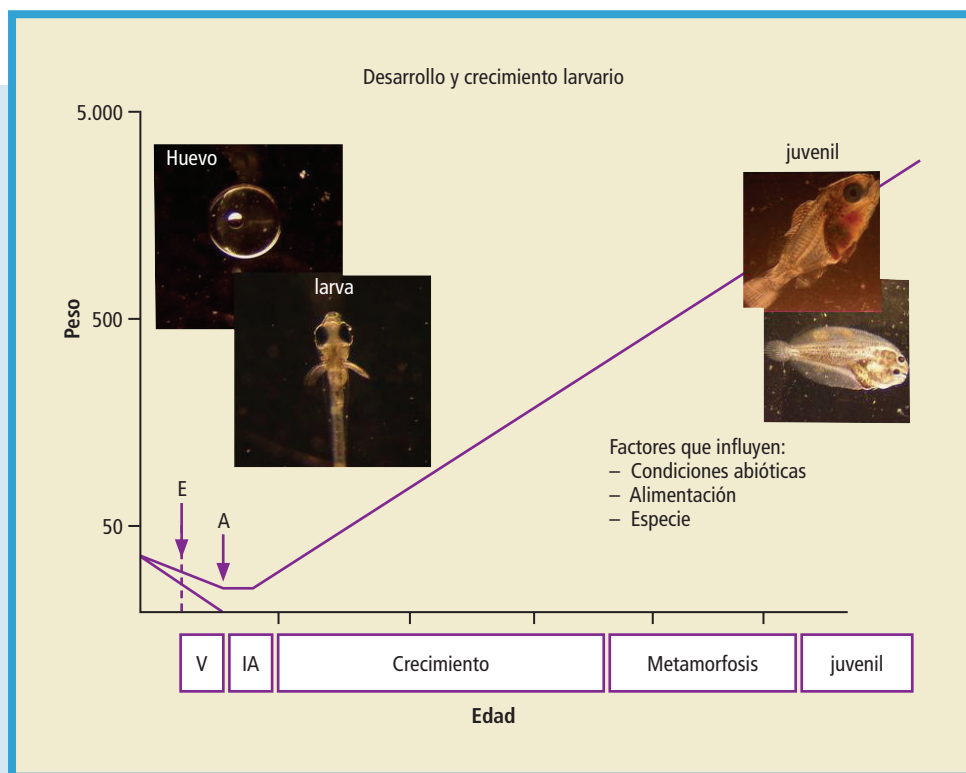


FIGURA 1.

Esquema general del incremento en biomasa y desarrollo larvario en peces marinos. E, eclosión. A, apertura de boca e inicio de la alimentación. V, fase de saco vitelino. IA, inicio de la alimentación.

9.2. ONTOGENIA MORFOLÓGICA Y FUNCIONAL DEL SISTEMA DIGESTIVO

Durante la etapa larvaria, el sistema digestivo y por lo tanto los procesos de digestión y asimilación de los nutrientes ingeridos, están en continua transformación siguiendo un proceso relativamente rápido y complejo. Las características estructurales y funcionales de cada especie en cada momento del desarrollo determinan las capacidades digestivas a las cuales se debe de adaptar el alimento para un desarrollo y crecimiento óptimos.



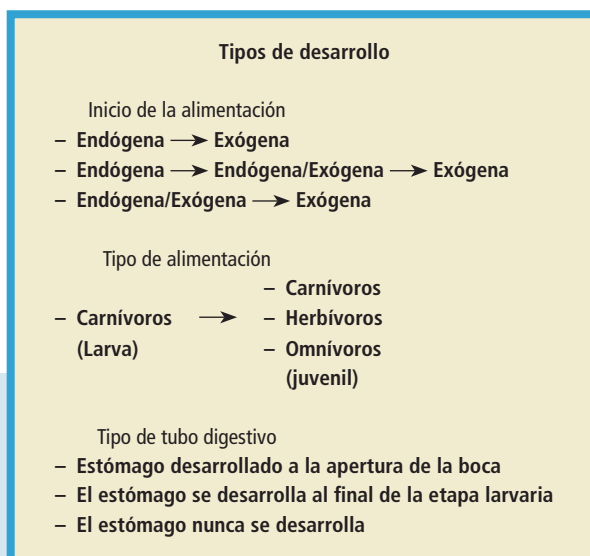
El embrión se desarrolla y crece en el interior de los huevos tras la fertilización utilizando las reservas vitelinas. La rotura enzimática del corion y la eclosión del huevo se produce en un momento más o menos avanzado de este desarrollo embrionario. De una forma general, en las especies marinas actualmente en cultivo, de la eclosión de los huevos nacen larvas que aún no desarrollan las estructuras necesarias alimentarse. El desarrollo hasta poder iniciar la alimentación se realiza a expensas de las reservas que aún quedan en el saco vitelino. A partir del agotamiento de las reservas, la materia y energía para completar el desarrollo dependerá exclusivamente del alimento ingerido. Las características anatómicas necesarias para que se pueda iniciar la alimentación exógena son aquellas relacionadas con la localización de las presas (ojos y órganos quimiorreceptores y sensoriales), captura (boca, cola y musculatura), ingestión, digestión y absorción (sistema digestivo). Este suele ser el caso más común en especies marinas, aunque en algunas especies la alimentación exógena puede comenzar prácticamente desde la eclosión.

En cualquier caso, se observan tres fases en el inicio de alimentación: 1) la etapa alimentación endógena o lecitotrófica mediante la utilización de las reservas vitelinas que posee la larva al nacer; 2) la etapa de alimentación mixta, durante la que la larva es capaz de alimentarse de presas del medio, pero aún mantiene parte de sus reservas vitelinas y continua utilizándolas; y 3) fase de alimentación exógena o exotrófica, en la que la alimentación depende en exclusividad de las presas capturadas.

Por otra parte también se pueden distinguir tres posibilidades atendiendo a las características morfológicas y funcionales del desarrollo: 1) especies cuyas larvas que presentan el estómago ya desarrollado al iniciar la alimentación externa, 2) especies cuyas larvas tienen un rudimentario tubo digestivo al inicio de la alimentación externa y que desarrollan el estómago al final de la fase larvaria, y 3) especies que nunca desarrollan un estómago.

Como se puede observar hay una gran variabilidad (Figura 2), en esta sección se describirá el caso más complicado desde el punto de vista de la alimentación: larvas que al nacer están sin desarrollar y que tendrán estómago funcional al final de la etapa larvaria. A este grupo

FIGURA 2.
Cuadro general de los diferentes tipos de desarrollos y variaciones que son comunes en peces marinos.



pertenecen muchas de las especies más habituales en la acuicultura marina europea como la dorada, la lubina, el rodaballo, el fletán, el bacalao o el lenguado.

9.2.1. Desarrollo ontogénico del sistema digestivo de peces marinos

El desarrollo ontogénico del tubo digestivo en peces es bien conocido, ya que se ha estudiado en muchas especies pertenecientes a familias diversas (Kjørsvik *et al.*, 1991; Boulhic y Gabaudan, 1992; Bisbal y Bengtson, 1995; Sarasquete *et al.*, 1995; Micale *et al.*, 2006). El patrón general es bastante similar en las diferentes especies. Las mayores diferencias, además de la presencia o ausencia de estómago en las fases avanzadas del periodo larvario, se deben a variaciones en la secuencia temporal en la que aparecen las distintas estructuras, y que está relacionado con los hábitos alimentarios durante estas primeras etapas.

Las larvas al nacer presentan un tracto digestivo incipiente, constituido por un simple tubo recto situado dorsalmente al saco vitelino que histológicamente es uniforme y que carece de aperturas anterior y posterior. Durante la reabsorción del saco vitelino, el tubo digestivo



se diferencia en dos tramos, una anterior formada por un epitelio escamoso que dará lugar al esófago, y una posterior formada por un epitelio columnar simple cuyas células poseen núcleos basales y proyecciones citoplasmáticas hacia el lumen que formará el intestino. Durante la fase larvaria se observan dos tipos de tubo digestivo: los que forman un bucle (común en los acantopterigios), y los que se mantienen rectos (común en clupeiformes, salmoniformes y cipriniformes).

La apertura de la boca y del ano sucede cuando las reservas vitelinas están agotadas, o casi agotadas. En este momento el tubo digestivo sigue siendo un tubo simple pero ya se puede diferenciar histológicamente en bucofaringe, intestino anterior, medio y posterior (Figura 3). Cada una de estas secciones se sigue desarrollando hasta conseguir un sistema digestivo completo al final de la transformación de juvenil (Figuras 3 y 4).

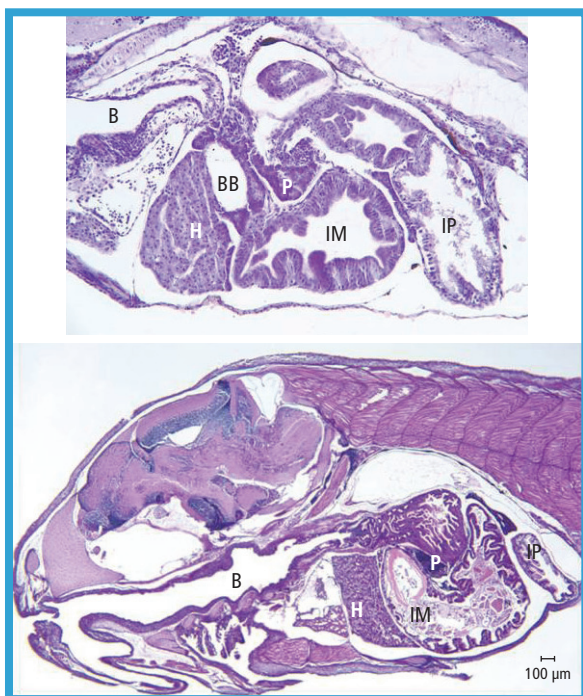
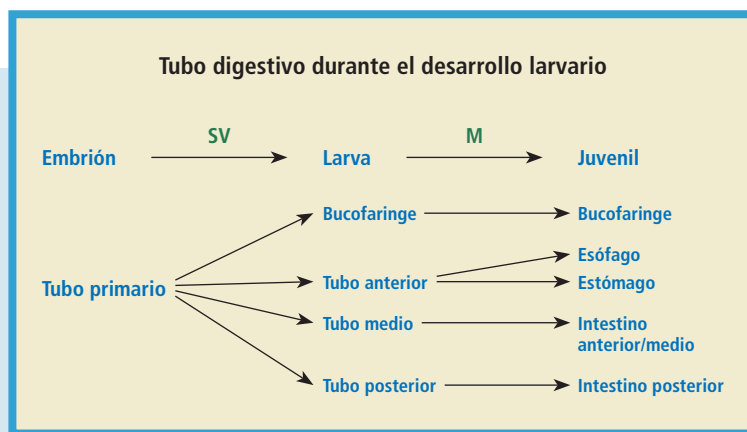


FIGURA 3.

Aspecto general del tubo digestivo en larvas de espáridos en los primeros días de alimentación (arriba) y al final de la fase larvaria (abajo). B, bucofaringe. IM, intestino medio. IP, intestino posterior. P, páncreas. H, Hígado. BB, Vesícula biliar. Fotos J.B Ortiz-Delgado y M.J. Darias.

**FIGURA 4.**

Esquema de las diferentes secciones observables durante el desarrollo desde un tubo digestivo incipiente hasta completarse en el juvenil.

SV: saco vitelino. M: metamorfosis.

9.2.1.1. La bucofaringe

Es la zona que tiene el primer contacto físico con el alimento. En esta cavidad se albergan una serie de estructuras necesarias para apresar, identificar el sabor, hacer el procesamiento primario y deglutir las presas. Al momento de la apertura de la boca, la mucosa de esta cavidad está formada por un epitelio con una monocapa de células escamosas, en la que inmediatamente empiezan a desarrollarse algunas papilas gustativas, mas adelante aparecen las protuberancias de los dientes en el borde mandibular y las células mucosas. Tanto las células mucosas como las papilas gustativas acaban tapizando el epitelio de la cavidad bucofaríngea. Además fuera de la cavidad bucal en el rostro aparece el epitelio olfativo que también contribuirá al proceso de detección e identificación del alimento. La importancia de la aparición de estas estructuras viene relacionada con los hábitos y estrategias de alimentación de cada especie, así como el entorno en que desarrolla su etapa larvaria.

9.2.1.2. El esófago

El esófago conecta la cavidad bucal con el resto del intestino, y se encuentra localizado caudalmente a la faringe y se extiende desde el



último arco branquial hasta la entrada al intestino anterior. Presenta un lumen relativamente estrecho y corto, alrededor del cual las células epiteliales escamosas se dividen para formar un epitelio estratificado de células cúbicas. Pocos días después de la eclosión se observan largos pliegues longitudinales del epitelio con pérdida de tejido conectivo. Este epitelio se muestra tapizado por células con microvellosidades cortas y regulares. Las paredes del esófago están rodeadas de una capa de musculatura circular estriada que se ensancha a medida que la larva crece. Alrededor de esta capa de músculo se sitúa una fina membrana serosa, y en el transcurso del desarrollo aparece una segunda capa de tejido muscular longitudinal.

En los primeros días tras la apertura de la boca ya se pueden observar células mucosas en el epitelio esofágico (Figura 5). Más adelante, dichas células se distribuyen profusamente entre otras células epiteliales, llegando a ser muy abundantes durante el primer mes de vida. Estas células mucosas secretan las mucinas, formadas de glicoproteínas que constituyen el componente mayoritario de la capa de moco insoluble en agua que recubre las paredes intestinales en los vertebrados y que tienen función lubricante y de barrera protectora ante los patógenos (Shephard 1994).

En muchas especies, la transición del esófago al futuro estómago se manifiesta por la total desaparición de las células mucosas y por

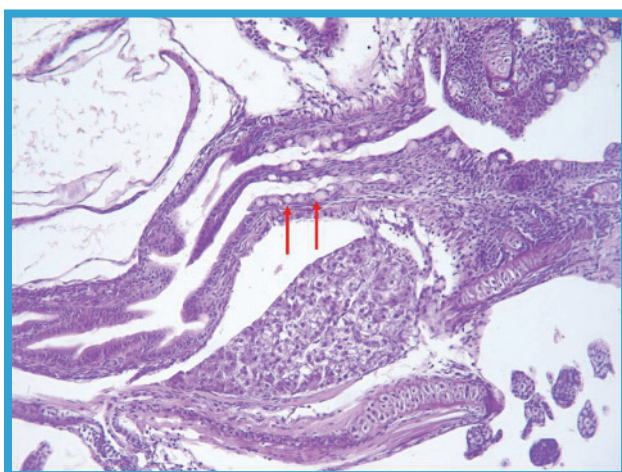


FIGURA 5.

Bucofaringe, esófago e intestino anterior de una larva de *Diplodus sargus* mostrando las células mucosas (flechas).



la sustitución del epitelio estratificado del esófago por uno columnar simple en el estómago.

9.2.1.3. El estómago

No todas las especies presentan estómago en su fase juvenil y adulta. En aquellas especies que sí lo poseen, el estómago proporciona una digestión proteica muy efectiva. No obstante durante la fase larvaria esta estructura se presenta sólo de forma primordial y se va desarrollando hasta ser completamente funcional en el juvenil.

Desde los primeros días del desarrollo, el epitelio estratificado del esófago es reemplazado por un epitelio columnar corto y simple en la entrada del estómago primordial y por un epitelio columnar alto en la zona más caudal, el cual se distingue de las células del resto del tracto digestivo. Generalmente ya en la primera semana es posible distinguir un pequeño embolsamiento con un esfínter pilórico primordial. La mucosa se compone de un epitelio cúbico simple sin signos de secreción y una capa de tejido conectivo sub-epitelial. Al igual que en el esófago y en el resto del intestino, pronto se pueden observar los primeros pliegues longitudinales de la mucosa. Días después se forma completamente el esfínter pilórico. Normalmente las primeras glándulas gástricas empiezan a aparecer a las pocas semanas de la eclosión, y durante los días siguientes van cubriendo progresivamente las paredes de la cavidad estomacal. El desarrollo de estas glándulas suele coincidir con la aparición de los ciegos pilóricos en aquellas especies que los presentan. Finalmente las glándulas gástricas cubrirán total o parcialmente y en diferentes zonas el lumen del estómago (Figura 6) dependiendo de la especie. El momento en que se completa este tapizado de glándulas gástricas varía igualmente entre especies, y suele oscilar entre uno y tres meses. Dichas glándulas son tubulares y están formadas por las células oxinticopépticas que segregan el pepsinógeno y el ácido clorhídrico que convertirá el pepsinógeno en pepsina. Esta enzima en ambiente ácido tiene una alta capacidad de proteólisis. De esta forma en el estómago una vez formado, tiene lugar una digestión ácida, que aumenta las posibilidades de digerir presas de mayor tamaño.

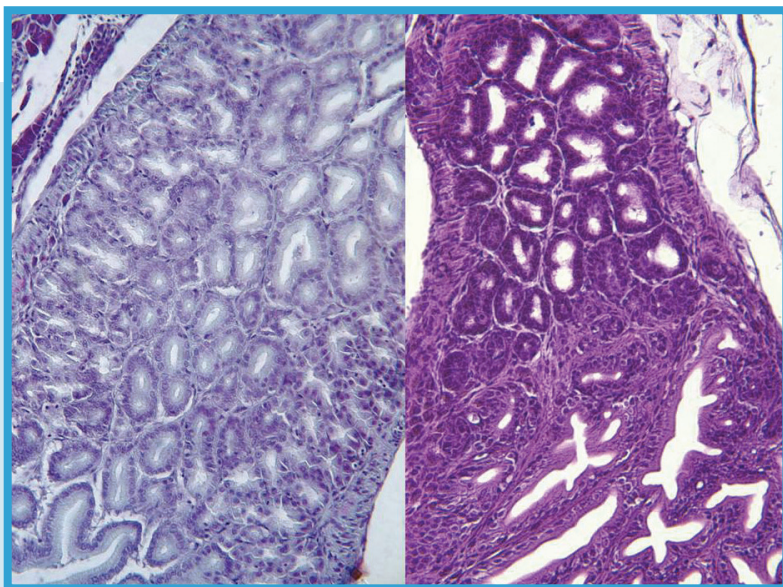


FIGURA 6.

Glándulas gástricas en *Diploodus sargus* al mes de la eclosión (izquierda) y en *Sparus aurata* a los dos meses de la eclosión (derecha). Fotos: J.B. Ortiz-Delgado y M.J. Darias.

9.2.1.4. El intestino

El intestino es la porción más larga del tracto digestivo. En esta zona se realiza o se completa la digestión del alimento y se absorben los nutrientes. En las larvas recién nacidas, la superficie del lumen intestinal está compuesta por una capa de epitelio columnar simple que posee microvellosidades en la zona apical de las células, denominado borde en cepillo. Las células de absorción intestinales o enterocitos se disponen en una única capa. En los primeros días del desarrollo aparece una constricción en el tercio posterior del intestino que forma la válvula íleo-rectal, que separa el intestino antero-medio del posterior. En las especies que presentan intestino en bucle, poco después de iniciarse la alimentación, el intestino crece rápidamente y necesita dar una vuelta para acomodarse en la cavidad visceral. En cualquier caso, desde este momento inicial se pueden distinguir dos regiones distintas, anterior-media y posterior. La región anterior de este intestino inicial recibe los



fluidos pancreáticos y biliares, y que posee numerosas células mucosas, sobre todo cerca del esfínter pilórico, el cuál aparece desarrollado días o semanas después de iniciarse la alimentación. Desde los primeros días aparecen pliegues transversales de la mucosa intestinal e incrementan su tamaño con el crecimiento larvario. También desde los primeros días se observan inclusiones lipídicas en los enterocitos que mas adelante se sustituyen por gotas de menor tamaño. En la región intestinal media, los pliegues intestinales son más abundantes y profundos. Y, por último, en la región intestinal caudal, los enterocitos no son tan altos como los del intestino anterior y muestran inclusiones en forma de vacuolas supranucleares de naturaleza proteínica prácticamente desde el inicio de la alimentación y durante un periodo de varias semanas. Estos enterocitos muestran una activa micropinocitosis en la base de las microvellosidades. La zona más cercana al ano que constituirá el recto se encuentra prácticamente desprovista de dichas vacuolas. Cuando el intestino posterior y el recto están completamente desarrollados y coincidiendo con la proliferación de las glándulas gástricas, los enterocitos pierden las inclusiones supranucleares anteriormente descritas, aunque éstas pueden sobrevivir en especies sin estómago.

9.2.1.5. Las glándulas digestivas

Las glándulas que forman parte del sistema digestivo, como el páncreas, hígado y vesícula biliar, también se muestran desarrolladas y funcionales al iniciarse la alimentación. Estas glándulas digestivas están implicadas en la digestión del alimento. Ya se ha visto que en esta primera etapa con ausencia de estómago la digestión ocurre siempre en un ambiente neutro o alcalino. En esta digestión contribuyen los enzimas pancreáticos y los jugos biliares.

El hígado y el páncreas aparecen inicialmente como una masa de células indiferenciadas situadas posteriormente a las reservas vitelinas. Las células se diferencian normalmente uno o dos días después de la eclosión. El hígado se sitúa ventralmente al tracto digestivo en desarrollo. Al final de la absorción de las reservas vitelinas el hígado se alarga y acomoda a la cavidad corporal. Una vez abierta la boca, los hepatocitos muestran ya un citoplasma granular evidente, observán-



dose gránulos de glucógeno y proteínas. También se pueden observar acúmulos de lípidos una vez iniciada la alimentación.

El páncreas tiene las dos regiones exocrina y endocrina, el páncreas exocrino se sitúa dorsalmente al intestino y posteriormente se extiende para ocupar ambos lados de la cavidad abdominal. Tras la reabsorción del saco vitelino, las células acinares pancreáticas se agrupan alrededor de conductos. Al iniciarse la alimentación, a veces incluso antes, ya se pueden observar gránulos de zimógeno acidofílicos. La parte endocrina del páncreas la forman las isletas de Landerhans que empiezan a aparecer progresivamente algunos días después. El páncreas se vuelve difuso después de varias semanas, generalmente coincidiendo con la aparición de las glándulas gástricas.

La vesícula biliar está igualmente presente al iniciarse la alimentación y se sitúa entre el hígado y el páncreas. Está formado por un epitelio escamoso simple distensible y el conducto biliar vierte en la parte anterior del intestino tras del esfínter pilórico. Hacia el final de la fase larvaria este epitelio se ha engrosado y está rodeado de tejido conectivo.

9.2.2. Funcionalidad y capacidad digestiva

Como sucede con los adultos, la digestión de los alimentos se realiza con el concurso de una serie de enzimas pancreáticas e intestinales. La digestión final del juvenil estará adaptada al tipo de alimentación del adulto, en cualquier caso, durante la fase larvaria la alimentación está basada en presas zooplantónicas. La capacidad de digestión es por tanto acorde a las características físicas y composición de estas presas. Desde el inicio de la alimentación el sistema digestivo, aún en los casos en los que su desarrollo se muestra mas atrasado, es funcional y puede utilizar los nutrientes ingeridos. Esta funcionalidad radica en la posibilidad de digerir los compuestos principales del alimento (proteínas, lípidos y carbohidratos) y absorber los productos resultantes. La absorción de lípidos en el intestino anterior y de macromoléculas proteicas en el intestino posterior se puede observar a las pocas horas de iniciarse la ingesta de alimentos (Deplano *et al.*, 1991; Segner *et al.*, 1994; Sarasquete *et al.*, 1995; Elbal *et al.*, 2004). Como se ha comentado anteriormente, esta capacidad para la digestión se debe a la acción

de las enzimas pancreáticas (proteasas, lipasas y glucosidasas) complementada por las enzimas intestinales (peptidasas y fosfatasas) (Figura 7). La capacidad y eficacia de utilización de los alimentos ingeridos va mejorando paralelamente con el desarrollo del tubo digestivo descrito anteriormente. Así se produce un aumento del volumen del lumen en relación al peso corporal y aparecen los pliegues en las paredes intestinales incrementando la superficie de digestión. Por otra parte, hay un cambio de digestión desde un ambiente neutro o alcalino e todo el tracto digestivo hacia una digestión previa en ambiente ácido seguida una digestión alcalina (en el caso de los peces con estómago), o una prolongada digestión alcalina (en el caso de peces sin estómago).

El componente mayoritario en peso seco de las presas ingeridas por las larvas es la proteína, o material proteico en general. Estos compuestos suministran el material primordial para el crecimiento que básicamente se consigue mediante deposición de proteínas. Además el

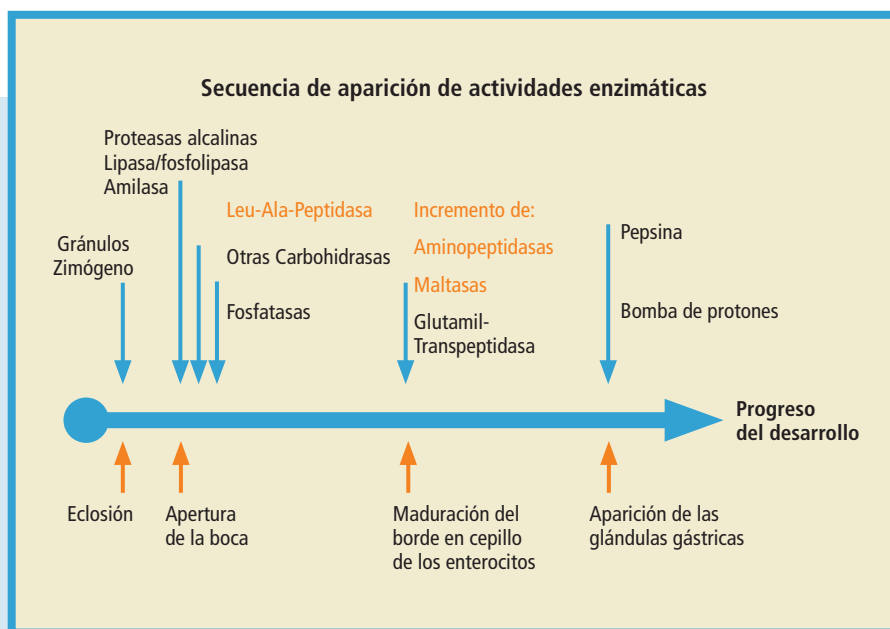


FIGURA 7.
Secuencia general de aparición de enzimas digestivos pancreáticos e intestinales en larvas de peces.



material proteico también se utiliza como fuerte energética. El aprovechamiento de esta fracción de la ingesta es pues crucial para el crecimiento y pervivencia durante las primeras fases del desarrollo. Desde la eclosión de los huevos se puede observar gránulos de zimógeno en el páncreas en los embriones (Kjørsvik y Reiesen, 1992; Ribeiro *et al.*, 1999; Gisbert *et al.*, 2004b). Estos gránulos se consideran como los precursores de la tripsina y la quimiotripsina. La digestión de proteínas se hace mediante la acción de proteasas alcalinas pancreáticas como la tripsina, la quimiotripsina y la elastasa, y de peptidasas citosólicas (Zambonino-Infante y Cahu, 2001). La actividad de estas enzimas se detecta bioquímicamente desde los primeros momentos (Zambonino-Infante y Cahu 1994; Oozeki y Bailey, 1995; Moyano *et al.*, 1996; Martínez *et al.*, 1999; Cara *et al.*, 2003). La capacidad de dichas enzimas para romper macromoléculas de proteínas es limitada. Por esto, estas moléculas se absorben por pinocitosis por los enterocitos del intestino posterior para su digestión intracelular (Govoni *et al.*, 1986). El ulterior desarrollo del estómago, en las especies con estómago, permite que la digestión tenga lugar en un ambiente ácido y sea más efectiva (Karpoor *et al.*, 1975; Segner *et al.*, 1994). La aparición de las glándulas gástricas indica la formación y desarrollo de la funcionalidad del estómago. El descenso de pH en el lumen del estómago en desarrollo y aumento de la actividad péptica es pues un proceso gradual durante varios días o semanas. Paralelamente, los enterocitos de las paredes intestinales desarrollan las enzimas de membrana del borde en cepillo y la acción complementaria de la leucina aminopeptidasa se incrementa consiguiéndose así una proteólisis muy efectiva que se ha considerado como indicativo de la maduración intestinal (Zambonino-Infante y Cahu, 2001) y el inicio de la transformación digestiva a juvenil.

Junto con las proteínas, las grasas aportan la energía necesaria para el desarrollo y participan en la estructura de los tejidos durante la etapa larvaria. La digestión de las grasas ingeridas se realiza con las lipasas. En larvas de peces las lipasas secretadas por el páncreas son la lipasa activada por sales biliares y la lipasa pancreática, y la fosfolipasa A2. (Zambonino-Infante y Cahu 2001; Murray *et al.* 2003), siendo la primera la mas relevante. Las lipasas se detectan en larvas de peces desde el inicio de la alimentación, y su actividad muestra un patrón similar al



de la tripsina, con un incremento inicial y valores sostenidos con ciertas fluctuaciones durante toda la fase larvaria.

A pesar de que el alimento vivo tiene un bajo porcentaje de carbohidratos, la actividad de las amilasas se puede también detectar desde el inicio de la alimentación. En diversas especies se ha encontrado un fuerte incremento inicial de la actividad amilásica después de la apertura de la boca y progresivo descenso durante el posterior desarrollo y crecimiento larvario. La función de la α -amilasa en estos estadios iniciales no se conoce bien. Algunos autores proponen que está programada genéticamente (Zambonino-Infante y Cahu 2001) y que su actividad sería independiente de la composición de la dieta. De hecho la expresión génica del ARNm que codifica el precursor de la amilasa está presente desde el nacimiento de la larva y muestra un patrón similar (Douglas *et al.*, 2000; Darias *et al.*, 2006). Una posible razón para esto es la necesidad de producir suficientes enzimas para el inicio de la alimentación, y poder aprovechar esta fracción rica en energía de los alimentos. El inicio de la natación y el coste del crecimiento demandan mucha energía, por lo que es necesario utilizar con eficiencia carbohidratos y lípidos, dejando los aminoácidos para la construcción de las proteínas estructurales. Por otra parte sí se ha descrito en algunos casos una respuesta de la actividad amilásica a la composición de la dieta en los estadios finales de la etapa larvaria. En cualquier caso, este hecho enlazaría con los hábitos alimentarios definitivos de los juveniles y adultos.

Durante bastante tiempo se había postulado que el equipamiento enzimático larvario en estos primeros estados era insuficiente y que la digestión se producía mediante las enzimas aportadas por las propias presas ingeridas. No obstante, diversos estudios en la última década han mostrado que la potencial contribución de los enzimas exógenos es en general inapreciable o en todo caso baja en relación a las enzimas digestivas de las larvas (Cahu *et al.*, 1994; Moyano *et al.*, 1996; Díaz *et al.*, 1997; Kurokawa *et al.*, 1998). Está claro, que las larvas que inician la alimentación no pueden digerir el mismo tipo de alimento que los juveniles y adultos. No obstante los resultados de crecimiento obtenidos con microdietas experimentales en ausencia de presas vivas



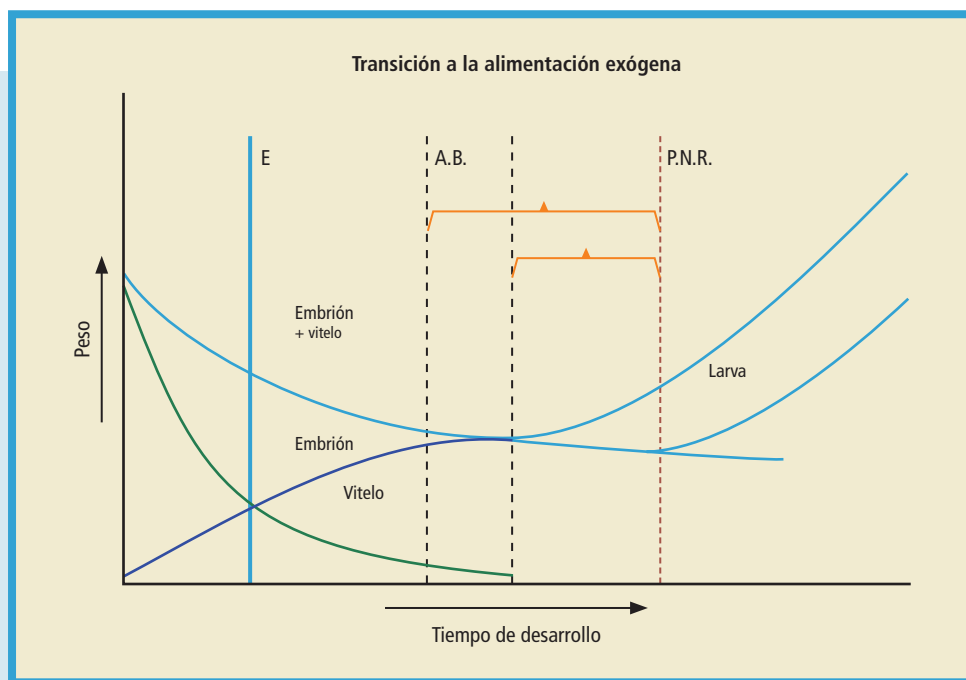
apoyan la capacidad de las larvas para digerir el alimento desde etapas muy tempranas (Cahu *et al.*, 2003; Yúfera *et al.*, 2005).

9.3. COMPORTAMIENTO ALIMENTARIO

Desde la eclosión del huevo hasta el inicio de la alimentación, el embrión utiliza las reservas vitelinas para desarrollarse. La eficiencia energética para la transformación del vitelo en tejido embrionario es característica de cada especie (Bagarinao, 1986; Arul, 1991; Parra y Yúfera, 2001), pero además se ve afectada por la cantidad de vitelo (que depende de las condiciones maternas) y la temperatura (Howell, 1980; Polo *et al.*, 1991; Buckley *et al.*, 2000).

9.3.1. El inicio de la alimentación, la transición de la alimentación endotrófica a exotrófica

Desde que se abre la boca la larva tiene un periodo de tiempo limitado para iniciar la alimentación (Figura 8). El momento de inanición irreversible se suele definir como el momento tras el cual más del 50% de las larvas son incapaces de alimentarse y consecuentemente no sobreviven a pesar de disponer de presas en el medio. El periodo en que se alcanza este punto varía entre especies dependiendo principalmente de la temperatura del agua (McGurk, 1984; Dou *et al.*, 2005) y la talla de la larva (Miller *et al.*, 1988), y oscila aproximadamente entre 3 días en aguas templadas a 20 días en aguas frías. Durante este periodo en ausencia de alimento se observan cambios en órganos y tejidos (Yúfera *et al.*, 1993; Gisbert *et al.*, 2004a). En los primeros días hay un estancamiento del crecimiento de los tejidos, posteriormente un adelgazamiento de las paredes del intestino, y deterioro en hígado y páncreas. Así pues, incluso periodos cortos de inanición, o alimentación escasa o inadecuada durante las primeras etapas del desarrollo pueden dar lugar a deformaciones y problemas permanentes para la adecuada utilización del alimento, y que pueden afectar seriamente a las larvas que superen el periodo de ayuna o stress alimenticio (Gwak y Tanaka, 2001; Dou *et al.*, 2002). Las limitaciones nutricionales afectan a todos los estados del desarrollo pero la resistencia a estas condiciones adversas aumenta con la edad y la talla del pez (Ehrlich *et al.*, 1976; Miller *et al.*, 1988).


FIGURA 8.

Esquema de la transición de alimentación endógena a exógena. A.B. indica la apertura de la boca que puede ocurrir al agotarse las reservas vitelinas o antes (líneas negras entrecortadas). E, indica el momento de la eclosión de los huevos. P.N.R., el momento de inanición irreversible. Las llaves muestran la ventana para el inicio de la alimentación desde la apertura de boca hasta el momento de inanición irreversible.

El inicio de la alimentación exógena es un proceso gradual. Cuando consideramos en su conjunto las larvas de una misma puesta, no todas ellas empiezan a alimentarse al mismo tiempo. Aún en el supuesto de que dispongan del alimento adecuado, es frecuente observar diferencias en el aprendizaje de captura y capacidad para alimentarse. Estas diferencias se deben en parte a las características individuales de las larvas, como el tamaño o la agresividad, pero también a la oportunidad de encuentros con la presa. Esta falta de sincronización es más o menos patente según la especie. Así, en algunas especies se observa que la totalidad de las larvas han iniciado la alimentación en unas pocas horas desde que se detecta la apertura de la boca, mientras que otras



requieren varios días (Figura 9). Además como todos los procesos del desarrollo esta variabilidad en el inicio de la alimentación también se ve afectado por las condiciones ambientales como la temperatura (Polo *et al.*, 1992; Doi *et al.*, 1997; Olsen *et al.*, 2000; Parra y Yúfera, 2000) o la intensidad de luz (Carton, 2005).

9.3.2. La predación, la captura e ingestión de presas

Son varios los factores que influyen en las posibilidades de ingestión en las larvas en desarrollo. Por una parte está la propia capacidad predadora que es algo intrínseco a cada especie, pero que tiene un margen de variación dependiente de las condiciones ambientales. La detección del alimento se realiza mediante los órganos sensoriales (vi-

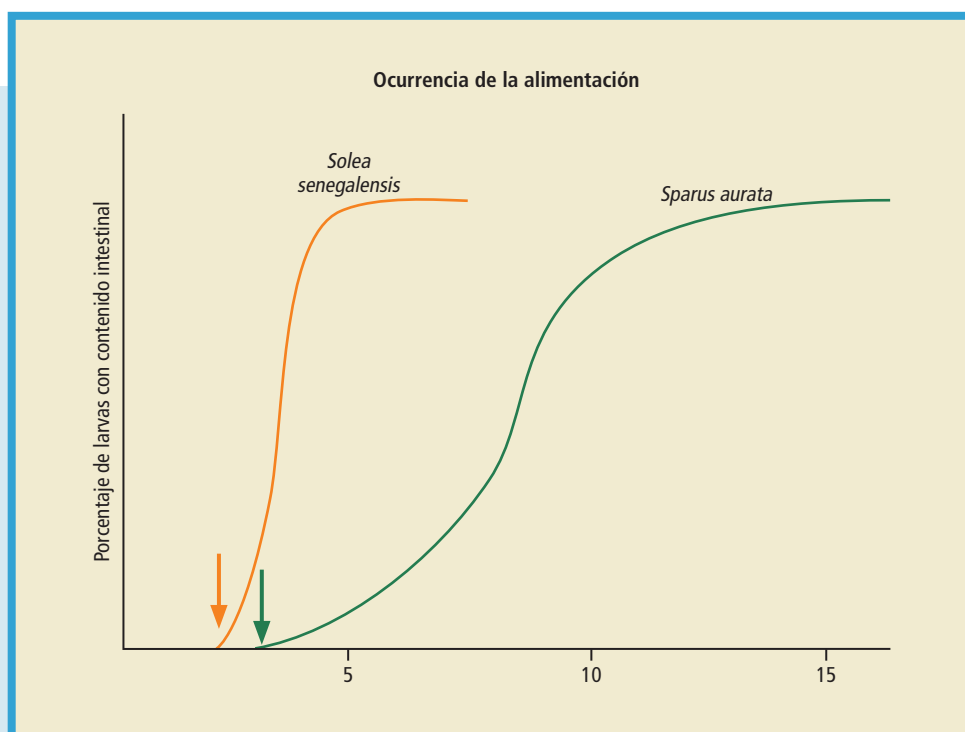


FIGURA 9.

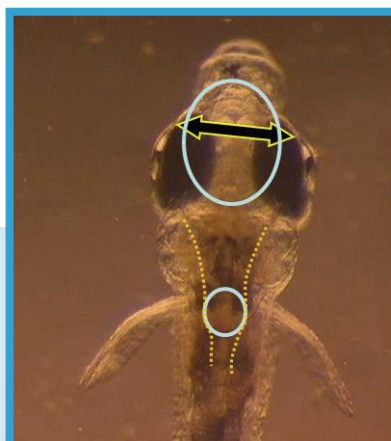
Porcentaje de larvas que son capaces de alimentarse durante los días posteriores a la apertura de la boca en dorada y lenguado cultivados a la misma temperatura.

sión, quimio-olfatorio y mecánico). En la captura participan la boca y la musculatura de la cola.

Por otra parte la ingestión también depende de factores extrínsecos a la larva, como es la disponibilidad de presas adecuadas. Esto quiere decir presas con apariencia, sabor, tamaño y el valor nutricional apropiado para mantener un estímulo predador permanente.

En las larvas de peces la elección de presas está limitada por el tamaño de la boca. En los primeros días, las presas son seleccionadas por su talla, más que por su sabor u otros factores. Las larvas pueden ingerir presas y partículas de alimento que presenten un diámetro similar a la apertura de la boca, pero suelen preferir tamaños inferiores a este máximo. Los valores registrados mas comúnmente oscilan entre el 25 y 50% del tamaño máximo (Shirota, 1970; Fernández-Díaz *et al.*, 1994; Munk, 1997; Cunha y Planas, 1999; Østergaard, *et al.*, 2005). Esto se debe a que las larvas engullen las presas enteras y es el diámetro de esófago quien define el tamaño máximo a ingerir (figura 10). Por esto es importante que la estructura de la presa no sea rígida. En los primeros días de alimentación estas paredes carecen de células mucosas podrían resultar con abrasiones por ingestión de presas o partículas de alimento excesivamente grandes o rígidas. El tamaño de la boca aumenta progresivamente durante el desarrollo, sobre todo durante los primeros días (Shirota, 1970; Fernández-Díaz *et al.*, 1994; Doi *et*

FIGURA 10.
Larva de pargo de 6 días en la que se ha sobreimpreso el teórico tamaño permitido por la apertura bucal y el admitido por el diámetro del esófago.





al., 1997), permitiendo a las larvas ingerir presas de tamaño creciente y con un contenido energético mayor (Polo *et al.*, 1992; Olsen *et al.*, 2000) (Figura 11). La transición a una nueva presa no es inmediata y sincrónica en la población por lo que es preciso normalmente un periodo de suministro mixto de presas.

Las tasas de ingestión, y por lo tanto la ración diaria ingerida, depende en gran medida de la concentración de presas. Durante los primeros días de alimentación la ingestión está determinada principalmente por la oportunidad de encuentro entre larva y presa, que evidentemente se ve favorecida a concentraciones crecientes de organismos-presa. La relación entre la tasa de ingestión y la concentración de presas es una curva de saturación. Según crece la larva, se desarrollan las capacidad natatoria y predadora, y la alimentación pasa de ser un actividad relativamente pasiva limitándose a tratar de ingerir las presas que se cruzan

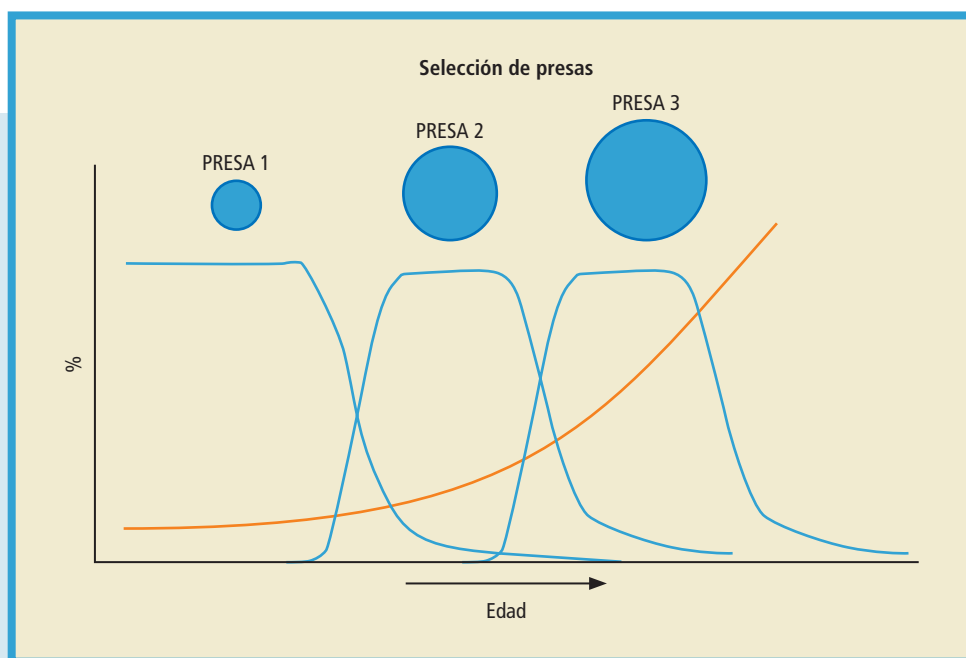


FIGURA 11.

Patrón de cambio en la selección de presas de tamaños crecientes según crecen las larvas de peces.



en la trayectoria de las larvas, a una predación activa, con búsqueda y persecución de las presas. El tiempo de paso por el tubo digestivo suele por el contrario tener una evolución negativa en relación con el número de presas disponibles. Esto quiere decir que muchas especies tienden a maximizar la ingestión en detrimento de la eficiencia de digestión. No obstante también hay especies que tienden a maximizar la digestión y no ingieren nuevas presas hasta que no han evacuado el contenido intestinal suficientemente digerido.

Los valores de ingestión obtenidos en larvas de peces marinos son muy variables. Además de la variabilidad que existe entre especies en el modo y hábitos alimentarios, hay una gran dificultad experimental para estas determinaciones. De una forma general se puede estimar que en los primeros días de alimentación exógena las larvas pueden ingerir más del 100 % de su propio peso al día (Parra y Yúfera, 2000, 2001; Wuenschel y Werner, 2004). Con el progreso del desarrollo y la consecución de una digestión más eficiente, la ingestión específica descende durante la etapa larvaria (Figura 12), aunque en alguna especie de desarrollo lento como en la dorada, la tasa de ingestión puede incrementarse durante las primeras semanas (Parra y Yúfera, 2000).

Desde un punto de vista práctico, en los cultivos intensivos de larvas es pues conveniente mantener un nivel mínimo de la densidad de presas para mantener unas expectativas razonables de encuentro de larvas con presas, pero no excesivamente altas para evitar su digestión parcial una vez ingeridas. Es por esto por lo que usualmente se suministran dos o más dosis diarias de presas vivas.

9.3.3. El coste energético y el crecimiento

El éxito en la captura de presas y por lo tanto la eficiencia del esfuerzo desplegado en la alimentación se incrementa con la edad y la longitud de la larva. La sensación de viscosidad del agua y el esfuerzo necesario para el desplazamiento es mayor en los organismos planctónicos de pequeño tamaño. Por esto, las especies de peces con una longitud larvaria menor al iniciar la alimentación pasan menos tiempo de natación activa para ahorrar energía. Necesitan por lo tanto incrementar su longitud corporal para desplegar menos esfuerzo y aumentar sus

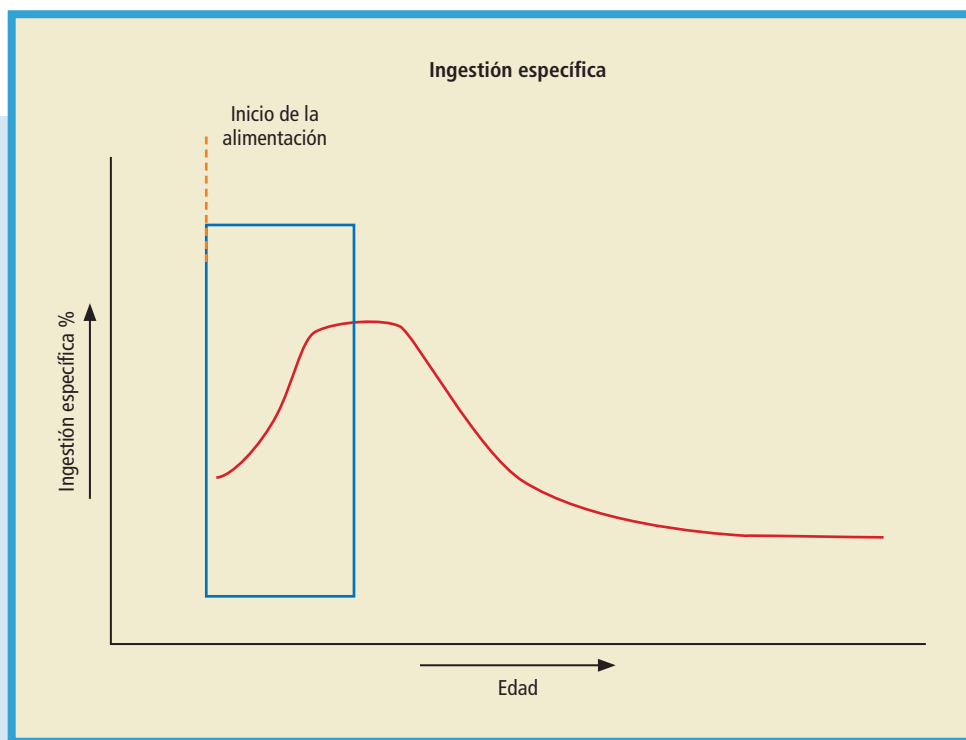


FIGURA 12.

Patrón general de la tasas de Ingestión específica (pero ingerido/peso de la larva) durante el desarrollo larvario.

posibilidades de captura (Hunt von Herbing y Gallager, 2000). Con una densidad de presas baja las larvas permanecen más tiempo nadando para mantener una ingestión mínima lo que requiere un gasto energético suplementario (Munk y Kiørboe, 1985; Puvanendran *et al.*, 2002). Este esfuerzo adicional sólo se puede mantener si se compensa con una ingestión suficiente. El balance positivo entre la materia y energía ingerida y el gasto energético que se precisa para dicha ingestión es el que permite el crecimiento y desarrollo de la larva. Una vez superados los avatares del inicio de la alimentación, durante el desarrollo aumenta la capacidad predatoria, y se ingieren presas de mayor tamaño, aumenta el volumen del tubo digestivo y la superficie de digestión y absorción, y además aparecen enzimas más efectivos en la digestión proteica. La



energía asimilada se utiliza para el desarrollo los procesos metabólicos y el crecimiento con patrones específicos en cada especie (Parra y Yúfera, 2001; Lemieux *et al.*, 2003). Con estas características, las larvas que dispongan de presas en cantidad suficiente crecerán entre el 10 y el 30% diariamente durante varias semanas.

9.4. ALIMENTO VIVO

Ya se ha comentado que en la naturaleza las larvas de peces se alimentan de plancton. Las especies zooplanctónicas que constituyen la dieta en cada especie cumplen las condiciones y requisitos para que su selección y captura sea efectiva. En principio, las especies o grupos de especies potencialmente utilizables en acuicultura son muchas, pero debido a las dificultades para su cultivo y producción de forma masiva y que sea rentable, son muy pocas las especies o grupos que se utilizan de forma generalizada. Esto significa una pérdida de la variedad de presas, y por tanto en la dieta, a favor de la disponibilidad y abundancia en los tanques de cría. Los grupos mas utilizados son microalgas, rotíferos, branquiópodos, cladóceros y copépodos. En este apartado se describen brevemente los aspectos más destacados de las dos presas mas utilizadas los rotíferos y la *Artemia*. No obstante hay que comentar que aunque el uso de los copépodos no está generalizado, este grupo merece especial atención ya que constituyen la presa más común de las larvas en su medio natural, y pueden llegar a representar un importante papel en el desarrollo de cultivos larvarios extensivos y semi-extensivos

Podemos considerar que para el cría de larvas en instalaciones de cultivo, se intenta establecer una cadena (luz + nutrientes inorgánicos) - (fitoplancton) - (zooplancton) - (larva). Dicha cadena puede ser más o menos completa dependiendo de las especies de zooplancton consideradas y el sistema que se utilice. Y puede ser realizada por completo en una instalación o depender del suministro de otros productores. Así se pueden obtener preparados de microalgas, o alimentos para rotíferos, quistes de *Artemia*, o zooplancton congelado o seco. El caso mas avanzado sería el preparado completo, no planctónico, para alimentar las larvas durante toda la etapa y que se tratará en el siguiente apartado.



9.4.1. Microalgas

El fitoplancton constituye la base de la cadena alimentaria en los océanos, e igualmente constituye el primer paso en la alimentación de larvas en cultivo. Las algas unicelulares se utilizan en acuicultura para la alimentación de herbívoros filtradores, principalmente bivalvos, primeros estadios de algunos decápodos y las presas zooplanctónicas que nos ocupan aquí.

Los grupos y especies más utilizadas se muestran en Cuadro 1. Las más comunes en el cultivo de rotíferos y *Artemia* son *Nannochloropsis*, *Tetraselmis*, *Isochrysis*.

CUADRO 1.

Algunas de las microalgas más comúnmente utilizadas en el cultivo de plancton y larvas de peces.

<i>Chlorophyceae</i> <i>Chlorella</i> sp., <i>Chlorella minutisita</i> , <i>Nannochloris oculata</i>
<i>Prasinophyceae</i> <i>Tetraselmis suecica</i> , <i>Tetraselmis chuii</i>
<i>Cryptophyceae</i> <i>Rhodomonas baltica</i>
<i>Prymnesiophyceae</i> <i>Isochrysis galbana</i> , <i>Isochrysis</i> aff. <i>Galbana T-iso</i>
<i>Eustigmatophyceae</i> <i>Nannochloropsis</i> sp., <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Nannochloropsis gaditana</i> .
<i>Bacillariophyceae</i> <i>Chaetoceros calcitrans</i> , <i>Skeletonema costatum</i> .

Las características biológicas que hacen interesantes a las microalgas para su uso en acuicultura son varias, como su tamaño (las que se utilizan en acuicultura oscilan entre 1 y 20 μm), su reproducción generalmente asexual por simple bipartición con unas tasas de duplicación de la población de pocas horas, su variabilidad y capacidad de adaptación a todo hábitat y condiciones, y su plasticidad metabólica que permite dirigir la maquinaria celular a la producción de compuestos que pueden ser de especial interés, especialmente polisacáridos y lípidos. La composición bioquímica de las microalgas varía bastante entre especies y puede ser sustancialmente modificada mediante las



condiciones de cultivo y nutricionales. De una forma general la composición de los principios inmediatos suele ser del 30-40 % de proteínas, 10-20 % de lípidos, y 5-15 % de carbohidratos (Fernández-Reiriz *et al.*, 1989; Yúfera y Lubián 1990; Muller-Feuga *et al.*, 2003). En cada especie además de una composición característica en principios inmediatos, el perfil lipídico que tienen especial interés nutricional. Especialmente importantes para el cultivo de larvas y por lo tanto para el enriquecimiento de sus presas son los contenidos en ácidos grasos poliinsaturados. El perfil de estos compuestos en la dieta microalgal de los organismos zooplanctónicos determina la composición final de estos como presas para las larvas de peces. Entre estos se ha demostrado la importancia de los ácidos docosahexanoico, icosapentanoico y araquidónico para las especies marinas.

Las tecnologías de producción de microalgas están bastante afinadas y se pueden producir en instalaciones relativamente sencillas. Las suspensiones de algas obtenidas se utilizan directamente para el cultivo o enriquecimiento de rotíferos y *Artemia*. También se producen industrialmente y se pueden encontrar en forma de pasta concentrada de células o polvo liofilizado que tienen las mismas propiedades para el cultivo. Otro aspecto que merece considerarse es el uso directo de las microalgas en los tanques de cría larvaria. Las microalgas pueden ser ingeridas directamente por las larvas desde el inicio de la alimentación y estimular la función intestinal (Cahu *et al.*, 1998). Además tiene un efecto indirecto al mejorar la calidad del agua y distribución de la iluminación en los tanques de cría, y mantiene el valor nutritivo de los rotíferos.

9.4.2. Rotíferos

Desde los años 70, los rotíferos y más específicamente *Brachionus plicatilis* (Figura 13) han constituido el alimento esencial durante las primeras etapas en especies marinas que tienen menor tamaño, tanto en peces como en crustáceos. El periodo de su utilización varía de escasos días a varias semanas según la especie alimentada. Después, esta presa suele ser reemplazada por los nauplios de *Artemia*. Durante las últimas tres décadas se han ido describiendo diferentes morfotipos de esta especie principalmente en base a su tamaño (Yúfera 1982; Snell

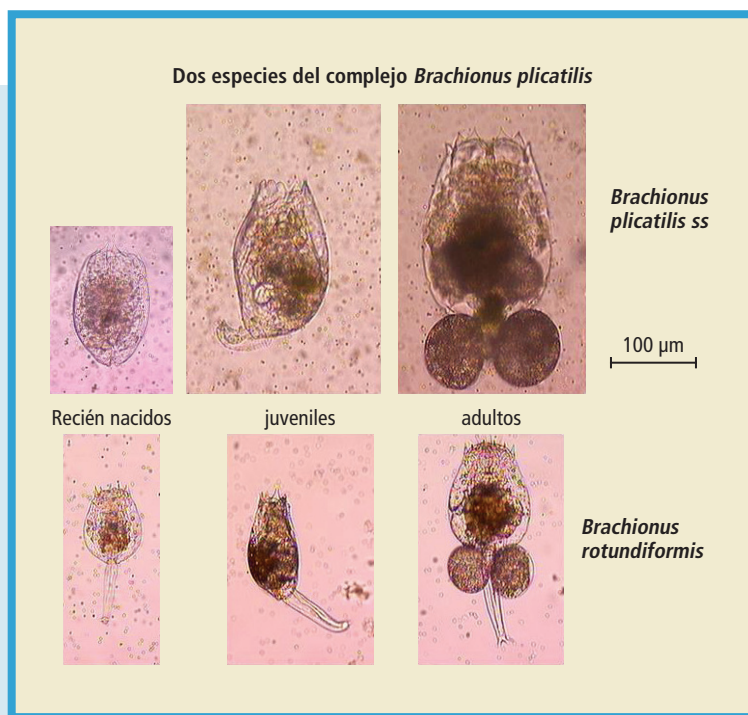


FIGURA 13.

Ejemplo de dos especies pertenecientes al complejo de especies de *B. plicatilis*. (*Brachionus plicatilis sensu stricto* y *B. rotundiformis*, tradicionalmente considerados como rotíferos grandes y pequeños respectivamente).

y Carrillo, 1984). En la actualidad se considera a este grupo como el complejo *B. plicatilis*, que agrupa las especies formalmente descritas, *B. plicatilis sensu stricto*, *B. ibericus*, *B. manjavacas* y *B. rotundiformis*, mas una serie de linajes discernibles con técnicas moleculares (Segers *et al.*, 1997; Fontaneto *et al.* 2007). No obstante, desde un punto de vista práctico para la acuicultura, se continúa con la clasificación de rotíferos pequeños, medianos y grandes.

Las características básicas de este organismo para su éxito en acuicultura son, además de un tamaño muy apropiado (entre 80 y 350 µm según cepas, morfotipos y edad), una elevada tasa de reproducción, una excelente tolerancia a las condiciones de laboratorio, alimentación



por filtración que admite microalgas, levaduras y preparados, así como su alto valor nutricional que además es relativamente manipulable mediante su alimentación. La gran ventaja de este alimento vivo es que siempre puede estar disponible, ya que es un recurso renovable cuya cadena de producción puede ser establecida en su totalidad en los criaderos evitando su dependencia de suministros externos. Los mayores inconvenientes son los episódicos colapsos de los cultivos y el esfuerzo requerido para su mantenimiento.

Este organismo se reproduce principalmente por partenogénesis, aunque también aparece una fase sexual en determinadas condiciones. Bajo las condiciones ambientales apropiadas y alimento siempre disponible una hembra partenogenética puede generar una amplia descendencia en pocos días. La población muestra un crecimiento exponencial mientras las condiciones de cultivos se mantengan óptimas. En cualquier caso el aspecto más relevante de su biología para su uso como presa viva en acuicultura es su elevada fecundidad, lo que le permite duplicar la población entre 24 y 48 horas (Yúfera *et al.*, 1983).

La composición de *Brachionus* suele oscilar aproximadamente entre 30 y 60% de proteínas, 10 y 30% de lípidos y 10 y 25% de carbohidratos (Øie y Olsen, 1997; Yúfera, 2001; Lubzens y Zmora, 2003). En el caso de los rotíferos, al igual que en todas las presas zooplanctónicas, el perfil lipídico es de máxima importancia para la nutrición de las larvas. Los perfiles de estas presas son relativamente modificables mediante la manipulación de la dieta (Lubzens *et al.*, 1989; Rainuzzo *et al.*, 1997). Así, eligiendo las especies, o la combinación de especies de microalgas para alimentar durante el crecimiento o enriquecimiento de las poblaciones de rotíferos antes de su utilización con microalgas o preparados comerciales se pueden conseguir el suministro de una composición dietaria apropiada a las larvas.

9.4.3. Artemia

La *Artemia* es un microcrustáceo que ya se utilizaba en acuariología a mediados del siglo XX antes de que se establecieran los cultivos de larvas de especies marinas. Desde el principio de la acuicultura marina ha constituido un alimento esencial para la cría de larvas de peces como en crustáceos. El término *Artemia* engloba un complejo de especies y superespecies tradicionalmente agrupadas en zygogenéticas y parte-



nogenéticas. Estos organismos se obtienen mediante la incubación de quistes obtenidos de la naturaleza. Estos quistes dan lugar a nauplios que tienen un alto valor nutritivo, y se pueden utilizar directamente como alimento. La talla de estos nauplios es 400 a 500 μm . Este es un organismo filtrador que se puede alimentar con microalgas, levaduras y harinas micronizadas, y que alcanza más de 10 mm de longitud en la fase adulto. Con este amplio intervalo de tallas, el periodo de su utilización de esta presa es de varias semanas, y se utiliza a continuación del periodo de alimentación con rotíferos o bien directamente desde el inicio de la alimentación según la especie alimentada. La fase mas utilizada en acuicultura es la del nauplio obtenido de los quistes (Instar I) que no se alimenta y se mantiene de sus reservas vitelinas (Figura 14). El instar II es ya capaz de alimentarse, y por lo tanto permite la manipulación de su composición mediante la dieta. La composición de *Artemia* varía entre los diferentes estados de desarrollo. En el nauplio suele oscilar aproximadamente entre 40 y 60% de proteínas, 12 y 30% de lípidos y 4 y 10% de carbohidratos (García-Ortega, *et al.*, 1998). Como en otras presas zooplanctónicas, el perfil lipídico es relativamente modificable mediante la manipulación de la dieta (Estévez *et al.*, 1998).

Siendo una excelente fuente de biomasa, el inconveniente de este organismo como presa es que su uso industrial se apoya en la recolección de quistes de la naturaleza en determinadas zonas productoras del mundo. Como producto extractivo esta sujeto a las

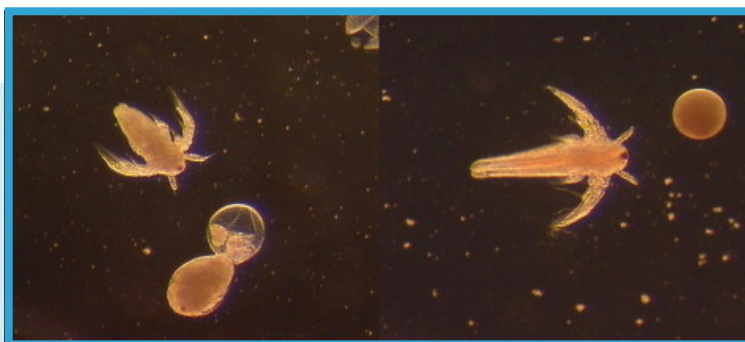


FIGURA 14.
Quistes y nauplios (instar I y II) de *Artemia*.



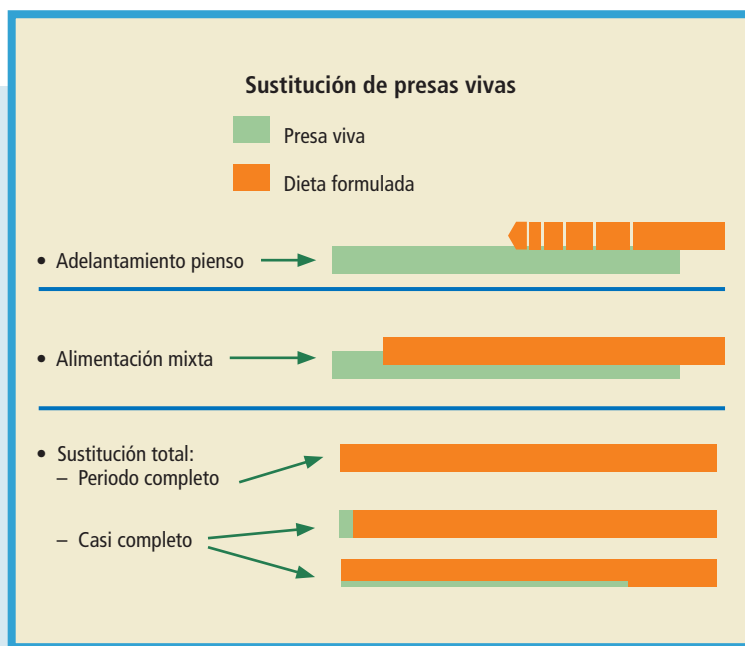
fluctuaciones naturales de producción que influyen notablemente en el mercado.

9.5. ALIMENTO INERTE

Al final de la etapa larvaria, y coincidiendo en cierta medida con la maduración gástro-intestinal se introducen los alimentos preparados. El cambio a alimento inerte suele iniciarse varias semanas después del inicio de la alimentación mediante el suministro conjunto de presas vivas y alimento inerte, y suele durar una o varias semanas según la especie. Una vez finalizado el cambio y adaptados a la nueva alimentación, generalmente cuando han alcanzado la fase juvenil, los peces están preparados para iniciar el preengorde. Esta transición de dieta viva a inerte se hace con dietas comerciales de arranque, que ofrecen granos de alimento de con tamaño de partícula creciente, entre 300 y 800 μm aproximadamente. La adaptación al alimento inerte puede conllevar en algunos casos un goteo de la mortalidad, que no llega a ser relevante cuando el alimento inerte se introduce en postlarvas con edades apropiadas y con un peso mínimo en las que el tubo digestivo está completamente desarrollado. No obstante, los intentos de adelanto a edades más tempranas pueden resultar en mortalidades importantes.

Es evidente que la producción y procesamiento del alimento vivo simultáneamente a la cría de larvas requieren un esfuerzo y espacio considerables. Por esto desde hace décadas se investiga la elaboración de piensos efectivos para esta fase larvaria. Son dos los frentes abiertos (Figura 15): Por una parte, se tiende al avance progresivo del momento del cambio a alimento inerte cuando se va alcanzando la funcionalidad gástrica (Baskerville-Bridge y Kling, 2000; Hamre *et al.*, 2001). Esta es una tendencia lógica que intenta reducir en lo posible el consumo de quistes de *Artemia*, ya que este constituye uno de los capítulos más costosos en la cría de larvas, y que además al ser un producto extractivo esta sujeto a fluctuaciones anuales de producción y calidad.

Por otra parte, se estudia el diseño y desarrollo de microdietas que se puedan utilizar desde el primer momento tras la apertura de la boca y que puedan reemplazar parcial, total o casi totalmente al alimento

**FIGURA 15.**

Esquema de los tipos de estudios para la sustitución de presas vivas por dietas inertes.

vivo. Este es un objetivo considerado casi utópico en los años 70 y 80, durante el desarrollo de las técnicas de cultivo larvario de peces marinos, pero que su consecución y uso comercial está en la actualidad bastante mas cerca. De hecho, a escala experimental ya se ha conseguido en alguna especie (Cahu *et al.*, 2003) y en general los resultados obtenidos son bastante prometedores (Yúfera *et al.* 2000, 2005). Las dificultades estriban en la necesidad de profundizar en el conocimiento de la ontogenia de la funcionalidad gástrica y de los requisitos nutricionales de las larvas, así como de su comportamiento alimentario ante estas microdietas.

Una microdieta para que pueda ser efectiva tiene que cumplir una serie de características:

- a) Accesible.- el tamaño de partícula debe de ser apropiado al tamaño de la boca en cada especie y momento del desarrollo.



Además, las partículas deben de estar en la concentración suficiente para favorecer la oportunidad de su encuentro.

- b) Flotante.- la partícula debe de hundirse lentamente y mantenerse en la columna de agua el tiempo suficiente para que pueda ser ingerida por larvas pelágicas y con escasa capacidad de natación en los primeros días.
- c) Apetecible.- la microdieta debe de ser atractiva y aceptable para las larvas. Debe de tener el color y olor adecuado para inducir su ingestión, y la textura y sabor neutro para evitar su descarte.
- d) Estable en agua.- la estructura de la partícula debe mantener todos los nutrientes tras su rehidratación durante el tiempo necesario para ser ingerida.
- e) Digerible.- las partículas se tienen que degradar en el tubo digestivo de larvas de peces con capacidad de digestión limitada y cambiante.
- f) Nutritiva.- es evidente que además de los requisitos anteriores, el alimento ingerido tiene que tener la composición adecuada para satisfacer las demandas energéticas y los requisitos nutricionales de cada especie durante el desarrollo.

Es decir, hay que encontrar el equilibrio entre una partícula suficientemente resistente y estable como para mantener intacta la estructura y sus ingredientes hasta la ingestión, y al mismo tiempo suficientemente degradable como para poder ser digerida por el tubo digestivo larvario en desarrollo. Uno de los problemas más difíciles de resolver es la propiedad para retener los micronutrientes y elementos solubles en agua, así como su liberación de forma apropiada. El requisito de pequeño tamaño es obvio en una dieta para larvas de peces marinos. El tamaño de las partículas ha de ser similar al de las presas que se ingieren durante la fase larvaria, oscilando entre 50 y 400 μm . Para conseguir esto se han desarrollado diversas metodologías de microparticulación de las dietas. Estas las podemos agrupar en dos categorías básicas: los microaglomerados y los microencapsulados.

Los microaglomerados se preparan mediante la aglutinación de los ingredientes de una dieta mediante un ligante por simple deshidratación, reacción térmica o química (Guthrie *et al.*, 2000; Hamre *et al.*,



2001; Yúfera *et al.*, 2002). Los ligantes son proteínas o carbohidratos (gelatina, quitina, alginato, zeína, carragenato etc.). La simple trituración y tamización de esta pasta seca consigue dichos tamaños, pero en general en los estudios realizados no se logra satisfacer los demás requisitos de estabilidad o contrariamente el de digestibilidad.

En las partículas microencapsuladas la matriz está envuelta con una cubierta insoluble en agua, que puede ser más o menos porosa y permitir el intercambio de fluidos y solutos en grado variable. Además la forma y tamaño son bastante apropiados (Figura 15). El objeto principal en estos métodos es tratar de prevenir la rápida desintegración de la partícula en agua y aumentar la retención de los componentes hidrosolubles de la dieta. Las tecnologías utilizadas son variadas cada una con sus ventajas y desventajas. Las partículas se consiguen mediante pulverización o agitación/emulsión. Los ligantes varían en cada caso y pueden ser alginatos, lípidos o proteínas. Las microcápsulas elaboradas mediante gelificación con alginatos o polimerización con proteínas tienen la posibilidad de incluir una formulación mas completa, pero su capacidad para retener micronutrientes solubles en agua como aminoácidos o ciertas vitaminas es limitada (Yúfera *et al.* 2002, Kvåle *et al.*, 2006). Las partículas de pared lipídica son bastante más eficientes en esta tarea de retención, pero los lípidos necesarios para su elaboración dificultan un equilibrio en la formulación de la dieta (Önal y Langdon, 2004a, b). Una posible solución a estos problemas pueden ser las microdietas complejas en las que microcápsulas de pared lipídica con los micronutrientes solubles se incluyen en una microdieta aglomerada o encapsulada con el resto de los nutrientes (Önal y Langdon, 2005).

Respecto a la formulación, la composición básica en macronutrientes mantiene las proporciones usuales analizadas en rotíferos y *Artemia* (Yúfera, 2001) y que de una forma general oscilan entre 50 y 60% de proteínas, 15 y 25% de lípidos, y entre 4 y 10% de carbohidratos. Mas complicado y aun objeto de investigación es la adecuación de las características específicas de dichos macronutrientes, como por ejemplo las proporciones idóneas de proteína, péptidos y aminoácidos libres, perfil aminoácidos, perfil lipídico y especialmente de los ácidos grasos, etc., así como las vitaminas y minerales. Precisamente las microdietas,

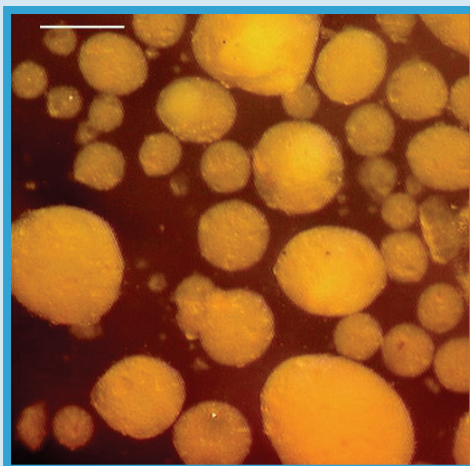
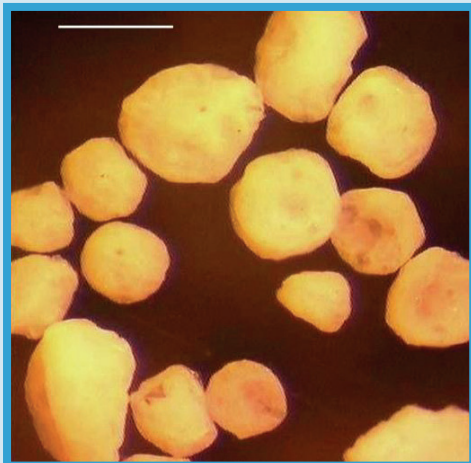


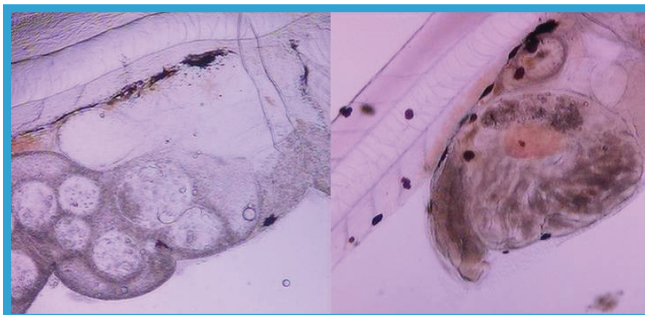
FIGURA 16.

Microcápsulas preparadas mediante emulsión polimerización de la proteína de la dieta (izquierda) y mediante emulsión y gelificación con alginato (derecha).

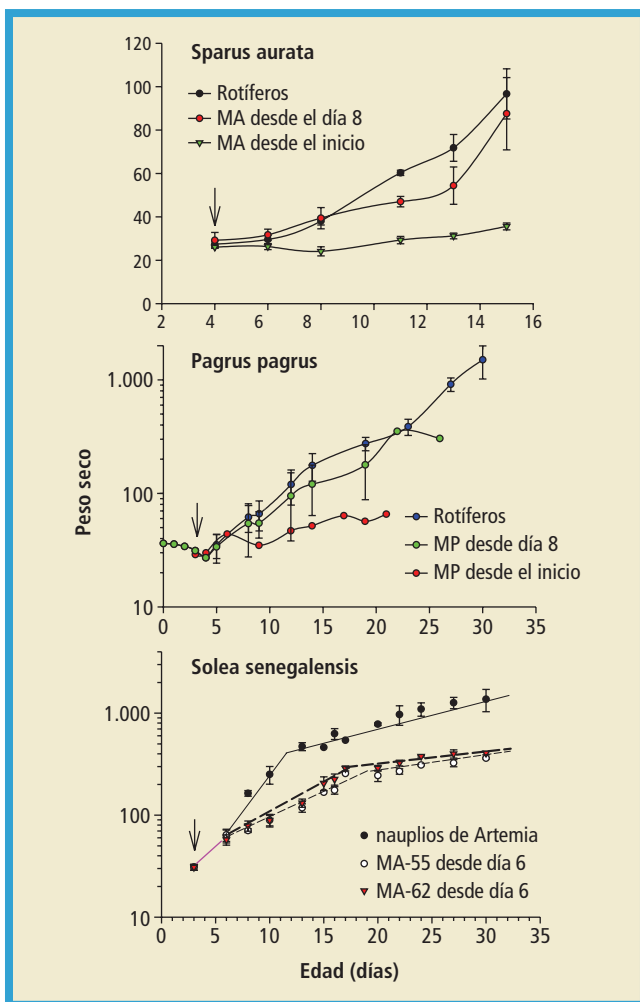
Las líneas indican 100 μm .

con todas las limitaciones que actualmente presentan para rendir resultados similares al alimento vivo, son una herramienta útil para los necesarios avances nutrición larvaria.

Como se deduce de lo anterior no hay microdietas perfectas, pero los resultados son bastante satisfactorios. Se ha conseguido que larvas de distintas especies acepten, ingieran, digieran las dietas experimentales (Figura 17). Los resultados de crecimiento y supervivencia varían desde razonables a muy buenos dependiendo del sistema de alimentación y especie (Yúfera *et al.*, 2000, Kolkovski y Tandler, 2000; Cahu *et al.*, 2003; Yúfera *et al.*, 2005) (Figura 18). Es de esperar que el progreso de las investigaciones en este sentido permitan la obtención de microdietas comerciales generalizadas para las principales especies, lo que significaría un cambio muy importante en sistema de cría larvaria intensiva de peces marinos a escala industrial.

**FIGURA 17.**

Tubo digestivo de larvas de dorada de 8 días con capsulas sin digerir (izquierda) y completamente digeridas (derecha).

**FIGURA 18.**

Ejemplos de experimentos con larvas de distintas especies alimentados con microdietas durante las primeras semanas de alimentación (modificado de Yúfera *et al.*, 2005 y resultados no publicados) MA y MP: microdietas.

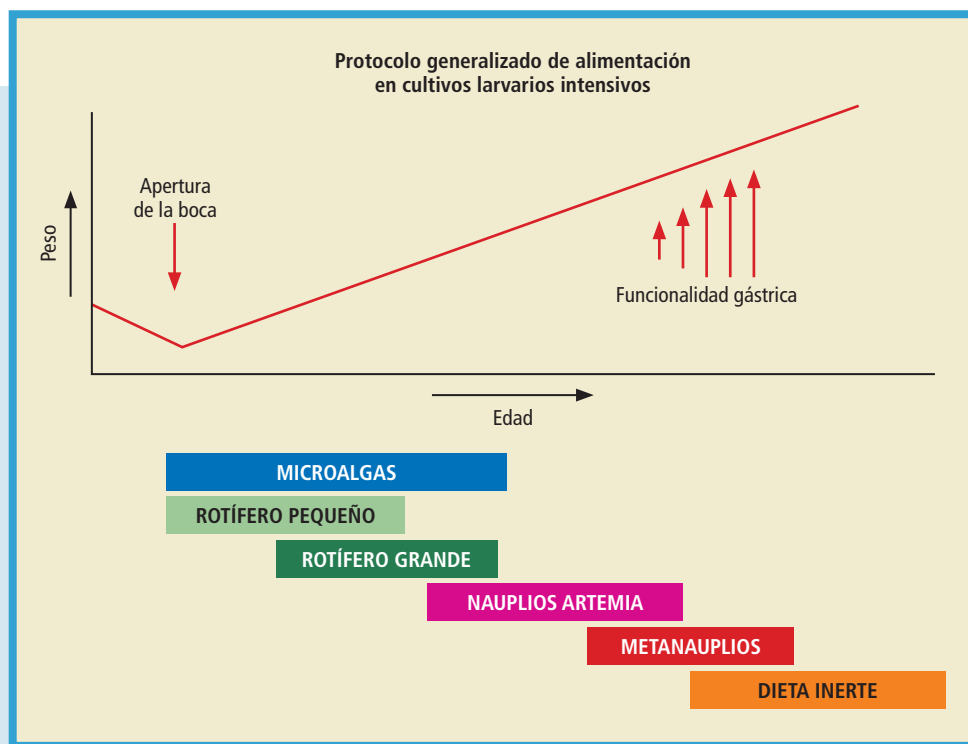


9.6. CONSIDERACIONES GENERALES SOBRE LOS MÉTODOS DE ALIMENTACIÓN DURANTE LA CRÍA LARVARIA DE PECES

Como se ha descrito a lo largo del capítulo, las larvas de peces presentan morfología y aptitudes cambiantes durante toda la etapa. Dichos cambios afectan al tamaño de presa o partícula de alimento que son capaces de ingerir y a la eficiencia con que utilizan los nutrientes ingeridos. Evidentemente la eficiencia de captura y de transformación de la materia ingerida en biomasa de larva aumenta con el progreso del desarrollo a juvenil. Para que este desarrollo transcurra con normalidad es condición indispensable que el alimento esté siempre disponible y que ofrezca el valor nutricional necesario.

Los diferentes sistemas de producción y alimentación de larvas se pueden agrupar en dos tipos, los sistemas de cría intensiva y los sistemas semi-extensivos en mesocosmo: Esta clasificación atiende principalmente a la densidad de larvas en el sistema. Aunque ambos sistemas comparten ciertas metodologías y presas utilizadas como alimento, cada sistema muestra características propias que repercuten en el comportamiento alimentario y por lo tanto en los patrones de crecimiento larvario.

Los sistemas intensivos se utilizan una elevada cantidad de larvas (entre 30 y 100 larvas por litro al inicio) que se cultivan bajo condiciones muy estrictas. Para ello es necesario tener un conocimiento razonablemente profundo de las necesidades biológicas de la especie a cultivar, algo que no siempre está disponible. Este es el sistema común en los criaderos de peces marinos. Los protocolos generales de alimentación desarrollados durante los años 70 y principio de los 80 perduran en la actualidad con pocas variaciones. Se han realizado importantes avances en diversos aspectos de la metodología y técnicas de cultivo, como el mantenimiento de calidad del agua de cultivo, adaptación de condiciones ambientales apropiadas a cada especie (iluminación, temperatura, flujos), calidad nutricional de las presas vivas, etc. Pero el esquema básico en lo que a la alimentación se refiere sigue apoyándose en el suministro secuencial de unas pocas especies-alimento en los tanques de cría (Figura 19). La secuencia de presas más común

**FIGURA 19.**

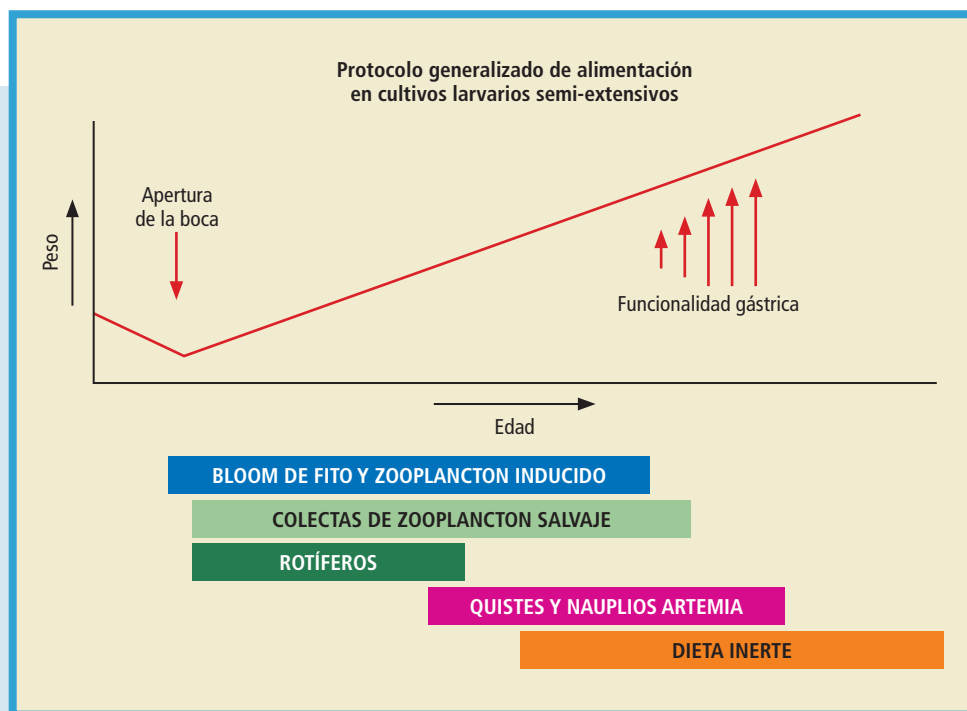
Esquema general de la secuencia de suministro de presas vivas en los cultivos intensivos de larvas de peces marinos. Dependiendo de la especie y las condiciones de cultivo se utilizarán todas o sólo algunas de estas presas y por periodos de tiempos variables.

es: rotífero pequeño, rotífero grande, nauplios recién nacidos de *Artemia*, metanauplios de *Artemia* convenientemente enriquecidos y finalmente la transición a los piensos comerciales mediante un periodo de co-alimentación con dietas de arranque que pueden ser comerciales o preparadas por los mismos productores. En muchos casos esta alimentación está acompañada del suministro de microalgas durante las primeras semanas. Esta secuencia se ha ido adaptando a las distintas especies de peces que se han puesto en cultivo según sus características específicas, eligiendo con que presa iniciar la alimentación y modificando la duración del periodo en que una determinada presa se utiliza.



En este sistema con una densidad alta de larvas y en muchos casos con iluminación permanente para favorecer el periodo diario de alimentación, la demanda de presas para alimento es muy elevada. Las densidades con que se suministran estas presas oscilan generalmente entre 5 y 15 individuos por ml para los rotíferos y entre 0,5 y 3 nauplios/metanaplios de *Artemia* por ml. Excepto al inicio de la alimentación en algunas especies, la actividad depredadora de las larvas reduce con rapidez estas densidades y puede llegar a agotar completamente el alimento suministrado en pocas horas. En cualquier caso, para unos resultados óptimos de crecimiento se procura que siempre haya un mínimo de presas en los tanques. Para evitar esta carencia de presas en el medio es habitual realizar dos o más adiciones de rotíferos o *Artemia* al día. También se utilizan sistemas de suministro en continuo mediante goteo desde un depósito en donde previamente se han concentrado las presas. Hay una serie de factores del cultivo que afectan al desarrollo morfológico de las larvas, como la iluminación, densidad elevada, turbulencia y restricciones alimenticias o nutricionales. Todos estos factores pueden ocurrir en los cultivos intensivos y de hecho, reducir al mínimo el porcentaje de malformaciones es una preocupación constante en la producción industrial.

Los cultivos semi-intensivos se realizan en grandes volúmenes (tanques o estanques) con una densidad baja de larvas (usualmente por debajo de 5 larvas por litro) y con un control limitado de las condiciones ambientales, que en estos casos se asemejan a las condiciones naturales reinantes en el entorno. Es decir, con oscilaciones de temperatura, e iluminación natural (aunque puede suplementarse con iluminación nocturna). Estos sistemas no se utilizan para la producción industrial pero constituyen una solución bastante interesante para aquellas especies en las que no se conoce muy bien su biología o en casos y lugares donde no se disponga de la infraestructura necesaria para establecer los relativamente sofisticados sistemas intensivos. Se ha ensayado en diversas especies mediterráneas con buenos resultados (Papandroulakis *et al.*, 2004, 2005; Ben Khemis *et al.*, 2006). La alimentación inicial está basada en la propagación de un bloom de fitoplancton y zooplancton, y el suministro moderado de presas cultivadas como rotíferos o *Artemia*, así como de recolecciones planctónicas y finalmente piensos de transición (Figura 20). La concentración de

**FIGURA 20.**

Esquema general de la secuencia de suministro de presas vivas en los cultivos semi-extensivos en mesocosmo de larvas de peces marinos. En estos sistemas las condiciones y protocolos de alimentación suplementaria son muy variables y se adaptan a las características y posibilidades de la instalación de cultivo.

organismos-presa oscila entre 0,1 y 3 individuos por ml. Debido a la baja densidad de larvas, no hay oscilaciones destacables en la cantidad de alimento, que por otra parte es mucho más variado que en los sistemas intensivos, por lo menos durante las primeras semanas. Con estas condiciones para el desarrollo larvario, los resultados que se obtienen en cuanto a crecimiento y supervivencia son similares o superiores a los obtenidos en los cultivos intensivos, aunque el número final de juveniles es mucho menor. La característica más destacable de estos sistemas es la excelente calidad de las postlarvas y juveniles que se obtienen, con mínimos porcentajes de malformaciones y gran resistencia a la manipulación y stress.



La característica que define mejor la alimentación en las larvas de peces, entendida en el sentido más amplio, es decir tanto el proceso fisiológico como los procedimientos de suministro de alimento durante la cría, es el de la variabilidad. Hay un cambio permanente de las necesidades nutricionales durante un periodo de varias semanas, y hay notables diferencias entre especies. A esta diversidad, hay que añadir cierto desconocimiento de la biología larvaria de las especies cultivadas. Este desconocimiento llega a ser profundo en especies nuevas para acuicultura. A pesar de todos estos inconvenientes se han puesto a punto técnicas de alimentación que con escasas variaciones llevan funcionando treinta años. Estas técnicas se han desarrollado principalmente sobre bases empíricas, y mediante ensayo y error se han ido adaptando a las distintas especies. El éxito de estos protocolos es en realidad sólo el éxito de las tecnologías de dos organismos-presa, entiéndase la obtención y procesamiento de los quistes de *Artemia* y los cultivos masivos de rotíferos. La posibilidad de suministrar dichas presas en la abundancia precisa ha hecho que el crecimiento de las larvas a pesar de las dificultades y esfuerzo que requiere no fuese un proceso limitante para la piscicultura industrial. Este relativo éxito ha impedido un esfuerzo más amplio para comprender mejor la biología, fisiología de la alimentación y nutrición de las larvas. Sólo la constante crisis en la producción de quistes de *Artemia* en relación a la creciente demanda con el desarrollo de la acuicultura mundial ha propiciado la búsqueda de alternativas tanto de nuevas presas como la investigación en el diseño de microdietas inertes.

BIBLIOGRAFÍA

- ARUL, V. 1991 Effects of temperature on yolk utilization of *Channa striatus*. J. Therm. Biol. 16: 1-5.
- BAGARINAO, T. 1986 Yolk resorption, onset of feeding and survival potential of larvae of three tropical marine fish species reared in the hatchery. Mar. Biol. 91: 449-459.
- BASKERVILLE-BRIDGES, B. and L.J. KLING, 2000 Larval culture of Atlantic cod (*Gadus morhua*) at high stocking densities. Aquaculture 181: 61-69.
- BEN KHEMISH, I., ZOUITEN, D., BEBES, R. and F. KAMOUN, 2006 Larval rearing and weaning of the lipped grey mullet (*Chelon labrosus*) in mesocosm with semi-extensive technology. Aquaculture 259: 190-201.



- BISBAL, G.A. and D.A. BENGTON, 1995 Development of digestive tract in larval summer flounder. *J. Fish Biol.* 47: 277-291.
- BOULHIC, M. and J. GABAUDAN, 1992 Histological study of the organogenesis of the digestive system and swim bladder of the Dover sole, *Solea solea* (Linnaeus 1758). *Aquaculture* 102: 373-396.
- BUCKLEY, L.J., BRADLEY, T.M. and J. ALLEN-GUILMETTE, 2000. Production, quality, and low temperature incubation of eggs of Atlantic cod *Gadus morhua* and haddock *Melanogrammus aeglefinus* in captivity. *J. World Aquacult. Soc.* 31: 22-29.
- CAHU, C., ZAMBONINO-INFANTE, J.L. and V. BARBOSA, 2003 Effect of dietary phospholipid level and phospholipid:neutral lipid value on the development of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae fed a compound diet. *British J. Nutr.* 90: 21-28.
- CAHU, C., ZAMBONINO-INFANTE, J.L., PÉRES, A., QUAZUGUEL, P. and M.M. LE GAL, 1998 Algal addition in sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae rearing: effect on digestive enzymes. *Aquaculture* 161: 479-489.
- CARA, J.B., MOYANO, F.J., CÁRDENAS, S., FERNÁNDEZ-DÍAZ, C. and M. YÚFERA, 2003 Assessment of digestive enzyme activities during larval development of white bream. *J. Fish. Biol.* 63: 48-58.
- CARTON, A.G. 2005 The impact of light intensity and algal-induced turbidity on first-feeding *Seriola lalandi* larvae. *Aquacult. Res.* 36: 1588-1594.
- CUNHA, I. and M. PLANAS, 1999 Optimal prey size for early turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.) based on mouth and ingested prey size. *Aquaculture* 175: 103-110.
- DARIAS, M.J., MURRAY, H.M., GALLANT, J.W., ASTOLA, A., DOUGLAS, S.E., YÚFERA, M. and G. MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, 2006 Characterization of a partial alpha amylase clone from red porgy (*Pagrus pagrus*): Expression during the larval development. *Comp. Biochem. Physiol. B.* 143: 209-218.
- DEPLANO, M., CONNES, R., DIAZ, J.P. and G. BARNABÉ, 1991 Variation in the absorption of macromolecular proteins in larvae of the sea bass *Dicentrarchus labrax* during transition to exotrophic phase. *Mar. Biol.* 110: 29-36.
- DIAZ, F.J., MOYANO, F.J., GARCÍA-CARREÑO, F.L., ALARCÓN, F.J. and M.C. SARASQUETE, 1997 Substrate-SDS-PAGE determination of protease activity through larval development in sea bream. *Aquacult. Int.* 5: 461-471.
- DOI, M., OHNO, A., KOHNO, H., TAKI, Y. and T. SINGHAGRAIWAN, 1997 Development of feeding ability in reds snapper *Lutjanus argentimaculatus* early larvae. *Fish. Sci.* 63: 845-853.
- DOU, S.Z., MASUDA, R., TANAKA, M. and K. TSUKAMOTO, 2002 Feeding resumption, morphological changes and mortality during starvation in Japanese flounder larvae. *J. Fish. Biol.* 60: 1363-1380.



- DOU, S.Z., MASUDA, R., TANAKA, M. and K. TSUKAMOTO, 2005 Effects of temperature and delayed initial feeding on the survival and growth of Japanese flounder larvae. *J. Fish. Biol.* 66: 362-377.
- DOUGLAS, S.E., MANDLA, S., and J.W. GALLANT, 2000 Molecular analysis of the amylase gene expression during development in the winter flounder, *Pleuronectes americanus*. *Aquaculture* 190: 247-260.
- EHRLICH, K.F., BLAXTER, J.H.S. and R. PEMBERTON, 1976 Morphological and histological changes during the growth and starvation of herring and plaice larvae. *Mar. Biol.* 35: 105-118.
- ELBAL, M.T., GARCÍA HERNÁNDEZ, M.P., LOZANO, M.T. and B. AGULLEIRO, 2004 Development of the digestive tract of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). Light and electron microscopic studies. *Aquaculture* 234: 215-238.
- ESTEVEZ, A., MCEVOY, L.A., BELL, J.G. and J.R. SARGENT, 1998 Effect of temperature and starvation time on the pattern and rate of loss of essential fatty acids in *Artemia* nauplii previously enriched using arachidonic acid and eicosapentanoic acid-rich emulsions. *Aquaculture* 165: 295-311.
- FERNÁNDEZ-DÍAZ, C., PASCUAL, E. and M. YÚFERA, 1994 Feeding behaviour and prey size selection of gilthead seabream, *Sparus aurata* L., larvae fed on inert and live food. *Mar. Biol.*, 118: 323-328.
- FERNÁNDEZ-REIRIZ, M.J. , PÉREZ-CAMACHO, A. and M.J. FERREIRO. 1989 Biomass production and variation in the biochemical profile (total protein, carbohydrates. RNA, lipids and fatty acids) of seven species of marine microalgae. *Aquaculture* 83: 17-37.
- FONTANETO, D., GIORDANI, I. and M. SERRA. 2007 Disentangling the morphological stasis in two rotifer species of the *Brachionus plicatilis* species complex. *Hydrobiologia* 583: 297-307.
- GARCÍA-ORTEGA, A., VERRETH, J.A.J., COUTTEAU, P., SEGNER, H., HUISMAN, E.A. and P. SORGELOOS. 1998. Biochemical and enzymatic characterization of decapsulated cysts and nauplii of the brine shrimp *Artemia* at different developmental stages. *Aquaculture* 161: 501-514.
- GISBERT, E., CONKLIN, D.B. and R.H. PIEDRAHITA, 2004a Effects of delayed first feeding on the nutritional condition and mortality of California halibut larvae. *J. Fish Biol.* 64: 116-132.
- GISBERT, E., PIEDRAHITA, R.H. and D.B. CONKLIN, 2004b Ontogenic development of the digestive system in California halibut (*Paralichthys californicus*) with notes on feeding practices. *Aquaculture* 232: 455-470.
- GOVONI J.J., BOEHLERT G.W. and WATANABE Y.L. 1986 The physiology of digestion in fish larvae. *Environmental Biology of Fish.* 16: 59-77.



- GUTHRIE, K.M., RUST, M.B., LANGDON, C.J. and F.T. BARROWS, 2000 Acceptability of various microparticulate diets to first-feeding walleye *Stizostedion vitreum* larvae. *Aquacult. Nutr.* 6: 153-158.
- GWAK, W.S. and M. TANAKA, 2001 Developmental changes in RNA:DNA ratios of fed and starved laboratory-reared Japanese flounder larvae and juveniles, and its applications to assessment of nutritional conditions for wild fish. *J. Fish. Biol.* 59: 902-915.
- HAMRE, K., NÆSS, T., ESPE, M., HOLM, J.C. and O. LIE. 2001 A formulated diet for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) larvae. *Aquacult. Nutr.* 7: 123-132.
- HOWELL, W.H. 1980 Temperature effects on growth and yolk utilization in yellowtail flounder, *Limanda ferruginea*, yolk-sac larvae. *Fish. Bull.* 78: 731-739.
- HUNT VON HERBING, I. and S.M. GALLAGER, 2000. Foraging behavior in early Atlantic cod larvae (*Gadus morhua*) feeding on a protozoan (*Balanion* sp.) and a copepod nauplius (*Pseudodiaptomus* sp.). *Mar. Biol.* 136: 591-602.
- HUNTER, J.R. 1981 Feeding ecology and predation of marine fish larvae. pp. 33-77, in, *Marine fish larvae: Morphology, ecology, and relation to fisheries*, edited by R. LASKER, Washington Sea Grant Program.
- KARPOOR, B.G., SMIT, H. and I.A. VERIGHINA, 1975 The alimentary canal and digestion in teleosts. *Adv. Mar. Biol.* 13: 109-239.
- KJØRSVIK, E. and A.L. REIESEN, 1992 Histomorphology of the early yolk-sac larvae of the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.)-an indication of the timing of functionality. *J. Fish. Biol.* 41: 1-19.
- KJØRSVIK, E., VAN DER MEEREN, T., KRYVI, H., ARNFINNSEN, J. and P.G. KVENSETH, 1991 Early development of the digestive tract of cod larvae, *Gadus morhua* L., during start-feeding and starvation. *J. Fish Biol.* 38: 1-15.
- KOLKOVSKI, S. and A. TANDLER, 2000 The use of squid protein hydrolysate as a protein source in microdiet for gilthead seabream *Sparus aurata* larvae. *Aquacult. Nutr.* 6: 11-15.
- KUROKAWA, T., SHIRAISHI, M. and T. SUZUKI, 1998. Quantification of exogenous proteases derived from zooplankton in the intestine of Japanese sardine (*Sardinops melanotictus*) larvae. *Aquaculture* 161: 491-499.
- KVÅLE, A., YÚFERA, M., NYGÅRD, E., AURSLAND, K., HARBOE, T. and K. HAMRE, 2006 Leaching properties and preference in cod (*Gadus morhua* L.) of three different microparticulate diets for marine fish larvae. *Aquaculture* 251: 402-415.
- LEMIEUX, H., LE FRANÇOIS, N.R. and P.U. BLIER, 2003 The early ontogeny of digestive and metabolic enzyme activities in two commercial strains of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *J. Exp. Zool.* 299A: 151-160.



- LUBZENS, E. and O. ZMORA. 2003. Production and nutritional value of rotifers, pp.17-64 in Live feeds in marine aquaculture, edited by J. G. Strøttrup and L. A. McEvoy, Blackwell publishing, Oxford.
- LUBZENS, E., TANDLER, A. and G. MINKOFF, 1989 Rotifers as food in aquaculture. *Hydrobiologia* 186/187: 387-400.
- MARTÍNEZ, I., MOYANO, F.J., FERNÁNDEZ-DÍAZ, C., M. YÚFERA, 1999 Digestive enzyme activity during larval development of Senegal sole (*Solea senegalensis*). *Fish Physiol. Biochem.* 21: 317-323.
- McGURK, M.D. 1984 Effects of delayed feeding and temperature on the age of irreversible starvation and on the rates of growth and mortality of Pacific herring larvae. *Mar. Biol.* 84: 13-26.
- MICALE, V., GARAFFO, M., GENOVESE, L., SPEDICATO, M.T. and U. MUGLIA, 2006 The ontogeny of the alimentary tract during larval development in common Pandora *Pagellus erythrinus* L. *Aquaculture* 251: 354-365.
- MILLER, T.J., CROWDER, L.B., RICE, J.A. and A. MARSCHALL, 1988. Larval size and recruitment mechanisms in fishes: toward a conceptual framework. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 45: 1657-1668.
- MOYANO, F.J., DÍAZ, M., ALARCÓN, F.J., SARASQUETE, M.C. 1996 Characterization of digestive enzyme activities during larval development of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish. Physiol. Biochem.* 15, 121-130.
- MUNK, P. 1997 Prey size spectra and prey availability of larval and small juvenile cod. *J. Fish. Biol.* 51 Supp. A, 340-351.
- MUNK, P., KJØRBOE, T. 1985 Feeding behaviour and swimming activity of larval herring (*Clupea harengus*) in relation to density of copepod nauplii. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 24, 15-21.
- MURRAY, H.M., DOUGLAS, S.E., GALLANT, J.W., PÉREZ-CASANOVA, J.C., JOHNSON, S.C., 2003. Ontogeny of lipase expression in winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*. *J. Fish. Biol.* 62, 816-833.
- MULLER-FEUGA, A., MOAL, J. and KAAS, R. 2003. The microalgae of aquaculture, pp. 206-252 in Live feeds in marine aquaculture, edited by J. G. Strøttrup and L. A. McEvoy, Blackwell publishing, Oxford.
- OLSEN, A.I., ATTRAMADAL, Y., REITAN, K.I., OLSEN, Y. 2000. Food selection and digestion characteristic of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) larvae fed cultivated prey organisms. *Aquaculture* 181, 293-310.
- ÖNAL, U. and C. LANGDON, 2004a. Lipid spray beads for delivery of riboflavin to first-feeding fish larvae. *Aquaculture* 233: 477-493.
- ÖNAL, U. and C. LANGDON, 2004b. Characterization of lipid spray beads for delivery of glycine and tyrosine to early marine fish larvae. *Aquaculture* 233: 495-511.



- ÖNAL, U. and C. LANGDON, 2005 Development and characterization of complex particles for delivering amino acid to early marine fish larvae. *Mar. Biol.* 146: 1031-1038.
- ÖZEKI, Y., K.M. BAILEY, 1995 Ontogenic development of the digestive enzyme activities in larval walleye pollock, *Theragra chalcogramma*. *Mar. Biol.* 122, 177-186.
- ØIE, G. and Y. OLSEN. 1997. Protein and lipid content of the rotifer *Brachionus plicatilis* during variable growth and feeding conditions. *Hydrobiologia* 358, 251-258.
- ØSTERGAARD, P., MUNK, P., JANEKARN, V. 2005. Contrasting feeding patterns among species of fish larvae from the tropical Andaman Sea. *Mar. Biol.* 146, 595-606.
- PAPANDROULAKIS, N., KENTOURI, M., MAYNGOT, E. and DIVANACH, P. 2004. Mesocosm: a reliable technology for larval rearing of *Diplodus punctazzo* and *Diplodus sargus sargus*. *Aquacult. Int.* 12, 345-355.
- Papandroulakis, N., Mylonas, C.C., Mayngot, E., Divanach, P. 2005. First results of greater amberjack (*Seriola dumerili*) larval rearing in mesocosm. *Aquaculture* 250, 151-161.
- PARRA, G. and M. YÚFERA, 2000. Feeding, physiology and growth response in first-feeding gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) larvae in relation to prey density. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 243, 1-15.
- PARRA, G., YÚFERA, M., 2001. Comparative energetics during early development of two marine fish species, *Solea senegalensis* (Kaup) and *Sparus aurata* (L.). *J. Exp. Biol.* 204, 2175-2183.
- POLO, A., YÚFERA, M., PASCUAL, E. 1991. Effect of temperature on egg and larval development of *Sparus aurata* L. *Aquaculture* 92, 367-375.
- POLO, A., YÚFERA, M., PASCUAL, E. 1992. Feeding and growth of gilthead seabream (*Sparus aurata*, L.) larvae in relation to the size of the rotifer strain used as food. *Aquaculture* 103, 45-54.
- PUVANENDRAN, V., LEADER, L.L., BROWN, J.A. 2002. Foraging behaviour of Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae in relation to prey concentration. *Can. J. Zool.* 80: 689-699.
- RAINUZZO, J.R., REITAN, K.I. and Y. OLSEN, 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. *Aquaculture* 155, 103-105.
- RIBEIRO, L., SARASQUETE, C., DINIS, M.T., 1999a. Histological and histochemical development of the digestive system of *Solea senegalensis* (Kaup 1858) larvae. *Aquaculture* 151, 293-308.
- SARASQUETE, M.C., POLO, A. and M. YÚFERA, M. 1995. Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval gilthead seabream *Sparus aurata* L.. *Aquaculture* 130: 79-92.



- SEGBERS, H., 1997. Nomenclatural consequences of some recent studies on *Brachionus plicatilis* (Rotifera, Brachionidae). *Hydrobiologia* 313/314: 121-122.
- SEGNER, H., STORCH, V., REINECKE, M., KLOAS, W. and W. HANKE, 1994. The development of functional digestive and metabolic organs in turbot, *Scophthalmus maximus*. *Mar. Biol.* 119: 471-486.
- SHEPARD, K. L., 1994. Functions for fish mucus. Review in *Fish Biology and Fisheries* 4: 401-429.
- SHIROTA, A., 1970. Studies on the mouth size of fish larvae. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.* 36: 353-368.
- SNELL, T.W. and K. CARRILLO, 1984. Body size variation among strains of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture* 37: 359-367.
- THEILACKER, G.H., 1986 Starvation-induced mortality of sea-caught jack mackerel, *Trachurus symmetricus*, determined with histological and morphological methods. *Fish. Bull.* 84: 1-17.
- WUENSCHER, M.J. and R.G. WERNER, 2004 Consumption and gut evacuation rate of laboratory-reared spotted seatrout (*Sciaenidae*) larvae and juveniles. *J. Fish. Biol.* 65: 723-743.
- YÚFERA, M., 1982 Morphometric characterisation of a small-sized strain of *Brachionus plicatilis* in culture. *Aquaculture* 27: 55-61.
- YÚFERA, M. 2001 Studies on *Brachionus* (Rotifera): An example of interaction between fundamental and applied research. *Hydrobiologia* 446/447: 383-392.
- YÚFERA, M. and L.M. LUBIÁN, 1990 Effects of microalgal diet on growth and development of invertebrate in marine aquaculture, pp. 209-227 in *Introduction to applied phycology*, edited by I. Akatsuka. SPB Academic publishing bv, the Hague.
- YÚFERA, M., LUBIÁN, L.M. and E. PASCUAL, 1983. Efecto de cuatro algas marinas sobre el crecimiento poblacional de dos cepas de *Brachionus plicatilis* (Rotifera: Brachionidae) en cultivo. *Invest. Pesq.* 47: 325-337.
- YÚFERA, M., FERNÁNDEZ-DÍAZ C. and E. PASCUAL, 2005. Food microparticles for larval fish prepared by internal gelation. *Aquaculture* 245: 253-262
- YÚFERA, M., KOLKOVSKI, S., FERNÁNDEZ-DÍAZ, C. and K. DABROWSKI, 2002 Free amino acid leaching from a protein-walled microencapsulated diet for fish larvae. *Aquaculture* 214: 273-287.
- YÚFERA, M., PASCUAL, E., POLO, A. and M.C. SARASQUETE, 1993 Effect of starvation on the feeding ability of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) larvae at first feeding. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 169: 259-272.
- YÚFERA, M., FERNÁNDEZ-DÍAZ C., PASCUAL E., SARASQUETE M.C., MOYANO F.J., DÍAZ M., ALARCÓN F.J., GARCÍA-GALLEGO M. and PARRA G. 2000. Towards an inert diet for



first-feeding gilthead seabream *Sparus aurata* L. larvae. Aquaculture Nutrition 6: 143-152.

ZAMBONINO-INFANTE, J.L. and C. CAHU, 1994 Development and response to a diet change of some digestive enzymes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. Fish Physiol. Biochem. 12: 399-408.

ZAMBONINO-INFANTE J.L. and C. CAHU, 2001 Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae. Comp. Biochem. Physiol. 130 C: 477-487.



10

NUTRICIÓN Y REPRODUCCIÓN



NUTRICIÓN Y REPRODUCCIÓN

Rosa Vázquez Gómez
M.^a del Carmen Rendón Unceta

Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales.
Universidad de Cádiz

10.1. INTRODUCCIÓN

El periodo más costoso de la vida de muchos organismos es la maduración y reproducción, cuando todos los recursos se dirigen a conseguir alimento y obtener éxito en la reproducción. Este es el caso de muchas especies de peces, como el salmón del Pacífico y del Atlántico, que emigran a grandes distancias de la zona de alimentación en mar abierto hasta las zonas de desove. Las hembras desarrollan gónadas voluminosas y compiten vigorosamente por acceder a los lugares de puesta. Los machos experimentan grandes cambios morfológicos y luchan por acceder a las hembras. La alimentación se para al entrar en agua dulce, a menudo meses antes que la puesta comience, y muchas especies mueren después del periodo de puesta.

En condiciones de cultivo, los gastos de la reproducción no son tan dramáticos. Sin embargo, la reproducción es una parte crítica del ciclo de producción en peces cultivados, y representa cambios importantes en la adquisición y reparto de energía. La reproducción supone la síntesis y almacenamiento temporal de nuevos tejidos que se forman casi independientemente del nivel de energía de la dieta, siendo obtenida la energía necesaria de otros tejidos del cuerpo si la aportada por la dieta es insuficiente. Consecuentemente la redistribución de la energía tisular que tiene lugar en la época reproductiva puede complicar las medidas del balance de energía.

La energía es repartida por un animal entre cada uno de los procesos fisiológicos relacionados con el mantenimiento, crecimiento y reproducción. El resultado final de este reparto es que no es posible que la energía se pueda utilizar para más de un proceso, es decir, la energía



que se usa para crecimiento no se puede usar para reproducción. El reparto relativo de energía entre crecimiento y reproducción varía entre especies y dentro de una misma especie, por lo que las generalizaciones son difíciles de hacer.

En la literatura relacionada con la reproducción y la dinámica de poblaciones de los peces, a menudo se ha considerado que el status nutricional de los animales en cuestión afecta a su potencial reproductivo. Hay diferentes aspectos de la reproducción que se ven afectados por el estado nutricional, que son:

- tiempo para la primera madurez
- el número de huevos producidos (fecundidad)
- tamaño del huevo
- la calidad del huevo medida como composición química, eclosión y supervivencia larvaria.

La nutrición de los reproductores es sin duda ninguna uno de los aspectos menos conocido e investigado en las áreas de nutrición de peces. Esto es debido a la necesidad de mantener instalaciones de cultivo al exterior y en el interior con grandes grupos de peces adultos y consecuentemente con elevados costos de mantenimiento para poder realizar experiencias. Sin embargo, es evidente que los nutrientes requeridos en la dieta de los reproductores son diferentes de aquellos juveniles con altas tasas de crecimiento. Está claro también, como en otros grupos animales, que muchas de las deficiencias y problemas encontrados durante las primeras fases de cultivo de las larvas recién eclosionadas de peces están directamente relacionadas con el régimen de alimentación de los reproductores (incluyendo nivel de nutrientes y duración).

Aunque hay relativamente pocos estudios sobre los efectos del estado nutricional en la reproducción, hay un número limitado de datos sobre el efecto de la nutrición en varios parámetros. En este capítulo se estudiará el efecto del status nutricional sobre diferentes aspectos de la reproducción, así como diferentes tipos de alimentación y de estrategias alimenticias para determinar los efectos sobre todos los niveles de producción.



10.2. REPRODUCCIÓN: CONCEPTOS BÁSICOS

10.2.1. Generalidades

El requerimiento principal para la propagación con éxito de peces en cultivo es la disponibilidad de gametos (huevos y espermatozoides). Hay varias formas de mejorar este proceso, incluyendo la obtención de gametos de ejemplares salvajes maduros, la recolección de huevos obtenidos de forma natural de la naturaleza, la aclimatación de peces salvajes como reproductores y finalmente, el cultivo de peces desde el criadero hasta la madurez sexual. Para obtener gametos maduros por cualquiera de los métodos antes citados, será necesario disponer de peces que tengan crecimiento y desarrollo gonadal, maduración final de los gametos (ovulación en las hembras y espermiación en los machos) y, en el caso en el que se necesite fertilización, desarrollo del comportamiento de puesta (liberación de gametos para la fertilización externa). Todos estos procesos son sensibles de modificación por una nutrición inadecuada, por condiciones físicas o sociales y por estrés fisiológico. Esto significa que un manejo eficiente de la reproducción en acuicultura requiere un entendimiento básico del proceso que tiene lugar en los peces y también de la capacidad de factores externos de modificar esos procesos.

10.2.2. Fisiología de la reproducción en peces

La reproducción es un proceso fisiológico clave que permite la perpetuación y adaptación de las especies a su medio natural. Hasta que no se alcanza la domesticación de una especie cultivada, la cautividad puede afectar a los procesos reproductivos de manera importante, llegando incluso a inhibirlos por completo. Por tanto para desarrollar el cultivo de una especie con éxito, se requiere un conocimiento básico de la regulación y control de su reproducción.

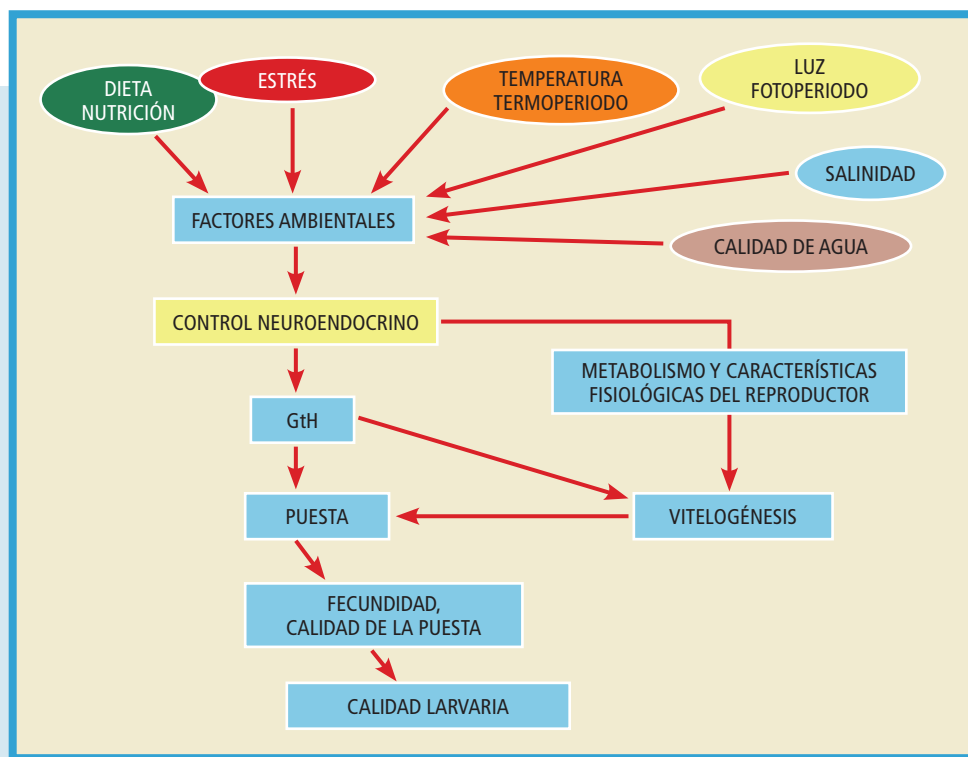
Los peces presentan multitud de estrategias reproductivas, si bien la mayoría de las especies son gonocóricas, es decir, presentan sexos separados. Las gónadas (ovarios y testículos) son estructuras pares localizadas dorsolateralmente en la cavidad del cuerpo. El desarrollo gonadal y la actividad reproductiva están restringidos, en la mayoría de los casos, a una época del año. La reproducción se dispara generalmente por se-



ñales o factores ambientales, tales como el incremento o el descenso de la longitud del día o de la temperatura del agua (en especies templadas y tropicales) o por cambios en la salinidad, turbidez del agua o por las lluvias (especies tropicales). Estas señales desencadenan cambios hormonales en el cerebro de los animales, en particular, en la secreción de neurohormonas estimuladoras (GnRH u hormona liberadora de gonadotrofinas) e inhibidoras (dopamina) de la secreción de gonadotrofinas en la glándula pituitaria (hipófisis). Al igual que en otros vertebrados, las gonadotropinas están representadas por la hormona folículo-estimulante o FSH (denominada anteriormente GTHI), implicada en los estadios tempranos de la vitelogénesis y la espermatogénesis, y la hormona luteinizante o LH (denominada anteriormente GTHII), responsable de la maduración, ovulación/espermiación y puesta.

Estas gonadotrofinas estimulan en las gónadas los procesos de gametogénesis y esteroidogénesis. Los esteroides gonadales mayoritarios son la 11cetosterona en los machos y el 17 β -estradiol en las hembras. Ambas controlan los aspectos más importantes de la reproducción como son el comportamiento reproductivo, la maduración de los ovocitos, la espermatogénesis y la ovulación/espermiación. Estos esteroides también tienen un efecto de retroalimentación positiva y/o negativa (según el momento del ciclo) en la producción de gonadotrofinas hipofisarias y de las neurohormonas cerebrales. Aunque durante todo el año se detectan niveles basales de gonadotrofinas en sangre, la maduración final de los gametos y la ovulación/espermiación está desencadenada por elevaciones puntuales en los niveles de gonadotrofinas en respuesta a las señales ambientales (CUADRO 1).

Los conocimientos básicos de fisiología reproductiva pueden permitir al acuicultor controlar la reproducción en cautividad y obtener puestas de calidad cuando se necesiten. El control de la reproducción también permite a los criaderos planificar la reproducción cuando haya un máximo de producción de alimento para larvas y juveniles. Sin embargo, en cautividad es frecuente que las señales ambientales y hormonales que desencadenan las etapas finales de la reproducción no sean las adecuadas, de forma que los gametos no alcanzan la maduración final y los peces no ovulan o espermian, en general por deficiencias en



CUADRO 1.

Control ambiental de la reproducción.

los niveles de gonadotrofinas. Este problema normalmente se resuelve mediante dos estrategias:

- *Manipulación ambiental*: se reproducen las señales medioambientales óptimas para la maduración de gametos y la puesta. Este método requiere el conocimiento de los factores que regulan la reproducción en una especie dada. Las señales que son importantes son la temperatura del agua, el fotoperiodo, la salinidad, y la disponibilidad y composición del alimento.
- *Manipulación hormonal*: la liberación final de gonadotrofinas se obtiene artificialmente por inyección de dosis apropiadas o implantes de hormonas al pez. Aunque tradicionalmente se han usado extractos de hipófisis, la gonadotropina coriónica humana



(HCG) y los análogos de la hormona liberadora de gonadotrofinas (LHRHa o GnRHa) son los más usados.

El éxito de la respuesta reproductiva inducida depende de varios factores:

a. ESTADO DE MADURACIÓN DE LOS REPRODUCTORES

La liberación de gonadotrofinas de forma artificial inducirá una puesta deficiente a menos que los ovocitos hayan alcanzado cierto estado de madurez. Para determinar esto, se puede obtener una muestra pequeña de huevos y observarlos al microscopio. Se usa la canulación intraovárica, que consiste en la introducción de una fina cánula plástica a través del oviducto ovárico. Los huevos deben poseer glóbulos de vitelo coalescentes y tener cierto tamaño. El tamaño requerido debe ser determinado experimentalmente para cada especie, pero por regla general, deben tener al menos la mitad del diámetro del huevo en la puesta. Los machos maduros deben soltar espermia cuando se masajean abdominalmente (foto 1).

b. USO DE LA HORMONA Y DOSIS ADECUADAS

La sincronización de la puesta o inducción hormonal de la maduración y ovulación/espermiación está ligada en numerosos casos a la



Para activar el vídeo, pinche sobre la imagen.



FOTO 1.
Espermiación
macho dorada.



administración de hormonas u extractos hormonales asociados al eje hipotálamo-hipófisis-gónada.

Para llevar a cabo un programa de inducción de la puesta es preciso tener un plan de actuación dividido en fases bien diferenciadas: la diagnosis del estado de maduración gonadal, la decisión de la hormona a utilizar y el tipo de tratamiento (inyección, implante, microesferas, pellets), la calibración de la dosis y el número de administraciones, así como su intervalo y, finalmente, en las especies o casos que requieren masaje abdominal, el establecimiento del periodo de latencia.

La HCG y los GnRHa son las hormonas más adecuadas para la inducción de la puesta en peces: ambas están disponibles comercialmente y de forma purificada.

Los GnRHa resultan más eficaces para obtener la maduración final de los ovocitos. Se usa generalmente en una dosis de 10-50 µg por kg de pez. LaHCG se usa generalmente a dosis de 250-2000 IU (unidad internacional de actividad) por kg de pez.

Inicialmente se suele usar una dosis media, y la dosis óptima se determina por ensayo y error. Si la dosis es demasiado baja, no inducirá la puesta. Si la dosis es muy alta producirá la maduración final de los ovocitos de forma prematura y dará lugar a puestas de mala calidad. Las dosis bajas serán más efectivas si los ovocitos están muy maduros (determinados por canulación).

El éxito en el empleo de los tratamientos hormonales reside en un buen diagnóstico del estado de maduración y en unas buenas experiencias previas en la calibración de la dosis. Para la inducción de la puesta, la lubina responde de manera muy similar a la dorada ante la administración de 250 UI de HCG, con un diámetro medio de los ovocitos intraováricos comprendido entre las 600 y 700 µm.

c. MÉTODOS PARA LA ADMINISTRACIÓN DE HORMONAS

Las hormonas pueden ser administradas tanto intramuscularmente (IM) como intraperitonealmente (IP) en la cavidad corporal. Las inyecciones IM tienen la desventaja de cierta pérdida cuando la aguja es retirada; sin embargo, minimizando la inyección de volumen se puede reducir esto. Las inyecciones IP evitan la pérdida de hormona, pero pueden dañar los órganos internos, o pasar al tubo digestivo donde la hormona será inefectiva.



Las hormonas se pueden también administrar en forma de implantes, por inyección de líquido o por pellets que las contengan. Generalmente, la hormona se mezcla con colesterol y se comprime para formar el gránulo.

10.2.3. Modelos de desarrollo reproductivo

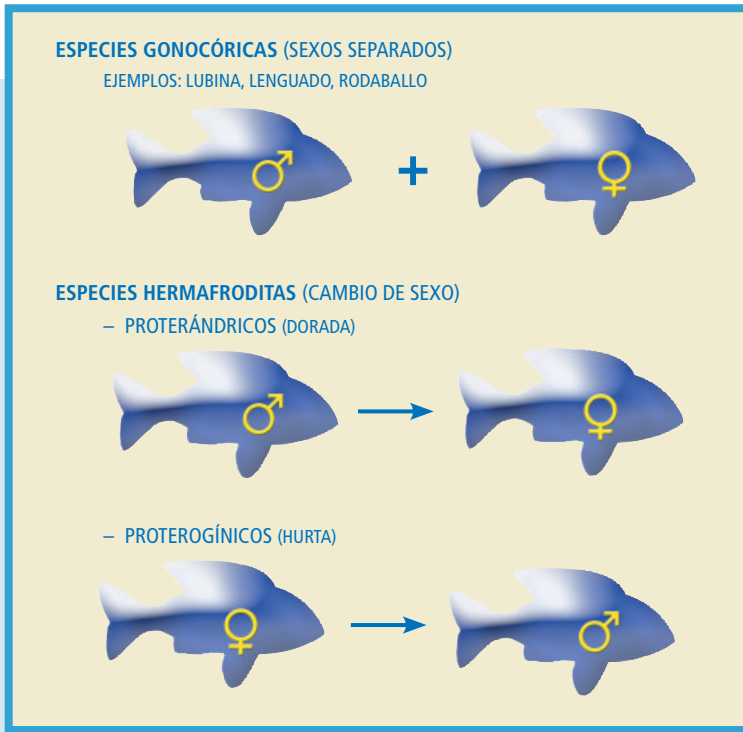
La capacidad de una especie dada de producir gametos estará dictada por las características reproductivas de esa especie, en particular por la forma de desarrollo y maduración de los gametos. Esto determinará la cantidad de gametos que los individuos de una especie puedan producir y la frecuencia con la que esos gametos van a ser liberados. La forma de reproducción también puede ser importante si se requiere la obtención de gametos o si se utiliza la fertilización natural.

10.2.3.1. Desarrollo de los gametos

El tejido germinal de las gónadas en desarrollo se diferencia en espermatogonias en los testículos y ovogonías en los ovarios. El desarrollo gonadal en especies gonocóricas (sexos separados) parece ser muy plástico y, en ciertas fases críticas, puede ser manipulado por tratamientos hormonales exógenos o por cambios en variables ambientales, particularmente la luz y la temperatura. Muchas especies de peces teleósteos son hermafroditas y experimentan inversión sexual, por la que se diferencian primero con un sexo y en un estado posterior, se desarrollan como el otro sexo. Las especies que se diferencian y maduran en primera instancia como machos se conocen como PROTÁNDRICAS, mientras que aquellas que se desarrollan primero como hembras se denominan PROTOGÍNICAS. Una situación aún más compleja tiene lugar en especies que son GONOCÓRICAS funcionales, pero en las cuales la inversión sexual se produce en juveniles sexualmente inmaduros (CUADRO 2). La inversión sexual puede generar problemas adicionales para el mantenimiento de los reproductores en acuicultura, bien debido a la duración de la vida como un solo sexo, o porque las condiciones del cultivo aceleren o frenen la inversión sexual (datos sin publicar sobre control del cambio de sexo en reproductores de dorada).

10.2.3.1.1. Hembras

Las ovogonias en las hembras dan lugar a ovocitos previtelogénicos con varios estadios que se pueden reconocer histológicamente. Los

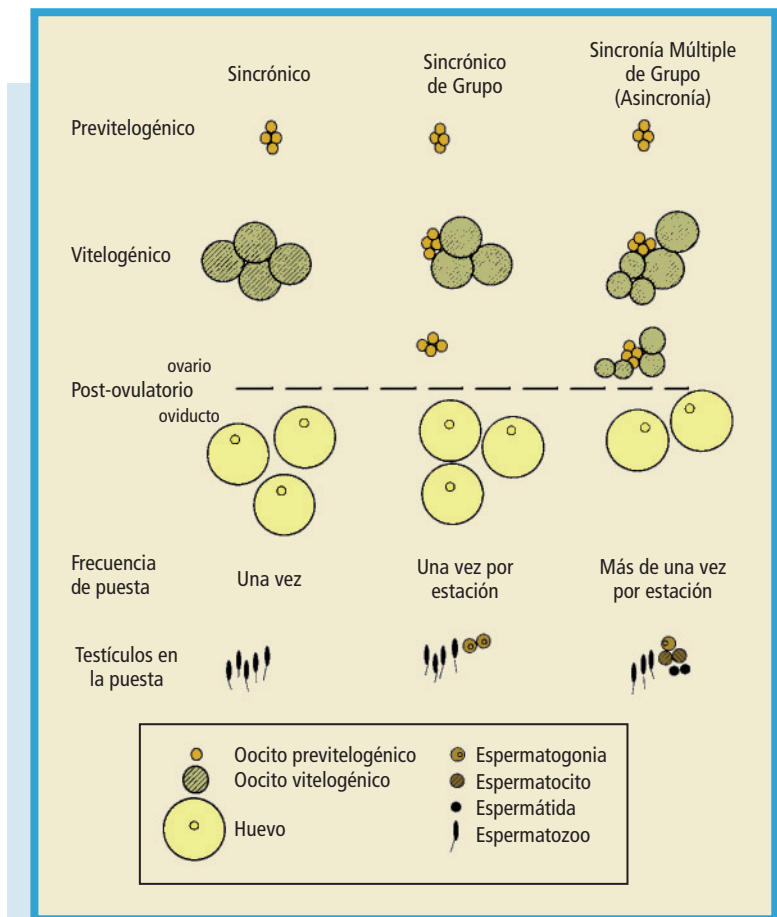
**CUADRO 2.**

Modelos de desarrollos reproductivos.

ovarios de peces inmaduros o en regresión (sin periodo de puesta) generalmente sólo contienen ovocitos previtelogénicos.

Dentro del patrón de desarrollo gonadal, distinguimos 3 formas de desarrollo de los ovocitos (CUADRO 3). En especies que desovan sólo una vez en la vida y después mueren, como la anguila y el salmón del Pacífico, existe un único grupo de ovocitos que se encuentran en el mismo estado de desarrollo y evolucionan de forma conjunta. Se considera como un desarrollo SINCRÓNICO del ovario.

Los ovarios de desarrollo SINCRÓNICO POR GRUPOS son característicos de aquellas especies que desovan más de una vez en la vida, pero generalmente una o pocas veces por estación con un intervalo de puesta relativamente corto. Aquí, el ovario contiene al menos dos grupos de ovocitos en estado de desarrollo distinto, una población de



CUADRO 3.
Modelos de desarrollo gonadal.

ovocitos previtelogénicos y otros grupos destinados a la maduración y ovulación durante la estación de puesta. La sincronía por grupos se da en especies de temperaturas frías como la trucha, o de aguas marinas profundas y de latitudes altas como la lubina. En especies sincrónicas por grupos como la trucha arco iris, *Oncorhynchus mykiss*, puede haber una considerable variabilidad en el tamaño de los ovocitos durante la vitelogenésis, siendo evidente la sincronía en el tamaño sólo cuando se aproxima el final de la vitelogenésis.



La SINCRONÍA DE GRUPOS MÚLTIPLES o ASINCRONÍA se encuentra en especies en cuyo ovario se distinguen varios grupos de ovocitos en distintos estado de desarrollo, y es característica de especies donde hay episodios múltiples de puesta dentro de su época reproductiva. Es el modelo reproductivo más frecuente en peces teleósteos y la forma más extendida en peces marinos tropicales y de temperatura cálida, así como en los de agua dulce, pero también en algunas especies marinas de temperaturas frías. Especies como los espáridos, que ovulan diariamente durante un periodo de puesta que dura varios meses, presentan este tipo de desarrollo del ovario. También es el tipo de desarrollo gonadal en el lenguado y el rodaballo.

El conjunto de acontecimientos que tienen lugar en el ovario de un pez adulto ovíparo y de puesta anual, se puede resumir en las siguientes fases:

- proliferación de las ovogonias (mitosis)
- transformación de las ovogonias en ovocitos primarios
- vitelogénesis
- maduración
- ovulación

10.2.3.1.2. Machos

Las espermatogonias se desarrollan en espermatocitos primarios, que experimentan las divisiones meióticas para transformarse en espermatocitos secundarios. Éstos experimentan una serie de transformaciones morfológicas y funcionales y dan lugar a las espermátidas, que finalmente se transforman en espermatozoides dentro de los lóbulos adyacentes a los conductos espermáticos. La transición de espermatogonias a espermátidas se denomina ESPERMATOGÉNESIS y el desarrollo de espermátidas en espermatozoides se denomina ESPERMIOGÉNESIS. El desarrollo de los gametos culmina con la liberación de espermatozoides maduros a los conductos espermáticos, proceso que se conoce como ESPERMIACIÓN. La espermiación está asociada con un incremento de los niveles de agua en la suspensión del líquido seminal, que adquiere un carácter lechoso durante el proceso de hidratación.

El modelo de sincronía de gametos observado en las hembras se refleja en el desarrollo de los gametos de los machos. Los machos de las especies donde las hembras tienen desarrollo gonadal sincrónico o sincrónico por grupos muestran una conversión de los primeros estadios en espermato-



zoides a medida que se acerca la puesta. Por el contrario, los machos de especies asincrónicas presentan en el testículo células germinales en todos los estados de gametogénesis, con un incremento mucho menor de la proporción de espermatozoides en el momento de la puesta. Esto está relacionado con los periodos cortos y extensos de puestas de las especies sincrónicas o sincrónicas de grupo y asincrónicas, respectivamente (CUADRO 3).

El modelo de desarrollo de los gametos de una determinada especie tiene sus repercusiones en el cultivo de la misma por el efecto de la duración del periodo de puesta y por su frecuencia. El potencial para ampliar la producción de gametos será mayor en especies con reproducción asincrónica. En especies con reproducción sincrónica o sincrónica por grupos, el periodo de puesta sólo se puede ampliar por desplazamiento del ciclo completo de reproducción.

Las diferencias en los tipos de reproducción están determinando de forma importante los sistemas y protocolos de alimentación de reproductores en cautividad, ya que las especies asincrónicas con periodos dilatados de puestas necesitan tener garantizados los requerimientos mínimos nutricionales no sólo durante el proceso de maduración, sino durante el largo periodo de puesta. Las especies con sincronía total o sincronía por grupos tendrán estrategias de alimentación encaminadas a asegurar una óptima maduración previa al periodo relativamente corto de puesta.

10.2.3.2. Desove o puesta

En la mayoría de los teleósteos, la maduración de las células germinales va seguida de la liberación de forma natural de los gametos al agua para su fertilización, que está acompañada por un característico comportamiento de puesta, o en menor medida por la fertilización interna mediante copulación. El comportamiento de puesta está determinado por factores ambientales, interacciones sociales y, en muchas especies, por feromonas sexuales. Hay una gran variedad de modelos de comportamiento reproductivo, lo que supone un cierto inconveniente en términos de cultivo, si se requiere la puesta natural. Existe también una diversidad de modelos de puestas en teleósteos: puestas por grupos, en la que se liberan los gametos como una nube en la columna de agua, sin formación ni selección de parejas como ocurre en peces pelágicos o demersales (caso de los espáridos de zonas templadas); puestas con apareamiento, donde



la puesta se asocia a un cierto grado de selección de pareja antes de la misma (puestas a menudo sobre un sustrato y con formación de parejas estables o con varias en el mismo periodo de puesta, situación que parece darse en el lenguado). Esta diversidad de modelos de puestas en los peces teleósteos debe hacernos pensar que la eficiencia del comportamiento de puesta en los reproductores en cultivo dependerá tanto de nuestra capacidad para identificar los requerimientos esenciales para la puesta en el medio natural, como de nuestra capacidad para reproducir estas condiciones esenciales en el manejo de los peces en cautividad.

A modo de resumen, podemos concluir que la reproducción está controlada por el eje hipotálamo-hipófisis-gónada. La actividad de este eje endocrino está marcada por variables ambientales para asegurar que el desarrollo reproductivo, la ovulación/espermiación y la puesta tengan lugar en el momento apropiado. La luz y la temperatura en especies templadas controlan el desarrollo reproductivo y la liberación final de los gametos. Los cambios de temperatura y fotoperiodo también pueden actuar para sincronizar los ciclos reproductivos en especies tropicales (CUADRO 1).

10.2.4. Reproducción en cultivo

Uno de los puntos más importantes y cruciales para el desarrollo de la producción comercial de especies en cultivo para la acuicultura es la obtención de un número suficiente de alevines de buena calidad, para ello es muy importante resolver los problemas relacionados con la reproducción. Entre estos problemas destacan:

- la ausencia de ovulación y puesta
- la espermatogénesis inadecuada o debilitada
- la puesta en épocas inadecuadas para la producción
- las puestas asincrónicas
- la reducción del crecimiento somático durante la reproducción
- las puestas excesivas o indeseables, etc.

En la mayoría de las especies cultivables estos problemas son controlados mediante inducciones hormonales o regularización de ciertos parámetros ambientales como fotoperiodo, temperatura y salinidad. Debido a la profunda interrelación entre la reproducción y el metabolismo del reproductor en el régimen de cautividad, una adecuada *nutrición de los reproductores*



según el tipo de dieta, la composición, así como la ración aportada pueden alterar la calidad de la progenie y por tanto, el éxito reproductivo.

10.2.4.1. El medio de cultivo

El mantenimiento del desarrollo reproductivo y/o la puesta en cautividad depende de ser capaces de encontrar los requerimientos medioambientales de una especie. Esto no significa necesariamente recrear los parámetros físicos del medio natural, más frecuentemente se requiere la identificación y manipulación de una o dos variables críticas. Los requerimientos varían de una especie a otra, pero algunas consideraciones son generales. El fotoperiodo y la temperatura tienen que ser los adecuados para la fase de desarrollo de gametos y maduración, y el rango de temperatura debe tenerse en cuenta por el efecto negativo que la subida de temperatura de forma anómala tiene sobre el proceso reproductivo. La *nutrición de los reproductores* es importante para determinar tanto si el proceso reproductivo se desarrolla en su totalidad y para la viabilidad de las larvas. Sin embargo, quizás el factor crítico más importante en el manejo de las condiciones de cultivo sea minimizar el estrés fisiológico en los reproductores. El estrés tiene un sólido efecto inhibitor en la reproducción en los peces y puede quedar patente en la calidad de los huevos y de las larvas.

Las condiciones sociales también hay que tenerlas en consideración, tanto por el efecto de dominancia y su capacidad de generar estrés, como también porque la comunicación entre individuos puede ser importante en estimular o retardar el desarrollo ovárico. La comunicación por feromonas (sustancias secretadas al exterior por un individuo y detectadas por un segundo individuo de la misma especie en el que provocan una respuesta específica) entre individuos puede tener algún efecto sobre el crecimiento gonadal, pero sobre todo en la maduración. Un efecto inhibitor de este tipo puede convertirse en un problema en cautividad tanto en situaciones donde la densidad de cultivo es alta o donde se utilizan sistemas de recirculación, y el problema puede no estar restringido a la comunicación por feromonas.

10.2.4.2. Puntos críticos en la reproducción

La falta de reproducción puede ocurrir en distintos niveles. El problema más básico es cuando no hay ningún desarrollo reproductivo y el ovario permanece siempre en estado de previtelogénesis. Esta es la



situación que normalmente ocurre cuando se intenta aclimatar peces capturados del medio natural para ser reproductores.

Considerando el estrés como una respuesta del organismo, es decir una serie de fenómenos fisiológicos que tienen lugar cuando el propio organismo intenta resistir a la muerte o restablecer los valores homeostáticos frente a un agente externo, podemos decir que la fisiología asociada a la maduración y puesta está completamente ligada a la fisiología del estrés. Las variables medioambientales y en particular la *nutrición* son extremadamente importantes en la calidad de los gametos y en la regulación de la reproducción. Los efectos estresantes de la nutrición son moderados sobre el establecimiento de la primera maduración o la subsiguiente reproducción y/o por el mantenimiento de la calidad de los huevos o la atresia de otros. Factores finales en el establecimiento de la reproducción, como es el caso de la *nutrición*, pueden determinar la edad de la primera maduración y también la edad y la frecuencia reproductiva.

Típicamente, los peces bajo situaciones de estrés descienden sus niveles hormonales para la reproducción, seguidos muy de cerca por el desarrollo de atresia en el ovario, y por tanto falta de recrudescencia gonadal. Este puede ser debido a estrés crónico impuesto por las condiciones de cultivo, o a señales ambientales inadecuadas, o a una combinación de ambos. Estrés crónico no detectado, combinado con mayor sensibilidad al estrés de los stocks salvajes, es la explicación más probable, especialmente en peces que no muestran estrés en la aclimatación. Por ejemplo, los salmones salvajes muestran mayor sensibilidad al estrés que los de cautividad en términos de magnitud y duración del estrés con el incremento de cortisol en plasma y este modelo se mantiene al menos durante 7 meses en cautividad. Peces capturados del medio natural a menudo se alimentan y crecen y parecen no estresados, pero aún a pesar de estos parámetros presentan alteraciones fisiológicas medibles de estrés. Sin embargo, incluso cuando no parece que ocurra estrés en la aclimatación, puede que no exista maduración gonadal. Puede ocurrir que peces capturados como juveniles y mantenidos hasta reproductores y que no presentan variaciones en parámetros de control de estrés como el cortisol, comparados con ejemplares salvajes, no completen la vitelogénesis.

Los peces procedentes de poblaciones salvajes muestran respuestas fisiológicas variables al estrés, y esto es al menos heredable. Si hay una



alta sensibilidad al estrés reflejada en una alta mortalidad en cualquiera de las fases del cultivo, o hay falta de maduración sexual, entonces la domesticación se puede llevar a cabo a partir de peces cultivados con una selección muy precisa que favorezca la baja sensibilidad al estrés. Esto puede explicar por qué ocurre un desarrollo reproductivo normal en el espárido *Pagrus auratus* en la primera generación en cultivo, a pesar de la falta de ejemplares adultos salvajes que se aclimaten a la reproducción en cautividad.

Otro cuello de botella que ocurre en los peces es que se complete la vitelogénesis pero entonces falte la maduración final del ovocito o la ovulación. El estrés parece no tener un papel en este proceso. Parece más probable que la falta de maduración final resulte de condiciones ambientales, especialmente la temperatura. En la trucha arco iris, que como otros salmónidos muestran maduración final del ovocito y ovulación por fases del fotoperiodo, la maduración es retardada o parada por el mantenimiento de la temperatura en 15 °C. Las temperaturas más altas de los valores normales parecen que perjudican el proceso de maduración en otras especies y parece que esto se hace extensivo a muchos peces. Esto es una dificultad potencial en situaciones de manejo de reproductores, donde el cultivador no tiene control sobre las condiciones ambientales, tanto en el caso de variaciones de temperaturas por encima del rango normal de temperaturas, como en los casos de subidas generales de temperatura por el calentamiento global.

Los peces que ovulan en cautividad puede ser que no realicen la puesta, requiriéndose masaje para obtener huevos y espermatozoides, un proceso que es muy laborioso y que estresará más a los reproductores e incluso los puede dañar. Quizás lo más importante, es que existe una alta probabilidad de que los óvulos sean cosechados fuera del intervalo de máxima viabilidad post-ovulatoria. El tiempo que duran los huevos viables en el oviducto varía de unas especies a otras, desde 1-2 horas a varias semanas y dentro de una misma especie en función de la temperatura. En especies donde el periodo de viabilidad post-ovulatorio es corto, el masaje debe hacerse cercano al periodo de ovulación, por lo tanto es deseable mejorar las condiciones naturales de puestas.



Establecer las condiciones de cultivo en las que tenga éxito la reproducción puede ser uno de los aspectos más demandados en el manejo de reproductores, particularmente si la complejidad medio-ambiental tiene que aproximarse a las del medio natural antes de que la reproducción ocurra. Sin embargo, para una puesta exitosa puede que sólo se requiera uno o dos factores esenciales. En reproductores pelágicos, el comportamiento de puesta parece requerir un volumen crítico de agua o de profundidad. En la dorada, *Sparus aurata*, la puesta tiene lugar a partir de volúmenes de 4 m³ o más y en la lubina, *Dicentrarchus labrax*, en 10 m³ o más y en la dorada japonesa, *Pagrus major*, de 50 a 100 m³. Los volúmenes críticos varían según las especies, pero está claro que existe un volumen mínimo de mantenimiento por debajo del cual la puesta no ocurre, tanto porque el estrés afecte de forma directa, o porque la puesta requiera un volumen o profundidad mínima. En términos generales, parece más probable que el comportamiento reproductivo en peces de gran tamaño se mejore en proporción al volumen del tanque de los reproductores.

10.2.4.3. Tratamiento hormonal

Algunos aspectos de la falta de reproducción se pueden dirigir con el uso de tratamientos hormonales en distintos puntos de la reacción endocrina. Típicamente estos tratamientos se realizan con análogos sintéticos de GnRH. (GnRHa) para estimular la producción de hormona gonadotropina (GtH). La eficacia de la GnRHa se puede mejorar con la coadministración de un antagonista de la Dopamina (DA). La administración de GnRHa tanto por inyección, por pellets o implantes de liberación lenta son los métodos más usados para inducir la ovulación en peces que han completado la vitelogénesis, pero les falta la maduración final del oocito, y también muy efectiva en la estimulación de la espermiación e hidratación del esperma en machos. Los pellets con GnRHa también tienen la capacidad de estimular la maduración del oocito desde los primeros estados.

Los cotratamientos con GnRHa o GtH y esteroides (o substratos de síntesis de esteroides) también tienen un efecto estimulante de la maduración gonadal.



10.2.4.4. Manipulación medioambiental

El hecho de que los ciclos reproductivos de peces (particularmente de climas templados) se ponen en marcha por ciclos anuales de fotoperiodo y temperatura significa que la manipulación de estas variables (manipulación fototérmica) se puede usar para cambiar el periodo de reproducción. La exposición de los peces a uno o más ciclos anuales reducidos de fototermoperiodos, seguido por la extensión hacia un ciclo de un año, permite el mantenimiento de varios grupos de reproductores con diferentes periodos de puestas. La manipulación del fototermoperiodo es una herramienta muy usada, sin embargo es importante mencionar el hecho de que la lubina estriada, *Morone saxatilis*, mantenida en ciclos continuos de 6 ó 9 meses origina ovarios y oocitos de menor tamaño que los peces con ciclos de longitud normales. No se sabe si el pez se recupera cuando vuelve a los ciclos normales.

Un resumen de las causas probables y posibles soluciones a estos problemas se resume en el CUADRO 4.

10.3. BIOENERGÉTICA

El periodo más costoso de la vida de muchos organismos es la maduración y reproducción, cuando los recursos se dirigen a la consecución de alimento y el desarrollo de los procesos para el éxito en la reproducción. Este es el caso de al menos algunas especies, como el salmón del Atlántico y del Pacífico, que a menudo emigran a grandes distancias de donde se alimentan en el océano abierto a los lugares de nacimiento.

En acuicultura, como ya se ha citado, los gastos en reproducción no son tan drásticos. Sin embargo, la reproducción es una parte crítica del ciclo de producción en las granjas de peces y supone bastantes cambios en la adquisición y reparto de la energía por el pez. La reproducción implica la síntesis y el almacenamiento temporal de nuevos tejidos que se forman casi independientemente de la entrada de energía en la dieta, siendo utilizada de otras partes del cuerpo si la dieta fuera insuficiente. Consecuentemente la redistribución de la energía en los tejidos que tiene lugar en la época reproductiva puede complicar las medidas de balance de energía.



CUADRO 4.
Resumen de las posibles causas y soluciones a los problemas reproductivos del manejo de peces

Problema	Causa	Solución
Sin desarrollo de gametos	Estrés	Manejo: <ul style="list-style-type: none"> • minimizar el estrés • maximizar los volúmenes de cultivo
	Nutrición	Encontrar los requerimientos nutricionales
	Señales físicas	Manipulación ambiental <ul style="list-style-type: none"> • adecuar el sustrato o el volumen de cultivo Terapia hormonal <ul style="list-style-type: none"> • piensos para la liberación hormonal de GnRHa
No maduración final del ovocito o falta de ovulación	Señales físicas	Manipulación ambiental <ul style="list-style-type: none"> • adecuar el sustrato o el volumen de cultivo • mantenimiento de parámetros de cultivo óptimos
	Señales sociales	Manejo de stock <ul style="list-style-type: none"> • mantenimiento adecuado de grupos por sexo y tamaño Terapia hormonal <ul style="list-style-type: none"> • inyección o piensos de GnRHa
Falta de puesta	Señales físicas	Manipulación ambiental
	Señales sociales	Manejo de stock <ul style="list-style-type: none"> • mantenimiento adecuado de grupos por sexo y tamaño Terapia hormonal <ul style="list-style-type: none"> • inyección o piensos de GnRHa • inyección de prostaglandinas
Periodo de puesta inadecuado	Señales físicas	Manipulación ambiental <ul style="list-style-type: none"> • manipulación de los ciclos con foto/termoperiodo

El contenido energético de los huevos de trucha arco-iris es sobre 27kJ/g de materia seca, independientemente del tamaño del huevo. El contenido medio de energía de huevos, medido en cerca de 50 teleósteos, es 23,5 kJ/g de materia seca cualquiera que sea el tamaño del huevo. La cantidad total de energía almacenada en los huevos representaría del 8 al 15 % de la energía del cuerpo entero, muy correlacionado con el índice gonadosomático, $IGS = (\text{peso de las gónadas} / \text{peso del cuerpo}) \times 100$. Para la mayoría de las especies, las gónadas masculinas representan una pequeña proporción de la masa corporal. Por otro lado, los ovarios maduros pueden representar hasta un 30 % de la masa corporal en ciertas especies. En algunos reproductores múltiples como la dorada, la producción total de huevos en una sola estación puede alcanzar el 100 % de la masa corporal.



Mientras que la composición y el contenido energético de las gónadas están bien caracterizados en numerosas especies, no hay estudios del coste energético de la formación de la gónada. Este coste sólo puede ser evaluado en estudios a largo plazo, por el esfuerzo de la reproducción, que corresponde a la cantidad de energía almacenada en los gametos comparada con la entrada de energía.

El coste total de la reproducción excede al coste de producción de gametos. El desarrollo de caracteres sexuales secundarios, la producción de mucus, el comportamiento de apareamiento, la formación de nidos y la migración supone un gasto energético. La energía en la natación supone una parte importante que puede superar la entrada por la alimentación, siendo necesaria la utilización de energía almacenada en los tejidos.

10.3.1. Balance energético en la reproducción

La energía de la que dispone un animal se reparte entre cada uno de los procesos fisiológicos implicados en el mantenimiento, crecimiento y reproducción. El resultado de este reparto es que no es posible que la energía pueda ser usada en más de un propósito, es decir, la energía que se usa para el crecimiento no se puede usar para la reproducción. La relativa repartición de la energía entre crecimiento y reproducción varía según las especies e incluso entre diferentes grupos de una misma especie, así por lo tanto las generalidades son difíciles.

Se ha estudiado la relación entre crecimiento y reproducción en guppies, *Poecilia reticulata*. Se compararon 2 grupos de hembras unas no reproductivas y otras reproductivas, cada unas alimentadas con alimento natural, para determinar la cantidad de energía destinada a proteína (crecimiento corporal), grasa (energía almacenada) y reproducción (desarrollo gonadal). En este experimento, aquellos animales que no gastaron energía en procesos reproductivos almacenaron el exceso de energía como grasa más que en crecimiento corporal o proteína corporal. En otro experimento con la misma especie, se comprobó que el incremento de la energía utilizada en reproducción se realizaba a expensas del crecimiento somático. En otro experimento realizado con gobio, *Rutilus rutilus*, se vio que la energía destinada a reproducción se podía redirigir de aquella destinada en principio a la locomoción.



Está claro que el costo energético de la reproducción se debe a la desviación de la energía de otro tipo de actividad.

La cantidad total de energía disponible para la utilización en varios procesos fisiológicos está condicionando el tamaño, la calidad y el número de huevos producidos. En uno de los primeros trabajos de este tipo se describe la relación entre un régimen de varios días de ayuno y la regresión gonadal en la trucha, *Oncorhynchus mykiss*. En estudios más recientes con la misma especie, se ha podido comprobar cómo el número de huevos producidos por peces que se alimentan con una ración del 0,7 % de su peso corporal al día frente a los que se alimentan con la mitad de la dosis, 0,35 % de su peso corporal, es mucho mayor y el diámetro de los huevos también es mayor, mientras que por el contrario la fecundidad relativa expresada como número de huevos por kilogramo de pez, es superior en los peces que se alimentan con la mitad de la dosis. Esto es debido a la interacción de dos factores: en primer lugar al ser los huevos de menor tamaño, se produce mayor cantidad para un volumen gonadal. Y en segundo lugar, los peces reproductores alimentados con una ración reducida crecen menos a lo largo del periodo de estudio, 6 meses, y la proporción de gónada frente al volumen corporal es mayor en peces más pequeños. Otro efecto de la reducción de las dosis en la trucha, es la modesta reducción del número de peces que alcanzan la madurez y un retraso de 2 a 3 semanas en el momento de iniciarse las puestas. Por lo tanto la reducción de la ración en la trucha, y posiblemente de forma genérica, ocasiona una reducción del tamaño del huevo pero con un aumento de la fecundidad relativa.

En estudios precedentes, dentro de las condiciones generalmente favorables de criaderos comerciales, se había observado que el tamaño del huevo no tiene implicaciones directas más allá de la calidad del huevo (fertilización y eclosión) y de la supervivencia de los alevines. Así, por lo tanto, en la trucha al menos, puede existir interés en producir gran cantidad de huevos por reducción de las dosis ya que son de similar calidad. Los productores deben tener cuidado, sin embargo, en asegurar que las raciones de alimento sean suficientes para permitir el crecimiento y que los reproductores puedan satisfacer sus requerimientos necesarios para su mantenimiento.



10.4. EFECTO DE LA NUTRICIÓN DE LOS REPRODUCTORES EN LA REPRODUCCIÓN DE PECES

El crecimiento somático continua ininterrumpido en la mayoría de la especies de peces hasta que una combinación de factores externos e internos inicia la maduración sexual. Los efectos temporales de la maduración sexual en peces son variables, ocurriendo en semanas o meses, dependiendo de la especie. Durante la maduración sexual, el crecimiento somático disminuye y el crecimiento gonadal se acelera hasta que el pez desova. En muchas especies de peces cultivados, la alimentación cesa durante o en parte del proceso de maduración. Si el pez es una especie que sobrevive a la puesta, la alimentación comienza una vez que termina la puesta. Las especies marinas como la lubina, necesitan ácidos grasos n-3 durante el desarrollo ovárico. Generalmente, las formulaciones contienen altos niveles de proteína, energía y ciertas vitaminas asociadas con la conversión de nutrientes de tejidos titulares de la hembra en nutrientes del huevo. Los niveles de ácido ascórbico a menudo se incrementan en las dietas de reproductores, dado que en algunas especies estos niveles son altos en los huevos. Para salmónidos, es necesario suplementar la dieta con pigmentos carotenóides, como la astaxantina, para asegurar puestas viables.

La fecundidad está asociada con el tamaño del pez en la mayoría de las especies, así a medida que el pez crece más rápido antes de que se produzca la maduración, mayor número de huevos se obtendrán. Sin embargo, esto puede no ser la estrategia más económica para producir huevos, como los cálculos de la fecundidad relativa ilustran. Las truchas pequeñas, por ejemplo, producen más huevos por kg de hembra que las grandes. Así, desde un punto de vista económico, uno debe limitar el tamaño de las hembras.

El metabolismo de las proteínas en peces difiere durante la maduración sexual comparado con los estados de crecimiento de su vida. Se ha encontrado que hay un intercambio de proteínas considerable y reparto de amino ácidos durante la inanición y madurez sexual del salmón atlántico, *Salmo salar*. Los ovarios obviamente realizan la mayor contribución a la demanda de energía y de amino ácidos del pez du-



rante este periodo. La mayoría de los amino ácidos necesarios para la maduración del ovario se originan en el músculo y se hacen disponibles por la degradación de las proteínas.

La correcta alimentación y nutrición de los reproductores permite mejorar algunos factores como la calidad del huevo o de los gametos y lógicamente de los alevines producidos. Pero en la mayoría de los casos los conocimientos sobre los requerimientos nutricionales de los reproductores son insuficientes para mejorar la calidad de las puestas debido a la complejidad de este tipo de estudios, así como a la dificultad de trabajar en ciclos generalmente anuales y con elevados costes añadidos. La información de los requerimientos nutritivos de los reproductores de peces está limitada a unas pocas especies y nutrientes. Sin embargo hay una cuestión bastante clara, los requerimientos nutricionales de los reproductores son diferentes de los alevines y juveniles por sus altas tasas de crecimiento. También está claro que muchas de las deficiencias y de los problemas encontrados en las primeras etapas de la vida larvaria están directamente relacionados con el régimen de alimentación de los reproductores.

Para ciertos nutrientes como son los ácidos grasos esenciales y antioxidantes se sabe que juegan un papel importante en la nutrición de los reproductores. Sus requerimientos son más altos que en los juveniles, pero cantidades excesivas o desequilibrio en los componentes también pueden ser perjudiciales para la reproducción. También se conocen datos sobre la importancia de algunos minerales, como el fósforo, así como la calidad de las proteínas. Igualmente ocurre con ciertas vitaminas como la A, B₆ y el ácido fólico, estando aún en estudio la influencia de este tipo de compuestos.

La nutrición de los reproductores afecta a la reproducción de peces en cultivo en diversos aspectos como son la fecundidad, el desarrollo embrionario y en la calidad larvaria.

Algunos de los efectos de la *nutrición* de reproductores sobre la reproducción en sí se analizan a continuación.

10.4.1. Efecto de la restricción de alimento

La restricción del alimento por sí misma puede afectar seriamente el éxito de la reproducción. La reducción de la tasa de alimentación se ha demostrado que causa inhibición de la maduración gonadal en



algunas especies de peces como la lubina y el salmón del atlántico. En la lubina, después de 6 meses de alimentar a los reproductores con la mitad de la ración de alimento, la tasa de crecimiento decreció, el periodo de puesta se retrasó y los huevos, así como las larvas recién eclosionadas fueron más pequeños que aquellos obtenidos de peces con las raciones completas de alimento. En las hembras de lubina, el efecto perjudicial de la restricción de alimento se asoció con la reducción de los niveles de estradiol en plasma.

Para una respuesta reproductiva óptima el régimen de alimentación, medido como composición y dosis de la dieta tanto en el periodo de maduración previo a la puesta, así como durante el periodo de desove, debe ser adecuado para garantizar la no restricción de nutrientes esenciales para estos procesos metabólicos.

10.4.2. Efecto de la nutrición en la fecundidad de reproductores de peces

Entre los métodos desarrollados para determinar la calidad del huevo de los peces, la fecundidad es uno de los usados por ser sensible a deficiencias nutricionales en las dietas de reproductores. La fecundidad es el número total de huevos producidos por cada pez expresado en términos de huevos/puesta o de huevos/peso corporal. La fecundidad reducida, que ha sido documentada en varias especies, podría ser causada tanto por la influencia de un desequilibrio nutricional sobre el sistema hipotálamo-hipófisis-gónada o por la restricción en la disponibilidad de un componente bioquímico para la formación del huevo.

El aumento de los niveles de lípidos del 12 al 18 % en las dietas del sigano, *Siganus guttatus*, produce un incremento en la fecundidad y la eclosión, aunque este efecto puede también estar relacionado con el incremento gradual de ácidos grasos en la dieta.

Uno de los principales factores nutricionales que se ha descrito que afecta a los rendimientos reproductivos en peces es el contenido en ácidos grasos esenciales en la dieta. La forma habitual de indicar el tipo de ácido graso consiste en tres números (ejemplo: 18:1n1). El primero indica la longitud de la cadena, es decir el número de átomos de carbono; el segundo, el número de dobles enlaces de la cadena (separado del anterior número por dos puntos), el tercero señala la serie o familia



a la que pertenece el ácido graso, precedido de una **n** o de una **w**. Así el ácido oleico será 18:1n9 (18 carbonos, 1 doble enlace en el carbono número 9). El ácido linoleico es 18:1n6 y el linolénico 18:1n3.

En la dorada *Sparus aurata* se ha encontrado que la fecundidad aumenta significativamente hasta el 1,6 % con el incremento del nivel de n-3 HUFA en la dieta (ácidos grasos poliinsaturados con 20 ó más átomos de carbono, esenciales para peces marinos).

Con la excepción de salmónidos y el rodaballo (*Scophthalmus maximus*), las reservas de lípidos del músculo se utilizan durante la maduración de los ovarios. En espáridos, la composición en ácidos grasos de la gónada femenina está fuertemente influenciada por el nivel de ácidos grasos de la dieta, que a su vez influencia significativamente la calidad del huevo a corto plazo. Así en la dorada, el contenido en ácidos grasos de los huevos está directamente afectado por el contenido en n-3 HUFA de la dieta de reproductores. Tanto los niveles de ácidos grasos n-3 y de n-3 HUFA de los huevos de dorada se incrementan con el incremento de los niveles de n-3 HUFA de la dieta, principalmente debido al incremento de 18:3n-3, 18:4n-3 y 20:5n-3 (EPA, ácido eicosapentanoico) en los huevos. Se ha observado una correlación positiva entre los niveles de n-3 HUFA en la dieta y los huevos con la concentración de EPA siendo más rápidamente afectada por los n-3 HUFA que por el DHA (ácido docohexanoico) de la dieta.

También se ha encontrado una retención selectiva de DHA durante la embriogénesis y durante la inanición, denotando la importancia de este ácido graso para el desarrollo del embrión y la larva. Los ácidos grasos poliinsaturados también pueden regular la producción de eicosanoides, particularmente prostaglandinas, las cuales están implicadas en varios procesos reproductivos, incluyendo la producción de hormonas esteroides y el desarrollo gonadal como la ovulación.

En otras especies como el bacalao (*Gadus morhua*), no se ha observado un efecto claro de los ácidos grasos esenciales en la fecundidad de peces comerciales alimentados con diferentes dietas comerciales enriquecidas con diferentes tipos de aceites. En un experimento a largo plazo con reproductores de bacalao alimentados con dietas enriquecidas con aceite de soja, capelín o sardina, se observó un efecto relativamente pequeño de la composición en ácidos grasos de los hue-



vos en los peces alimentados con aceites de pescado, sin embargo la concentración de n-3 HUFA en los huevos se redujo si eran alimentados con aceite de soja. Estos resultados pueden ser debidos a unos requerimientos de ácidos grasos esenciales para los reproductores de bacalao más bajos comparados con los espáridos, que posiblemente le permita derivar ácidos grasos esenciales (EFA) de los lípidos residuales presentes en el componente de pescado de la dieta para satisfacer sus necesidades fisiológicas.

Además de los efectos perjudiciales de las deficiencias en EFA, su exceso también se ha citado por tener efectos negativos en la reproducción. Por ejemplo, niveles altos de n-3 HUFA en la dieta reduce el número total de huevos producidos por la dorada a pesar de un incremento en la concentración de n-3 HUFA en los huevos. Puesto que la reducción de la fecundidad se asocia con altos niveles de n-3 HUFA en los huevos, el incremento solo de EFA no se debe usar como criterio para establecer la calidad de los huevos en la dorada.

Otros nutrientes que se han demostrado afectan a la fecundidad son la vitamina E (tocoferol) y el ácido ascórbico o vitamina C. Un incremento en la dieta de los niveles de α -tocoferol de hasta 125 mg/kg resultó en una mejora de la fecundidad de dorada, expresada como el número total de huevos producidos por hembra y viabilidad del huevo. Sin embargo, la fecundidad reducida observada en reproductores alimentados con una dieta deficiente en α -tocoferol no estuvo asociada con el contenido reducido en vitamina E de los huevos, y sólo muy altos niveles de vitamina E (2020 mg/kg) se encontró que incrementan el contenido de α -tocoferol del huevo. En otras especies como el rodaballo y el salmón del Atlántico, la vitamina E fue movilizada de tejidos periféricos durante la vitelogénesis aunque los niveles de vitelogenina en plasma no se afectaron, sugiriendo que las lipoproteínas pueden estar envueltas en el transporte de la vitamina E durante este periodo.

El contenido en vitamina C de los huevos de trucha arco iris refleja el contenido de este nutriente en la dieta y está asociado con la mejora en calidad de los huevos. Los cambios en contenido de vitamina C de los ovarios de bacalao no afectan significativamente a las tasas de eclosión. De nuevo estos resultados sugieren que la composición bioquímica de los huevos no se debe usar como criterio único para determinar



la calidad de los huevos, a pesar del hecho de que varios autores han sugerido que la composición química de los huevos de peces está relacionada con el éxito reproductivo puesto que los nutrientes almacenados en los huevos deben satisfacer las demandas nutricionales para el desarrollo embrionario y el crecimiento.

Los requerimientos antioxidantes de la dieta se incrementan durante la reproducción. Esto puede ser relacionado con la formación de radicales de oxígeno durante la biosíntesis de hormonas esteroideas como ha sido observado en vertebrados superiores.

El amino ácido triptófano de la dieta, un precursor del neurotransmisor serotonina, puede afectar positivamente la maduración gonadal tanto en machos como en hembras. Una suplementación del 0,1 % de triptófano en la dieta de ayu (*Plecoglossus altivelis*) origina un incremento significativo de los niveles de testosterona en suero, por tanto avanzando el tiempo de la espermiación en machos e induciendo la maduración en hembras.

10.4.3. Efecto de la nutrición de reproductores en la fertilización

Ciertos nutrientes de la dieta también ejercen un efecto marcado sobre la fertilización. Los niveles de EPA (eicosapentanoico) y AA (ácido araquidónico) en la dieta muestran una correlación con las tasa de fertilización en reproductores de dorada. Así, la composición de ácidos grasos esenciales del esperma depende del contenido en ácidos grasos esenciales de la dieta de los reproductores de especie como la trucha arco iris y la lubina, lo que es posible que afecte a la movilidad del esperma y consecuentemente a la fertilidad. Particularmente en salmónidos, donde la criopreservación del esperma se usa frecuentemente, la composición en ácidos grasos del esperma puede ser un factor que determine la integridad de la membrana después del proceso de congelación-descongelación. Sin embargo, no se encontró ningún efecto de los ácidos grasos de la dieta (ácidos grasos poliinsaturados n-3 y n-6) en la capacidad fertilizante del esperma descongelado, mientras que proporciones bajas de colesterol-fosfolípidos de membrana estaban correlacionados con una mejor resistencia del esperma a la congelación.



Otros nutrientes conocidos que son importantes para la fertilización son la vitamina E, los carotenoides y la vitamina C. Se ha demostrado que el ácido ascórbico (vitamina C) juega un papel importante en la reproducción de salmónidos en la esteroidogénesis y la vitelogénesis. La función antioxidante de las vitaminas C y E pueden jugar un papel importante para las células espermáticas durante la espermatogénesis y hasta la fertilización mediante la reducción del riesgo de la peroxidación de lípidos, lo cual es perjudicial para la movilización del espermatozoide. La concentración de ácido ascórbico en el líquido seminal refleja la concentración de esta vitamina en la dieta de los reproductores y no afectó a la calidad del semen al comienzo de la estación de puesta. Sin embargo, una deficiencia en ácido ascórbico reduce la concentración de espermatozoides y la movilidad durante el periodo final de la época de reproducción.

10.4.4. Efecto de la nutrición de reproductores sobre el desarrollo embrionario

Varios nutrientes son necesarios para el desarrollo normal del embrión, y sus niveles óptimos en las dietas de reproductores mejoran la morfología del huevo y las tasas de eclosión. El porcentaje de huevos morfológicamente normales, como un parámetro para determinar la viabilidad del huevo, se ha visto que se incrementa con un aumento de los niveles de n-3 HUFA en la dieta de reproductores y una incorporación de estos ácidos grasos en los huevos, indicando así la importancia de los EFA (ácidos grasos esenciales) para un desarrollo normal de huevos y embriones de dorada. Una dieta para dorada deficiente en ácidos grasos esenciales también produce un aumento del número de gotas de grasa, cuando sólo debe tener una, en el huevo como ya se comprobó con la dorada japonesa. La mejora en la calidad del huevo se ha asociado con contenidos más altos en ácidos grasos n-3 en la lubina alimentada con una dieta de pienso enriquecida con aceites de pescado de alta calidad, mientras que la comparación entre huevos de bacalao de agua salobre y marina demuestran que el ácido araquidónico y la proporción DHA/EPA contenida en la fracción polar PL de los huevos están positivamente correlacionadas con la simetría y viabilidad de los huevos. Estos ácidos grasos juegan un papel estructural



importante como componentes de los fosfolípidos de biomembranas en peces y están asociados con la fluidez de membranas y el correcto funcionamiento fisiológico de enzimas asociadas a membrana y con la función celular en peces marinos. En algunas especies como el halibut, *Hippoglossus hippoglossus*, los ácidos grasos poliinsaturados n-3 (n-3 PUFA) también constituyen una fuente de energía durante los primeros estados de desarrollo embrionario. No obstante, la composición de ácidos grasos de los lípidos de los huevos de peces no sólo está determinada por la dieta de reproductores, sino que también está relacionado con las diferencias entre especies y stocks. Los requerimientos en ácidos grasos esenciales en reproductores de espáridos varían entre 1,5 y 2 % de n-3 HUFA en la dieta, siendo mayores que los determinados para juveniles que varían entre 0,5 y 0,8 % de n-3 HUFA en la dieta. Estos valores son más altos que el nivel óptimo de ácidos grasos esenciales determinados para salmónidos, que son aproximadamente del 1 % n-3 HUFA.

Los radicales libres también pueden deteriorar la membrana del huevo y la integridad de las membranas. Las vitaminas E, C y los carotenoides (e.g. Astaxantina) tienen un fuerte papel protector contra los radicales libres. Aunque los efectos negativos de la deficiencia en vitamina E sobre la reproducción de vertebrados superiores es conocida desde los años 20, la deficiencia de vitamina E en la dieta como factor importante en la reproducción de peces sólo se conoce desde 1990, produciendo gónadas inmaduras en carpa y ayu, y reduciendo las tasas de eclosión y supervivencia larvaria en ayu. El incremento de los niveles de vitamina E (hasta 2000 mg/kg) en las dietas de dorada mejora los porcentajes de huevos flotantes, tasa de eclosión y el porcentaje de larvas normales. Un incremento del nivel de α -tocoferol de 22 a 125 mg/kg también reduce significativamente el porcentaje de huevos anormales en dorada y origina una mejora del número de huevos normales. Los valores más bajos de fertilidad y supervivencia larvaria se producen en huevos de reproductores alimentados con los niveles más bajos de α -tocoferol. En la dorada, un nivel de vitamina E de 250 mg de α -tocoferol/kg de dieta es suficiente para el éxito reproductivo, sin embargo otros autores sugieren que este nivel es sub-óptimo para reproductores de rodaballo.



Los carotenoides también se han considerado importantes para el desarrollo normal de los embriones y larvas de peces. En el caso de los salmónidos ha existido una gran controversia en esta relación entre carotenoides y calidad de puesta, debido muchas veces a diferencias en la metodología de experimentación. La adición de astaxantina purificada a las dietas de reproductores de dorada japonesa se ha comprobado que mejora el porcentaje de huevos flotantes, la eclosión y el porcentaje de larvas normales. Por el contrario, la inclusión de β -carotenos no tiene efectos en esos parámetros. Los carotenoides constituyen una de las clases de pigmentos más importantes en peces, con una amplia variedad de funciones incluyendo protección de condiciones adversas de luz, una fuente de provitamina A, funciones de quimiotaxis de los espermatozoides y funciones antioxidantes.

La supervivencia del embrión también se ha visto que está afectada por el contenido en vitamina C de la dieta de reproductores. Esta vitamina es necesaria para la síntesis de colágeno durante el desarrollo embrionario. En reproductores de trucha arco iris (*O. mykiss*), los requerimientos de vitamina C son hasta 8 veces mayores que en los juveniles, aunque requerimientos mucho menores de ácido ascórbico se han citado en las dietas de reproductores de bacalao.

Otras investigaciones en dorada japonesa han demostrado que los fosfolípidos de la dieta mejoran la calidad del huevo. Aunque el efecto beneficioso de los fosfolípidos se ha atribuido a la capacidad de estabilizar los radicales libres, en algunas especies de peces son importantes durante el desarrollo larvario siendo preferentemente catabolizados después de la eclosión y antes de la primera alimentación.

A pesar de que se conoce poco sobre los requerimientos de vitamina A durante la maduración gonadal y la puesta, se considera importante para el desarrollo embrionario y larvario debido a su importancia en la formación de hueso, la formación de la retina y la diferenciación de las células inmunes. Se ha observado un incremento de la concentración de retinol en el hígado del rodaballo durante la maduración gonadal a medida que se incrementa la longitud del día, mientras que la concentración de retinol se redujo durante la maduración.

Otro de los nutrientes de la dieta que afectan a la reproducción en peces marinos es la cantidad de proteína ingerida en la dieta. En la dorada,



una dieta de reproductores con un contenido bien equilibrado en aminoácidos, mejora la vitelogénesis. Por otra parte, una reducción de los niveles de proteínas en la dieta del 51 al 34 % junto con un incremento de los niveles de carbohidratos del 10 a 32 % reduce la viabilidad de los huevos en la lubina. Estas dietas se ha demostrado que causan alteraciones en la liberación de GnRH en reproductores de lubina durante la puesta y en los niveles en plasma de gonadotropina GtH II, ésta última conocida por su papel importante en la maduración del oocito y en la ovulación.

Es importante realizar nuevas investigaciones sobre los requerimientos de tiamina (vitamina B₁) por la evidencia de su importante papel en el desarrollo normal del embrión y de la larva al menos en salmónidos. Así, por ejemplo, la inyección de tiamina en hembras maduras de salmón atlántico reduce la mortalidad en la progenie.

La investigación también se debe dirigir a estudiar los requerimientos de piridoxina (vitamina B₆) en las dietas de reproductores, ya que juega un papel importante en la síntesis de hormonas esteroideas y del ácido fólico, ya que su deficiencia puede reducir las divisiones celulares por deterioro en la síntesis de DNA y RNA y por su papel en la eclosión del huevo.

10.4.5. Efecto de la nutrición de los reproductores en la calidad de la larva

Pocos estudios han sido capaces de demostrar una mejora en la calidad de la progenie a través de la mejora en la nutrición de los reproductores. Los niveles de n-3 HUFA (especialmente el ácido docohexanoico, DHA) en las dietas de reproductores proporcionan un aumento del peso de las larvas y de su resistencia a los cambios osmóticos. De forma análoga, incrementos en los niveles de n-3 HUFA en las dietas de reproductores de dorada mejoran significativamente el porcentaje de supervivencia de las larvas después de la reabsorción del saco vitelino. Además, el crecimiento, la supervivencia y la inflación de la vejiga natatoria en larvas de dorada se mejoran cuando se usa aceite de pescado en lugar de aceite de soja en las dietas de los peces reproductores. Sin embargo, niveles excesivos de n-3 HUFA en las dietas de reproductores (más del 2 %) originan hipertrofia del saco vitelino en larvas de dorada y disminuye las tasa de supervivencia de larvas. Esto está probablemente asociado al



incremento de requerimientos antioxidantes, puesto que un incremento del nivel de α -tocoferol de 125 a 190 mg/kg previene la aparición de hipertrofia del saco vitelino y la mortalidad larvaria.

10.5. DISTRIBUCIÓN DE LA NUTRICIÓN DE REPRODUCTORES

En algunas especies como la dorada y la lubina, la composición del huevo se ve afectada rápidamente por la dieta en pocas semanas de alimentación. En estas especies que son reproductores continuos con cortos periodos de vitelogénesis, es posible mejorar la calidad de las puestas mediante la modificación de la calidad nutricional de las dietas de reproductores incluso durante la época de puesta. De forma análoga, es posible mejorar la calidad de los huevos y las tasas de eclosión en lubina alimentando a los reproductores con cantidades adecuadas de n-3 HUFA durante el periodo vitelogénico, que es ligeramente mayor que en los espáridos. En lotes de puestas con hasta 6 meses de vitelogénesis, como los salmónidos, los reproductores deben ser alimentados con una dieta de calidad durante varios meses antes del periodo de puesta para mejorar el éxito reproductivo. Aunque los perfiles de ácidos grasos del músculo del pez y de los huevos en desarrollo del salmón coho reflejan variaciones diarias de estos ácidos grasos solamente 2 meses después de la alimentación, se ha demostrado que la composición lipídica de los tejidos de reproductores de dorada alcanzan un equilibrio con los lípidos de la dieta solamente 15 días después de la alimentación. El rodaballo puede ser una excepción a esta observación porque es importante alimentar a los reproductores con dietas de alta calidad nutricional durante los periodos de vitelogénesis y puesta. La composición de los ovarios del rodaballo se ve afectada más rápidamente por la dieta durante los primeros estados del desarrollo gonadal.

10.6. INGREDIENTES DE ALTO VALOR EN LAS DIETAS DE REPRODUCTORES

Diversos alimentos se han reconocido como altamente valiosos para la alimentación de reproductores. En dorada, cuando los reproductores



se alimentan con calamar troceado o con una dieta comercial adicional con calamar troceado, se encontró una relación estrecha entre los lípidos y la composición de ácidos grasos de las dietas de reproductores y los huevos. Algunos autores han sugerido que el calamar, la sepia o la pota troceada contienen componentes nutricionales que son esenciales para el éxito reproductivo en la dorada. En 1989 se describió el efecto beneficioso de los altos contenidos de ácidos grasos esenciales de la pota o calamar troceado. Sin embargo, estudios anteriores sugieren que el alto valor en la dieta de la pota o calamar troceado se debía principalmente a la fracción de grasas insolubles del alimento. Otra serie de experimentos se realizaron para identificar los componentes de la carne de calamar que mejoraban la calidad del huevo. Estos trabajos demostraron una mejora en la calidad del huevo cuando los reproductores fueron alimentados con la fracción insoluble de grasas del calamar en términos del número total de huevos producidos diariamente (por kg de hembra) y del porcentaje de huevos viables y fertilizados. La proteína de la carne de calamar, el componente mayoritario de la fracción de grasas insolubles, tenía un efecto beneficioso en la calidad de los huevos. Puesto que los perfiles de amino ácidos eran muy similares entre las dietas de este último estudio, el superior valor nutricional de las dietas basadas en proteínas del calamar puede estar relacionado con el mayor poder de digestibilidad de la dorada. De hecho, niveles ligeramente superiores de proteína se encontraron en los huevos de reproductores alimentados con dietas basadas en proteínas de calamar y también produjeron alrededor de un 40 % más de huevos/kg/hembra que las dietas basadas en carne de pescado. También se demostró que el alto contenido en calcio de la carne de pescado no originaba peores puestas cuando se comparaban con la carne de calamar. De forma análoga se ha comprobado una mejora en la viabilidad de los huevos cuando se reemplazaba el 50 % de la carne de pescado por la de calamar, aunque no se afectó el número de huevos producidos por hembras. La sustitución de proteínas o lípidos extraídos de la carne de calamar con proteínas o lípidos extraídos de soja en las dietas de reproductores de dorada originaban una reducción en la tasa de eclosión y en la supervivencia de larvas de 3 días. Esto puede ser debido al efecto beneficioso de la carne de calamar o al efecto perjudicial de la soja,



ya que contienen varios factores antinutricionales que limitan su uso como fuente de proteínas.

Otro ingrediente del alimento, a menudo usado en las dietas de espáridos, es el krill que posee la cualidad de mejorar la ingesta de alimento comparada con la carne de pescado. Así en reproductores de dorada japonesa la viabilidad de las puestas, en términos de porcentaje de huevos flotantes, porcentaje de eclosión y larvas normales, era más del doble cuando el krill se incluía en las dietas de reproductores. En estudios sobre el efecto beneficioso del krill en la calidad de las puestas de la dorada japonesa, también se ha visto que tanto las fracciones polar y no polar de lípidos contienen importantes componentes nutricionales para los reproductores. El efecto positivo se atribuye a la presencia de fosfatidil colina y astaxantina en las fracciones polar y no polar respectivamente. A pesar de la importancia del krill como factor de mejora de la calidad de puestas en dorada japonesa, hay pocos estudios sobre su efecto en otros espáridos.

10.7. PRÁCTICAS DE ALIMENTACIÓN DE REPRODUCTORES

En la práctica, la mayoría de los criaderos de peces mejoran la alimentación de sus reproductores alimentándolos solamente con alimento a base de productos frescos del mar o por combinación con dietas comerciales. Los alimentos frescos de origen marino más usados para alimentar a los reproductores de peces incluyen calamar, jibia, sepias o potas, mejillones, krill y pequeños crustáceos. El uso de estos productos no procesados a menudo no ofrecen los niveles adecuados de nutrientes necesarios para los reproductores e incrementan el riesgo de transmisión de enfermedades de los padres a las crías incluyendo endo y ectoparásitos, patógenos bacterianos y víricos, etc. La calidad nutricional de alimentos formulados se puede mejorar efectivamente. Por ejemplo, un incremento en los niveles de n-3 HUFA de la dieta hasta el 2 %, con un contenido en α -tocoferol de hasta 250 mg/kg, y la inclusión de carne de calamar mejor que carne de pescado, se ha encontrado que incrementa la producción de larvas 3 veces comparada con dietas comerciales. También se pueden mejorar la calidad de las



larvas en términos de crecimiento, supervivencia e inflación de la vejiga natatoria. Estos cambios incrementan los costos de producción, que serían incluso más altos si se desarrollan dietas para cada especie. Sin embargo los beneficios conseguidos con la mejora de la supervivencia y la producción de larvas recompensarán los costos iniciales de la alimentación de los reproductores.

Conclusiones

La *nutrición de los reproductores* es vital para producir huevos y larvas de alta calidad con un contenido de ácidos grasos optimizado para el éxito del desarrollo del embrión y la larva. Los ácidos grasos y, en especial, la composición de clase de lípidos de los huevos de peces son conservados y están menos influenciados generalmente por la dieta que otros lípidos de otros tejidos, reflejando la importancia de la composición en los gametos.

Una forma posible de desarrollar dietas ideales para reproductores es determinar la composición de los huevos de ejemplares salvajes y tratar de reproducir esa composición en los huevos de peces en cautividad.

Considerando la importancia de la nutrición de reproductores para la obtención de respuesta reproductiva y para la calidad de huevos y larvas, es sorprendente que haya relativamente pocos estudios con peces de agua dulce. Esto es quizás un reflejo del relativo éxito de la mayoría de los peces de cultivo en agua dulce, incluyendo el salmón, la trucha, carpa y pez gato, donde la producción de gran cantidad de huevos de calidad no es un problema, en contraste con la situación de los peces marinos. La composición de ácidos grasos de dietas para peces de agua dulce puede afectar la respuesta reproductiva de las hembras y alterar la composición de los huevos resultantes, con consecuencias en la calidad de los huevos.

En resumen, la información sobre los requerimientos nutritivos de los reproductores de peces está limitada a unas pocas especies. Ciertos nutrientes como los ácidos grasos esenciales y los antioxidantes son particularmente importantes en la nutrición de reproductores. Sus requerimientos durante la reproducción son más altos que los de los juveniles, pero un exceso o un desequilibrio de las cantidades de



nutrientes pueden ser nocivos para la reproducción. Algunos minerales, como el fósforo, y otros aspectos nutricionales, como la calidad de la proteína, también se han demostrado que son importantes para la reproducción de peces. La importancia de otros muchos nutrientes como la vitamina A, vitamina B₆ y el ácido fólico aún no han sido establecidos en las dietas de reproductores y merecen investigaciones futuras.

Los suplementos de metales traza también son esenciales en las dietas para reproductores. La supresión de manganeso en la dieta de alimentación de reproductores del salmón del Atlántico y trucha origina una reducción en la eclosión de huevos y un descenso en la concentración del mismo en el líquido seminal y en los huevos.

10.8. RACIÓN

El tamaño de la ración, o dosis de alimento, define la cantidad de alimento/dieta disponible para los organismos cultivados. Determinar la ración óptima es una de las cuestiones más difíciles en acuicultura.

Una ración óptima en general es aquella que produce mejores crecimientos y mejor índice de conversión. Tal ración, que debe ser adecuadamente repartida, deberá producir el mínimo de residuos y un mínimo deterioro del agua de cultivo.

La cantidad de alimento que constituye la ración para una especie dada, estará en función de los valores de temperatura de la unidad de cultivo a los que esté sometido el grupo de peces.

En las dietas para reproductores, la ración debe oscilar entre el 1-3 % de la biomasa de la unidad de cultivo de peces dependiendo de la temperatura cuando utilizamos alimento fresco, siendo repartida en una sola dosis diaria en las que las labores de observación sobre el comportamiento reproductivo en el momento de su reparto deben primar por encima de los valores de ración. Es decir, el aporte de alimento se efectuará según demanda y saciedad, evitando situaciones de estrés previas al aporte de la dosis diaria.

En el caso de que se utilicen dietas inertes, piensos especiales para reproductores que actualmente han mejorado notablemente, se aconseja una sola dosis que estará comprendida entre el 0.5 y 1 % de la



biomasa total de la unidad, con un tamaño de gránulo en función del tamaño de los reproductores.

Cuando se utilizan dietas semihúmedas elaboradas en la propia instalación, normalmente a base de harinas de pescado y/o calamar con aceites de pescado, aglutinantes naturales y agua (entre un 20 y 50 %), situación frecuente en pruebas de aclimatación con nuevas especies, las raciones deben ser calculadas a partir del 2-3 % de la biomasa de la unidad de cultivo.

Para garantizar la calidad de agua, y por tanto el éxito reproductivo, las estrategias de alimentación en la reproducción, medidas como ingestión de la ración diaria, deben estar condicionadas por la dosis real consumida, en la medida que no se debe producir excedente de alimento en la unidad de cultivo, es decir aportar la cantidad que es ingerida por el stock reproductor y minimizar la producción de residuos.

10.9. REPRODUCCIÓN Y ALIMENTACIÓN EN LA DORADA

La dorada, *Sparus aurata*, junto con la lubina, *Dicentrarchus labrax*, son las dos especies más importantes en la producción del Mediterráneo.

La dorada es una especie hermafrodita proterándrica, de forma que los ejemplares se comportan en su ciclo de vida primero como machos y después como hembras. La primera maduración sexual como macho se produce a partir de que los ejemplares alcanzan un peso de 300 g. El cambio de sexo es más difícil de predecir, pero en general se realiza cuando el ejemplar tiene un peso entre 0.8 y 1.5 kg. Ocasionalmente, algunos machos no realizan la inversión sexual retardando enormemente su crecimiento. Para estimular el cambio de sexo, conviene que los machos no estén en presencia de hembras, pues éstas inhiben el proceso.

Cuando hay una presencia mayoritaria de hembras en una población de machos jóvenes, se reduce la proporción de inversión de éstos, y por el contrario, la presencia mayoritaria de machos jóvenes aumenta en los machos de más edad la proporción de inversión sexual hacia hembras. Pero generalmente todos los ejemplares con más de 2 kg de peso son hembras.

Los reproductores pueden obtenerse directamente del medio natural o utilizar animales nacidos en cautividad, aunque estos últimos pueden ser machos eficientes en los ciclos de puesta, parece que las hembras nacidas en criaderos pueden presentar problemas en el proceso final de desove cuando alcanzan más de 2 kg de peso (datos en elaboración del seguimiento de la inversión sexual en cautividad en lotes de dorada estabulados como reproductores).

Los reproductores se mantienen en tanques de agua de mar o salobre de más de 10 m³ y 1m de profundidad, con una carga inferior a 4 kg/m³ y una tasa de renovación de 200-400 % al día que garantice los parámetros de calidad de agua (oxígeno, nitritos, amonio, pH, etc.) Las condiciones de estabulación de los lotes de reproductores deben permitir el control del fotoperiodo y la temperatura, esenciales para conseguir la maduración sexual (Foto 2) y mantener el valor de salinidad por encima de 33-35‰.

Las puestas naturales en el caso de la dorada se producen de forma espontánea en los meses invernales bajo condiciones ambientales marcadas por la estacionalidad, de noviembre a enero, pero es posible mantener distintos grupos de reproductores que desovarán en diferentes momentos del año mediante la modificación de la temperatura y el fotoperiodo.

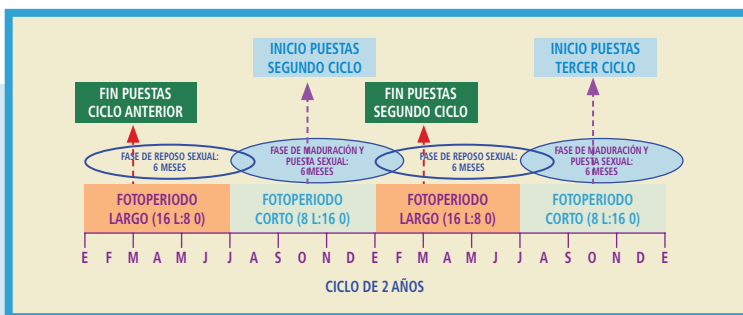


FOTO 2.
Tanque
mantenimiento
reproductores.



En la actualidad y con el objetivo de que haya disponibilidad de huevos y larvas a lo largo del año completo, se mantienen estabulados varios grupos de reproductores que desovarán en diferentes momentos del año. La temperatura de cultivo se mantiene a 19 ± 1 °C y mediante la manipulación del fotoperiodo se pueden obtener puestas viables después de 3-4 meses de someter a los reproductores a un régimen de fotoperiodo corto, es decir 8 horas de luz y 16 de oscuridad (8L:16O) durante los 3 meses siguientes al inicio del desove. Mientras que para retrasar la obtención de puestas, se deben estabular los lotes de reproductores en un régimen de 16 horas de luz y 8 de oscuridad, fotoperiodo largo, a la misma temperatura. Cuando se desee obtener puestas con un lote retrasado, basta con someterlo a 3 meses en un régimen de fotoperiodo corto (8O:16L) y a partir de los 3-4 meses tendremos disponibilidad de puestas de calidad durante al menos otros 3 meses. Es importante destacar que, puesto que en el medio natural estos ciclos reproductivos son anuales, es conveniente para el éxito en ciclos posteriores, garantizar que tras el periodo de desove existen al menos 4 meses de descanso en los lotes de reproductores, lo cual implica la estabulación en régimen de fotoperiodo largo. (Grafica 1, ciclos de obtención de puestas en dorada).

En todos los casos anteriormente descritos para la obtención de puestas por manipulación del fotoperiodo, la proporción de machos y hembras debe ser de al menos de 1 macho por cada 2 hembras. Aunque en otros estudios previos la proporción recomendada era de 2 machos por cada hembra, 2:1, actualmente y dado el enorme potencial de los ma-



GRÁFICA 1.

Ciclos de obtención de puestas en dorada.

chos para producir esperma en cautividad y debido a la alta fecundidad de los ejemplares hembras, de $1-2 \times 10^6$ de huevos por kg de peso, se puede reducir la proporción de machos a la mitad por cada hembra.

Cuando se aproxima o llega el momento de la puesta, se comprueba el estado de maduración de los animales y su sexo mediante masaje abdominal (Foto 3) para lo que es preciso anestesiar convenientemente los ejemplares. Los animales que producen esperma son machos (Foto 1 bis) y de los que no se obtienen esperma se consideran hembras (Foto 4). A lo largo del seguimiento de los parámetros biométricos en los ciclos reproductivos anuales, peso y talla de los individuos (Foto 5), los cuales conviene realizar minimizando el manejo y por tanto reduciendo el nivel de estrés, se observará cómo durante el periodo de maduración los machos manifiestan antes su capacidad de emitir esperma, mientras que las hembras, que incrementan considerablemente su peso sin apenas tener crecimiento en longitud, sólo estarán realmente maduras cuando además de mostrar la zona ventral palpablemente más gruesa, tengan el poro genital abierto (Foto 4).

FOTO 3.
Masaje abdominal
reproductor dorada.



FOTO 1 BIS.
Espermiación
macho dorada.





FOTO 4.
Hembra dorada con poro
genital abierto.



FOTO 5.
Control peso
reproductor dorada.

Los cambios observados en el índice de condición de las hembras y de los machos (K), según la fórmula $K = W \times L^{-3} \times 100$, donde W es el peso total (g) y L la talla (cm), reflejan los estados de maduración externa. Los valores más bajos de este parámetro tanto en la población de machos como de hembras entre 1.4 y 1.5, tienen lugar en los meses de reposo con fotoperiodo largo o al inicio de la maduración gonadal paralelamente al cambio a fotoperiodo corto. Los valores más altos de maduración externa, también reflejados en el parámetro K , tienen lugar en el pico del periodo de puestas y exclusivamente para las hembras, asociados con los valores máximos del índice de condición, entre 1.7 y 1.8. Los machos se mantienen con un valor de K estable a lo largo de los distintos ciclos de fotoperiodo, pero cuando están maduros en plena época de puesta, el valor de K puede subir hasta 1.6. La población de machos en una unidad establecida como reproductora mantiene la tasa de crecimiento prácticamente constante a lo largo del ciclo reproductor, mientras que las hembras cesan el crecimiento en el periodo de desove, llegando a perder casi el 10 % de su peso corporal tras completar el ciclo reproductivo.

El régimen de alimentación en los reproductores de dorada está basado en calamar, chipirón o pota natural troceada (Foto 6) seis veces por semana con un día de ayuno a la semana durante los periodos de maduración y reposo. En el periodo de desove es recomendable suministrar alimento todos los días. La ración inicial se ajusta entre el 1 y el 3 % de la biomasa total, dependiendo del alimento sobrante en el tanque. Para garantizar el éxito reproductivo, es necesario que los distintos tipos de alimentos (calamar, chipirón, pota) conserven las sustancias nutritivas y de alto valor en ácidos grasos que poseen en su interior (Foto 7).

La ingesta de alimento en un lote próximo a desovar se puede ver modificada, bajando el apetito de los peces de forma notable, como consecuencia de los fenómenos de cortejo de la especie y que provocan modificaciones en su comportamiento alimentario. Una vez inicia-

FOTO 6.
Alimentación natural
reproductores dorada.



FOTO 7.
Alimento natural
troceado.





do el proceso de desove vuelven a recuperar su apetito para mantener el aporte necesario de energía y nutrientes esenciales en el largo periodo de puesta.

Cuando se utilizan ciclos de reposo en lotes de dorada, la alimentación se puede modificar usando exclusivamente piensos especiales para reproductores en dosis del 0.5 al 1.0 % de la biomasa total o alternando el alimento natural con el pienso, ya que la dorada es fácilmente adaptable a esos cambios de alimentación.

Las puestas de reproductores de dorada con un régimen de agua de mar o salobre con temperatura estable próxima a los 19 °C y control del fotoperiodo con 8 horas de luz y 16 de oscuridad, se obtienen de forma natural en el tanque de cultivo, siendo colocado un colector para la recolección de puestas en la salida del tanque (Foto 8). Los huevos obtenidos son separados por flotabilidad (Foto 9).



FOTO 8.
Tanque reproductores
con colector.

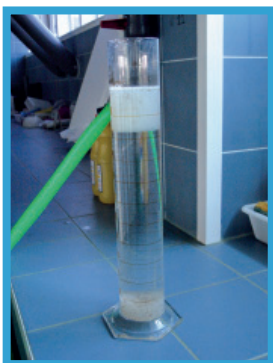


FOTO 9.
Huevos dorada separados
por flotabilidad.



10.10. REPRODUCCIÓN Y ALIMENTACIÓN EN LA LUBINA

La lubina, *Dicentrarchus labrax*, es otra de las especies más importantes en la producción del Mediterráneo.

La lubina es un serránido, y aunque algunos ejemplares de este grupo presentan hermafroditismo, en esta especie los sexos están separados, es decir hay ejemplares machos y hembras. En general los machos son más pequeños y la relación longitud total/longitud de la cabeza es inferior a 25, mientras que en las hembras esta relación es mayor de 25. Así mismo, el cuerpo es más alto, con valores del índice 100xaltura/longitud total inferiores a 22 para los machos y superiores a 25 para las hembras (Foto 10).

Los reproductores pueden obtenerse también directamente del medio natural o utilizar animales nacidos en cautividad aunque en este caso es muy importante evitar la consaguinidad, por tanto hay que asegurarse que los ejemplares estabulados pertenecen a distintos lotes de progenitores.

La puesta natural es en enero-febrero con una temperatura de 10-14 °C y fotoperiodo corto (8 horas de luz y 16 de oscuridad). Y a diferencia de la dorada y el lenguado, la lubina presenta reproducción sincrónica por grupos, es decir desova más de una vez en la vida, pero generalmente una sola vez por estación con un intervalo de puesta relativamente corto.



FOTO 10.
Reproductores lubina
en tanque de cultivo.



Los reproductores, con pesos medios desde 0.5-1.5 hasta 2.5-3.0 kg, se mantienen en tanques de agua de mar o salobre de más de 10 m³ con una carga inferior a 4 kg/m³ y una tasa de renovación de un 10 % por hora que de nuevo garantice los parámetros de calidad de agua (oxígeno, nitritos, amonio, pH, etc.) Las condiciones de estabulación de los lotes de reproductores deben permitir el control del fotoperiodo y la temperatura, esenciales para conseguir la maduración sexual y puesta.

Las puestas en el caso de la lubina puede que no se produzcan de forma espontánea, siendo entonces necesario recurrir a la administración de hormonas tras varios meses de fotoperiodo corto y temperatura baja para favorecer el desove. En la actualidad las puestas se obtienen con relativa facilidad por manipulación fototérmica. Se estabulan los reproductores con una proporción de 2 hembras por cada macho para la consecución de puestas en tanques con una temperatura inicial de 19-20 °C, y fotoperiodo largo de 16 de luz y 8 de oscuridad. Para desencadenar el proceso de maduración en los 3-6 meses siguientes, se reduce gradualmente el fotoperiodo a 8 horas de luz y 16 de oscuridad de forma paralela a la bajada de temperatura hasta los 14 °C a razón de 2 °C por mes.

Con el objetivo de garantizar el éxito reproductivo, la alimentación de los reproductores durante el periodo de maduración debe ser un factor esencial, ya que al disminuir la temperatura de cultivo también lo hace la ingesta de alimento, motivo por el que se deben cuidar extremadamente las dietas en este periodo de maduración. La ración oscila entre el 1-3 % de la biomasa total de la unidad de cultivo para dietas a base de alimento natural (calamar, pota, chipirón troceados). Cuando se utilicen alimentos inertes, las dosis deben estar entre 0.5-0.7 % de la biomasa total. A medida que se produce el descenso de la temperatura, disminuye la cantidad del alimento ingerido, llegando a pararse completamente la ingesta en el corto periodo de puesta.

También es posible mantener distintos grupos de reproductores que desovarán en diferentes momentos del año mediante la modificación de la temperatura y el fotoperiodo con los criterios anteriormente descritos de disminución del fotoperiodo, pero al igual que en la dorada y aún a pesar de que el periodo de de puesta de la lubina es



considerablemente más corto, entre 3 y 6 semanas, es esencial garantizar un periodo de reposo reproductivo de 4-6 meses con fotoperiodo largo de 16 horas de luz y 8 de oscuridad y temperatura cercana a los 18-20 °C antes de iniciar de nuevo el proceso de maduración.

Cuando se aproxima o llega el momento de la puesta, se comprueba el estado de maduración de los animales y su sexo mediante masaje abdominal para lo que es preciso anestesiarse convenientemente los ejemplares. Los animales que producen esperma son machos y de los que no se obtienen esperma se consideran hembras.

En el caso de los machos, su respuesta madurativa previa a la de las hembras pone de manifiesto el tipo de reproducción de esta especie, ya que la gran cantidad y alta densidad del esperma obtenido por masaje abdominal, nos está indicando su estrategia reproductiva para garantizar el mayor poder de fecundación de los ovocitos liberados por las hembras en el breve periodo de puesta de las hembras, del orden de semanas.

De forma análoga al seguimiento de los reproductores de dorada, el control de los parámetros biométricos en los ciclos reproductivos anuales, peso y talla de los individuos, siempre extremando las medidas de manipulación de los ejemplares para reducir el estrés, nos permitirá observar cómo durante el periodo de maduración los machos manifiestan antes su capacidad de emitir esperma y las hembras sólo estarán realmente maduras cuando además de mostrar la zona ventral palpablemente más gruesa, tengan el poro genital abierto.

Los cambios observados en el índice de condición de las hembras y de los machos (K), según la fórmula $K = W \times L^{-3} \times 100$, donde W es el peso total (g) y L la talla (cm), también reflejan los estados de maduración externa. Los valores más bajos de este parámetro tanto en la población de machos como de hembras, entre 0.8 y 1.0, tienen lugar en los meses de reposo. Los valores más altos de maduración externa medidos por el parámetro K, tienen lugar en el pico del periodo de puestas con valores entre 1.1 y 1.4.

Cuando se utilizan ciclos de reposo en los lotes de lubina, la alimentación se puede modificar usando exclusivamente piensos especiales para reproductores en dosis del 0.5 al 1.0 % de la biomasa total o también alternando el alimento natural con el pienso. En estas circunstancias, es recomendable la dosificación del alimento en días alternos



10.11. REPRODUCCIÓN Y ALIMENTACIÓN EN LENGUADO

Aunque la producción en Acuicultura en el área del Mediterráneo está dominada por la dorada y la lubina, entre otros candidatos a diversificar la producción está el género *Solea* y en concreto el lenguado senegalés, *Solea senegalensis*. El lenguado senegalés, como la especie *Solea solea*, tienen un ciclo de vida muy similar, ambos son gonocóricos, con sexos separados, y la maduración sexual tiene lugar con tamaños y edades similares.

Los trabajos sobre reproducción del lenguado senegalés están basados en la aclimatación de ejemplares adultos capturados de estanques de salinas o del mar. Los ejemplares capturados son adaptados a la alimentación en cautividad con una dieta inicial de poliquetos marinos, para después de 3 meses con un peso medio de 1 kg, constituir los lotes de reproducción.

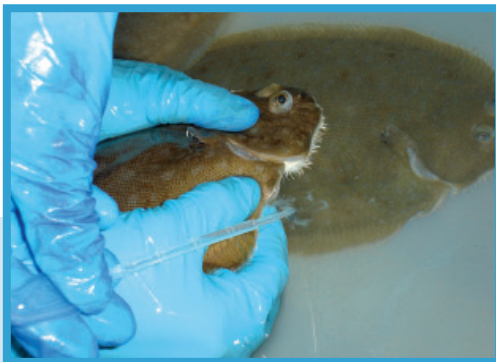
Las hembras son identificadas por el abultamiento en la región abdominal durante la maduración (Foto 11), estableciéndose 5 estados de desarrollo, desde el estadio 0, sin desarrollo externo, hasta el estadio IV que corresponde al máximo desarrollo del ovario, caracterizado por el mayor abultamiento de la gónada y el característico color anaranjado en el lado ciego del ejemplar.

Los machos se reconocen por la palpación del testículo con un ligero masaje en la cavidad abdominal y la emisión de pequeñas cantidades de esperma (Foto 12).



FOTO 11.

FOTO 12.
Detalle espermiación
macho lenguado.



Para la reproducción se estabulan los ejemplares en tanques de fibra de 10 a 28 m² al exterior, cubiertos con una malla de sombreo que retenga un 90 % de la luz y bajo zona cubierta, de forma que la intensidad de luz sobre la superficie del tanque es aproximadamente de 100 lux. La densidad de los reproductores varía entre 0.6-0.9 individuos por m², con una proporción de macho a hembra entre 1:1.5 y 1:1.

Para la obtención de puestas y como medida preventiva, los reproductores se mantienen en agua de mar con una temperatura de 20 a 22 °C durante los meses de verano, de mitad de junio hasta agosto, y una vez que el verano ha pasado se vuelven a estabular en tanques exteriores como los anteriormente citados para la obtención de puestas. El tamaño medio de los ejemplares hembra oscila entre 1800 y 2200 gr, mientras que el de los machos está entre 1100 y 1500 gr, siendo estabulados en tanques de fibra sin sustrato arenoso.

El régimen de alimentación en los reproductores de lenguados está basado en mejillón fresco (Foto 13) 2 veces por semana y chipirón congelado y troceado 4 veces a la semana. La ración inicial se ajusta entre el 1 y el 3 % de la biomasa total, dependiendo del alimento sobrante en el tanque.

Las puestas de reproductores de *S. senegalensis* con un régimen de agua de mar con temperatura ambiental según ecosistemas de marismas, tiene lugar entre febrero y mayo, aunque se puede producir un segundo periodo más corto de puestas en el otoño con este sistema de estabulación.



FOTO 13.
Detalle alimento
lenguado.

Los reproductores se mantienen en un régimen de circuito abierto con una tasa de renovación del 300 % al día, con agua de mar procedente de zonas estuarinas, siendo colocado un colector para las puestas en la salida del tanque.

Bajo estas condiciones la fecundidad relativa puede variar entre 1.16×10^6 y 1.65×10^6 de huevos por kg.

Los cambios observados en el índice de condición de las hembras (K), según la fórmula $K = W \times L^{-3} \times 100$, donde W es el peso total (g) y L la talla (cm), reflejan los estados de maduración externa. Los valores más bajos, entre 1.0 y 1.2, tienen lugar en los meses de verano, con una media de valor de maduración externa por debajo del estadio II. Los valores más altos de maduración externa tienen lugar en primavera y otoño-invierno, asociados con los valores máximos del índice de condición, entre 1.2 y 1.4. Los machos pueden estar maduros casi todo el año, aunque la proporción mayor de éstos tiene lugar entre los meses de febrero y abril, no existiendo cambios significativos en el valor de K durante todo el año (1.04).

El rango de temperatura para la obtención de puestas con valores más altos de fecundidad oscila entre 16 y 22 °C en el lenguado senegalés, mientras que para el lenguado común es de 8 y 12.5 °C. Temperaturas altas durante la época de puestas inhiben el desarrollo del ovocito y la supervivencia del huevo, originando ovarios atrésicos.

Asociados a los valores de temperatura del agua, se produce un máximo y mínimo valor de la cantidad de alimento ingerido en los ejemplares estabulados para la reproducción de lenguado.



BIBLIOGRAFÍA

- ANGUÍS, V. and CAÑAVATE J.P. 2005. Spawning of captive Senegal sole (*Solea senegalensis*) under a naturally fluctuating temperature regimen. *Aquaculture* 243: 133-145.
- HENDRY, A.P. and BERG, O.K. 1999. *Can. L. Zool.* 77: 1663-1675
- IZQUIERDO, M.S., H. FERNÁNDEZ-PALACIOS and A.G.J. TACON, 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197: 25-42
- JONSSON, N., JONSSON, B. and HANSEN, L.P. 1991. *J.Fish Biol.* 39: 739-744.
- JONSSON, N., JONSSON, B. and HANSEN, L.P. 1997. *J. Anim. Ecol.* 66(3): 425-436.
- KAUSHIK, S.J. and MÉDALE, F. 1994. *Aquaculture* 124:81-97.
- KOCH, F. and WIESER, W., 1983. Partitioning of energy in fish: can reduction of swimming activity compensate for the cost of production? *J.Exp.Biol.*, 107: 141-46.
- LUQUET, P. and WATANABE, T. 1986. Interaction «nutrition-reproduction» in fish. *Fish Physiology and Biochemistry* vol 2, 1-4: 121-129.
- REZNICK, D., 1983. The structure of guppy life histories: the trade-off between growth and reproduction. *Ecology*, 64: 862-73.
- SCHRECK, C.B, CONTRERAS-SANCHEZ, W. and FITZPATRICK M.S., 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality and progeny. *Aquaculture* 197: 3-24.
- SCOTT, D.P., 1962. Effect of food quantity on fecundity of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 19: 715-31.
- SPRIGATE, J.R.C. and BROMAGE, N.R., 1985. Effect of egg size on early growth and survival in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson), *Aquaculture*, 47:163-72.
- TANDLER, A., HAREL, M., KOVEN, W.M., and KOLKOVSKI, S., 1995. Broodstock and larvae nutrition in gilthead seabream *Sparus aurata* new findings on its involvement in improving growth, survival and swim bladder inflation. *Isr.J. AquaculT. Bamidgeh* 47:95-111.

LIBROS

BIOLOGY OF FARMED FISH
EDITED BY KENNETH D. BLACK AND ALAN D. PICKERING
SHEFFIELD ACADEMIC PRESS 1998

COASTAL AND ESTUARINES STUDIES
B.LAHLOU AND P. VITIELLO EDS.
AQUACULTURE:FUNDAMENTAL AND APPLIED RESEARCH
AMERICAN GOPHYSICAL UNION, WASHINGTON,DC



FARMING AQUATIC ANIMAL AND PLANTS
EDITED BY JOHN S. LUCAS AND PAUL C. SOUTHGATE
2003 FISHING NEWS BOOKS
FIRST PUBLISHED 2003 BY BLACKWELL PUBLISHING LTD
REPRINTED 2005

FISH NUTRITION, THIRD EDITION
EDITED BY JOHN E. HALVER AND RONALD W. HARDY
ACADEMIC PRESS 2002

FISH NUTRITION IN AQUACULTURE
SENA S. DE SILVA AND TREVOR A. ANDERSON
CHAPMAN AND HALL AQUACULTURE SERIES 1, (1995)

NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN DE PECES Y CRUSTÁCEOS
J. GUILLAUME, S. KAUSHIK, P. BERGOT, R. MÉTAILLER.
EDICIONES MUNDI-PRENSA 2004



11

CONTROL NEURAL DE LA INGESTA EN PECES

Dedicado a Richard Ector Peter



CONTROL NEURAL DE LA INGESTA EN PECES

Dr. José Miguel Cerdá Reverter

Instituto de Acuicultura
de Torre de la Sal (IATS),
Consejo Superior de Investigaciones
Científicas (CSIC)

11.1. IMPORTANCIA DE LA INGESTA EN ACUICULTURA

Hoy en día, la acuicultura se ha establecido como una actividad económica sólida dentro del ámbito de la producción animal. El cultivo de peces genera más de un cuarto de los especímenes consumidos por la población humana, lo que hace de esta actividad una fuente básica en el aporte proteico y lipídico para el sustento de la creciente población mundial (Naylor *et al.*, 2002). El alimento representa el mayor coste porcentual de la producción de peces en cautividad y la sostenibilidad del proceso productivo requiere de una actualización de las fuentes de materias primas utilizadas en la elaboración de piensos (Sargent and Tacon, 1999).

La mayoría de los piensos dedicados a la alimentación de especies carnívoras y omnívoras, basan su aporte proteico y lipídico en harinas y aceites de pescado (Glencross *et al.*, 2007) derivados de pesquerías con bajo interés comercial para el consumo humano (Naylor *et al.*, 2002). Esta estrategia productiva genera un círculo en el cual, la piscicultura reconvierte pescado de baja aceptación comercial en pescado de elevado interés mercantil con un rendimiento económico aceptable pero dudoso en su efectividad. Estos hechos hacen que, hoy por hoy,

la piscicultura sea una actividad demandante de pescado en lugar de productora (Naylor *et al.*, 2000).

Mientras la piscicultura mundial es un fenómeno creciente en términos de toneladas producidas (Fig. 1), las pesquerías mundiales van

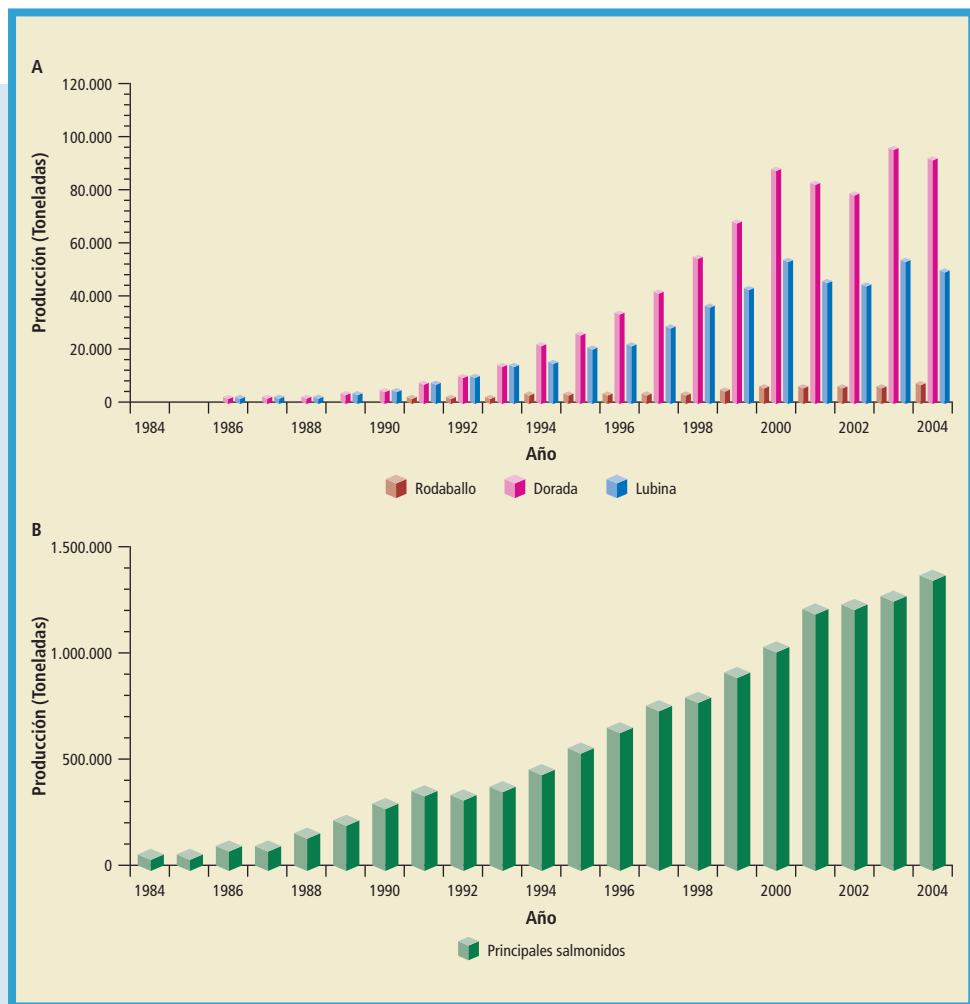


FIGURA 1.

A) Evolución de la producción mundial de dorada (*Sparus aurata*), lubina (*Dicentrarchus labrax*) y rodaballo (*Scophthalmus maximus*) en toneladas. B) Evolución de la producción mundial de los principales salmDatos obtenidos de la FAO, (<http://www.fao.org/>).



en detrimento, o en el mejor de los casos, están estancadas (Fig. 2). La convergencia de ambas dinámicas podría llevar a un agotamiento de los recursos pesqueros utilizados para el desarrollo de harinas de pescado o a una estabilización en la producción de especies de carácter carnívoro/omnívoro. La sostenibilidad productiva dependerá de la reducción progresiva de las materias primas provenientes de pesquerías salvajes.

La tendencia actual se dirige hacia substitución de las harinas de pescado que, en determinadas formulaciones de piensos, pueden llegar a alcanzar hasta el 50 % de la composición final (Glencross *et al.*, 2007). En la última década, se han realizado esfuerzos substanciales para encontrar fuentes alternativas a las harinas y aceites de pescado para su uso en dietas de acuicultura. Los ingredientes analizados pueden clasificarse entre aquellos de origen vegetal o los derivados de animales de origen terrestre. Entre los de origen vegetal se incluyen proteínas provenientes de semillas (soja, colza, girasol), legumbres (soja, alubias, guisantes o altramuces) y otros productos (garrofín, gluten de maíz, trigo), mientras que entre las materias primas de origen ani-

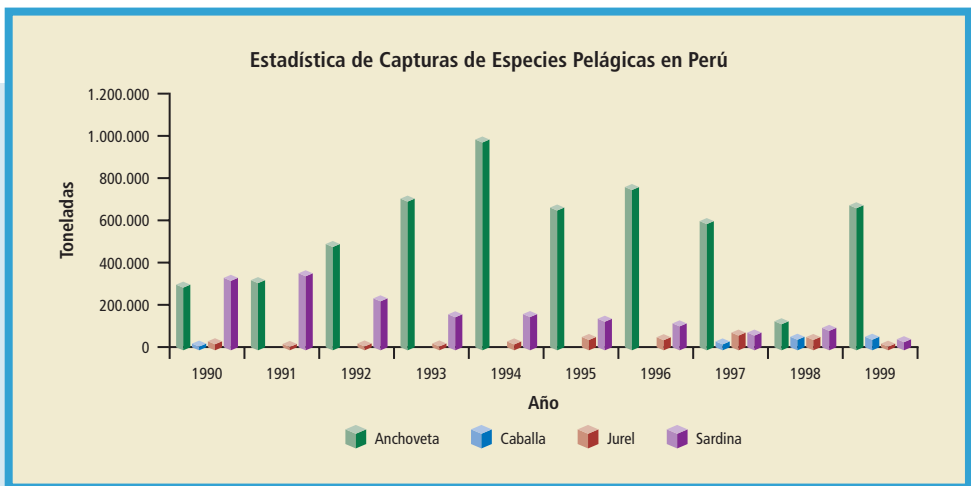


FIGURA 2.

Representación gráfica de las capturas de las principales especies pelágicas durante la década de los 90 en Perú. Nótese el efecto del fenómeno de «El Niño» en las capturas de anchoveta (*Engraulis ringens*) durante el año 1998. Datos obtenidos del IMARPE (Instituto del Mar de Perú, <http://www.imarpe.gob.pe>).



mal se incluyen harinas derivadas de sangre, hígado, hueso o lombriz de tierra (revisado por Gómez-Requeni, 2005). Existen varios puntos críticos que deben ser considerados en la evaluación de las materias primas de sustitución para la formulación de dietas (revisado por Glencross *et al.*, 2007). Uno de los puntos principales, tras la determinación previa de las propiedades químicas, es la evaluación de la aceptación sensorial por los peces. Es decir, ¿se comen los peces estos nuevos ingredientes y pueden estos afectar los niveles de ingesta, comprometiendo el crecimiento? En muchas ocasiones, la introducción de una materia prima determinada, o el incremento porcentual en la formulación, reduce drásticamente la palatabilidad de la dieta, su aceptación y por tanto su nivel de ingesta.

Un claro ejemplo de esta situación lo refleja la adición de quinina en los piensos experimentales. En humanos, la interacción de la quinina con los receptores gustativos de las papilas se interpreta como un sabor amargo. En todos los peces analizados hasta el momento, la adición de este componente provoca un rechazo del alimento y en el rodaballo la adición de sustancias de sabor amargo para los humanos, como la quinina, cafeína, papaverina o teofilina, reducen muy significativamente el nivel de ingesta (revisado por Kasumyan y Doving, 2003). La presencia de factores anti-nutricionales en las fuentes proteicas vegetales alternativas afectan al nivel de ingesta de los peces y por extensión a sus tasas de crecimiento (revisado por de la Higuera, 2001; Francis *et al.* 2001). Tomando en consideración los argumentos expuestos y las tendencias actuales dirigidas hacia la sostenibilidad de los procesos productores, la regulación sensorial de la ingesta es, hoy por hoy, uno de los campos de mayor importancia empresarial dentro del ámbito del estudio de la ingesta en peces.

Un segundo punto de interés, y no por ello menos prioritario, en la investigación de la ingesta en peces es la adecuación de las estrategias de alimentación a las especies de cultivo. El ajuste entre el nivel de ingesta y el alimento suministrado, no solamente reduce la pérdida económica debida al desperdicio de alimento, sino que también reduce los niveles de polución ambiental de las empresas de piscicultura (revisado por Mente *et al.*, 2006). Diversos estudios han destacado la importancia de los ritmos diarios y la frecuencia



de alimentación (Boujard y Leatherland, 1992), así como el método de suministro (Azzaydi *et al.*, 1998; Rubio *et al.*, 2004) y la competencia por el alimento (Ward *et al.*, 2006) en el crecimiento y conversión alimenticia de los peces. Por ejemplo, en la lubina (*Dicentrarchus labrax*), una de las principales especies objetivo dentro del ámbito de la acuicultura mediterránea, los ritmos de alimentación están gobernados principalmente de forma exógena siendo la luz la principal pista ambiental. El estudio de su patrón de alimentación diario demuestra que, en condiciones de autodemanda, prefiere alimentarse durante las primeras y últimas horas del periodo luminoso (Fig.1). Sin embargo, se ha descrito la existencia de animales que se alimentan estrictamente durante los periodos nocturnos, aunque esporádicamente reversion al patrón diurno (Sánchez Vázquez *et al.*, 1995). Además, se ha descrito la presencia de variaciones esta-

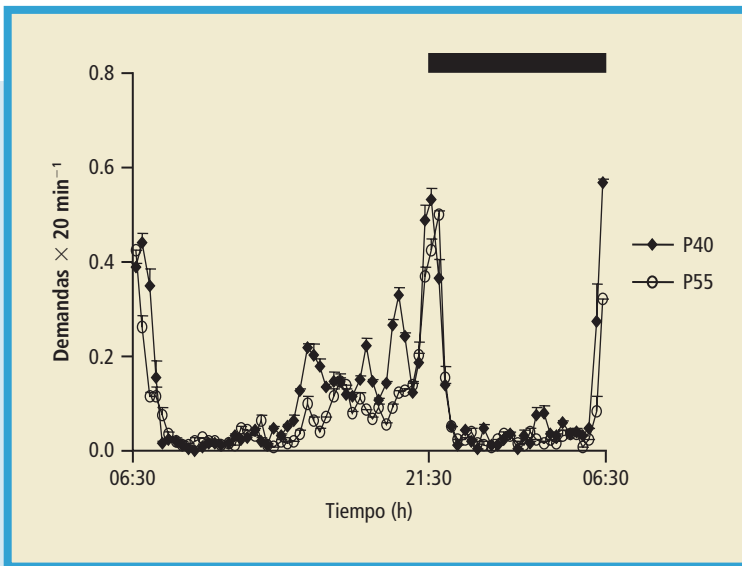


FIGURA 3.

Ondas medias diarias de demanda de alimento en lubinas, alimentadas con dos dietas diferentes. La barra situada en la parte superior de cada gráfico indica la fotofase (en blanco) y escotofase (barra negra) del fotoperiodo (Rubio V.C., Sánchez E. y J.M. Cerdá-Reverter, datos no publicados).



cionales en los ritmos diarios de alimentación de lubinas mantenidas en grupos (Sánchez-Vázquez *et al.*, 1998). Durante el invierno, la lubina se alimenta preferentemente durante la noche, mientras que prefiere el periodo diurno durante la primavera y épocas estivales. El estudio del comportamiento alimenticio puede llevar a estrategias de alimentación más eficientes y a una reducción del impacto ambiental.

La piscicultura es una actividad de especial interés para la producción animal ya que los organismos «objetivo» no invierten energía en el mantenimiento de la temperatura corporal. Dicha condición fisiológica supone que un mayor porcentaje de la energía adquirida pueda ser invertida en los procesos de crecimiento. De igual forma permite que, en determinadas épocas del año, la manutención de los animales estabulados sea poco exigente desde el punto de vista de la ingesta de alimento. Evidentemente, la poiquilothermia es un arma de doble filo puesto que el metabolismo de estas especies está regido por la temperatura ambiental y supone que los periodos de crecimiento activo queden, en ocasiones, reducidos a estrechas ventanas anuales. Otro de los retos prioritarios de la investigación en piscicultura debe de ser la elongación de los periodos de alimentación y crecimiento activo de los animales. La cantidad de alimento ingerido supone, por tanto, un factor limitante en el crecimiento de los peces y el rendimiento de las instalaciones de cultivo. Una vez podemos asegurar un nivel óptimo de ingesta otros factores, como la tasa de conversión del alimento y el incremento de masa muscular, cobran importancia. La tabla 1 muestra un ejemplo cuantitativo de la importancia de la ingesta en el crecimiento de los peces y el rendimiento de las instalaciones de cultivo. Supongamos que tenemos una población de animales que muestran una tasa de ingesta del 1 % del peso corporal ($TI = 1\%$) con un índice de conversión del 100 % ($IC = 1$). Bajo estas condiciones, irreales, la tasa de crecimiento específica diaria sería del 1 % ($SGR = 1\%$). Es decir, si empezamos con una población de peso medio 100g, tras 30 días nuestra población exhibirá un peso medio de 136g con un incremento de peso de 36 g. La cantidad de pienso ingerido será equivalente. Si el precio del pienso es de 1 €/Kg y vendemos nuestro producto a 3 €/Kg la ganancia neta sería de 0.072 €/pez.



Si consiguiésemos aumentar la tasa de ingesta de estos animales hasta un 5 %, incluso reduciendo la conversión del alimento al 75 % ($IC = 1.25$), tras 30 días la ganancia neta sería 550 % superior al supuesto anterior. Para alcanzar animales de una talla similar con una tasa de ingesta del 1 % deberíamos esperar 91 días y en este caso el incremento en la ganancia sería del 650 %. Sin embargo, este incremento es ficticio ya que los animales han estado 2 meses más en las instalaciones, con los gastos que ello conlleva. Por el mismo motivo, hemos triplicado prácticamente el riesgo de la inversión y reducido a una sola población la producción de la planta durante la época de crecimiento óptimo.

TABLA 1.
Ganancia económica en función de la tasa de ingesta.

I (%)	C (%)	SGR (%)	T (Días)	PF (g)	ΔP (g)	Pienso Ingerido (g)	Precio Pienso (€)	Ganancia (€)
1	100	1	30	136	36	36	0.036	0.072
5	75	4	30	337	237	313	0.313	0.398
1	100	1	91	336	236	240	0.240	0.468

Supuesto ficticio de la ganancia económica en función del nivel de ingesta en una población de peces con un peso corporal inicial de 100 g. I (ingesta), C (Índice de conversión del alimento), SGR (tasa de crecimiento específica), T (tiempo), PF (peso final), ΔP (incremento de peso).

Intentar aumentar las tasas de ingesta y crecimiento de los peces, sin modificar los parámetros ambientales o sin atender a la manipulación (trasgénesis/silenciamiento) o selección genética (programas de mejora) es realmente complejo. Ambos procesos son mucho más sencillos cuando se realizan de forma asistida en función de un conocimiento de la regulación del sistema. Por ello, el conocimiento básico de los mecanismos de regulación es, igualmente, de gran importancia para su aplicación posterior en procesos de mejora y modificación genética.

Probablemente, un campo más inmediato de acción donde aplicar los conocimientos básicos adquiridos en el control de la ingesta sea sobrepasar las condiciones que inducen anorexia durante el cultivo. Hay dos situaciones de especial interés en el ámbito productivo, la



disminución del nivel de ingesta asociada a condiciones estresantes, tanto inherentes al cultivo (densidades de población) como de carácter ambiental (calidad del agua, Wendelar-Bonga, 1999 y Bernier, 2006 para revisión) y las situaciones de carácter patológico, mediadas por infecciones bacterianas o víricas, que inducen una depresión incluso supresión de la ingesta en los peces. De hecho, el nivel de ingesta también puede ser utilizado como un indicador del bienestar de nuestros peces en cultivo. Muchos acuicultores saben que uno de los primeros síntomas o indicadores de la aparición de enfermedades en las poblaciones de cultivo es la disminución o cese completo de la alimentación. Este problema recíprocamente imposibilita el tratamiento de nuestros peces enfermos con fármacos administrados de forma oral, una de las pocas vías factibles en poblaciones de cultivo. Es más, la adición de fármacos a los piensos también modifica la calidad sensorial del alimento induciendo disminuciones del nivel de ingesta, cuando los animales comen (de la Higuera, 2001).

11.2. REGULACIÓN DE LA INGESTA

La alimentación es el proceso que comprende un conjunto de actos voluntarios que tienen como fin suministrar energía metabolizable y materias primas a los organismos heterótrofos. La nutrición comprende el conjunto de procesos biológicos que utilizan los organismos para asimilar esa energía y nutrientes contenidos en los alimentos suministrados por la ingesta. Si al aporte de energía (ingesta) le substraemos

$$\text{BALANCE ENERGÉTICO} = \text{INGESTA} - \text{GASTO ENERGÉTICO}$$

FIGURA 4.

Ecuación simplificada del balance energético. Las pérdidas energéticas debidas al proceso de excreción y que, en sí, corresponden a la porción de energía no asimilada tras el proceso digestivo, quedan integradas en el gasto energético.



el gasto energético del organismo obtenemos una versión muy simplificada de la ecuación del balance energético (Fig.2).

El signo positivo de dicha ecuación caracteriza un estado energético permisivo con el crecimiento y el incremento de las reservas energéticas. Por el contrario, el signo negativo se asocia con estados catabólicos que bloquean el crecimiento y promueven la movilización energética. Como otras variables biológicas, la regulación del balance energético tiene un carácter homeostático, entendiendo por homeostasis el conjunto de procesos que mantienen una variable biológica dentro de un determinado rango. Cuando consideramos el resultado de la ecuación del balance energético a largo plazo se traduce en el peso corporal del organismo. Es decir, el peso de un organismo está regulado dentro de un determinado margen en función de la ingesta y el gasto energético (Ver Schwartz *et al.*, 1999 y Berthoud, 2004 para revisión).

En muchas ocasiones observamos que la ingesta diaria no se correlaciona realmente con las necesidades energéticas del organismo y la variabilidad diaria existente no hace presuponer la existencia de una regulación (Fig.5). Dicha paradoja se produce en virtud del elevado número de factores relacionados con el alimento, sociales y ambientales que influyen en la regulación a corto término de la ingesta. Dicha variabilidad justifica la existencia de un sistema de regulación a largo plazo que se encarga de corregir las desviaciones diarias manteniendo el peso del organismo dentro de un plan establecido genéticamente.

En peces como en otros vertebrados, el balance energético es una variable regulada como lo demuestran diversos experimentos de crecimiento compensatorio. Estos experimentos ponen de manifiesto que los retrasos en el crecimiento provocados por restricción calórica obtienen una compensación, total o parcial, gracias a una aceleración de la tasa de crecimiento (Fig.6).

La respuesta más generalizada entre los peces es una compensación total del crecimiento aunque, en ocasiones, solo se llega a una recuperación parcial. Dicha compensación es mediada por un aumento en la tasa de ingesta y/o una mayor eficiencia en la conversión alimenticia (revisado por Alí *et al.*, 2003). Estos datos nos indican que los peces saben en todo momento lo que tienen que pesar y compensan las desviaciones cuando se sobrepasan las condiciones adversas. Los resulta-

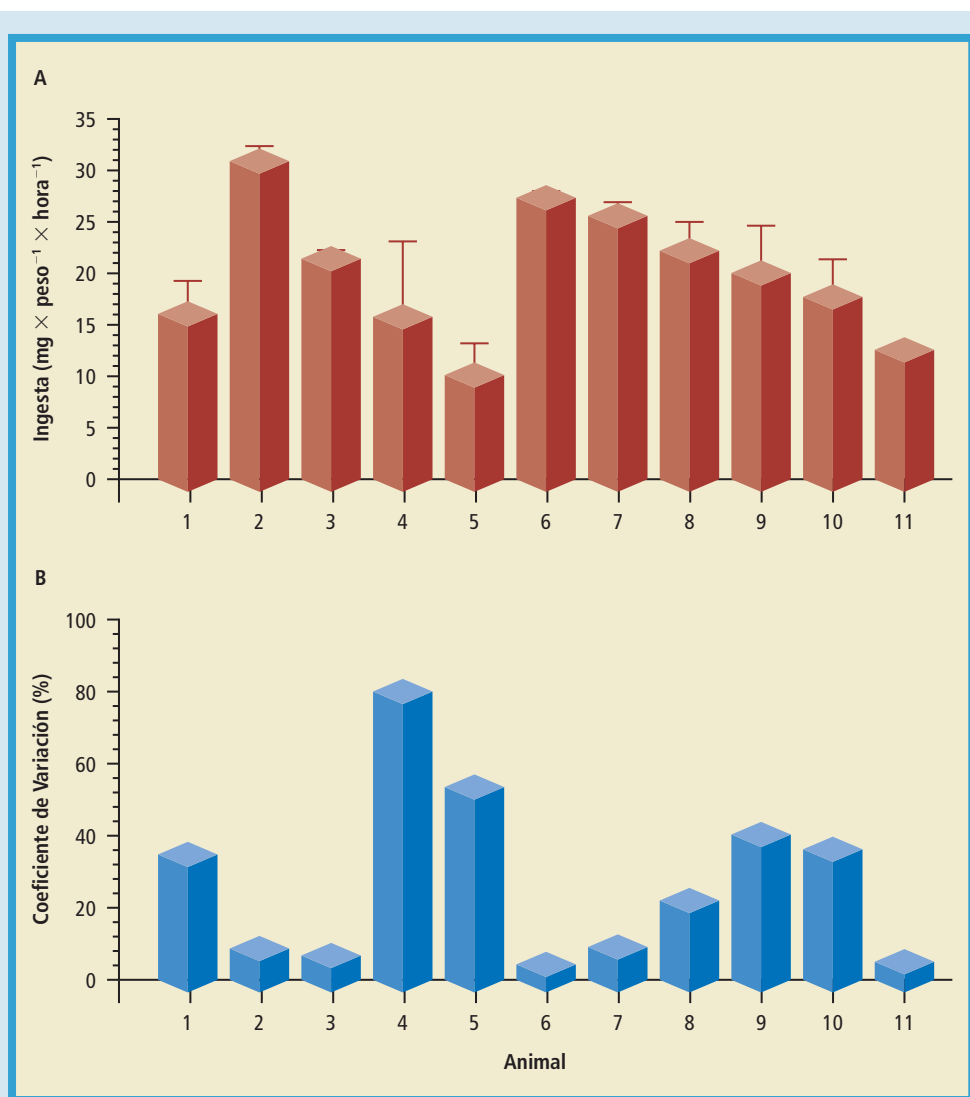


FIGURA 5.

A) Ingesta (media + SEM) de 11 carpas rojas (*Carassius auratus*) dispuestas individualmente en tanques de vidrio de 50 litros y registrada durante 5 días consecutivos ($n = 5$). **B)** Coeficientes de variación expresados como porcentaje de la ingesta de las 11 carpas previas. El área inferior de la línea engloba CVs menores al 10 % y por tanto válidos para experimentación a corto plazo (Cerdá-Reverter datos no publicados).

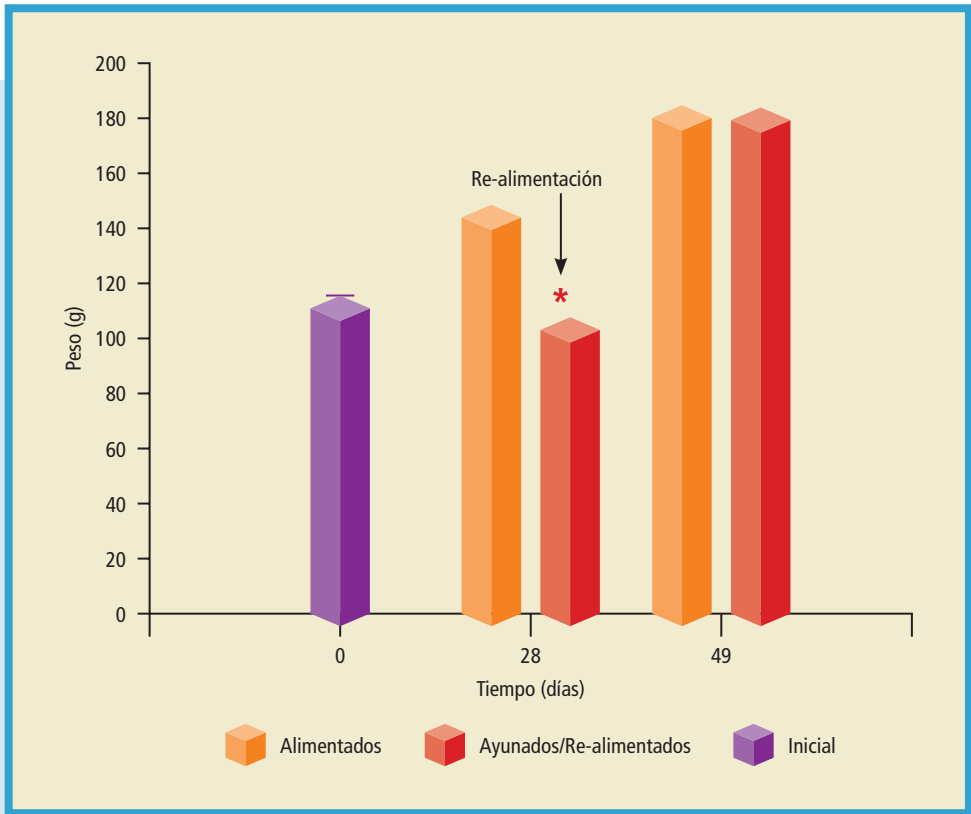


FIGURA 6.

Crecimiento compensatorio en lubinas (*Dicentrarchus labrax*) sometidas a 28 días de ayuno y realimentadas durante 21 días. Los asteriscos representan diferencias significativas respecto de los animales alimentados. Datos obtenidos de Terova *et al.*, 2006.

dos también demuestran que los peces crecen con tasas de crecimiento inferiores a lo que su potencialidad permite, un hecho que podría ser explotable en términos de cultivo. Estos resultados establecen dos pautas generales de primordial importancia en el control del balance energético: 1) la ingesta, es el resultado de un comportamiento alimenticio y como todo comportamiento se regula a nivel del sistema nervioso central (SNC) y 2) la pérdida de peso corporal (periférica) provoca una activación de sistemas neuronales (comportamentales) que intentan contrarrestar la merma energética. Estas dos premisas nos permiten

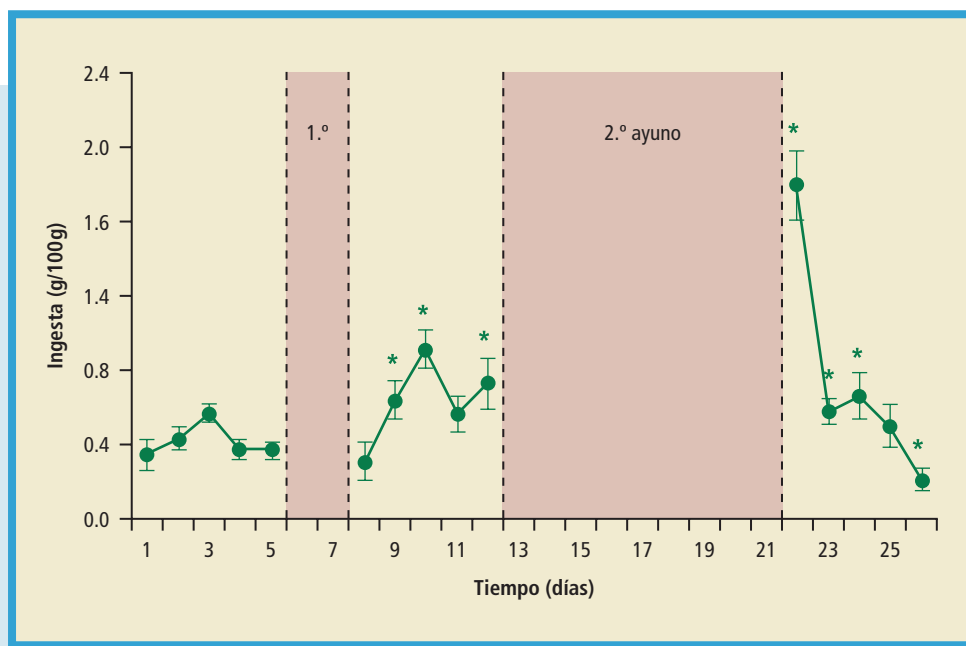
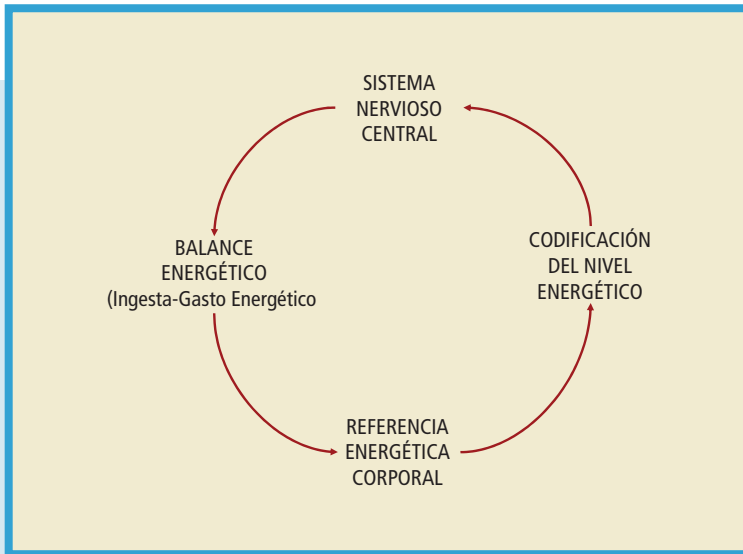


FIGURA 7.

Ingesta de alimento media normalizada según el peso corporal de animales sometidos a cortos (2 días) o largos (9 días) periodos de ayuno (áreas sombreadas). Media \pm SEM ($n = 10$). Los asteriscos indican diferencias significativas respecto al periodo base (media de los 5 primeros días representados) tras T-Student ($P < 0,05$, (Rubio V.C., Sánchez E. y Cerdá-Reverter J.M. datos no publicados).

establecer un modelo simple para el control del balance energético y, por extensión, de la ingesta en peces. El organismo necesita de una referencia corporal que registre fehacientemente las modificaciones energéticas del cuerpo. Esta referencia energética debe codificarse de alguna forma, presumiblemente humoral, y el sistema de codificación debe alcanzar y activar los circuitos centrales encargados de controlar la ingesta y el gasto energético del organismo (Fig. 8).

El funcionamiento correcto de este sistema de control de la ingesta depende de la recepción de información periférica (cuerpo). El tipo de información que recibe puede clasificarse desde el punto de vista temporal en i) información a corto y ii) largo plazo. La información a corto plazo regula el sistema sobre la misma base temporal y establece el día

**FIGURA 8.**

Modelo primario para el control de la ingesta/balance energético a largo término. En el sistema nervioso central encontramos vías encargadas de regular la ingesta y el gasto energético (balance energético). La modificación del balance entre aporte y gasto de energía provoca una variación en las reservas energéticas corporales y en especial de aquella que se utiliza como referencia corporal. Estas variaciones son codificadas de forma, presumiblemente, humoral y alcanzan las vías centrales quienes corrigen las desviaciones que puedan producirse en el nivel de reservas manteniendo así el peso corporal dentro de un rango predeterminado.

a día de la ingesta mediante la regulación del tamaño y la frecuencia de alimentación (Fig. 9). La información a largo plazo establece el peso corporal corrigiendo las desviaciones que se producen diariamente.

La integración de los dos sistemas de regulación a corto y largo plazo se produce gracias a un cambio de la sensibilidad del sistema neuronal que regula la ingesta hacia los reguladores a corto plazo. Al final, toda la información se integra y se produce una salida neta que se traduce en una respuesta de carácter anabólico (balance energético positivo) o catabólico (balance energético negativo). El tiempo de acción es diferente, mientras los reguladores a corto plazo actúan casi de

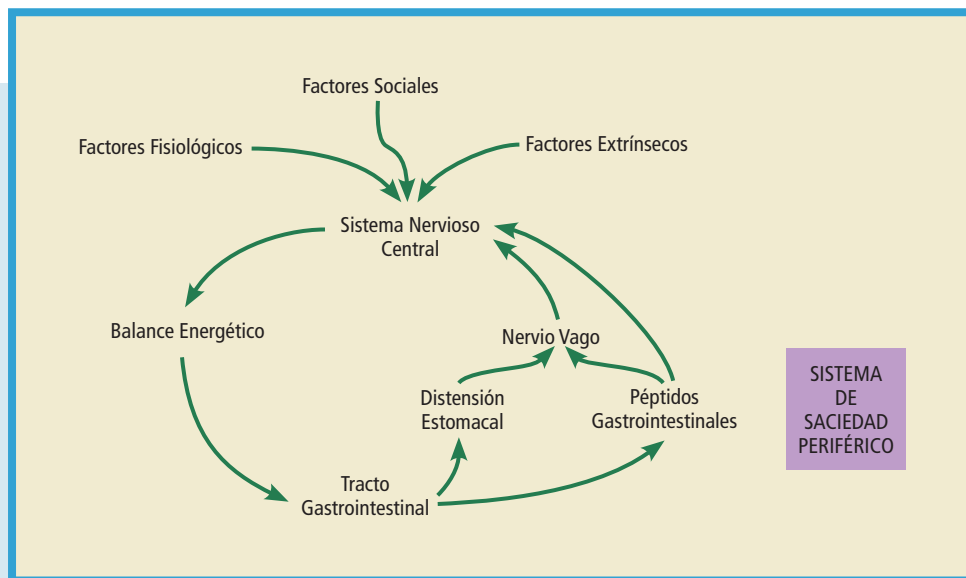


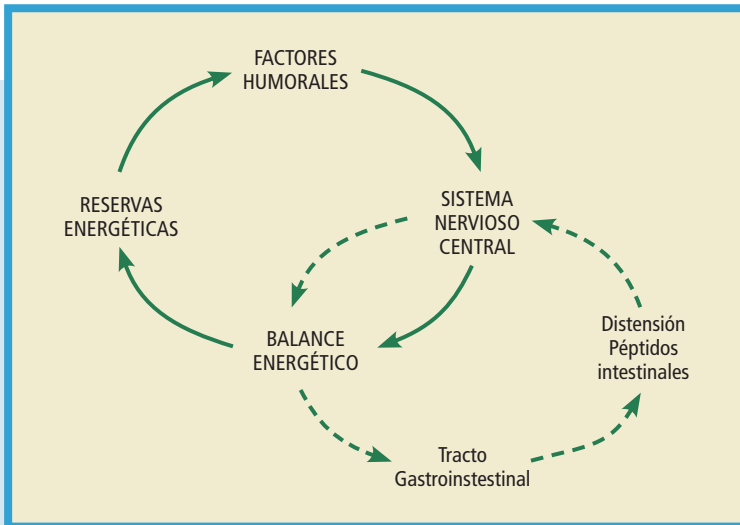
FIGURA 9.

Modelo para la regulación de la ingesta/balance energético a corto plazo. El sistema de saciedad periférico localizado en el tracto gastrointestinal es el encargado de liberar información hormonal (péptidos gastrointestinales) o nerviosa (nervio vago) estipulando la frecuencia y tamaño de la ingesta. Además en este modelo de regulación a corto plazo debemos tener en cuenta los factores fisiológicos como el estado reproductor del animal, los factores sociales (relaciones de dominancia), los factores extrínsecos (ambientales).

forma inmediata, los reguladores a largo plazo actúan de forma mas lenta y sostenida o tónica (Fig. 10).

11.3. CEREBRO E INGESTA

El sistema neuronal de control de la ingesta debe presentar vías efectoras de carácter anabólico y catabólico. La activación de una vía anabólica (orexigénica) conlleva estados de balance energético positivo y, en su máxima expresión, debe conducir a incrementos en la ingesta y disminución del gasto energético. Además, la activación de las vías anabólicas debe conducir también a la formación de un ambiente hormonal que facilite la deposición de energía. Por el contrario,

**FIGURA 10.**

Modelo para el control de la ingesta. El sistema de alimentación central situado principalmente en el hipotálamo recibe información periférica de dos sistemas principales. El sistema de regulación a corto plazo también llamado sistema de saciedad periférico y que transmite información referente al alimento. Este sistema de saciedad periférico determina la frecuencia y talla de la ingesta a través de las vías neuronales centrales. El sistema de regulación a largo plazo transduce información relativa a la condición energética del organismo. La integración de ambos sistemas se produce por una modificación de la sensibilidad de las vías neuronales al sistema de saciedad periférico impuesta por las señales a largo plazo es decir en función de las reservas energéticas del organismo.

la activación de una vía catabólica o anorexigénica conducirá a una disminución en el nivel de ingesta, un incremento en el gasto energético y creará un ambiente hormonal favorable para la movilización energética. La investigación actual sobre el control neural de la ingesta en peces no nos permite localizar de forma precisa la situación de las vías neuronales que regulan la ingesta. En ocasiones, la situación de estas vías se extrapola a partir de la localización de neuropéptidos que sabemos que afectan a la ingesta, o bien, sabemos que se encargan



de regular la ingesta en otras especies. En la mayoría de los casos se tiende a una extrapolar modelos bien caracterizados en mamíferos.

En la rata, probablemente la especie más estudiada dentro del campo de la ingesta, se sabe que el hipotálamo es una región clave para la regulación de los procesos homeostáticos tales como la alimentación, termorregulación y reproducción. Para regular dichos procesos el hipotálamo recibe e integra información neural, endocrina y metabólica y utiliza diferentes vías efectoras para promover respuestas comportamentales, autónomas y endocrinas. Sin embargo, el hipotálamo de los mamíferos está formado por más de 40 núcleos histológicamente diferentes, muchos de los cuales se subdividen en subnúcleos (Fig. 11). De ellos, el núcleo arqueado o arcuato (Ac) es un punto clave en la integración de señales metabólicas que regulan el hambre. Se considera como un «sensor metabólico» que recibe información periférica endocrina sobre el abastecimiento y el gasto de energía. La accesibilidad para los diversos sistemas endocrinos es factible gracias a la ausencia de barrera hematoencefálica. De hecho, se ha demostrado que hormonas como la leptina, insulina, grelina, hormona de crecimiento, glucocorticoides, esteroides sexuales, y metabolitos, tales como la glucosa, tienen acceso directo a las neuronas del arqueado vía receptores específicos. Dentro del núcleo arqueado parecen existir dos circuitos neuronales relacionados con la alimentación, uno encargado de inhibir la ingesta vía expresión de péptidos derivados del precursor proopiomelanocorticotropina (POMC) y del transcrito estimulado por la cocaína y la anfetamina (CART) y otro encargado de estimular la ingesta vía expresión de neuropéptido Y (NPY) y péptido relacionado a la proteína agouti (AGRP).

Las proyecciones del núcleo arqueado se dirigen principalmente hacia las neuronas de segundo orden situadas en el propio núcleo arqueado (Ac), en el hipotálamo dorsomedial (DMH) y en los núcleos hipotalámicos paraventriculares (PVN) donde se sitúan los receptores de los estos neuropéptidos y neurotransmisores encargados de regular la ingesta. Los núcleos paraventriculares juegan una función clave en la coordinación de las respuestas autónomas, a través de conexiones con el sistema endocrino y con la red de neuronas simpáticas preganglionares de la medula espinal. Si al núcleo arqueado se le tilda de



«sensor metabólico» el núcleo paraventricular puede ser considerado como un «centro de coordinación para el metabolismo energético». Las conexiones con el sistema endocrino se establecen gracias a las proyecciones que las neuronas magnocelulares envían a la pituitaria posterior y las neuronas secretoras parvicelulares que liberan hormona liberadora de la corticotrofina (CRF) y hormona liberadora de tirotrópina (TRH), conduciendo a la liberación de ACTH-glucocorticoides y TSH-hormonas tiroideas, respectivamente.

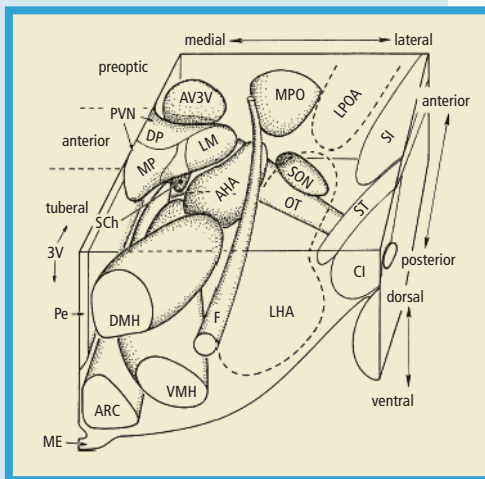
Las proyecciones del arqueado también se extienden al hipotálamo lateral (LH), un área antaño conocida como «centro del hambre» en virtud de que los experimentos de lesiones/estimulación y en contraste al «centro de saciedad» localizado en el hipotálamo ventromedial (VM). Antiguos experimentos demostraron que las lesiones del hipotálamo lateral causaban reducciones de la ingesta y delgadez mientras que lesiones del hipotálamo ventromedial causaban obesidad. Este modelo dual para el control del balance energético quedó pronto obsoleto concluyendo que ambos centros no son más que parte de un sistema neuronal mucho más complejo. Una importante característica del hipotálamo lateral es su elevado número de conexiones corticales sugiriendo la existencia de un canal indirecto de información por el cual las señales metabólicas pueden influenciar las funciones cognitivas, así como un canal a través del cual la deficiencia energética puede transformarse en una experiencia consciente de hambre. En el hipotálamo lateral se producen dos neuropéptidos encargados de estimular la ingesta, la hormona concentradora de los melanocitos (MCH) y la hipocretina, también conocida como orexina (Ox).

El área dorsomedial recibe aferencias de casi todos los núcleos hipotalámicos incluyendo el arqueado, el ventromedial, los paraventriculares y el hipotálamo lateral. Esta zona se caracteriza por presentar altos niveles de receptores de colecistoquinina, un péptido anorexigénico sintetizado en el tracto gastrointestinal en respuesta a la llegada de alimento. Sus proyecciones se dirigen primariamente hacia el área periventricular y concretamente al los núcleos paraventriculares.

El hipotálamo no es el único responsable del control del comportamiento alimenticio. Experimentos de descerebración crónica de ratas, cuyo cerebro anterior se ha desconectado mediante corte mesen-

FIGURA 11.

Vista tridimensional del hipotálamo de rata. Abreviatura: 3V tercer ventrículo, AHA área hipotalámica anterior, ARC núcleo arqueado, AV3V área anteroventral del tercer ventrículo, CI cápsula interna, DP subnúcleo parvocelular del núcleo paraventricular (PVN), DMN núcleo dorsomedial, F fornix, LHA área hipotalámica lateral, LM subnúcleo magnocelular del PVN, LPOA área preóptica lateral, ME eminencia media, MP subnúcleo parvocelular medial del PVN, MPO área preóptica medial, OT tracto óptico, SCh núcleo supraquiasmático, SON núcleo supraóptico, SI sustancia innomidana, ST núcleo subtalámico, VMN núcleo ventromedial, VP subnúcleo parvocelular ventral del PVN. Modificado de Berthoud, 2002.



cefálico, han demostrado que la respuesta alimenticia a la modificación del contenido gastrointestinal no se afecta. Sin embargo, si la cantidad de calorías totales disponibles se reduce, el animal no puede ajustar la cantidad de alimento diario que ingiere para compensar la pérdida de calorías y se vuelve anoréxico. Esto sugiere que el cerebro anterior maneja la información sobre el estado metabólico del animal pero los núcleos del cerebro posterior son capaces de integrar y responder adecuadamente a las señales retroalimentativas que provienen del tracto gastrointestinal (circuito de saciedad/regulación a corto termino). El mayor «input» de información viscerosensorial proviene a través de la porción aferente del nervio vago que termina en el núcleo del tracto solitario (NTS) y el área postrema. El NTS también recibe información sensorial a través del nervio glossofaríngeo, facial y del trigémino. Por el contrario, tiene acceso directo vía neuronas preganglionares vagales permitiendo la modulación de la asimilación de alimento por el tracto gastrointestinal, hígado y páncreas. El acceso a las neuronas pregan-



glionares es parcialmente directo y parcialmente vía la médula rostro-ventral, lo que permite una modulación de los procesos metabólicos y el gasto energético (revisado por Kalra *et al.*, 1999; Berthoud, 2002; Wynne *et al.* 2005).

Aunque hemos mostrado un esquema muy simplificado del control hipotalámico de la ingesta en mamíferos, la visión que tenemos de los sistemas que controlan la ingesta en peces es mucho más pobre. Gracias a los experimentos de lesiones y estimulación eléctrica sabemos que, al igual que en los mamíferos, el hipotálamo es un área clave en la regulación de la ingesta de los peces. Así, la estimulación eléctrica de las regiones que bordean el receso lateral, situado en el lóbulo inferior hipotalámico, y el hipotálamo caudal del cerebro del pez branquiazul (*Lepomis macrochirus*) estimulan el comportamiento alimenticio (Fig. 12). El área anterior, en realidad, forma parte de un complejo neuronal mucho más amplio, ya que la estimulación del telencéfalo ventral, el techo óptico y el núcleo gustatorio terciario (previamente denominado como núcleo glomerular) también inducen la alimentación y respuestas agresivas en *Lepomis macrochirus*. El lóbulo inferior hipotalámico está integrado dentro de la topología de los sistemas gustativo, visual y auditivo del cerebro de la carpa roja y se cree que es un centro de integración multisensorial. Así pues, es posible que esta área hipotalámica juegue un papel muy importante en la integración sensorial y probablemente en la generación de una respuesta alimenticia orquestada.

Sin embargo, las técnicas inmunohistológicas revelan que, en realidad, el lóbulo inferior no representa el lugar principal donde se sitúan los cuerpos neuronales de los principales sistemas que regulan la ingesta en peces. Estos cuerpos neuronales se disponen principalmente en la porción caudal del telencéfalo ventral (V), en el área preóptica (POA) y en el hipotálamo mediobasal o tuberal, particularmente en el núcleo lateral tuberal (NLT). Estas tres áreas son también las principales regiones hipofisiotróficas, es decir, donde se sitúan con cuerpos neuronales de las neuronas que inervan la hipófisis de los peces (Fig.9). A destacar que los peces teleósteos carecen de eminencia media y, por tanto, de sistema portal hipotálamo-hipofisiario y son las neuronas preópticas e hipotalámicas las que inervan y controlan la secreción de células hipofisiarias.

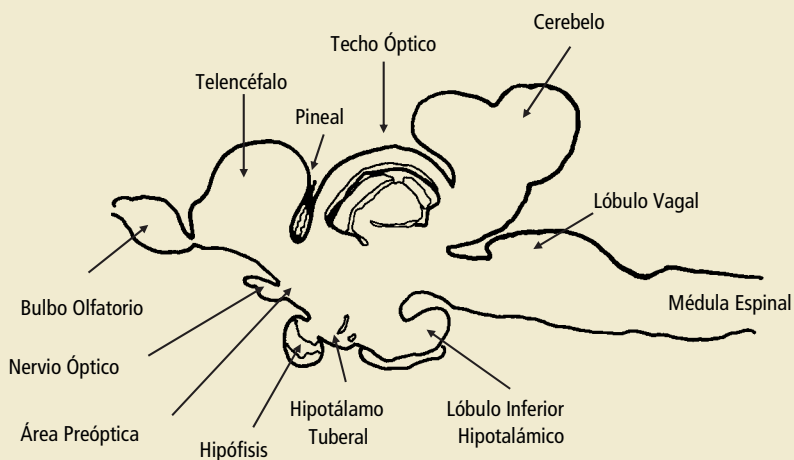


FIGURA 12.

Dibujo representando un corte longitudinal del cerebro de lubina.
Modificado de Cerdá-Reverter *et al.* 2000a.

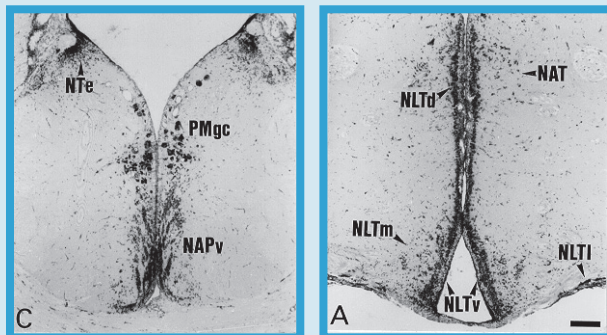


FIGURA 13.

Microfotografías de cortes transversales a nivel del área preóptica (izquierda) y el núcleo lateral tuberal (derecha) del cerebro de la lubina.
NAT núcleo tuberal anterior, NLTm parte medial del núcleo lateral tuberal, NLTl parte lateral del NLT, NLTv parte ventral del NLT, NLTd parte dorsal del NLTd. PMgc Núcleo preoptico magnocelular parte gigantocelular, NAPv, núcleo anterior periventricular, NTe núcleo de la eminencia talámica. Modificado de Cerda-Reverter *et al.*, 2001.



El establecimiento de regiones homólogas en el cerebro de peces es difícil debido a la existencia de diferencias sustanciales en los procesos de ontogenia del SNC, pero fundamental a la carencia de estudios morfológicos. Diversos estudios inmunológicos indican que el núcleo lateral tuberal puede ser homólogo del núcleo arqueado de los mamíferos, mientras que las áreas parvocelular y magnocelular del núcleo preóptico podrían ser homologas a los núcleos supraóptico y paraventriculares del hipotálamo de mamíferos (revisado por Volkoff *et al.*, 2005).

11.4. SISTEMAS NEURONALES IMPLICADOS EN LA REGULACIÓN DE LA INGESTA

11.4.1. Sistemas orexigénicos

11.4.1.1. Péptidos de la Familia del Neuropeptido Y (NPY)

La familia de péptidos del NPY incluye al propio NPY, al péptido tirosina-tirosina (PYY), al péptido tirosina de peces (PY) y al polipéptido pancreático (PP). Todos ellos son péptidos de 36 aminoácidos con amidación (-NH₂) C-terminal, básica para su actividad biológica. Los tetrápodos presentan 3 péptidos de la familia (NPY, PYY y PP) mientras que en peces dependiendo del linaje presentan 2 (NPY, PYY) o tres (NPY, PYY, PY) pero nunca PP (Cerdá-Reverter *et al.*, 2000b). Sus acciones se median a través de los receptores Y, con 5 miembros clonados (Y1, Y2, Y4, Y5, Y6, revisado por Larhammar y Salanek, 2004). En mamíferos, solamente el NPY tiene una prominente expresión cerebral. Por el contrario, PP es un péptido eminentemente pancreático mientras que el PYY se expresa básicamente en el intestino con ciertos niveles de expresión en el páncreas y muy discretos en el cerebro posterior (revisado por Cerdá-Reverter y Larhammar, 2000).

Hasta la fecha el NPY es el factor orexigénico más potente conocido (Dummont *et al.*, 1992). Cuando se inyecta en áreas cerebrales concretas y particularmente el área perifórnica hipotalámica provoca estimulación de la ingesta en animales saciados y su administración crónica lleva a obesidad (Stanley 1993; Kalra *et al.*, 1999). El ayuno

aumenta los niveles de expresión génica en el núcleo arqueado y la liberación de péptido en el núcleo paraventricular hipotalámico (Kalra *et al.*, 1991, Davis y Marks 1994). Las hormonas metabólicas provocan fuertes efectos sobre la expresión hipotalámica. Insulina y leptina inhiben su síntesis en el arqueado, un efecto dependiente de la presencia de glucocorticoides, quienes por si solos estimulan la síntesis en el arqueado (revisado por Kaiyala *et al.*, 1995 Leibowitz, 1995).

La estructura molecular del NPY y su distribución cerebral se ha caracterizado en varias especies de peces (revisado por Cerdá-Reverter y Larhammar, 2000). En la lubina el NPY se expresa fundamentalmente en el cerebro anterior, mayoritariamente en el telencéfalo, pero con una amplia presencia en el núcleo lateral tuberal hipotalámico (supuesto homólogo del arqueado en peces, Fig.14) y menor en el área preóptica. Sus lugares de producción cerebral son idóneos para la regulación de la ingesta y para la transmisión de información sensorial hacia los núcleos hipotalámicos encargados de regular la ingesta (Cerdá-Reverter *et al.*, 2000c).

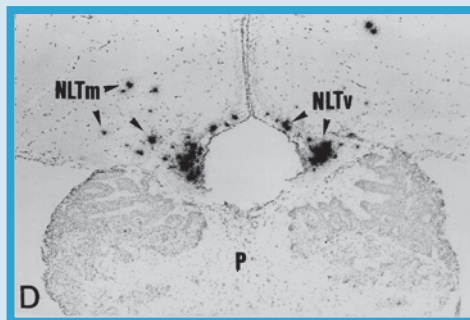


FIGURA 14.

Expresión del gen que codifica el neuropéptido Y (NPY) en el hipotálamo tuberal de la lubina mostrado mediante hibridación in situ. Este neuropéptido es uno de los estimuladores más potentes de la ingesta tanto en mamíferos como en peces. Abreviaturas, NLTm parte medial del núcleo lateral tuberal, NLTv parte ventral del núcleo lateral tuberal, P pituitaria.

Adaptado de Cerdá-Reverter *et al.*, 2000d.



Diversos experimentos han demostrado la implicación del NPY en el control de la ingesta en peces. Inyecciones centrales estimulan la ingesta de forma muy potente en la carpa roja (López-Patino *et al.*, 1999; de Pedro *et al.*, 2000; Narnaware *et al.*, 2000), pez gato y la trucha (Silverstein y Plisetskaya, 2000). El ayuno incrementa la expresión hipotalámica en la carpa roja (Narnaware *et al.*, 2001a) y el salmón (Silverstein *et al.*, 1998), y la realimentación tras 72 horas normaliza la expresión (Narnaware *et al.*, 2001a). La expresión del NPY también sufre incrementos pre-pandriales en animales sometidos a un estricto horario de alimentaciones, que se tornan en descensos tras la ingesta (Narnaware *et al.*, 2000, Narnaware *et al.*, 2001a). Además, la administración de antagonistas del NPY reduce la alimentación compensatoria inducida por el ayuno. Este experimento sugiere que la elevación de los niveles de NPY en el cerebro puede ser, en parte, responsable de la alimentación compensatoria en peces (López-Patiño *et al.*, 1999). Diversos experimentos han demostrado que la expresión de NPY esta regulada por hormonas metabólicas, como los glucocorticoides, o sexuales, como el estradiol (Peng *et al.*, 1994). De hecho, en diversas especies de peces se sabe que el NPY está implicado en la secreción de hormona luteinizante (LH) y podría servir como un integrador de información energética hacia el sistema reproductor (Cerdá-Reverter y Larhammar, 2000). En la lubina, la estimulación de la secreción de LH depende del estado energético del animal. En un experimento desarrollado con juveniles de lubina durante la época de reposo sexual el NPY solo fue capaz de inducir la secreción de LH en animales bajo un estado de severo balance energético negativo pero no en animales alimentados (Cerdá-Reverter *et al.*, 1999).

La distribución central del PYY y PY solamente se ha estudiado en la lubina. Ambos PYY y PY se expresan de forma profusa en el área preóptica rostral y en el hipotálamo caudal en los núcleos que bordean la apertura del receso hipotalámico. Aún cuando tienen una estructura molecular similar a la del NPY y una disposición cerebral idónea, su participación en la regulación de la ingesta en peces no ha sido estudiada (Cerdá-Reverter *et al.*, 2000a).

11.4.1.2. Galanina

La galanina es un péptido de 29 aminoácidos que se ha identificado en numerosos vertebrados, incluyendo los peces, aunque originalmen-



te purificada a partir de extractos de intestino de cerdo (Wynick *et al.*, 2001). La estructura primaria de la galanina esta muy conservada a lo largo de la escala filogenética, especialmente dentro de su región amino terminal, sugiriendo su importancia para la actividad biológica. La expresión se distribuye ampliamente por el cerebro y el tracto gastrointestinal de los mamíferos y sus efectos se median a través de tres receptores diferentes GAL1R, GAL2R y GAL3R (Gundlach, 2002; Vrontakis, 2002). A este péptido se le han atribuido un amplio rango de funciones fisiológicas (Brewer *et al.*, 2005) incluyendo la estimulación de la ingesta. Las microinyecciones de galanina en el núcleo paraventricular, hipotálamo lateral e hipotálamo ventromedial estimulan la ingesta (Leibowitz, 2005).

En peces, la distribución de la expresión se ha estudiado en la carpa roja y se ha detectado en el telencéfalo ventral (núcleo ventroventral), el área preóptica rostral (núcleo preóptico parvicelular) y en el hipotálamo lateral rostral y caudal, concretamente en regiones próximas a la apertura del receso tuberal (Unniappan *et al.*, 2004). Estudios de inmunoreactividad son más numerosos y han extendido la presencia de galanina al tracto gastrointestinal de diversas especies de peces. A su vez, se ha demostrado también la presencia de lugares de unión específicos en el hipotálamo del salmón (Holmqvist y Carlberg, 1992) y la lubina (Moons *et al.*, 1991), sugiriendo su participación en los circuitos que regulan la ingesta. La expresión en el área preóptica e hipotálamo disminuye tras la alimentación en la carpa roja pero no se ve afectada tras 7 días de ayuno (Unniappan *et al.*, 2004). Estos datos pueden sugerir que la galanina sería un factor central más relacionado con la regulación a corto termino y probablemente con el establecimiento del patrón diario, que con regulaciones a largo plazo. Las inyecciones intracerebroventriculares estimulan la ingesta en la carpa roja (de Pedro *et al.*, 1999; Volkoff y Peter, 2005). La inyección del antagonista «galantide» bloquea el efecto producido por la galanina endógena (de Pedro *et al.*, 1999). Se han descrito también posibles acciones sinérgicas con el sistema NPY y orexinas ya que la co-administración de galanina + NPY o orexina estimula la ingesta en mayor dosis que la galanina por sí sola. Además, el pre-tratamiento de las carpas con antagonistas de receptores adrenérgicos α -2 bloquea el efecto de la galanina sugieren-



do que estos receptores pueden mediar «corriente abajo» la acción de la galanina (de Pedro *et al.*, 1999). Por el contrario, las inyecciones intraperitoneales no tienen un efecto significativo sobre la alimentación apoyando la acción central del péptido (Volkoff y Peter, 2005)

11.4.1.3. Hormona Estimuladora de los Melanocitos (MCH)

La hormona estimuladora de los melanocitos fue originalmente aislada de la hipófisis de peces salmónidos como una hormona encargada de mediar los cambios de color en los procesos de mimetismo (Kawauchi *et al.*, 1983). Con excepción de algunos estudios realizados en mamíferos, la MCH fue una hormona del ámbito de la investigación en peces hasta que en 1996 se demostró que los ratones obesos presentaban una excesiva producción de péptido en el hipotálamo lateral (Qu *et al.*, 1996). Dicho descubrimiento cuadraba perfectamente con la conocida, pero hasta el momento inexplicable, participación de esta área cerebral en el control de la ingesta. El hallazgo hizo que rápidamente se caracterizaran dos receptores MCHR1 (Saito *et al.*, 1999) y MCHR2 (Sailer *et al.*, 2001), uno de ellos (MCH1R) ya conocido en estructura y nombrado previamente como SLC-1 pero sin ligando atribuido (receptor huérfano). Experimentos simultáneos demostraron que la inyección central repetida estimulaba la ingesta y provocaba una obesidad moderada. El ayuno producía un incremento de la expresión en el hipotálamo lateral (Qu *et al.*, 1996). Los animales transgénicos desarrollaban obesidad (Ludwig *et al.*, 2001) mientras que la disrupción del gen provocaba delgadez (Shimada *et al.*, 1998).

A diferencia de los mamíferos donde el MCH producido permanece en el cerebro sin ser liberado a la circulación sistémica, en los peces teleósteos se produce principalmente en la parte lateral del núcleo lateral tuberal (Fig. 15). Mediante transporte axónico se acumula en el lóbulo neural desde donde se libera a la circulación en respuesta a la adaptación a fondos de color claro (Baker 1994; Kawauchi y Baker, 2004). A través del sistema sanguíneo, la hormona alcanza los receptores presentes en los melanocitos induciendo una migración centrípeta de los melanosomas y, en sí provocando una aclaración del melanocito que permite la adaptación al color claro del fondo. Esta acción parece mediar a través del receptor de tipo 2 (Takahashi *et al.*, 2007). Al igual

que en mamíferos se han caracterizado dos tipos de receptores en peces teleósteos (Logan *et al.*, 2003).

Dentro del cerebro de peces se ha detectado una segunda población de neuronas productoras de MCH. Situadas en la periferia de la región más rostral de la apertura del receso tuberal (Fig. 15), estas neuronas no proyectan hacia la hipófisis, sino que, envían sus terminales hacia el tálamo y techo óptico (Baker *et al.*, 2002).

La participación de esta neurohormona en el control de la ingesta en peces es controvertida. Resultados en el pez plano *Verasper moseri* demuestran un aumento del número de neuronas que expresan el gen que codifica el péptido en el hipotálamo tras periodos prolongados de ayuno (Takahasi *et al.*, 2004), así como un crecimiento somático acelerado tras la adaptación a fondos claros (Yamanome *et al.*, 2005). Los autores sugieren que este mayor crecimiento en fondos blancos puede deberse a un incremento en la tasa de ingesta promovido por el aumento de expresión de MCH hipotalámica. Por el contrario, experimentos en carpa roja han demostrado que la inyección central inhibe la ingesta (Matsuda *et al.*, 2006) y nuestros resultados no publicados en la misma especie indican una carencia de efecto (Cerdá-Reverter J.M. y R.E. Peter). Además, medakas transgénicas (*Oryzias latipes*) para el gen

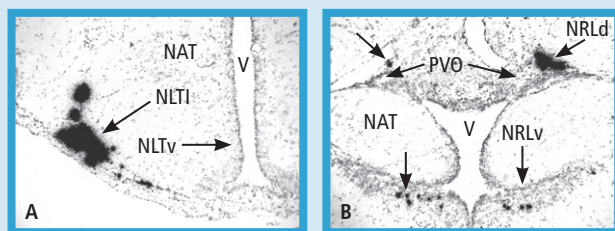


FIGURA 15.

Expresión del gen que codifica la hormona concentradora de la melanina (MCH) en la parte lateral del hipotálamo tuberal (NTLI) de la carpa roja mostrado mediante hibridación in situ. Este péptido está considerado como una neurohormona en peces teleósteos. Los axones de estas neuronas proyectan al lóbulo neural de la hipófisis donde el péptido se acumula para liberarse a la circulación sanguínea en respuesta a la adaptación a fondos claros. Modificado de Cerdá-Reverter *et al.*, 2007.



del MCH no muestran ninguna alteración en el desarrollo, crecimiento, comportamiento alimenticio o procesos reproductivos aunque son de color claro (albinas), sin posibilidad de adaptarse a fondos oscuros (Kinoshita *et al.*, 2001). El conjunto de datos sugiere que el sistema MCH no está implicado en el control central de la ingesta en peces aunque se requiere más investigación para corroborar esta hipótesis.

11.4.1.4. Orexina o Hipocretina

El conjunto de las orexinas o hipocretinas está formado por dos péptidos, la orexina A o hipocretina 1 y la orexina B o hipocretina 2 producidas a partir de un mismo precursor peptídico. Al igual que el MCH, en mamíferos las orexinas se producen principalmente en el hipotálamo lateral (LH), pero en neuronas distintas y actúan a través de dos receptores OX1R y OX2R (Kirchgessner, 2002). OX1R se expresa fundamentalmente en el núcleo ventromedial y une orexina A con mucha mayor afinidad. OX2R se expresa mayoritariamente en el núcleo periventricular y une ambas orexinas con afinidad similar (Bingham *et al.*, 2006). El ayuno induce un aumento de la expresión en el hipotálamo lateral, mientras que la administración central de orexina A tiene un fuerte efecto sobre la ingesta y la secreción de ácidos gástricos. Por el contrario, la administración de orexina B genera un incremento del nivel de ingesta durante el día en la rata (alimentación mayoritariamente nocturna) sin un aumento en el nivel diario final (Kirchgessner, 2002). Las neuronas orexina están asociadas con la actividad general del organismo y la disrupción del gen en ratones supone un modelo de narcolepsia (Wurtman, 2006).

Los experimentos en peces son escasos. El gen de la orexina se expresa en el hipotálamo anterolateral aunque no coexiste con las células MCH como ocurre en mamíferos (Huesa *et al.*, 2005). El gen de la orexina se ha caracterizado en pez cebra (Kaslin *et al.*, 2004) y pez globo (Alvarez and Sutcliffe, 2002) mostrando una similitud estructural y un probable procesamiento post-transcripcional generando orexinas A y B. Como en mamíferos, la orexina parece estar implicada en la aparición del insomnio ya que la sobre-expresión del gen inhibe la aparición de periodos de descanso en el pez cebra (Prober *et al.*, 2006) y estimula la actividad locomotora en la carpa roja (Nakamachi *et al.*, 2006). De



igual forma, la inyección intracebroventricular estimula la ingesta en la carpa roja (Volkoff *et al.*, 1999; Nakamachi *et al.*, 2006) mientras que la administración de anticuerpos anti-orexina disminuyen la ingesta y la actividad locomotora (Nakamachi *et al.*, 2006). Acordemente, el ayuno aumenta en número de células inmunoreactivas a la orexina (Nakamachi *et al.*, 2006). Estos datos hacen del sistema orexina un sustrato neuronal importante en el control de la actividad locomotora y la ingesta en peces.

11.4.1.5. Péptidos opiáceos

Los péptidos opiáceos endógenos se clasifican en tres categorías principales; endorfinas, encefalinas y dinorfinas. Todos ellos derivan de diferentes precursores proteicos; proopiomelanocorticotropina (POMC) proencefalina y prodinorfina, respectivamente. Los efectos de los péptidos opiáceos se median a través de tres receptores μ , δ , κ , cada uno de los cuales presenta diversos subtipos (μ_1 , μ_2 , δ_1 , δ_2 , κ_1 , κ_2 , κ_3 . Danielson y Dores, 1999). En mamíferos, la activación de receptores de opiáceos está relacionada con los procesos de recompensa y parece regular las preferencias basadas en el sabor (Woolley *et al.*, 2006; Olszewski y Levine 1997).

El único péptido opiáceo que se ha demostrado tiene un efecto sobre la ingesta de los peces, y en concreto sobre la carpa roja, es la β -endorfina. Este péptido de 29-31 aminoácidos se genera a partir del procesamiento de su precursor peptídico, el POMC, donde ocupa la región carboxilo terminal (Cerdá-Reverter *et al.*, 2000a). En el cerebro de la carpa roja, el POMC se expresa exclusivamente en el núcleo lateral tuberal desde su región rostral hasta la más caudal (Cerdá-Reverter *et al.*, 2000a). El tratamiento con β -endorfina exógena produce una estimulación de la ingesta tras administración central pero no periférica. La especificidad de este efecto se demostró en base a la utilización de antagonistas selectivos y generales de los receptores de péptidos opiáceos (de Pedro *et al.*, 1995b). La administración de agonistas estimula la ingesta mientras que los antagonistas reducen o no tienen efecto sobre la alimentación sugiriendo una mediación por receptores μ_1 (de Pedro *et al.*, 1996). Por el contrario, la administración prolongada de endorfina puede inhibir la ingesta e inducir



pérdida de peso en la carpa roja (de Pedro *et al.*, 1995). Resultados similares se han obtenido en mamíferos donde se observan efectos dependientes del patrón de administración (Levine y Billington, 1997; Cota *et al.*, 2006).

11.4.2. Sistemas anorexigénicos

11.4.2.1. Factor liberador de la corticotropina (CRF)

El sistema CRF comprende una familia de péptidos estructuralmente relacionados dos subtipos de receptor (CRF-R1 y CRF-R2) y una proteína de unión al CRF (Bale y Vale, 2004). La familia de ligandos incluye el propio CRF, varias urocortinas, la urotensina I de peces y la sauvagina de anfibios (Lewis *et al.*, 2001; Reyes *et al.*, 2001). Los peces parecen tener 4 péptidos del sistema; CRF, la urotensina I, y dos urocortinas relacionadas con la urocortina 3 de mamíferos (Bernier y Peter, 2001a). El sistema CRF se conoce principalmente por su acción en la regulación endocrina del estrés vía el eje hipotálamo-hipófisis-glándula adrenal (HHA, Flik *et al.*, 2006). En mamíferos, todos los péptidos de la familia tienen efecto anorexigénico, además de estimular el gasto energético a través de la estimulación del sistema nervioso periférico (Heinrichs y Richard, 1999). El sistema CRF parece ser el responsable principal, aunque no único, de los efectos del estrés sobre la ingesta ya que la administración de antagonistas del CRF bloquean la anorexia asociada a condiciones activadoras del sistema CRF, como el estrés por confinamiento (Smagin *et al.*, 1999). Su participación en el balance energético parece indudable aunque se ha demostrado que los ratones con disrupción en el gen presentan un fenotipo normal cuando se les permite el libre acceso a la comida (Swiergiel *et al.*, 1999; Contarino y Gold, 2002). Por el contrario, la administración crónica de CRF previene el aumento de peso en determinadas cepas obesas de rata (Contarino y Gold, 2002). En el cerebro de rata, el hipotálamo ventromedial parece ser un sitio potencial para los efectos anoréxicos del CRF y las urocortinas (Berthoud, 2002).

En peces, un amplio rango de agentes estresantes suprime la ingesta incluyendo tanto agentes sistémicos (ambientales, físicos o patológicos) como de procesamiento (subordinación social, aislamiento, Bernier, 2006).



Aunque los diferentes agentes pueden procesarse por diferentes vías neuronales todas deben confluir en la activación del eje HHA y la secreción de glucocorticoides (Bernier, 2006). Muchas evidencias sugieren que la mayor parte de los agentes estresantes que suprimen la ingesta actúan a través de péptidos de la familia CRF. Por ejemplo, el estrés por anoxia (Bernier y Craig, 2005) o presencia crónica de amonio exógeno en el agua, que produce una fuerte disminución de la ingesta, provoca un incremento de los niveles de CRF y UI en el cerebro anterior. Dicha inhibición es revertida parcialmente por antagonistas de los receptores de CRF (Ortega *et al.*, 2005). Esta posible mediación de los efectos de la anoxia sobre la ingesta invita a pensar si la disminución de la ingesta observada en algunas enfermedades que provocan una severa anemia puede mediar vía incrementos en la expresión de CRF (Chin *et al.*, 2004). Efectos similares a los de la anoxia sobre el eje HHA y la ingesta han sido descritos también en carpas rojas tratadas con lipopolisacárido bacteriano (LPS), sugiriendo que el incremento de la síntesis de CRF en el cerebro anterior puede mediar los efectos anoréxicos de los estados infecciosos (Volkoff y Peter, 2004). Los experimentos *in vitro* indican que el LPS provoca el aumento de contenido y liberación de CRF en el cerebro de tilapia (Pepels *et al.*, 2004). Apoyando todos estos experimentos indirectos que sugieren la participación del sistema CRF en la inhibición de la ingesta producida por el estrés se ha demostrado que las inyecciones centrales de CRF o UI producen una fuerte disminución de la ingesta, mientras que antagonistas de los receptores de CRF pueden revertir el efecto (de Pedro *et al.*, 1993; 1997, Bernier y Peter, 2001a;b).

11.4.2.2. Transcrito Regulado por la Cocaína y la Anfetamina (CART)

El transcrito inducido por la cocaína y la anfetamina fue originalmente identificado mediante PCR diferencial como un gen de expresión estimulada en el *striatum* de la rata, tras la administración de drogas psicoestimulantes como la cocaína y la anfetamina (Kuhar *et al.*, 2002). Mediante un procesamiento diferencial del gen se producen dos formas peptídicas de 129 y 116 aminoácidos, respectivamente (Domínguez, 2006). En mamíferos CART se expresa tanto en estructuras telencefálicas (núcleo



accumbens) como hipotalámicas. Dentro de esta última área se ha descrito su expresión en el núcleo arqueado, el hipotálamo paraventricular, el hipotálamo lateral y el núcleo supraóptico. Dentro del arqueado, el CART se expresa en las mismas células que expresan POMC, dispuestas en la porción lateral del núcleo (Berthoud, 2002; Vrang, 2006). Dentro del hipotálamo lateral se expresa en una población de células MCH, mientras que en el núcleo paraventricular se expresa en las neuronas TRH (Lechan y Fekete, 2006). El ayuno produce una reducción de los niveles de expresión en el arqueado mientras que la administración de leptina en ratones obesos *ob/ob* produce un aumento de su expresión (Kristensen *et al.*, 1998). El CART es un péptido eminentemente anoréxico capaz de explicar la inhibición de la ingesta provocada por psicoestimulantes (Vicentic y Jones, 2007). Los experimentos de inyecciones centrales tienen efectos inhibidores sobre la ingesta y el vaciado gástrico (Asakawa *et al.*, 2001), mientras que la administración de anticuerpos anti-CART aumenta los niveles de ingesta por bloqueo de los efectos del péptido endógeno (Lambert *et al.*, 1998). Su significación biológica parece demostrada por la localización de una mutación sin sentido que conduce a severa obesidad en humanos (Hunter *et al.*, 2004). Además, los ratones con una disrupción en el gen del CART alimentados con dietas altamente calóricas comen y pesan más y tienen mayor índice de grasa corporal (Moffett *et al.*, 2006). Sin embargo, existe cierta controversia ya que algunos investigadores han demostrado efectos estimuladores del péptido dependiendo de área cerebral de inyección (Kong *et al.*, 2003). Además, cuando se suministra a elevadas dosis produce respuestas comportamentales y posturales inusuales por lo que, en ocasiones, se ha sugerido que la inhibición de la ingesta es realmente un efecto secundario. La expresión del péptido en el núcleo *accumbens* y el elevado número de terminales nerviosas CART en el área tegmental ventral sugieren una participación del péptido en los circuitos de recompensa/refuerzo. De hecho, la inyección de CART incrementa la actividad locomotora y promueve la selección de lugar condicionada, acciones bloqueadas por antagonistas dopaminérgicos. La relación de estas vías de recompensa con la alimentación no está clarificada pero sugiere que el CART podría ser responsable en parte del componente hedónico de la alimentación (Berthoud, 2002).



En peces el CART se ha caracterizado en la carpa roja (Volkoff and Peter, 2001) y el bacalao (Kehoe and Volkoff, 2007) y de forma parcial en el pez cebra y el pez globo (Volkoff et al, 2005). Como en mamíferos ejerce efectos anoréxicos y la administración intracerebroventricular produce fuertes reducciones en la ingesta (Volkoff y Peter, 2001). Los niveles hipotalámicos de CART aumentan dos horas tras la ingesta o 4 horas tras la administración de leptina humana y de forma inversa ocurre tras el ayuno a largo plazo (Volkoff y Peter, 2001). Además, la administración de CART inhibe la estimulación de la ingesta provocada por el NPY o el sistema de orexinas, mientras que la leptina acentúa los efectos del CART (Volkoff y Peter, 2000). Estos resultados sugieren que al igual que en mamíferos el CART puede estar implicado en la regulación de la ingesta y el balance energético de los peces.

11.4.3. Sistemas duales (anorexigénicos/orexigénicos)

11.4.3.1. Melanocortinas

Las melanocortinas son pequeños péptidos derivados del precursor proopiomelanocortina (POMC) que muestran actividad melanotropa y/o corticotropa. La adrenocorticotropina (ACTH) y las hormonas estimuladoras de los melanocitos (α -, β - y γ -MSH) son las principales melanocortinas de vertebrados (Castro y Morrison, 1997). Estos péptidos desarrollan sus funciones biológicas mediante unión a una familia de receptores acoplados a la proteína G, cuya activación induce un aumento intracelular de la concentración de AMP cíclico (Schiöth *et al.*, 2005). El receptor de melanocortinas de tipo 2 (MCR2) une diferencialmente ACTH, mientras que los cuatro restantes reconocen distintivamente las MSHs (Schiöth 2005).

El principal lugar de síntesis de melanocortinas son las células melanotropas y corticotropas de la hipófisis. Sin embargo, las neuronas hipotalámicas del núcleo arqueado y las neuronas del núcleo del tracto solitario también producen POMC, que se procesa principalmente hacia la síntesis de α -MSH y β -endorfina (Castro y Morrison, 1997). La singularidad del sistema de melanocortinas radica en la existencia de antagonistas endógenos que compiten con las melanocortinas por unión a sus receptores. Los antagonistas endógenos aportan un nivel



adicional de regulación que confiere especial versatilidad a los efectos tónicos. En mamíferos, se han descrito dos antagonistas endógenos de melanocortinas denominados proteína de señalización agouti (ASP) y proteína relacionada a agouti (AGRP). ASP antagoniza los efectos de α -MSH sobre MC1R y MC4R (Lu *et al.*, 1994) mientras que AGRP es un antagonista específico de MC3R y MC4R (Ollman *et al.*, 1997). En el ratón, ASP es una proteína de acción paracrina que se produce exclusivamente en las células dermales del folículo piloso y actúa a nivel del microambiente folicular favoreciendo la síntesis de feomelanina (un pigmento de color amarillo) en lugar de eumelanina, un pigmento de tono marrón o negro (Millar *et al.*, 1993). En la cepa de ratones agouti-amarillo (Ay), el promotor del gen ASP ha sufrido una mutación que coloca al gen ASP bajo el control transcripcional del promotor del gen *rel*, una proteína de unión al RNA que se expresa de forma ubicua. Como consecuencia, en esta cepa mutante de ratones, la proteína ASP se sintetiza en todos los tejidos. El fenotipo del ratón agouti-amarillo se caracteriza por presentar un pelaje amarillo, pero además por ser hiperfágico, hiperinsulinémico, hiperleptinémico y presentar un crecimiento linear mayor, una mayor propensión a la aparición de tumores, infertilidad prematura y obesidad en la madurez (Michaud *et al.*, 1993). La coloración amarilla se explica en función de una antagonización de los efectos de α -MSH sobre el MC1R folicular, desplazando la acción del melanocito hacia la síntesis continua de feomelanina. Sin embargo, el fenotipo metabólico se explica por una expresión aberrante de ASP en el cerebro donde antagoniza los efectos de α -MSH sobre el receptor central MC4R (revisado por Wilson *et al.*, 1999). Este receptor es un punto clave en la regulación central del balance energético en mamíferos ya que los ratones «knockout» para el MC4R son hiperfágicos y presentan un gasto energético reducido desarrollando, por tanto, una patente obesidad (Huszar *et al.*, 1999). En individuos salvajes el antagonismo central sobre los receptores de melanocortinas es ejecutado por AGRP. En el cerebro, esta proteína se produce exclusivamente en el núcleo arqueado, colocalizando con el NPY, donde el ayuno estimula su producción (Ollman *et al.*, 1999). La inyección intracerebroventricular de agonistas de melanocortinas produce una disminución de la ingesta (Fan *et al.*, 1997), mientras



que la administración de fragmento C-terminal 81-131 de AGRP estimula la ingesta en diversas especies de tetrápodos (Rossi *et al.*, 1998). Estos efectos son replicados por la inyección central de antagonistas sintéticos específicos del MC4R (Kask *et al.*, 1998). Por el contrario, la inyección de agonistas de melanocortinas no produce efectos sobre la ingesta y el gasto energético en ratones carentes del MC4R (Marsh *et al.*, 1999). Estos datos sugieren la existencia de un efecto inhibitorio tónico sobre la ingesta inducido por el sistema de melanocortinas y mediado por el MC4R. En consonancia con el modelo, los ratones transgénicos AGRP desarrollan obesidad pero no tienen alteraciones en el color del pelaje ya que AGRP no antagoniza los efectos de α -MSH sobre el MC1R (revisado por Cone, 1999).

En carpa roja, el gen POMC se expresa mayoritariamente en la hipófisis aunque las neuronas hipotalámicas del núcleo lateral tuberal (NLT) también sintetizan POMC (Fig.16). El ayuno prolongado (hasta 7 días) no modifica los niveles hipotalámicos de expresión, pero la administración intracerebroventricular del agonista universal de los MCRs, NDP-MSH, disminuye el nivel de ingesta en animales que han ayunado durante las 24 horas previas (Cerdá-Reverter *et al.*, 2003a). Por el contrario, la administración de HS024, un antagonista específico del MC4R de la carpa roja, aumenta los niveles de ingesta en animales previamente alimentados. Este receptor se expresa de forma abundante en el cerebro anterior del pez dorado. Los niveles más elevados de mRNA se localizan en el área dorsomedial del telencéfalo rostral, núcleo preóptico y núcleo lateral tuberal hipotalámico (Cerdá-Reverter *et al.*, 2003b). La AGRP se expresa fundamentalmente en la parte posterior del NLT hipotalámico (Fig.12), donde el ayuno prolongado (3-7 días) estimula su expresión (Cerdá-Reverter y Peter 2003).

En conjunto, estos datos sugieren que el sistema de melanocortinas central ejerce una acción tónica inhibitoria sobre la alimentación de la carpa roja que actúa por mediación del MC4R. Durante una situación de balance energético negativo este tono no se regula disminuyendo la síntesis hipotalámica de POMC, sino aumentando la expresión del antagonista endógeno AGRP. Los datos sugieren la existencia de un tono inhibitorio sobre la ingesta impuesto por las melanocortinas centrales.

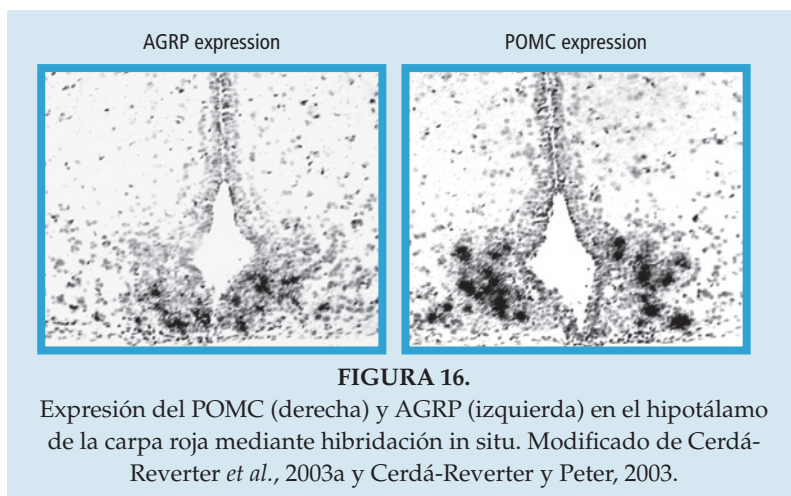


FIGURA 16.

Expresión del POMC (derecha) y AGRP (izquierda) en el hipotálamo de la carpa roja mediante hibridación in situ. Modificado de Cerdá-Reverter *et al.*, 2003a y Cerdá-Reverter y Peter, 2003.

11.4.4. Sistema periférico y regulación a corto plazo

La presencia de alimento en el tracto gastrointestinal provoca la liberación de péptidos reguladores implicados en el control de la motilidad y secreción gastrointestinal. Algunos de estos péptidos están también implicados en el sistema de saciedad periférico transmitiendo señales al sistema nervioso central que controla la ingesta y provocando la finalización de la alimentación. Estas señales pueden ser mediadas por estimulación de nervios aferentes (fundamentalmente nervio vago) o mediante vías endocrinas sensibles a factores como la distensión gástrica y el contenido de nutrientes intestinal. Un elevado contenido de nutrientes intestinal también informará al estómago para reducir la tasa de vaciado gástrico prolongando la distensión gástrica estomacal. Muchos de estos péptidos se producen también en diferentes áreas cerebrales implicadas en el control del balance energético, por lo que, en ocasiones, resulta difícil distinguir si los efectos se deben a los péptidos periféricos o centrales.

En los años 70 se establecieron las pautas para evaluar la función de los factores circulantes como señales reguladoras de inhibición de la alimentación a corto término. Sin embargo, estas pautas han sido modificadas y ampliadas en virtud de la caracterización de nuevas señales y mecanismos de acción como sigue: (1) la señal debe liberarse de for-



ma apropiada en respuesta a la señalización relevante, (2) debe afectar la alimentación siguiendo su administración exógena, (3) el encendido y duración de la acción son adecuados a los efectos propuestos, (4) el efecto es específico y secundario a estados enfermizos, (5) si se propone una acción humoral los efectos deben ser visibles tras la administración de dosis fisiológicas y (6) el efecto debe desaparecer cuando se administra un antagonista específico, anticuerpo u oligonucleótido antisentido (revisado por Kaiyala *et al.*, 1995; Schwartz *et al.*, 1999).

11.4.4.1. Colecistoquinina/gastrina

Colecistiquinina (CCK) y gastrina constituyen una familia de péptidos caracterizados por un tetrapéptido carboxilo terminal común WMDF-NH₂. En mamíferos, el procesamiento proteolítico diferencial genera múltiples formas biológicamente activas de diversa extensión N-terminal siendo la forma CCK-8 la más abundante en el cerebro. La estructura del octapéptido C-terminal está muy bien conservada entre los vertebrados y la sulfatación de residuos de tirosina desempeña un papel importante en la actividad biológica del péptido. La CCK está ampliamente distribuida por el sistema nervioso central, sistema nervioso periférico y células endocrinas del sistema gastrointestinal y está implicada en múltiples funciones gastrointestinales incluyendo la contracción de la vesícula biliar, la secreción de enzimas pancreáticos, la estimulación de la motilidad gástrica y la inhibición del vaciado gástrico. Sus funciones se desarrollan a través de dos subtipos de receptores. El CCK-A (o CCK-1) presente principalmente en el tracto gastrointestinal aunque también en las ramas aferentes vagales y en áreas cerebrales relacionadas con el control de la ingesta, como el núcleo del tracto solitario (NTS), área hipotalámica dorsomedial y el área postrema. Los receptores CCK-B (o CCK-2) se localizan mayoritariamente en el cerebro y están también presentes en aferencias del vago y el estómago (Dufrenese *et al.*, 2006).

A nivel de ingesta, la CCK es uno de los factores de saciedad más potentes. Se libera rápidamente desde las células endocrinas del tracto gastrointestinal de forma local o vascular en respuesta a la llegada de alimento y su efecto de saciedad reduce la duración y la cantidad de ingesta. Su acción parece mediar a través de las aferencias vaga-



les puesto que los efectos de saciedad, después de la administración periférica, desaparecen tras la vagotomía pero quedan intactos en animales descerebrados, demostrando la implicación del complejo nervio vago/cerebro posterior. La aferencias vagales alcanzan los centros hipotalámicos para el control de la ingesta a través de proyecciones desde el núcleo del tracto solitario (NTS) hacia el arcuato y el área paraventricular (Broberger y Hokfelt, 2001).

La administración preprandial crónica en ratas reduce la ingesta pero, de forma compensatoria, el animal incrementa la frecuencia actos alimenticios sin efecto final sobre el peso corporal. Dichos datos sugieren que, efectivamente, la CCK es un regulador a corto término incapaz de desviar el balance energético a largo plazo y, por tanto, de inducir diferencias en el peso corporal. Sin embargo, existe cierta controversia sobre esta afirmación ya que las ratas OLETF, que carecen de receptor CCK-A («knockout»), son hiperfágicas y obesas (Moran y Bi, 2006) aunque no lo son los ratones «knockout» (Wynne *et al.*, 2005).

En peces, la inmunoreactividad a péptidos de la familia CCK/gastrina se ha detectado en el sistema gastrointestinal y nervioso de diversas especies y los genes codificando CCK/gastrina se han caracterizado en trucha, carpa roja, pez globo y falso fletán japonés (*Paralichthys olivaceus*), entre otros. La presencia de CCK-8 sulfatada se ha comprobado cromatográficamente y la secuencia del octapéptido de peces difiere en la posición 6. En todos los peces examinados se ha detectado expresión del gen en el intestino y el cerebro (revisado por Volkoff *et al.*, 2005).

Los cuerpos neuronales inmunoreactivos a CCK/gastrina aparecen en el área preóptica, hipotálamo tuberal rostral y caudal y lóbulo inferior hipotalámico (en la población neuronal que bordea el receso lateral) de la carpa roja (Himick *et al.*, 1993; Himick y Peter, 1994; Peyon *et al.*, 1998). A nivel de receptores, los resultados actuales sugieren que, en peces, solo existe un tipo de receptor. Los estudios de unión demuestran la presencia de sitios específicos de ligando en el tracto gastrointestinal y cerebro de diversas especies. Estos sitios de unión están presentes en el área telencefálica ventral, área preóptica, hipotálamo tuberal, lóbulo inferior hipotalámico, tálamo, zona preglomerular, techo óptico, tegmento, lóbulo facial y lóbulo vagal de la carpa roja (Himick *et al.*, 1996). La



presencia de receptores en el lóbulo vagal sugiere un mecanismo similar al descrito anteriormente en mamíferos con una implicación del complejo nervio vago/cerebro posterior en los efectos centrales de la CCK. Diferentes experimentos han demostrado también la implicación del sistema periférico y central de CCK en el control de los procesos digestivos y de la ingesta de los peces. Experimentos realizados en trucha han demostrado que la llegada de alimento al intestino provoca una liberación de CCK al torrente sanguíneo tras 4-6 horas post-ingesta. A su vez, la CCK ralentiza el vaciado gástrico y estimula la contracción de la vesícula biliar y la motilidad intestinal en diversas especies de peces, incluyendo la trucha y el bacalao (Josson *et al.*, 2006). Las inyecciones intracerebroventriculares (icv) o intraperitoneales (ip) producen una disminución severa de la ingesta de alimento en la carpa roja (Himick *et al.*, 1994). En la lubina, la administración oral de dosis crecientes de CCK inhibe la ingesta de alimento de una forma dosis dependiente. Por el contrario, la administración oral de antagonistas no selectivos de los receptores de la CCK, o selectivos del receptor A, produce un aumento de la ingesta en lubina y trucha (Gélineau y Boujard, 2001).

11.4.4.2. Bombesina/GRP

La bombesina es un tetradecapéptido originalmente purificado a partir de extractos de la piel de la rana europea (*Bombina bombina*). El péptido liberador de gastrina (GRP) y la neuromedina B (NMB) son dos péptidos estructuralmente relacionados, aislados en mamíferos y con una elevada presencia en el sistema gastrointestinal y cerebro. Este grupo de péptidos se caracteriza por la presencia de una región C-terminal muy conservada, la cual se considera básica para su actividad biológica. Se han caracterizado varios tipos de receptores en mamíferos incluyendo; un receptor que muestra preferencia por el GRP (GRP-R o BB2), un receptor con preferencia por la NMB (NMB-R o BB1) y un subtipo 3 o receptor de bombesina (BRS-R o BB3, Ohki-Hamazaki *et al.*, 2005). Similar a la CCK, la bombesina inhibe la motilidad gastrointestinal y el vaciado gástrico en diferentes especies de mamíferos y las inyecciones, tanto centrales (hipotálamo y/o cerebro posterior) como periféricas, producen una potente reducción de la ingesta, sugiriendo su participación como factor de saciedad (Yamada *et al.*, 2002).



En peces, los péptidos BBS/GRP se han detectado en las células endocrinas del tracto gastrointestinal, el sistema cardiovascular y el cerebro de la carpa roja (Holmgren, 1995; Volkoff *et al.*, 2000). Dentro del cerebro podemos encontrar cuerpos neuronales inmunoreactivos en el área preóptica, hipotálamo tuberal y techo óptico (Himick y Peter 1995). Sitios de unión para péptidos BBS/GRP se han detectado en lugares similares a aquellos de la CCK, incluyendo el telencéfalo ventral, área preóptica, hipotálamo tuberal, lóbulo inferior hipotalámico, tálamo, complejo preglomerular, techo óptico, válvula cerebelar y cuerpo mamilar. A diferencia de la CCK no se detectaron sitios de unión en el lóbulo facial y vagal del cerebro posterior (Himick *et al.*, 1995). De forma similar a su función en mamíferos, estos péptidos se han implicado en la regulación de la motilidad gastrointestinal y actividad visceral de varias especies de peces, así como en el control de la ingesta (Jensen, 2001). La inyección intraperitoneal o intracerebroventricular produce una disminución del nivel de ingesta en la carpa roja y un retraso en el inicio de la misma en la carpa común, resultando finalmente en una reducción de la cantidad ingerida durante el tiempo experimental (Himick y Peter, 1994). Las inyecciones de BBS también producen una reducción de la expresión de somatostatina 14 en la región anterior del cerebro y un aumento concomitante de los niveles plasmáticos de hormona de crecimiento en la carpa roja. Estos resultados sugieren que la liberación postprandial de BBS podría ser parte del mecanismo que provoca un aumento post-ingesta de la hormona de crecimiento (Canosa y Peter, 2004).

11.4.4.3. Grelina

La grelina es un péptido de 28 aminoácidos, en la mayoría de los mamíferos, sintetizado principalmente en el estómago. Los 10 primeros aminoácidos de las grelinas de mamíferos son idénticos (GSSFLS-PEHQ). Tras el procesado del precursor, el péptido sufre modificaciones acilo siendo la n-octanoil ($O = CO[CH_2]_6-CH_3$) del tercer aminoácido la más habitual. Este grupo acilo es esencial para la mayoría de sus funciones biológicas. En mamíferos se produce principalmente en la glándula oxíntica del estómago y su secreción es afectada por la ingesta. Las funciones se median a través de un receptor acoplado a



la proteína G denominado receptor de segretagogos de la hormona de crecimiento (GHSR). Este nombre le viene dado en función de su caracterización inicial como estimulante de la secreción de hormona de crecimiento. En mamíferos, el receptor de grelina está ampliamente distribuido a través del sistema nervioso central, con una importante presencia en las áreas implicadas en el control de la ingesta, incluyendo el núcleo arqueado. De hecho, la administración central incrementa la ingesta en ratas y los niveles plasmáticos descienden tras llegada de alimento al tracto gastrointestinal, sugiriendo su participación en la iniciación de la ingesta. La administración crónica, central o periférica, provoca aumentos de peso (revisado por van der Lely, 2004).

La grelina también se ha caracterizado en diversas especies de peces incluyendo carpa roja, la anguila japonesa y la tilapia. El receptor se ha caracterizado en el espárido *Acanthopagrus schlegeli* y el pez globo *Sphaeroides nephelus* y muestra altos niveles de expresión en el cerebro y la hipófisis. Por el contrario, la grelina se produce abundantemente en el estómago/intestino de todos los peces estudiados y a niveles muy moderados en el cerebro (Unniappan y Peter, 2005). Experimentos de PCR en la carpa roja indican que la grelina se expresa en el telencéfalo e hipotálamo (Unniappan *et al.*, 2002). Como en mamíferos, la grelina estimula la secreción de hormona de crecimiento *in vivo* e *in vitro* en la carpa roja (Unniappan *et al.*, 2002; Canosa *et al.*, 2005), e *in vitro* en tilapia y anguila (Riley *et al.*, 2005). La presencia de receptores GHSR en la pituitaria de los espáridos junto con los resultados *in vitro* sugiere que la grelina puede actuar directamente sobre las células somatotropas.

En relación con la ingesta de los peces, los experimentos desarrollados en la carpa roja han demostrado que la inyección intracerebroventricular e intraperitoneal de grelina humana estimula la ingesta, como lo hacen los péptidos de la especie (Unniappan *et al.*, 2002; 2004). La administración prolongada produce un incremento de acúmulo de grasa corporal en tilapia (Riley *et al.*, 2005). El ayuno produce un aumento de los niveles de expresión en el hipotálamo y el intestino (la carpa roja carece de un estómago anatómicamente diferenciado) pero la ingesta provoca un descenso postprandial de la expresión en ambas localizaciones (Unniappan *et al.*, 2002; 2004). Esto se traduce



en elevaciones de los niveles plasmáticos tras 3 y 5 días de ayuno con un retorno a los niveles control tras 7 días (Unniappan *et al.*, 2004). Los datos expuestos revelan a la grelina como un importante segretagogo de hormona de crecimiento así como un regulador de la ingesta probablemente a corto termino.

11.4.4.4. GLP-1/Glucagón

El péptido relacionado con el glucagón (GLP-1) pertenece a los péptidos similares al glucagón que incluyen el GLP-2 y la oxintomodulina. Todos ellos se producen como consecuencia del procesado del precursor del glucagón (pro-glucagón) en el intestino y cerebro. Las acciones del GLP-1 se median a través de un receptor acoplado a proteína G específico (GLP-1R). Ambos glucagón y GLP-1 reducen la cantidad de ingesta cuando se administran exógenamente a ratas y humanos. Aunque los ratones con carencia del receptor de GLP-1 no presenta alteraciones del patrón de ingesta (revisado por Estall y Drucker, 2006).

La administración periférica de GLP-1 en peces produce una leve reducción de los niveles de ingesta en el pez gato, sin embargo, es un potente inhibidor cuando se administra intracerebroventricularmente. La inyección central de dosis altas produce reducciones en la ingesta perceptibles tras 20 horas. Ambos resultados sugieren una acción eminentemente central del péptido. El tratamiento, además, conlleva una rápida evacuación del tracto gastrointestinal que contrasta con la acción caracterizada en mamíferos donde se produce un retraso en el tránsito gastrointestinal. Sin embargo, la administración de anticuerpos contra el GLP de salmón no inmunoneutraliza los efectos del GLP-1 endógenos. De forma similar, la administración de extendina, un supuesto antagonista del GLP-1R, tampoco reduce los efectos del GLP-1 exógeno. La fuerte inhibición y la elevada tasa de evacuación sugieren que la administración del péptido puede ser patológica o emular estados patológicos en el animal (Silverstein *et al.*, 2001). En mamíferos, se ha sugerido que la liberación de GLP-1 puede ser un mecanismo protector para que el animal no continúe comiendo un alimento contaminado o en mal estado y existe la posibilidad que inhibiciones más moderadas puedan ser interpretadas como señales de saciedad (Silverstein *et al.*, 2001; Nelson y Sheridan, 2006).



11.4.5. Sistema periférico y regulación a largo plazo

Como se ha expuesto anteriormente, los sistemas centrales son regulados a largo término para corregir las desviaciones diarias de la ingesta y en relación con el nivel energético del organismo. Esta regulación a largo término es mediada por factores humorales que cumplen las anteriores características pero que además son capaces de codificar el nivel energético del organismo. En mamíferos, estas señales representan generalmente el nivel de adiposidad del organismo que parece ser uno de los puntos de referencia para la interpolación del nivel energético de un organismo. En peces todavía no se conoce de forma sólida la referencia energética que utilizan para conocer su nivel energético y como se codifica esta. Diversos experimentos han demostrado que existe una relación inversa entre adiposidad e ingesta y, por tanto, altos niveles de tejido adiposo se traducen en reducciones del nivel de ingesta.

11.4.5.1. Leptina

La leptina es una hormona peptídica de la familia de las citoquinas cuyo descubrimiento supuso un fuerte espaldarazo a la teoría lipostática de la regulación del balance energético. Su caracterización se realizó gracias a una clonación de posición utilizando la cepa de ratones *ob/ob*. Gracias a los experimentos se descubrió que dicho ratones, los cuales desarrollan obesidad mórbida, tenían una mutación en un gen que se expresaba principalmente en el tejido adiposo y que codificaba una proteína de secreción. Por el contrario, los ratones de la cepa *db/db*, que también desarrollan obesidad mórbida, presentaban una mutación en el receptor de esta hormona. Tras su caracterización inicial, impulsada por las posibilidades farmacéuticas del péptido, se desarrollaron miles de estudios sobre las acciones de esta proteína. Diversos trabajos han corroborado su importancia en el control de la adiposidad en mamíferos a través de la modulación de las vías neuronales centrales para el control del balance energético (revisado por Friedman y Halaas, 1998). La leptina se sintetiza en el tejido adiposo y se libera de forma proporcional al torrente sanguíneo. Por tanto, los niveles plasmáticos son un fiel reflejo del nivel de adiposidad cor-



poral. El ayuno induce un descenso en sus niveles plasmáticos y su administración, periférica y central, produce reducciones en el nivel de ingesta y peso corporal. Incluso los tratamientos exógenos son capaces de reducir la ingesta compensatoria inducida por el ayuno. La leptina también tiene profundos efectos sobre el gasto energético, la regulación del desarrollo gonadal, adrenal, tiroideo y respuesta inmune, por lo que en realidad se la puede considerar como una hormona capaz de integrar respuestas corporales en base a modificaciones del balance de energía.

La leptina es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica mediante un sistema de transporte saturable y, así, alcanzar los receptores centrales. Estos receptores están ampliamente distribuidos por el cerebro y presentes en el hipotálamo, concretamente en el núcleo arqueado, hipotálamo lateral (LH), hipotálamo dorsomedial (DMH), ventromedial (VMH) y paraventricular (PVN). Los experimentos de colocalización han demostrado que las células NPY/AGRP y las células POMC/CART del arqueado expresan receptor de leptina y son, por tanto, mediadores de los efectos anorexigénicos de esta. Así, la leptina inhibe la actividad de las neuronas orexigénicas (NPY/AGRP) disminuyendo la expresión de NPY y AGRP, mientras estimula la actividad de las neuronas CART/POMC aumentando la expresión de estos péptidos. La acción de la leptina es atenuada por los antagonistas del MC4R, sugiriendo que la vía de las melanocortinas es una de las más importantes para la promoción de los efectos de la leptina (revisado por Kalra *et al.*, 1999; Wynne *et al.*, 2005; Morton *et al.*, 2006).

La existencia de leptina en peces ha sido un tema muy controvertido debido a la falta de conservación de esta proteína. La leptina pertenece a la familia de las citoquinas, las cuales muestran una de las tasas mas bajas de conservación en su secuencia. En realidad estos péptidos tienden a conservar su patrón estructural, lo que permite una mayor diversidad en su secuencia (Huising *et al.*, 2006). En un artículo muy reciente se ha publicado una secuencia cuyos autores definen como leptina del pez globo (*Takifugu rubripes*). Como era de esperar la homología de esta secuencia con las de mamíferos o aves es muy baja, sin embargo, hay 2 hechos que sugieren su calificación como leptina de peces: (1) La estructura molecular inferida a partir de la secuencia es similar al



plegamiento de la proteína en mamíferos y (2) el gen presenta una localización cromosómica homóloga a la disposición del gen de la leptina en el genoma de mamíferos. El gen se expresa mayoritariamente en el hígado de pez globo y mediante experimentos de hibridación *in situ* se ha demostrado que la expresión es mayoritaria en los adipositos repletos de gotas de grasa. Hay que tener en cuenta que este pez no parece tener tejido graso aparente y es, el hígado el que realiza las principales funciones de acumulación de grasas. En el mismo artículo, los autores también publican secuencias potenciales para salmón, medaka (*Oryzias latipes*) y otro pez globo (*Tetraodon nigroviridis*, Kurokawa *et al.*, 2005). Mas recientemente, se han publicado dos secuencias relacionadas a la leptina de mamíferos en carpa (Huisin *et al.*, 2006). La identidad con las secuencias de mamíferos es mínima (< 25 %), como lo es con las propias secuencias de peces <30 %. La mayor identidad la mantiene con el pez cebra (62 %), una especie altamente relacionada. Sin embargo, el análisis estructural indica que puede adoptar una estructura terciaria similar a las leptinas de mamíferos. En la carpa, la leptina se expresa fundamentalmente en el hígado, con niveles más discretos en el riñón y el timo pero residuales en la grasa visceral. El ayuno a corto o largo plazo, y la posterior realimentación, no afectan a su expresión. Sin embargo, la expresión hepática aumenta severamente pocas horas (4-7h) tras la alimentación. Esas proteínas pueden ser, por tanto, estructuralmente homologadas a las leptinas de mamíferos pero no desde el punto de vista funcional, ya que no parecen participar en la regulación del peso a largo plazo.

La controversia surge cuando se atiende a las evidencias fisiológicas que apoyan la existencia de leptina en peces. Los estudios inmunológicos con anticuerpos contra la leptina de mamíferos reconocen moléculas similares a la leptina en adipocitos cultivados *in vitro* de carpa y en las células endocrinas de las glándulas oxínticas del estómago de la trucha (Vegusdal *et al.*, 2003). Estudios realizados en el pez branquia-zul (*Lepomis cyanellus*) han demostrado que la inmunoreactividad a la leptina disminuye significativamente en animales ayunados y niveles plasmáticos elevados se asocian con periodos de ingesta reducida en salmónidos (Johnson *et al.*, 2000; Nagasaka *et al.*, 2006). Por el contrario, no se encontraron diferencias en los niveles de leptina en dora-



das (*Sparus aurata*) alimentadas con diferentes dietas que varían en su cantidad y calidad lipídica (Ganga *et al.*, 2005).

El efecto de la administración puntual intraperitoneal en la carpa roja parece inequívoco ya que, en dos laboratorios diferentes, se ha obtenido una disminución de la ingesta (Volkoff *et al.*, 2003; de Pedro *et al.*, 2006). El tratamiento crónico provoca, además, un descenso del peso corporal, tasa de crecimiento y eficiencia de conversión alimenticia (de Pedro *et al.*, 2006). Por el contrario, el efecto de la administración intracerebroventricular es controvertido ya que dependiendo del laboratorio se han demostrado efectos inhibitorios o inocuos de la leptina cerebral sobre el nivel de ingesta (Volkoff *et al.*, 2003; de Pedro *et al.*, 2006). La administración de leptina no produjo efectos sobre la ingesta ni el peso corporal del pez gato (Silverstein y Plisetskaya, 2000), salmón (Baker *et al.*, 2000) y pez branquiazul (Londrville y Duvall, 2002). Diversos experimentos muestran que la leptina heteróloga puede regular los circuitos que controlan la ingesta, así de ha demostrado que las inyecciones de leptina intracerebroventriculares producen una estimulación de la expresión del CART y la cantidad de NPY en el hipotálamo de la carpa roja (Volkoff y Peter, 2001; Volkoff *et al.*, 2003).

11.4.5.2. Insulina

La insulina fue inicialmente caracterizada como uno de los factores humorales de regulación a largo termino y hasta el descubrimiento de la leptina la hormona que cargo con la defensa de la teoría lipoestática. Esta hormona cumple, en mamíferos, todos los requisitos previos que debe presentar un factor humoral: (1) cambios en la adiposidad o en las tasas de ingesta producen alteraciones acordes en el nivel plasmático, (2) puede atravesar la barrera hematoencefálica mediante un sistema de transporte saturable, (3) el cerebro presenta receptores específicos que se distribuyen por las principales áreas que controlan la ingesta y (4) cuando se administra tanto de forma periférica (sin inducir hipoglucemia) como centralmente se producen reducciones en el nivel de ingesta y peso corporal. De hecho, este último efecto central, en realidad catabólico, contrasta de manera fuerte con el bien conocido efecto anabólico de la insulina en los tejidos periféricos. Los efectos fisiológicos de la insulina sobre la homeostasis del peso corporal quedan demostrados en virtud del feno-



tipo obeso de los ratones con una disrupción neuronal específica del gen del receptor de insulina o reducción del nivel de receptor hipotalámico por suministro de RNA antisentido. Muchos estudios han apuntado al NPY como un mediador de los efectos centrales de la insulina, ya que la administración central de insulina reduce drásticamente los niveles de expresión de este gen en el núcleo arqueado de la rata. Recientemente el sistema de melanocortinas ha sido identificado como otro posible mediador de los efectos de la insulina ya que se han detectado receptores de la proteína en las neuronas POMC del núcleo arqueado. La administración de insulina en el ventrículo de ratas ayunadas aumenta el nivel de expresión del POMC y los antagonistas de las melanocortinas bloquean los efectos anoréxicos de la insulina (revisado por Schwartz *et al.*, 1992; Kaiyala *et al.*, 1995, Morgan *et al.*, 2005).

En peces, la insulina participa del metabolismo glucídico, proteico y lipídico. Como en mamíferos, se sabe que el cerebro presenta lugares de unión para la insulina aunque la distribución precisa no se conoce. La producción de insulina en el cerebro de los vertebrados es controvertida. En peces y concretamente en salmón, no parece existir síntesis de insulina central aunque si de moléculas relacionadas y se ha sugerido, en diferentes ocasiones, que tanto la insulina como moléculas afines (IGFs) podrían participar en la regulación de la ingesta (Plisetskaya *et al.*, 1993). Por el contrario, una reciente publicación ha comunicado la expresión de gen de la insulina en el cerebro y la pituitaria de la tilapia (Hrytsenko *et al.*, 2007). La síntesis cerebral tiene importantes consecuencias desde el punto de vista de la regulación energética ya que si no se puede asegurar que la insulina central tenga origen periférico no se puede contemplar la transducción de información energética periférica.

En la lubina como en otras especies de teleósteos, el ayuno a largo término provoca una disminución de los niveles de insulina plasmática asociados a reducciones en el peso corporal, concretamente a reducciones en la grasa mesentérica (Gutiérrez *et al.*, 1991). Por el contrario, la ingesta provoca un aumento de los niveles plasmáticos (Zanuy *et al.*, 1993). El efecto de las inyecciones intracerebroventriculares es controvertido ya que en el pez gato (Silverstein *et al.*, 2000) se ha demostrado que no tienen efecto sobre la ingesta, pero por el contrario, tienen un marcado efecto inhibitorio en la trucha (Soengas y Aldegunde, 2004).



11.5. CONCLUSIONES

Como se ha expuesto anteriormente, la investigación y el conocimiento sobre los mecanismos que regulan la ingesta de los peces son de especial importancia en la acuicultura. La ingesta supone la culminación de un comportamiento alimenticio y como todos los comportamientos se regula a nivel del sistema nervioso central. El cerebro, de alguna forma, tiene que ser informado de la condición energética periférica (corporal) para corregir las desviaciones de un patrón de crecimiento/peso genéticamente establecido. Los mamíferos utilizan como referencia corporal el nivel de grasa, que se codifica gracias a la secreción de hormonas metabólicas, como la insulina y leptina, para establecer una regulación a largo termino. Sabemos que dicha regulación de la talla/peso existe en peces pero desconocemos exactamente cuales son las referencias energéticas corporales que se utilizan y, menos, su forma de codificación.

Toda la información tanto metabólica, a corto y largo plazo, como ambiental se integra a nivel central, posiblemente hipotalámico, mediante la activación/inhibición de vías neuronales de carácter catabólico y anabólico. La activación de vías catabólicas provoca una desmotivación hacia la alimentación que se traduce en disminución de la ingesta y promueve un ambiente hormonal que favorece la movilización de energía. Por el contrario, la activación de vías anabólicas estimula la ingesta y promueve la secreción de hormonas anabólicas que favorecen la deposición energética. Finalmente, se organiza una respuesta final orquestada que se traduce en «comer o no comer». La regulación de este sistema multifactorial debe ser precisa y altamente redundante en pro de la supervivencia del organismo.

11.6. AGRADECIMIENTOS

Ministerio de Educación y Ciencia (MEC) y Generalitat Valenciana por la concesión de los proyecto AGL 2004-08137-C04-04, AGL2007-65744-C03-02, CSD2007-00002 y GV05-045, respectivamente para la realización de estudios sobre el control de la ingesta en peces teleósteos.



BIBLIOGRAFÍA

- ALÍ M., NICIEZA A. y R.J. WOOTTON 2003 Compensatory growth in fish: a response to growth depression. *Fish and Fisheries* 4: 147-190.
- ALVAREZ C. E. y J.G. SUTCLIFFE 2002 Hypocretin is an early member of the incretin gene family. *Neurosci. Lett.* 324: 169-172.
- ASAKAWA A., INUI A., YUZURIHA H., NAGATA T., KAGA T., UENO N., FUJINO M.A. y M. KASUGA. 2001 Cocaine-amphetamine-regulated transcript influences energy metabolism, anxiety and gastric emptying in mice. *Horm. Metab. Res.* 33:554-558.
- AZZAYDI M. , MADRID J.A., ZAMORA S., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ F.J. y F.J. MARTÍNEZ 1998 Effect of three demand strategies (automatic, ad libitum demand-feeding and time-restricted demand-feeding) on feeding rhythms and growth in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture* 163: 285-296.
- BAKER B.I. 1994 Melanin-concentrating hormone updated. Functional considerations. *TEM* 5: 120-126.
- BAKER B.I. y D.J. BIRD 2002 Neuronal organization of melanin concentrating hormone system in primitive actinopterygians: Evolutionary changes leading to teleost. *J Comp Neurol* 442: 99-114.
- BAKER D.M., LARSEN D.A., P. SWANSON y W.W. DICKOFF 2000 Long-term peripheral treatment of immature coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) with human leptin has no clear physiologic effect. *Gen Comp. Endocrinol.* 118: 134-138.
- BALE, T.L. y W.W. VALE 2004 CRF and CRF receptors: role in stress responsivity and other behaviors. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 44, 525-557.
- BERNIER N.J. 2006 The corticotropin-releasing factor system as a mediator of the appetite-suppressing effects of stress in fish. *Gen. Comp. Endocrinol.* 146:45-55.
- BERNIER N.J. y P.M. CRAIG 2005 CRF-related peptides contribute to stress response and regulation of appetite in hypoxic rainbow trout. *Am. J. Physiol.* 289:R982-990.
- BERNIER N.J. y R.E. PETER 2001b Appetite-suppressing effects of urotensin I and corticotropin-releasing hormone in goldfish (*Carassius auratus*). *Neuroendocrinology* 73:248-60.
- BERNIER, N. J. y R.E. PETER 2001a The hypothalamic-pituitary-interrenal axis and the control of food intake in teleost fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 129B: 639-644.
- BERTHOUD H.R. 2002 Multiple neural systems controlling food intake and body weight. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 26:393-428.
- BERTHOUD H.R. 2004 Neural control of appetite: cross-talk between homeostatic and non-homeostatic systems. *Appetite* 43:315-7.



- BINGHAM M.J., CAI J. y M.R. DEEHAN 200 Eating, sleeping and rewarding: orexin receptors and their antagonists. *Curr Opin Drug Discov Devel.* 6:551-559.
- BOUJARD T. y J.F. LEATHERLAND 1992 Circadian-rhythms and feeding time in fishes. *Environmental Biology of Fishes* 35: 109-131.
- BREWER A., ECHEVARRIA D.J., LANGE U. y J.K. ROBINSON 2005 Assessment of new functional roles for galanin in the CNS. *Neuropeptides* 39: 323-326
- CANOSA L.F. y R.E. PETER 2004 Effects of cholecystokinin and bombesin on the expression of preprosomatostatin-encoding genes in goldfish forebrain. *Regul Pept.* 121:99-105.
- CANOSA L.F., UNNIAPPAN S. y R.E. PETER. Periprandial changes in growth hormone release in goldfish: role of somatostatin, ghrelin, and gastrin-releasing peptide. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2005 289:R125-33.
- CASTRO M.G. y E. MORRISON 1997 Post-translational processing of proopiomelanocortin in the pituitary and the brain. *Crit. Rev. Neurobiol* 1997; 11:35-57.
- CERDÁ-REVERTER J.M. y D. LARHAMMAR 2000 Neuropeptide Y Family of Peptides: Structure, Anatomical Expression, Function and Molecular Evolution. *Biochemistry and Cell Biology* 78: 371-392.
- CERDÁ-REVERTER J.M. y R.E. PETER 2003 Endogenous melanocortin antagonist in fish. Structure, brain mapping and regulation by fasting of the goldfish agouti-related protein gene. *Endocrinology* 144: 4552-4561.
- CERDÁ-REVERTER J.M., ANGLADE I., MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ G., MAZURAS D., MUÑOZ-CUETO J.A., CARRILLO M., KAH O. y S. ZANUY 2000c Characterization of Neuropeptide Y Expression in the Brain of a Perciform Fish, the Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*). *Journal of Chemical Neuroanatomy* 19:197-210
- CERDÁ-REVERTER J.M., CANOSA L.F. y R.E. PETER 2007 Regulation of the Hypothalamic Melanin-Concentrating Hormone Neurons by Sex Steroids in the Goldfish: Possible Role in the Modulation of Luteinizing Hormone Secretion. *Neuroendocrinology* en prensa
- CERDÁ-REVERTER J.M., MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ G., ANGLADE I., KAH O. y S. ZANUY 2000a peptide YY (PYY) and fish pancreatic peptide Y (PY) expression in the brain of the sea bass (*Dicentrarchus labrax*) as revealed by in situ hybridization. *J. Comp. Neurol.* 426:197-208.
- CERDÁ-REVERTER J.M., MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ G., ZANUY S., CARRILLO M. y D. LARHAMMAR 2000b Molecular evolution of the neuropeptide Y family of peptides: cloning of NPY related peptides from the sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Regulatory Peptides* 95: 25-34.
- CERDÁ-REVERTER J.M., SCHIÖTH H.B. y R.E. PETER 2003a The central melanocortin system regulates food intake in goldfish. *Regulatory Peptides* 115:101-113.



- CERDA-REVERTER J.M., SORBERA L., CARRILLO M. S. ZANUY 1999 Energetic Dependence of NPY-Induced LH Secretion in a Teleost Fish (*Dicentrarchus labrax*). American Journal of Physiology 277: R1627 -R1634.
- CERDA-REVERTER J.M., ZANUY S. y J.A. MUÑOZ-CUETO 2001 A cytoarchitectonic study of the brain of perciform fish, the sea bass (*Dicentrarchus labrax*): II. The diencephalon. J. Morphol. 247: 229-251.
- CERDA-REVERTER J.M., RINGHOLM A., SCHIÖTH H.B. y R.E. PETER 2003b Molecular cloning, pharmacological characterization and brain mapping of the melanocortin 4 receptor in the goldfish: Involvement in the control of food intake. Endocrinology 144: 2336-2349.
- CHIN A., GUO F.C., BERNIER N.J. y P.T. WOO 2004 Effect of Cryptobia salmositica-induced anorexia on feeding behavior and immune response in juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Dis Aquat Organ. 58:17-26.
- CONE R.D. 1999 The central melanocortin system and energy homeostasis. TEM 10:211-216.
- CONTARINO A. and L.H. GOLD .2002 Targeted mutations of the corticotropin-releasing factor system: effects on physiology and behavior. Neuropeptides. 36:103-116.
- COTA D., TSCHOP M.H., HORVATH T.L. y L.S. LEVINE 2006 Cannabinoids, opioids and eating behavior: the molecular face of hedonism? Brain Res. Rev. 51:85-107.
- DANIELSON P.B. y R.M. DORES RM 1999 Molecular evolution of the opioid/orphanin gene family. Gen Comp Endocrinol. 113:169-86.
- DAVIS L. y J.L. MARKS. 1994. Role of hypothalamic neuropeptide Y gene expression in body weight regulation. Am. J. Physiol. 266: R1687-R1691.
- DE LA HIGUERA M. 2001 Effects of nutritional factors and feed characteristics on feed intake, pp 250-268 in Food Intake in Fish edited by HOULIHAM D. BOUIJARD T y M JOBLING. Blackwell Science, Oxford, UK.
- DE PEDRO N., ALONSO-GOMEZ A.L., GANCEDO B., DELGADO M.J. y M. ALONSO-BEDATE 1993 Role of corticotropin-releasing factor (CRF) as a food intake regulator in goldfish. Physiol. Behav. 53:517-20.
- DE PEDRO N., ALONSO-GOMEZ A.L., GANCEDO B., VALENCIANO A.I., DELGADO M.J. y M. ALONSO-BEDATE 1997 Effect of alpha-helical-CRF[9-41] on feeding in goldfish: involvement of cortisol and catecholamines. Behav. Neurosci. 111:398-403.
- DE PEDRO N., CÉSPEDES M.V., DELGADO M.J. y ALONSO-BEDATE M 1995a The galanin-induced feeding stimulation is mediated via alpha 2-adrenergic receptors in goldfish. Regul Pept 57:77-84.
- DE PEDRO N., CÉSPEDES M.V., DELGADO M.J. y M. ALONSO-BEDATE 1996 Mu-opioid receptor is involved in beta-endorphin-induced feeding in goldfish. Peptides 17:421-424.



- DE PEDRO N., DELGADO M.J. y M. ALONSO-BEDATE 1995b Central administration of beta-endorphin increases food intake in goldfish: pretreatment with the opioid antagonist naloxone. *Regul Pept.* 55:189-195.
- DE PEDRO N., LOPEZ-PATINO M. A., GUJARRO A. I., PINILLOS M. L., DELGADO M. J. y M. ALONSO-BEDATE 2000 NPY receptors and opiodergic system are involved in NPY-induced feeding in goldfish. *Peptides* 21, 1495-1502.
- DE PEDRO N., MARTINEZ-ÁLVAREZ R. y M.J. DELGADO 2006 Acute and chronic leptin reduces food intake and body weight in goldfish (*Carassius auratus*). *J Endocrinol.* 188: 513-520.
- DOMINGUEZ G. 2006 The CART gene: structure and regulation. *Peptides* 27:1913-1918.
- DUFRESNE M., SEVA C. y D. FOURMY 2006 Cholecystokinin and gastrin receptors. *Physiol. Rev.* 86:805-847.
- DUMONT Y., MARTEL J.C., FOURNIER A., ST-PIERRE S. and R. QUIRION 1992 Neuropeptide Y and neuropeptide Y receptor subtypes in the brain and peripheral tissues. *Prog. Neurobiol.* 38: 125-167.
- ESTALL J.L. y D.J. DRUCKER 2006 Glucagon and glucagon-like peptide receptors as drug targets. *Curr. Pharm. Des.* 12:1731-1750.
- FAN W., BOSTON B.A., KESTERSON R.A., HRUBY V.J. and R.D. CONE 1997 Role of melanocortinergic neurons in feeding and the agouti obesity syndrome. *Nature* 385:165-168.
- FLIK G., KLAREN P.H., VAN DEN BURG E.H., METZ J.R. y M.O. HUISING 2006 CRF and stress in fish. *Gen Comp Endocrinol.* 146:36-44.
- FRANCIS G., MAKKAR H.P.S. and K. BECKER 2001 Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* 199: 197-227.
- FRIEDMAN J.M. y HALAAS J.L. 1998 Leptin and the regulation of body weight in mammals *Nature* 395: 763-770.
- GANGA R, BELL JG, MONTERO D ROBAINA L, CABALLERO MJ y M.S. IZQUIERDO 2005 Effect of dietary lipids on plasma fatty acid profiles and prostaglandin and leptin production in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Com. Biochem. Physiol.* 142: 410-418.
- GÉLINEAU A and T. BOUJARD 2001 Oral administration of cholecystokinin receptor antagonists increase feed intake in rainbow trout. *J. Fish Biol.* 58: 716-724.
- GLENCROSS B.D., BOOTH M. and G.L. ALLAN 2007 A feed is only as good as its ingredients- a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture. *Aquaculture Nutrition* 13: 17-34.



- GÓMEZ-REQUENI P. 2005 Fuentes alternativas de proteínas en acuicultura. Disfunciones endocrinas, metabólicas e inmunohistopatológicas. Tesis Doctoral Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Valencia, España.
- GUNDLACH A. L. 2002. Galanin/GALP and galanin receptors: role in central control of feeding, body weight/obesity and reproduction? *Eur. J. Pharmacol.* 440: 255-268.
- GUTIÉRREZ J., PÉREZ J., NAVARRO I, ZANUY S. y M. CARRILLO 1991 Changes in plasma glicagon and insulina associated with fasting in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Fish Physiol. Biochem.* 9:107-112.
- HEINRICHS S.C., y D. RICHARD 1999 The role of corticotropin-releasing factor and urocortin in the modulation of ingestive behavior. *Neuropeptides*;33:350-359.
- HIMICK B.A. y R.E. PETER 1994 Bombesin acts to suppress feeding behavior and alter serum growth hormone in goldfish. *Physiol. Behav.* 55:65-72.
- HIMICK B.A. y R.E. PETER 1994 CCK/gastrin-like immunoreactivity in brain and gut, and CCK suppression of feeding in goldfish. *Am. J. Physiol.* 267:R841-51.
- HIMICK B.A. y R.E. PETER 1995 Bombesin-like immunoreactivity in the forebrain and pituitary and regulation of anterior pituitary hormone release by bombesin in goldfish. *Neuroendocrinology* 61:365-76.
- HIMICK B.A., GOLOSINSKI A.A., JONSSON A.C. y R.E. PETER 1993 CCK/gastrin-like immunoreactivity in the goldfish pituitary: regulation of pituitary hormone secretion by CCK-like peptides in vitro. *Gen. Comp. Endocrinol.* 92:88-103.
- HIMICK B.A., VIGNA S.R. y R.E. PETER 1995 Characterization and distribution of bombesin binding sites in the goldfish hypothalamic feeding center and pituitary. *Regul Pept.* 60:167-76.
- HIMICK B.A., VIGNA S.R. y R.E. PETER 1996 Characterization of cholecystokinin binding sites in goldfish brain and pituitary. *Am. J. Physiol.* 271:R137-43.
- HOLMGREN S. 1995 Neuropeptide control of the cardiovascular system in fish and reptiles. *Braz J Med Biol Res.* 28:1207-1216.
- HOLMQVIST BI y CARLBERG M 1992. Galanin receptors in the brain of a teleost: autoradiographic distribution of binding sites in the Atlantic salmon. *J Comp Neurol.* 326:44-60.
- HUESA G., VAN DEN POL A.N. y T.E. FINGER 2005 Differential distribution of hypocretin (orexin) and melanin-concentrating hormone in the goldfish brain. *J Comp Neurol.* 488:476-491.
- HUISING M.O., KRUISWIJK C.P. y G. FLIK 2006 Phylogeny and evolution of class-I helical cytokines. *J. Endocrinol.* 189:1-25.



- HUNTER RG, PHILPOT K, VICENTIC A, DOMINGUEZ G, HUBERT GW y M.J. KUHA 2004 CART in feeding and obesity. *Trends Endocrinol. Metab.* 15:454-459.
- HUSZAR D., LYNCH C.A., FAIRCHILD-HUNTRESS V., DUNMORE J.H., FANG Q., BERKEMEIER L.R., GU W., KESTERSON R.A., BOSTON B.A., CONE R.D., SMITH F.J., CAMPFIELD L.A., BURN P. y F. LEE 1997 Targeted disruption of melanocortin-4 receptor results in obesity in mice. *Cell* 88:131-141.
- HRYTSENKO O., WRIGHT J.R., MORRISON C.M. y B. POHAJDAK 2007 Insulin expression in the brain and pituitary cells of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Brain Res.* 1135: 31-40.
- JENSEN J. 2001 Regulatory peptides and control of food intake in non-mammalian vertebrates. *Comp Biochem Physiol* 128:471-479.
- JOHNSON R.M., JOHNSON T.M. y R.L. LONDRVILLE 2000 Evidence for leptin expression in fishes. *J. Exp. Zool.* 286: 718-724.
- JONSSON E., FORSMAN A., EINARSDOTTIR I.E., EGNER B., RUOHONEN K., THRANDUR y B. BJORNSSON 2006 Circulating levels of cholecystokinin and gastrin-releasing peptide in rainbow trout fed different diets. *Gen Comp Endocrinol.* 148:187-194.
- KAIYALA K.J., WOODS S.C., y M.W. SCHWARTZ 1995 New model for the regulation of energy balance and adiposity by the central nervous system. *Am. J. Clin. Nutr.* 62: 1123S-1134S.
- KALRA S.P., DUBE M.G., PU S., XU B., HORBARTH T.L. y P.S. KALRA 1999. Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endocrine Rev.* 20: 68-100.
- KALRA S.P., DUBE M.G., SAHU A., PHELPS C.P. y P.S. KALRA 1991 Neuropeptide Y secretion increases in the paraventricular nucleus in association with increased appetite for food. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 88: 10931-10935.
- KASK A., MUTULIS R., MUCENIECE R., PAHKLA R., MUTULE I., WIKBERG J.E., RAGO L., y H.B. SCHIOTH 1998 Discovery of a novel superpotent and selective melanocortin-4 receptor antagonist (HS024): evaluation in vitro and in vivo. *Endocrinology* 139:5006-5014.
- KASLIN J., NYSTEDT J. M., OSTERGARD M., PEITSARO N. y P. PANULA 2004. The orexin/hypocretin system in zebrafish is connected to the aminergic and cholinergic systems. *J. Neurosci.* 24: 2678-2689.
- KASUMYAN A.O. y K.B. DOVING 2003 Taste preferences in fish. *Fish and Fisheries* 4: 289-347.
- KAWAUCHI H. y B.I. BAKER 2004 Melanin-concentrating hormone signaling systems in fish. *Peptides.* 25:1577-84
- KAWAUCHI H., KAWAZOE I., TSUBOKAWA M., KISHIDA M. y BAKER B.I. 1983 Characterization of melanin-concentrating hormone in chum salmon pituitaries. *Nature* 305: 321-323.



- KEHOE AS y H. VOLKOFF 2007 Cloning and characterization of neuropeptide Y (NPY) and cocaine and amphetamine regulated transcript (CART) in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 146:451-461.
- KINOSHITA M., MORITA T., TOYOHARA H., HIRATA T., SAKAGUCHI M., ONO M., WAKAMATSU Y. y K. OZATO 2001 Transgenic medaka overexpressing a melanin-concentrating hormone exhibit lightened body color but not remarkably abnormality. *Marine Biotech*. 3: 536-543.
- KIRCHGESSNER A. L. 2002 Orexins in the brain-gut axis. *Endocr. Rev*. 23: 1-15.
- KONG W.M., STANLEY S., GARDINER J., ABBOTT C., MURPHY K., SETH A., CONNOLEY I., GHATEI M., STEPHENS D. y S. BLOOM 2003 A role for arcuate cocaine and amphetamine-regulated transcript in hyperphagia, thermogenesis, and cold adaptation. *FASEB J*. 17:1688-1690.
- KRISTENSEN P., JUDGE M.E., THIM L., RIBEL U., CHRISTJANSEN K.N., WULFF B.S., CLAUSEN J.T., JENSEN P.B., MADSEN O.D., VRANG N., LARSEN P.J. y S. HASTRUP 1998 Hypothalamic CART is a new anorectic peptide regulated by leptin. *Nature* 393:72-76.
- KUHAR M. J., ADAMS S., DOMINGUEZ G., JAWORSKI J. y B. BALKAN 2002 CART peptides. *Neuropeptides* 36: 1-8.
- KUROKAWA T., UJI S. y T. SUZUKI 2005 Identification of cDNA coding for a homologue to mammalian leptin from pufferfish, *Takifugu rubripes*. *Peptides* 26: 745-750.
- LAMBERT P.D., COUCEYRO P.R., MCGIRR K.M., DALL VECCHIA S.E., SMITH Y. y M.J. KUHAR 1998 CART peptides in the central control of feeding and interactions with neuropeptide Y. *Synapse* 29:293-298.
- LARHAMMAR D. y E. SALANEK 2004 Molecular evolution of NPY receptor subtypes. *Neuropeptides*. 384:141-51.
- LECHAN R.M. y C. FEKETE 2006 The TRH neuron: a hypothalamic integrator of energy metabolism. *Prog Brain Res*. 153:209-235.
- LEIBOWITZ S.F. 1995. Brain peptides and obesity: Pharmacological treatment. *Obes. Res*. 3: 573S-589S.
- LEIBOWITZ S.F. 2005 Regulation and effects of hypothalamic galanin: relation to dietary fat, alcohol ingestion, circulating lipids and energy homeostasis. *Neuropeptides* 39: 327-332.
- LEVINE A.S. y C.J. BILLINGTON 1997 Why do we eat? A neuronal system approach. *Annu. Rev. Nutr*. 17: 597-619.
- LEWIS, K., LI, C., PERRIN, M. H., BLOUNT, A., KUNITAKE, K., DONALDSON, C., VAUGHAN, J., REYES, T. M., GULYAS, J., FISCHER, W., BILEZIKJIAN, L., RIVIER, J., SAWCHENKO, P. E. y W.W. VALE 2001 Identification of urocortin III, an additional member of the corticotropin-releasing factor (CRF) family with high affinity for the CRF2 receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 7570-7575.



- LOGAN D.W., BRYSON-RICHARDSON R.J., PAGAN K.E., TAYLOR M.S., CURRIE P.D., y I.J. JACKSON 2003 The structure and evolution of the melanocortin and MCH receptors in fish and mammals *Genomics* 81:184-191.
- LONDRAVILLE R.L. y C.S. DUVAL 2002 Murine leptin injections increase intracellular fatty acid-binding protein in green sunfish (*Lepomis cyanellus*) *Gen. Comp. Endocrinol.* 129: 56-62
- LOPEZ-PATINO M. A., GUIJARRO A. I., ISORNA E., DELGADO M. J., ALONSO-BEDATE, M. y N. DE PEDRO 1999 Neuropeptide Y has a stimulatory action on feeding behavior in goldfish (*Carassius auratus*). *Eur. J. Pharmacol.* 377: 147-153.
- LU D., WILLARD D., PATEL I.R., KADWELL S., OVERTON L., KOST T., LUHTER M., CHEN W., WOYCHIK R.P. y W.O. WILKINSON 1994 Agouti protein is an antagonist of the melanocyte-stimulating-hormone receptor. *Nature* 371:799-802.
- LUDWIG D.S., TRITOS N.A., MASTAITIS J.W., KULKARNI R., KOKKOTOU E., ELMQUIST J., LOWELL B., FLIER J.S. y MARATOS-FLIER E 2001 Melanin-concentrating hormone overexpression in transgenic mice leads to obesity and insulin resistance. *J Clin Invest.* 107:379-86.
- MARSH D.J., HOLLOPER G., HUSZAR D., LAUFER R., YAGALOFF K.A., FISHER S.L., BURN P. y R.D. PALMITER 1999 Response of melanocortin-4 receptor-deficient mice to anorectic and orexigenic peptides. *Nature* 21:119-122
- MATSUDA K, MIURA T, KAIYA H, MARUYAMA K, SHIMAKURA S, UCHIYAMA M, KANGAWA K, SHIODA S. Regulation of food intake by acyl and des-acyl ghrelin in the goldfish. *Peptides.* 2006, 27:2321-2325.
- MATSUDA K, MIURA T, KAIYA H, MARUYAMA K, UCHIYAMA M, KANGAWA K, SHIODA S. Stimulatory effect of n-octanoylated ghrelin on locomotor activity in the goldfish, *Carassius auratus*. *Peptides.* 2006, 27:1335-1340.
- MATSUDA K., SHIMAKURA S.I., MARUYAMA K., MIURA T., UCHIYAMA M., KAWAUCHI H., SHIODA S. y A. TAKAHASHI 2006 Central administration of melanin-concentrating hormone (MCH) suppresses food intake but not locomotor activity, in the goldfish, *Carassius auratus*. *Neurosci. Lett.* 399: 259-263.
- MENTE E., PIERCE G.J. SANTOS M.B. y C. NEOFITOU 2006 Effect of feed and feeding in the culture of salmonids on the marine aquatic environment: a synthesis of European aquaculture. *Aquacult. Int.* 14: 499-522.
- MICHAUD E.J., BULTMAN S.J., STUBBS L.J. y R.P. WOYCHIK 1993 The embryonic lethality of homozygous lethal yellow mice (Ay/ Ay) is associated with the disruption of a novel RNA-binding protein. *Genes Dev* 7: 1203-1213.
- MILLER M.W., DUHL D.M.J., VRIELING H., CORDES S.P., OLLMANN M.M., WINKES B.N. y G.S. BARSH 1993 Cloning of the mouse agouti gene predicts a secreted protein ubiquitously expressed in mice carrying the lethal yellow mutation. *Genes Dev* 7: 454-467.



- MOFFETT M., STANEK L., HARLEY J., ROGGE G., ASNICAR M., HSIUNG H. y M. KUJAR 2006 Studies of cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) knockout mice. *Peptides* 27:2037-2045.
- MOONS L., BATTEN T.F.C. y F. VANDESANDE 1991 Autoradiographic distribution of galanin binding sites in the brain and pituitary of the sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Neurosci. Lett.* 123: 49-52.
- MORAN T.H. y S. BI 2006 Hyperphagia and obesity in OLETF rats lacking CCK-1 receptors. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 361:1211-1218.
- MORTON G.J., CUMMINGS D.E., BASKIN D.G. BARSH G.S. y M.W. SCHWARTZ 2006 Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature* 443: 289-295
- NAGASAKA R., OKAMOTO N. y H. USHIO 2006 Increased leptin may be involved in the short life span of ayu (*Plecoglossus altivelis*). *Journal of Experimental Zoology* 305a: 507-512.
- NAKAMACHI T., MATSUDA K., MARUYAMA K., MIURA T., UCHIYAMA M., FUNAHASHI H., SAKURAI T. y S. SHIODA 2006 Regulation by orexin of feeding behaviour and locomotor activity in the goldfish. *J Neuroendocrinol.* 18:290-297.
- NARNAWARE Y. K. y R.E. PETER 2001a Effects of food deprivation and refeeding on neuropeptide Y (NPY) mRNA levels in goldfish. *Comp. Biochem. Physiol. Biochem. Mol. Biol.* 129: 633-637.
- NARNAWARE Y. K., PEYON P. P., LIN X. y R.E. PETER 2000 Regulation of food intake by neuropeptide Y in goldfish. *Am. J. Physiol.* 279: R1025-R1034.
- NAYLOR R., GOLDBURG R.J., PRIMAVERA J.H., KAUTSKY N., BEVERIDGE M.C.M., CLAY J., FOLKE C., LUBCHENCO J., MOONEY H. and M. TROELL 2000 Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature* 405: 1017-1024.
- NELSON L.E. y M.A. SHERIDAN 2006 Gastroenteropancreatic hormones and metabolism in fish. *Gen. Comp. Endocrinol.* 14:116-124.
- OHKI-HAMAZAKI H., IWABUCHI M. y F. MAEKAWA 2005 Development and function of bombesin-like peptides and their receptors. *Int. J. Dev. Biol.* 49:293-300.
- OLLMAN M.M., WILSON B.D., YANG Y.K., KERNS J.A., CHEN I., GANTZ I y G.S. BARSH 1997. Antagonism of central melanocortin receptors in vitro and in vivo by agouti-related protein. *Science* 278:135-138.
- OLSZEWSKI P.K. y A.S. LEVINE 2007 Central opioids and consumption of sweet tastants: When reward outweighs homeostasis. *Physiol Behav.* En prensa.
- ORTEGA V.A., RENNER K.J. y N.J. BERNIER 2005 Appetite-suppressing effects of ammonia exposure in rainbow trout associated with regional and temporal activation of brain monoaminergic and CRF systems. *J. Exp. Biol.* 208:1855-66.
- PENG C., GALLIN W., PETER, R.E., BLOMQVIST A.G. and D. LARHAMMAR 1994 Neuropeptide-Y gene expression in the goldfish brain: distribution and regulation by ovarian steroids. *Endocrinology.* 134:1095-103.



- PEPELS P.P., BONGA S.E. y P.H. BALM 2004 Bacterial lipopolysaccharide (LPS) modulates corticotropin-releasing hormone (CRH) content and release in the brain of juvenile and adult tilapia (*Oreochromis mossambicus*; Teleostei). *J. Exp. Biol.* 207:4479-4488.
- PEYON P., LIN X.W., HIMICK B.A. y R.E. PETER 1998 Molecular cloning and expression of cDNA encoding brain preprocholecystokinin in goldfish. *Peptides* 19:199-210.
- PLISETSKAYA E.M. BONDAREVA V.M. DUAN C. y S.J. DUGAY 1993 Does salmon brain produce insulin? *Gen. Comp. Endocrinol.* 91: 74-80.
- PROBER D.A., RIHEL J., ONAH A.A., SUNG R.J. y A.F. SCHIER 2006 Hypocretin/orexin overexpression induces an insomnia-like phenotype in zebrafish. *J. Neurosci.* 26:13400-13410.
- QU D., LUDWIG D.S., GAMMELTOFT S., PIPER M., PELLEYMOUNTER M.A., CULLEN M.J., MATHES W.F., PRZYPEK R., KANAREK R. y E. MARATOS-FLIER 1996 A role for melanin-concentrating hormone in the central regulation of feeding behaviour. *Nature.* 380:243-247.
- REYES, T. M., LEWIS, K., PERRIN, M. H., KUNITAKE, K. S., VAUGHAN, J., ARIAS, C. A., HOGENSEN, J. B., GULYAS, J., RIVIER, J., VALE, W. W. y P. SAWCHENKO 2001 Urocortin II: A member of the corticotropin releasing factor (CRF) neuropeptide family that is selectively bound by type 2 CRF receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 2843-2848.
- RILEY LG, FOX BK, KAIYA H, HIRANO T, GRAU EG. Long-term treatment of ghrelin stimulates feeding, fat deposition, and alters the GH/IGF-I axis in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Gen Comp Endocrinol.* 2005, 142:234-40.
- ROSSI M., KIM M.S., MORGAN D.G.A., SMALL C.J., EDWARDS C.M.B., SUNTER D., ABUSNANA S., GOLDSTONE A.P., RUSSEL S.H., STANLEY S.A., SMITH D.M., YAGALOFF K., GHATEI M.A. y S.R. BLOOM 1998 A C-terminal fragment of Agouti-related protein increases feeding and antagonizes the effect of alpha-melanocyte stimulating hormone in vivo. *Endocrinology* 139:4428-4431.
- RUBIO V.C. VIVAS M. SÁNCHEZ-MUT A., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ F.J., COVÈS D., DUTTO G. y J.A. MADRID 2004 Self-feeding of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) under laboratory and farming conditions using string sensor. *Aquaculture* 233: 393-403.
- SAILER A.W., SANO H., ZENG Z., McDONALD T.P., PAN J., PONG S.S., FEIGNER S.D., TAN C.P., FUKAMI T., IWAASA H., HRENIUK D.L., MORIN N.R., SADOWSKI S.J., ITO M., ITO M., BANSAL A., KY B., FIGUEROA D.J., JIANG Q., AUSTIN C.P., MACNEIL D.J., ISHIHARA A., IHARA M., KANATANI A., VAN DER PLOEG L.H., HOWARD A.D. y Q. LIU 2001 Identification and characterization of a second melanin-concentrating hormone receptor, MCH-2R. *Proc Natl Acad Sci* 98:7564-7569.



- SAITO Y., NOTHACKER H.P., WANG Z., LIN S.H., LESLIE F. y O. CIVELLI 1999 Molecular characterization of the melanin-concentrating-hormone receptor. *Nature* 400:265-269.
- SÁNCHEZ-VÁZQUEZ F.J., AZZAYDI M., MARTÍNEZ F.J., ZAMORA S. y J.A. MADRID 1998 Annual rhythms of demand-feeding activity in sea bass: Evidence of a seasonal phase inversion of the diel feeding pattern. *Chronobiology International* 15: 607-622.
- SÁNCHEZ-VÁZQUEZ F.J., MADRID J.A. y S. ZAMORA 1995 Circadian rhythms of feeding activity in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): Dual phasing capacity on diel demand-feeding pattern. *J Biol Rhythms* 10:256-266.
- SCHIÖTH H.B., HAITINA T., LING M.K., RINGHOLM A., FREDRIKSSON R., CERDÁ-REVERTER J.M. y J. KLOVINS 2005 Evolutionary conservation of the structural, pharmacological and genomic characteristics of the melanocortin receptors subtypes. *Peptides*, 26: 1886-1900.
- SCHWARTZ M.W., FIGLEWICZ D.P. BASKIN D.G., WOODS S.C. y D. PORTRE JR 1992 Insulin in the brain: A hormonal regulator of energy balance. *Endocrine Rev.* 13:387-414.
- SCHWARTZ M.W., BASKIN D.G., KAIYALA K.J. y S.C. WOODS 1999 Model for the regulation of energy balance and adiposity by the central nervous system. *Am. J. Clin. Nutr.* 69:584-96.
- SHIMADA M., TRITOS N.A., LOWELL B.B., FLIER J.S. y E. MARATOS-FLIER 1998 Mice lacking melanin-concentrating hormone are hypophagic and lean. *Nature* 396: 670-674.
- SILVERSTEIN J. T., BREININGER J., BASKIN D. G. y E.M. PLISETSKAYA 1998 Neuropeptide Y-like gene expression in the salmon brain increases with fasting. *Gen. Comp. Endocrinol.* 110: 157-165.
- SILVERSTEIN J.T., BONDAREVA V.M., LEONARD J.B. y E.M. PLISETSKAYA 2001 Neuropeptide regulation of feeding in catfish, *Ictalurus punctatus*: a role for glucagon-like peptide-1 (GLP-1)? *Comp. Biochem. Physiol.* 129:623-31.
- SILVERSTEIN JT y E.M. PLISETSKAYA 2000 The effects of NPY and insulin on food intake regulation in fish. *American Zoologist* 40: 296-308.
- SILVERSTEIN, J. T. y E.M. PLISETSKAYA 2000. The effects of NPY and insulin on food intake regulation in fish. *Amer. Zool.* 40: 296-308.
- SINGRU P.S., MAZUMDAR M., SAKHARKAR A.J., LECHAN R.M., THIM L., CLAUSEN J.T. y N.K. SUBHEDAR 2007 Immunohistochemical localization of cocaine- and amphetamine-regulated transcript peptide in the brain of the catfish, *Clarias batrachus* (Linn.). *J. Comp. Neurol.* 502:215-235.
- SMAGIN G.N., HOWELL L.A., REDMANN S. JR., RYAN D.H. y R.B. HARRIS 1999 Prevention of stress-induced weight loss by third ventricle CRF receptor antagonist. *Am. J. Physiol.* 276:R1461-R1468.



- SOENGAS J.L. y M. ALDEGUNDE 2004 Brain glucose and insulin: effects on food intake and brain biogenic amines of rainbow trout. *J. Comp. Physiol.* 190: 641-649.
- STANLEY B.G. 1993 Neuropeptide Y in multiple hypothalamic sites controls eating behavior and autonomic systems for body energy balance. pp 457-509 in *The Biology of Neuropeptide Y and Related Peptides* editado por W.F. Colmers y C. Wahlestedt Humana Press, Totowa, New Jersey.
- SWIERGIEL A.H. y A.J. DUNN 1999 CRF-deficient mice respond like wild-type mice to hypophagic stimuli. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 64: 59-64.
- TAKAHASHI A., KOSUGI T., KOBAYASHI Y., YAMANOME T., SCHIOTH H.B. and H. KAWAUCHI 2007 The melanin-concentrating hormone receptor 2 (MCH-R2) mediates the effect of MCH to control body color for background adaptation in the barfin flounder. *Gen. Comp. Endocrinol.* en prensa
- TAKAHASHI A., TSUCHIHA K., YAMANOME T., AMANO M., YASUDA A., YAMAMORI K., y H. KAWAUCHI 2004 Possible involvement of melanin-concentrating hormone in food intake in a teleost fish, barfin flounder. *Peptides* 25:1613-1622.
- UNNIAPPAN S. y R.E. PETER 2005 Structure, distribution and physiological functions of ghrelin in fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 140:396-408.
- UNNIAPPAN S., CANOSA L.F. y R.E. PETER 2004 Orexigenic actions of ghrelin in goldfish: feeding-induced changes in brain and gut mRNA expression and serum levels, and responses to central and peripheral injections. *Neuroendocrinology* 79:100-108.
- UNNIAPPAN S., CERDA-REVERTER J.M. y R.E. PETER 2004 In situ localization of prepro-galanin mRNA in the goldfish brain and changes in its expression during feeding and starvation. *Gen. Comp. Endocrinol.* 136:200-207.
- UNNIAPPAN S., LIN X., CERVINI L., RIVIER J., KAIYA H., KANGAWA K. y R.E. PETER 2002 Goldfish ghrelin: molecular characterization of the complementary deoxyribonucleic acid, partial gene structure and evidence for its stimulatory role in food intake. *Endocrinology* 143:4143-4146
- VAN DER LELY A.J., TSCHOP M., HEIMAN M.L. y E. GHIGO 2004 Biological Physiological and pathophysiological and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocrinology* 25: 427-457.
- VEGUSDAL A., SUNDVOLD H., GJOEN T. y B. RUYTER 2003 An in vitro method for studying the proliferation and differentiation of Atlantic salmon preadipocytes. *Lipids* 38 : 289-296.
- VICENTIC A., D.C. JONES 2007 The CART (cocaine- and amphetamine-regulated transcript) system in appetite and drug addiction. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 320:499-506.



- VOLKOFF H y R.E. PETER 2000 Effects of CART peptides on food consumption, feeding and associated behaviors in the goldfish, *Carassius auratus*: actions on neuropeptide Y- and orexin A-induced feeding. *Brain Res.* 887: 125-133.
- VOLKOFF H y R.E. PETER 2005 Interactions between orexin A, NPY and galanin in the control of food intake of the goldfish, *Carassius auratus*. *Regul Pept.* 101:59-72.
- VOLKOFF H. y R.E. PETER 2001 Characterization of two forms of cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) peptide precursors in goldfish: molecular cloning and distribution, modulation of expression by nutritional status, and interactions with leptin. *Endocrinology* 142:5076-5088.
- VOLKOFF H. y R.E. PETER 2004 Effects of lipopolysaccharide treatment on feeding of goldfish: role of appetite-regulating peptides. *Brain Res.* 998:139-47.
- VOLKOFF H., BJORKLUND J. M. y R.E. PETER 1999 Stimulation of feeding behavior and food consumption in the goldfish, *Carassius auratus*, by orexin-A and orexin-B. *Brain Res.* 846: 204-209.
- VOLKOFF H., CANOSA L.F., UNNIAPPAN S., CERDÁ-REVERTER J.M., BERNIER N.J., KELLY S.P. y R.E. PETER 2005 Neuropeptides and the control of food intake in fish. *Gen. Com. Endocrinol* 142:3-19.
- VOLKOFF H., EYKELBOSH AJ y R.E. PETER 2003 Role of leptin in the control of feeding of goldfish *Carassius auratus*: interactions with cholecystokinin, neuropeptide Y and orexin A, and modulation by fasting. *Brain Res.* 972: 90-109.
- VOLKOFF H., PEYON P., LIN X. y R.E. PETER 2000 Molecular cloning and expression of cDNA encoding a brain bombesin/gastrin-releasing peptide-like peptide in goldfish. *Peptides* 21:639-648.
- VRANG N. 2006 Anatomy of hypothalamic CART neurons. *Peptides* 27:1970-1980.
- VRONTAKIS M. E., 2002. Galanin: a biologically active peptide. *Curr. Drug Target CNS Neurol. Disord.* 1: 531-541.
- WARD A.J.W., WEBSTER M.M. y P.J.B. HART 2006 Intraspecific food competition in fishes. *Fish and Fisheries* 7: 231-261.
- WENDERLAAR BONGA S.E. 1997 The stress response in fish. *Physiological Reviews* 77: 591-625.
- WILSON B.D., OLLMANN M.M. y G.S. BARSH 1999 The role of agouti-related protein in regulating body weight. *Mol. Med. Today* 5: 250-256
- WOOLLEY J.D., LEE B.S. y H.L. FIELDS 2006 Nucleus accumbens opioids regulate flavor-based preferences in food consumption. *Neuroscience* 143:309-317.
- WURTMAN R.J. 2006 Narcolepsy and the hypocretins. *Metabolism.* 55:36-39.



- WYNICK D., THOMPSON S. W. y S.B. McMAHON 2001 The role of galanin as a multi-functional neuropeptide in the nervous system. *Curr. Opin. Pharmacol.* 1: 73-77.
- WYNNE K., STANLEY S., MCGOWAN B. y S. BLOOM 2005 Appetite control. *J. Endocrinol.* 184: 291-318.
- YAMADA K., WADA E., SANTO-YAMADA Y. y K. WADA 2002 Bombesin and its family of peptides: prospects for the treatment of obesity. *Eur. J. Pharmacol.* 440:281-90.
- YAMANOME T., AMANO M. y A. TAKAHASI 2005 White background reduces the occurrence of staining, activates melanin-concentrating hormone and promotes somatic growth in barfin flounder. *Aquaculture* 244: 323-329.



12

INTERACCIONES ENTRE LOS FACTORES AMBIENTALES Y LA INGESTA DE ALIMENTO



INTERACCIONES ENTRE LOS FACTORES AMBIENTALES Y LA INGESTA DE ALIMENTO

Dra. Vera Cruz Rubio Fernández

Instituto de Acuicultura
de Torre la Sal (IATS).
Consejo Superior de Investigaciones
Científicas (CSIC)

Resumen

La ingesta de alimento y el crecimiento de los animales son regulados tanto por factores internos que implican un control por parte de los sistemas nervioso central, endocrino y neuroendocrino, como por factores externos de origen medioambiental como la temperatura, fotoperiodo, iluminación, disponibilidad de oxígeno, de alimento, densidad de cultivo, presencia de competidores, de depredadores, etc. (Figura 1). Muchos factores medioambientales son específicos del medio acuático, como la salinidad, nivel de oxígeno, compuestos nitrogenados, pH, turbidez, etc., aunque los restantes son compartidos con el medio terrestre. En la actualidad se ha demostrado que todos y cada uno de los factores medioambientales están implicados en el proceso de la alimentación, bien en uno de los pasos o, como sucede con la temperatura, en varios de los procesos que intervienen en la alimentación, ya que la temperatura está implicada, por ejemplo, en la disponibilidad de presas, probabilidad de captura y en los procesos de digestión, absorción y transformación de nutrientes.

En el presente capítulo se procederá a detallar la influencia que ejercen algunos de los factores medioambientales en la ingesta de alimento.



Summary

Food intake and growth in fish are regulated by internal factors, which imply central, endocrine and neuroendocrine control; in addition to external environmental factors as temperature, photoperiod, illumination, oxygen level, food availability, stocking density, presence of competitors and/or predators, etc. (Figure 1). Many environmental factors are specific of aquatic environment, as salinity, nitrogenous compounds, pH, turbidity, etc., although the remaining ones (i.e. temperature, illumination, oxygen level ...) are shared with the terrestrial environment. Currently it has been demonstrated that each environmental factor is implied in one of more steps of the feeding process. This is the case of temperature which, for instance, is involved in the availability of preys, capture probability and in absorption and transformation of nutrients.

Current chapter considers some environmental factors that may influence fish feeding.

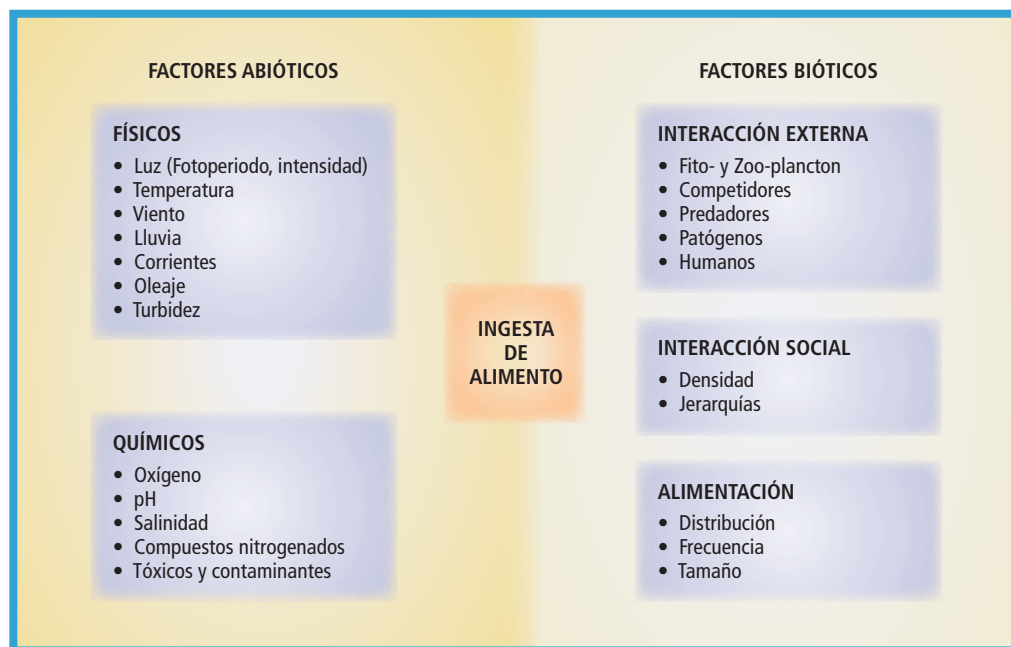


FIGURA 1.

Algunos factores medioambientales que influyen la ingesta de alimento en los peces.



12.1. FACTORES ABIÓTICOS

Los principales factores abióticos que podemos encontrar en el medio acuático son la iluminación, temperatura, oleaje y corrientes, oxígeno, pH, salinidad, etc.

12.1.1. Iluminación

El Sol es la principal fuente de luz, pero existen otras fuentes secundarias de iluminación como son la Luna, las estrellas y la procedente de organismos bioluminiscentes. El término iluminación comprende la intensidad luminosa (cantidad de luz), el espectro luminoso (longitud de onda) y el fotoperiodo (periodicidad). La luz (intensidad, espectro y fotoperiodo) es un parámetro extremadamente versátil que varía de forma muy rápida dentro de un amplio rango, afectando al crecimiento de los peces (Bœuf y Le Bail, 1999).

Fotoperiodo. En general podemos afirmar que los animales no se alimentan durante las 24 h del día, sino que seleccionan para alimentarse un periodo de iluminación, el día o la noche, pudiendo clasificarse de forma genérica como animales diurnos o nocturnos. Entre los peces podemos encontrar especies diurnas, nocturnas y crepusculares (Thorpe, 1978), además de especies duales (Sánchez-Vázquez *et al.*, 1998a) (Figura 2) (Cuadro 1). Las especies duales son aquellas capaces de alimentarse tanto durante el periodo de iluminación, como durante el periodo de oscuridad, ejemplo de ello son la lubina (*Dicentrarchus labrax*), el salmón Atlántico (*Salmo salar*), y la dorada (*Sparus aurata*) tres especies de comportamiento predominantemente nocturno durante el invierno y diurno durante el resto del año (Jobling *et al.*, 1993; Fraser y Metcalfe, 1997; Sánchez-Vázquez *et al.*, 1998a; Velázquez *et al.*, 2004) o la seriola (*Seriola quinqueradiata*) una especie predominantemente crepuscular y nocturna durante la mayor parte del año, que se alimenta en Julio durante la fotofase (Kohbara *et al.*, 2003).

En ocasiones la fase en la que una especie concreta prefiere alimentarse es determinada inexactamente, especialmente en el caso de las especies duales, ya que depende del tipo de experimentación que se haya realizado (que pueda coartar o no el comportamiento alimentario de los animales) o de la estación del año en la que se realice el estudio.

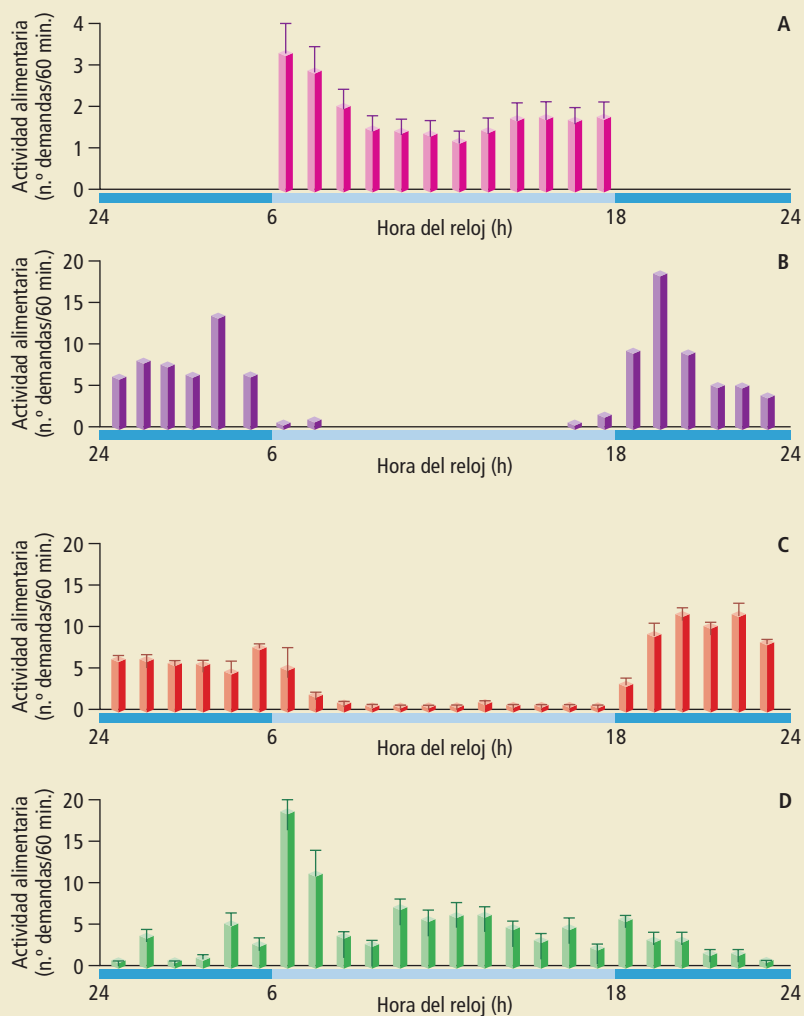


FIGURA 2.

Patrones diarios de demandas de alimento de tres especies de peces mantenidas bajo condiciones de laboratorio de fotoperiodo artificial (L:O, 12:12). Las barras horizontales vacías y rellenas situadas debajo de cada gráfica representan las fases de iluminación y oscuridad, respectivamente. (a) trucha arco iris, mostrando un patrón diurno (redibujado de Sánchez-Vázquez y Tabata 1998). (b) atipa, *Hoplosternum littorale*, un pez nocturno (redibujado de Boujard et al. 1990). (c, d) lubina, una especie con dualidad de fase en la cual se puede observar ambos comportamientos alimentarios diurno y nocturno (redibujado de Sánchez-Vázquez et al. 1995a).



El salmón Atlántico es una especie en la que la ingesta de alimento ha sido ampliamente estudiada. Algunos autores han observado un comportamiento alimentario predominantemente diurno, pero a menudo estos estudios excluyen observaciones de la ingesta de alimento durante la fase de oscuridad (Jørgenssen y Jobling, 1992; Smith *et al.*, 1993; Paspatis y Boujard, 1996). Por el contrario, otros autores han descrito un aumento de la ingesta de alimento preferentemente durante la escotofase (Fraser *et al.*, 1993, 1995; Fraser y Metcalfe, 1997; Admundsen *et al.*, 1999), pudiendo exhibir una alimentación exclusivamente nocturna durante el invierno (Admundsen *et al.*, 1999). Dicho cambio de preferencia de fase del fotoperiodo parece estar ligado al descenso de la temperatura, ya que en condiciones naturales, cuando desciende la temperatura el salmón cambia su comportamiento alimentario, prefiriendo ingerir alimento en la fase de oscuridad (Jørgenssen y Jobling, 1992; Fraser *et al.*, 1993, 1995; Fraser y Metcalfe, 1997; Admundsen *et al.*, 1999, 2000). Como se ha indicado con anterioridad, esta inversión de comportamiento alimentario, caracterizado por una ingesta de alimento predominantemente nocturna durante el invierno y la primavera, y preferentemente durante la fotofase en verano y otoño, tiene lugar también en otras especies, como la lubina, la trucha alpina (*Salvelinus alpinus*) y la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) (Jobling *et al.*, 1993; Boujard *et al.*, 1995; Gélinau *et al.*, 1996; Sánchez-Vázquez *et al.*, 1995a, 1998a). Por el contrario hay algunas especies en las que parece ser que la ingesta de alimento tiene lugar exclusivamente en una de las fases del fotoperiodo, durante la fase de iluminación, como el rodaballo (*Psetta maxima*), la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), el ayu (*Plecoglossus altivelis altivelis*) y el pámpano amarillo (*Trachinotus carolinus*); o durante la fase de oscuridad, como la mayoría de las especies de pez gato (Boujard, 1995; Boujard y Luquet, 1996; Burel *et al.*, 1997; Toguyeni *et al.*, 1997; Heilman y Spieler, 1999; Amano *et al.*, 2006) (Cuadro 1).

El fotoperiodo puede influir tanto en la cantidad de alimento ingerido, como en la duración del periodo de alimentación. Algunos autores han observado en salmónidos, que conforme aumenta la duración de la fase de iluminación, se estimula la ingesta alimentaria, mientras que, por el contrario, cuando se acorta dicha fase, la ingesta de alimento

CUADRO 1.

Ejemplos de ritmos de alimentación en peces mantenidos individualmente o en grupos.

Especies	Estabulación	Fase media de alimentación	Referencia
<i>Alosa pseudoharengus</i>	Grupos	Nocturna	Richkus y Winn, 1979
<i>Arapaima gigas</i>	Grupos	Diurna-Nocturna	Crescêncio <i>et al.</i> , 2005
<i>Clarias gariepinus</i>	Grupos	Nocturna	Hossain <i>et al.</i> , 1999
<i>Cynoglossus semilaevis</i>	Grupos	Diurna (pre-)/Nocturna (post-)*	Ma <i>et al.</i> , 2006
<i>Dicentrarchus labrax</i>	Grupos	Cambios estacionales	Sánchez-Vázquez <i>et al.</i> , 1998a
<i>Diplodus puntazzo</i>	Individual	Diurna	Vera <i>et al.</i> , 2006
<i>Hoplosternun littorale</i>	Grupos	Nocturna	Boujard <i>et al.</i> , 1990
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	Grupos	Diurna	Wang <i>et al.</i> , 1989
<i>Ictalurus nebulosus</i>	Individual	Nocturna	Eriksson y Van Veen, 1980
<i>Micropogonias furnieri</i>	Grupos	Cambios estacionales	Figueroa y Vieira, 2005
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Individual	Dual	Landless, 1976
<i>Oreochromis niloticus</i>	Grupos	Diurna	Toguyeni <i>et al.</i> , 1997
<i>Pagrus pagrus</i>	Grupos	Diurna	Pavlidis <i>et al.</i> , 1999
<i>Paralichthys olivaceus</i>	Grupos	Diurna	Dou <i>et al.</i> , 2000
<i>Piaractus brachipomus</i>	Grupos	Diurna	Baras, 2000
<i>Plecoglossus altivelis altivelis</i>	Grupos	Diurna	Amano <i>et al.</i> , 2006
<i>Pseudociaena polyactis</i>	Observ. campo	Crepuscular/Nocturna	Xue <i>et al.</i> , 2005
<i>Rhombosolea tapirina</i>	Grupos	Diurna	Chen <i>et al.</i> , 1999
<i>Salmo salar</i>	Jaulas flotantes	Cambios estacionales	Smith <i>et al.</i> , 1993
<i>Salmo trutta</i>	Observ. campo	Cambios estacionales	Heggenes <i>et al.</i> , 1993
<i>Salvelinus alpinus</i>	Grupos	Cambios estacionales	Jørgensen y Jobling, 1989, 1990
<i>Salvelinus fontinalis</i>	Grupos	Diurna	Hoar, 1942
<i>Salvelinus leucomaenis</i>	Grupos	Diurna-Nocturna	Noble <i>et al.</i> , 2005
<i>Scophthalmus maximus</i>	Grupos	Cambios estacionales	Mallekh <i>et al.</i> , 1998
<i>Seriola quinqueradiata</i>	Jaulas flotantes	Cambios estacionales	Kohbara <i>et al.</i> , 2003
<i>Silurus glanis</i>	Grupos	Nocturna	Boujard, 1995
<i>Solea senegalensis</i>	Grupos larvas	Diurna pre-metamorfosis	Cañavate <i>et al.</i> , 2006
<i>Solea senegalensis</i>	Grupos	Nocturna	Boluda Navarro <i>et al.</i> , 2009
<i>Sparus aurata</i>	Grupos	Cambios estacionales	Velázquez <i>et al.</i> , 2004
<i>Sparus aurata</i> × <i>Pagrus pagrus</i>	Grupos	Diurna	Paspatis <i>et al.</i> , 2000
<i>Tinca tinca</i>	Individual/Grupo	Nocturna	Herrero <i>et al.</i> , 2005
<i>Trachinolus carolinus</i>	Grupos	Diurno	Heilman y Spieler, 1999

(*) Pre- y post-metamorfosis.



disminuye (Saunders *et al.*, 1989; Stefanson *et al.*, 1990; Jørgenssen y Jobling, 1992). En lubinas diurnas cuando se acorta el periodo de iluminación desde 12 h a 0,25 h, los peces prefirieron alimentarse mayoritariamente durante la fase de iluminación pese a la restricción de su duración, de la misma manera cuando las lubinas son nocturnas y se extiende el periodo de iluminación desde 12 h hasta 23,75 h, los animales prefirieron ingerir alimento durante el periodo de oscuridad, es decir, la lubina prefiere alimentarse en una fase concreta del fotoperiodo, ya sea la fase de iluminación o la de oscuridad, y la manipulación de dicha fase por extensión o compresión, no consigue forzar una inversión en el comportamiento alimentario, restringiendo el mayor número de demandas de alimento a la fase del fotoperiodo en la que preferían alimentarse inicialmente (Aranda *et al.*, 1999a).

Utilizando comederos a demanda ha sido descrita una distribución temporal, relacionada con el fotoperiodo, en la ingesta de macronutrientes por el carpín dorado (*Carassius auratus*). Se observó que prefieren ingerir carbohidratos (CH) durante el periodo de iluminación, proteína (P) al principio de la fase de oscuridad, y grasa (F) en la transición entre las fases de iluminación y oscuridad (Sánchez-Vázquez *et al.*, 1998b). Así mismo, recientemente se ha descrito un patrón estacional de selección de macronutrientes en la lubina que prefiere ingerir P en primavera y F en verano (Rubio *et al.*, 2008). Pero se desconocen los mecanismos de actuación por los cuales el fotoperiodo produce un efecto en la selección de macronutrientes, una posible explicación son los cambios hormonales que tienen lugar estacionalmente y a lo largo del día.

Intensidad y espectro luminoso. La intensidad de la luz en la superficie del agua varía a lo largo del día, así como estacionalmente, en función de las condiciones atmosféricas, mientras que debajo del agua varía dependiendo de la intensidad de la luz en la superficie, del oleaje, turbidez y profundidad. La intensidad de la luz afecta a la agudeza visual y a la percepción del contraste, por lo que, en las especies de peces que utilizan la visión para capturar el alimento, la intensidad de la luz es de crucial importancia, disminuyendo su relevancia en las especies que localizan el alimento mediante señales químicas o mecánicas, como por ejemplo la perca china (*Siniperca chuatsi*) que si bien es un comedor visual, también puede utilizar la línea lateral y/o el olfato, cuando carece



de la visión, para capturar el alimento eficazmente incluso de noche (Liang *et al.*, 1998). No obstante algunas especies precisan de la visión para poder ultimar la captura de alimento de una forma eficaz.

Muchas especies de interés comercial poseen umbrales muy bajos para la alimentación visual, especialmente las que viven en aguas profundas o turbias. Ejemplos de ello son el colín de Alaska (*Theragra chalcogramma*), el bacalao negro (*Anoplopoma fimbria*), la perca atruchada (*Micropterus salmoides*), y el fletán del Pacífico (*Hippoglossus stenolepis*) que poseen un umbral inferior de captura visual de aproximadamente entre $2,6 \times 10^{-3}$ y $5,1 \times 10^{-5}$ lux (McMahon y Holanov, 1995; Ryer y Olla, 1999; Stoner, 2003).

El efecto de la intensidad de la luz en la tasa de crecimiento en peces ha recibido una considerable atención (Brett, 1979). Se ha observado que las larvas de diferentes especies de peces requieren un umbral mínimo de iluminación para desarrollarse normalmente y crecer (Gehrke, 1994; Daniels *et al.*, 1996; Denson y Smith, 1997), pudiendo incluso aparecer una correlación lineal entre su crecimiento y eficacia alimentaria y la intensidad de iluminación, dentro de un rango comprendido entre 3,5-69,5 lux, en la lubina (Hidalgo *et al.*, 1993).

La intensidad luminosa puede modificar la demanda de alimento, así se ha observado el salmón Atlántico, el rodaballo, la trucha y el bacalao Atlántico (*Gadus morhua*), que prefieren alimentarse a intensidades bajas de iluminación (Ferming y Seronay, 1997; Petrell y Ang, 2001; Noble *et al.*, 2005). Se ha descrito que el salmón Atlántico es capaz de ingerir alimento en completa oscuridad (0.0 lux) (Jørgenssen y Jobling, 1992; Fraser y Metcalfe, 1997; Admundsen *et al.*, 1999), exhibiendo la mayor ingesta de alimento con este nivel de iluminación. Por el contrario, se ha sugerido que otro salmónido, la trucha arco iris, sólo se alimenta durante la fotofase porque es incapaz de alimentarse en oscuridad absoluta, comiendo de noche sólo cuando la luz de la luna y de las estrellas le permiten localizar y activar el comedero (Boujard y Leatherland, 1992). Pero cuando se las mantiene con una luz constante de baja intensidad (LL_{DIM}), la cantidad de alimento ingerido disminuye drásticamente (Sánchez-Vázquez y Tabata, 1998), lo que sugiere que la intensidad luminosa no es el único factor que está implicado. La lubina es capaz de alimentarse eficazmente en condiciones de baja



iluminación proporcionada por las estrellas o la luna, e incluso en completa oscuridad (0,0 lux), cuando el alimento permanece en el fondo del tanque durante unos minutos, pero por el contrario cuando el alimento sólo permanece en la columna de agua durante unos segundos su eficacia se ve considerablemente reducida (Rubio *et al.*, 2003), por lo que el tiempo de disponibilidad del alimento condiciona la eficacia de captura de alimento en condiciones de baja intensidad luminosa y podría explicar los resultados obtenidos en la trucha arco iris.

Los cambios en la intensidad luminosa parecen ser eficaces en inducir inversiones del comportamiento alimentario en algunas especies, por ejemplo se ha descrito en el *Ictalurus nebulosus*, un comportamiento nocturno con elevadas intensidades luminosas, mientras que con reducidas intensidades son diurnos (Eriksson, 1978). Dichas inversiones parecen estar relacionadas con el tipo de alimento o el tipo de dieta en numerosas especies, especialmente en los comedores visuales. La agudeza visual que se precisa para capturar animales es mayor que la necesaria para alimentarse con materia vegetal, por lo que la intensidad luminosa requerida para poder alimentarse con animales es mayor, lo que podría condicionar el rango de alimentos ingeridos. Se ha determinado que cuando la lubina (especie carnívora) puede auto-alimentarse eligiendo entre tres tipos de dietas, para hábitos carnívoros, omnívoros y herbívoros, selecciona la dieta para carnívoros durante la fotofase, mientras que selecciona la dieta para herbívoros y para omnívoros durante la dos fases del fotoperiodo por igual (Paspatis *et al.*, 2002), lo que podría indicar una posible influencia del nivel de iluminación en la selección dietaria.

Poco se conoce en relación con el espectro luminoso, habiéndose observado que el espectro luminoso no afecta al crecimiento del salmón Atlántico (Stefansson y Hansen, 1989), ni al patrón alimentario de la atipa (*Hoplosternum littorale*) cuando se utilizan luces rojas o azules de baja intensidad (Boujard *et al.*, 1992a), en dos de los pocos estudios encaminados a dilucidar dicho aspecto.

12.1.2. Temperatura

Los peces, en general, son animales ectotermos que no regulan su temperatura corporal, fluctuando su temperatura con la medioambiental. A menudo son clasificados en euritermos y estenotermos de



agua cálida o de agua fría. Los euritermos son aquellos que toleran grandes cambios de temperatura, mientras que por el contrario los estenotermos son aquellos que tienen un rango de tolerancia restringido. La temperatura, por tanto, es el principal factor medioambiental que determina los requerimientos metabólicos de alimento, ya que rige la tasa de reacciones metabólicas afectando todos los procesos fisiológicos en animales ectotermos, como el metabolismo, la ingesta de alimento y la eficacia nutricional, así como la tasa de vaciado gástrico (Brett, 1979; Burel *et al.*, 1996). Se ha descrito la existencia de temperaturas límite, tanto superiores como inferiores, por encima o debajo de las cuales, respectivamente, los peces no ingieren alimento (Brett, 1979; Elliott, 1991; Burel *et al.*, 1996; Buentello *et al.*, 2000). No obstante, estas temperaturas límite para la alimentación pueden ampliarse con una aclimatación progresiva a la temperatura (Elliott, 1991).

Dentro de ciertos límites, se puede generalizar que conforme la temperatura aumenta, los procesos metabólicos aumentan en los peces de una manera exponencial (Fry, 1971), relación que ha sido constatada mediante, por ejemplo, la observación de la variación diaria del consumo de oxígeno y excreción de nitrógeno en fletán Atlántico (*Hippoglossus hippoglossus*) y rodaballo (Imsland *et al.*, 2000a,b, 2001a; Jonassen *et al.*, 2000). En general podemos decir que los incrementos de temperatura producen un aumento de la demanda de alimento en paralelo al aumento de la tasa metabólica, a la vez que aumentan la velocidad de tránsito del alimento a través del tracto digestivo (Brett, 1979; Burel *et al.*, 1996), mostrando una relación positiva dentro de un rango, ya que cuando se alcanza una temperatura supraóptima la ingesta de alimento disminuyen de una forma más o menos contundente en función de la especie (Fry, 1971; Brett, 1979; Elliott, 1991; Burel *et al.*, 1996; Buentello *et al.*, 2000). La temperatura a la cual la ingesta de alimento es máxima suele ser unos grados superior a la temperatura a la cual se obtiene el mayor crecimiento (Brett, 1971; Jobling, 1997; Koskela *et al.*, 1997; Buentello *et al.*, 2000). No obstante, los peces continúan alimentándose a temperaturas que exceden la temperatura a la cual alcanzan la máxima ingesta de alimento, así, por ejemplo, el salmón Atlántico, continúa comiendo hasta que la temperatura alcan-



za cotas de 28-29 °C, mientras que su ingesta de alimento máxima tiene lugar a 16-18 °C (Koskela *et al.*, 1997) (Cuadro 2).

El comportamiento alimentario diario de algunas especies puede variar con la temperatura, aumentando, por ejemplo, el comportamiento alimentario nocturno (Fraser *et al.*, 1993, 1995), mientras que en otras especies, como la lubina, la temperatura *per se* no es capaz de inducir dichos cambios (Aranda *et al.*, 1999b).

Otro de los cambios inducidos por la temperatura es la selección de macronutrientes en algunas especies. Así, por ejemplo, se ha observado que la carpa común (*Cyprinus carpio*) selecciona dietas ricas en P y en F (38 % P; 40 % F y 22 % CH) a 17 °C, mientras que a 25 °C selecciona dietas ricas en P (55 % P; 21 % F y 24 % CH) (Yamamoto

CUADRO 2.

Ejemplos de temperaturas a las que se obtiene un crecimiento y una ingesta de alimento máximos.

Especies	Crecimiento máximo	Ingesta máxima	Referencia
<i>Anarhichas minor</i>	6	6-8	Imsland <i>et al.</i> , 2006
<i>Channa argus</i>	26-30	29	Liu <i>et al.</i> , 1998
<i>Cottus kazika</i>	20	20-22	Takeshita <i>et al.</i> , 2005
<i>Dicentrarchus labrax</i>	26	28	Person-Le Ruyet <i>et al.</i> , 2004
<i>Gadus morhua</i>	13-15	13-16	Imsland <i>et al.</i> , 2005
<i>Ictalurus punctatus</i>	28	31-32	Buentello <i>et al.</i> , 2000
<i>Lota lota</i>	16	18	Hofmann y Fischer, 2003
<i>Morone saxatilis</i> × <i>M. chrysops</i>	27	>29	Woiwode y Adelman, 1991
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	17	20	Wurtsbaugh y Davis, 1977
<i>Oncorhynchus nerka</i>	15-16	19	Brett, 1971
<i>Oreochromis niloticus</i>	28-30	>30	Mélard, 1986
<i>Paralichthys olivaceus</i>	20-25	>25	Iwata <i>et al.</i> , 1994
<i>Perca fluviatilis</i>	23	>28	Mélard <i>et al.</i> , 1996
<i>Pollachius pollachius</i>	12-15	15-18	Person-Le Ruyet <i>et al.</i> , 2006
<i>Rachycentron canadum</i>	27-31	31	Sun <i>et al.</i> , 2006
<i>Salmo salar</i>	16	18	Koskela <i>et al.</i> , 1997
<i>Salmo trutta</i>	16-17	18	Elliott, 1976
<i>Scophthalmus maximus</i>	17-20	17-20	Burel <i>et al.</i> , 1996
<i>Sineperca chuatsi</i>	29	30	Liu <i>et al.</i> , 1998



et al., 2003), disminuyendo la cantidad de P ingerida conforme disminuye la temperatura, si bien la ingesta proteica se mantiene constante cuando se reduce la temperatura de 17 a 8 °C (Yamamoto *et al.*, 2001). Otro caso en el que aumenta la ingesta de P con el aumento de la temperatura es la lubina (Peres y Oliva-Teles, 1999), sin embargo, al igual que en otras ocasiones, no podemos generalizar, ya que, por ejemplo la trucha arco iris no modifica la selección de macronutrientes con los cambios de temperatura, prefiriendo una dieta rica en P a una rica en F o CH, independientemente de la temperatura (Yamamoto *et al.*, 2001).

12.1.3. Otros factores físicos

Otros factores físicos, como el oleaje, las corrientes de agua, las mareas, el viento y la lluvia también pueden ejercer su influencia en la ingesta de alimento.

Turbidez. Las partículas en suspensión reducen y dispersan la luz, disminuyendo el contraste claro-oscuro y restringiendo la alimentación de los peces ya que reducen la capacidad de reacción para capturar el alimento a las distancias cortas, lo que afecta especialmente a las especies piscívoras. No obstante, los efectos de la turbidez del agua son diferentes en función de las especies y de su capacidad sensorial para detectar el alimento. Por ejemplo, en especies en las que la alimentación puede llevarse a cabo eficazmente con señales no visuales, como la trucha arco iris o el bacalao negro, la turbidez produce poco impacto en la alimentación (Løkkeborg *et al.*, 1995; Rowe *et al.*, 2003). En especies visuales, como el corvinón rayado (*Micropogonias furnieri*), el patrón estacional de alimentación parece estar influenciado por la estacionalidad en la transparencia-turbidez del agua. En los meses que las aguas poseen una elevada transparencia, el corvinón rayado come predominantemente durante la fotofase, mientras que en los meses que poseen una transparencia baja desaparece el patrón diario de alimentación, probablemente como consecuencia de la supresión de la influencia del fotoperiodo (Figuereido y Vieira, 2005).

Oleaje. Tanto la frecuencia como la altura de las olas pueden influir en la alimentación de los peces, así se ha observado que la trucha arco iris cesa su ingesta de alimento cuando la frecuencia de las olas



aumenta por encima de 0,28 Hz (Srivastava *et al.*, 1991). El oleaje debido a las tempestades en lugares como los rompientes de playas con fondos arenosos, influyen en los ritmos de alimentación de la lubina (Pickett y Pawson, 1994), comprobándose que los periodos de mayor ingesta de alimento coinciden con los de tempestad (Barnabé, 1991).

Corrientes de agua. La velocidad de la corriente de agua ejerce un efecto en la alimentación de los peces, ya que si la velocidad de la corriente es elevada la capacidad para capturar el alimento se ve reducida (Flore y Keckeis, 1998), mientras que una velocidad moderada puede mejorar la alimentación (Christiansen y Jobling, 1990; Jørgensen *et al.*, 1996). Se ha comprobado que los peces que realizan ejercicio, en corrientes de agua con una velocidad moderada, consumen una mayor cantidad de alimento (Jørgensen y Jobling, 1993). Además las corrientes elevadas transportan las señales olfatorias del alimento interfiriendo tanto positiva- como negativamente en la alimentación, si bien discriminar el posible efecto debido al transporte de las señales del efecto de las corrientes *per se*, es imposible frecuentemente.

En salmónidos como el salmón real (*Oncorhynchus tshawytscha*) y la trucha arco iris, las corrientes suaves no modifican el patrón de comportamiento alimentario, pudiendo alimentarse en ambas fases del foroperiodo, pero cuando la corriente del río es elevada son nocturnos y sólo se alimentan al anochecer (Bradford y Higgins, 2001).

Viento. La intensidad del viento modifica otros parámetros, así una elevada intensidad modifica el nivel de oxígeno aumentándolo (Boyd y Teichert-Coddington, 1992), aumenta la turbidez del agua y genera corrientes (Howerton y Boyd, 1992), parámetros todos ellos que intervienen en la ingesta de alimento, estando negativamente correlacionados (Mallek *et al.*, 1998). Por ejemplo, grabaciones de video han mostrado que la ingesta de alimento de *Notothenia coriiceps*, un predador demersal, se reduce considerablemente cuando la velocidad del viento excede los 8 m/s (North, 1996). El viento es el principal factor generador de turbulencia en el agua para las larvas, alcanzando unas intensidades de turbulencia óptimas para la alimentación a velocidades del viento de >10 - 15 m/s en larvas de bacalao Atlántico y de arenque del Atlántico (*Clupea harengus*) (Sundby *et al.*, 1994; Utne-Palm y Stiansen, 2002). Así mismo, la dirección del viento también puede



condicionar la ingesta de alimento. En el rodaballo y la lubina, se ha comprobado que la ingesta de alimento aumenta cuando el viento procede del mar con respecto a la ingesta que tiene lugar cuando el viento sopla desde tierra (Bégout Anras, 1995; Mallekh *et al.*, 1998), no obstante la posible causa de este fenómeno se desconoce.

Lluvia. La lluvia inhibe la ingesta de alimento y aumenta la actividad locomotora de los peces (Bégout Anras, 1995). Una lluvia intensa produce estratificación del agua, modificando su temperatura (Bégout Anras *et al.*, 2001) y aumentando la cantidad de oxígeno disuelto (Bégout Anras, 1995), afectando en consecuencia la ingesta de alimento. Así mismo, la lluvia y el oleaje pueden provocar movimientos verticales de los peces dentro de la columna de agua, haciéndolos desplazarse desde la superficie del agua a profundidades mayores, afectando a la ingesta de alimento al restringir la distribución de los peces a ciertas zonas de la columna de agua (Juell, 1995). Otra de las posibles causas de la disminución de la ingesta de alimento debida a la lluvia y el viento es el ruido que producen ambos factores (Lagardère *et al.*, 1994).

12.1.4. Factores químicos

El oxígeno, la salinidad, los compuestos nitrogenados y el pH (acidez) son factores que en ciertas cantidades resultan letales para los peces, pero los efectos de sus niveles subletales en la ingesta de alimento han sido investigados en pocas ocasiones, aunque se conoce bien su efecto en el crecimiento de los peces.

Oxígeno. Los peces presentan un metabolismo predominantemente aerobio, por lo que el oxígeno es un factor potencialmente limitante del metabolismo, especialmente cuando la temperatura es elevada. Las concentraciones bajas de oxígeno disuelto en el agua modifican la ingesta de alimento, la tasa de crecimiento, la eficacia alimentaria y el metabolismo de los peces (Brett, 1979; Jobling, 1994), lo que pone de manifiesto la gran importancia que tiene el nivel de oxígeno para los peces, especialmente cuando son mantenidos en condiciones de cultivo intensivo. El descenso de la concentración de oxígeno desde niveles de normoxia hasta niveles de hipoxia, reduce de una forma pronunciada la ingesta de alimento, el crecimiento y la eficacia alimentaria de diferentes especies, como por ejemplo el rodaballo y la lubina (The-



tmeyer *et al.*, 1999; Pichavant *et al.*, 2000). En condiciones de hipoxia la reducción de la ingesta de alimento puede ser considerada como una estrategia para reducir la demanda de energía por los tejidos, y por lo tanto, la demanda de oxígeno por los mismos (Van Dam y Pauly, 1995). Los estudios dedicados al efecto de la hiperoxia sobre la ingesta de alimento son muy escasos, pero se ha determinado que no existen diferencias significativas entre la ingesta de alimento, crecimiento y conversión del alimento de rodaballos expuestos a condiciones de normoxia e hiperoxia, apreciando un aumento en la acumulación de lípidos en los peces expuestos a supersaturación de oxígeno (Person-Le Ruyet *et al.* 2002).

Salinidad. Es un factor específico del medio acuático. La detección de la salinidad es un aspecto de primordial importancia para los peces, presentando para tal fin quimiorreceptores en las pseudobranquias (Laurent y Dunel-Erb, 1984). La ingesta de alimento se puede ver modificada por el nivel de salinidad dependiendo de la especie, estado de desarrollo, estación del año y periodo de aclimatación (Kestemont y Baras, 2001), así como en función de la interacción de la salinidad con la temperatura, nivel de oxígeno, pH, etc. Numerosos estudios muestran que el nivel de salinidad influye en el crecimiento de los animales afectando la ingesta total de alimento (Dendrinis y Torpe, 1985; Lambert *et al.*, 1994; Buckel *et al.*, 1995; Peterson-Curtis, 1997; Imsland *et al.*, 2001b), la tasa metabólica estándar (Woo y Kelly, 1995; Swanson, 1996; Dutil *et al.*, 1997), la eficiencia de conversión alimentaria (Arunachalam y Reddy, 1979; Lambert *et al.*, 1994; Likongwe *et al.*, 1996; Alava, 1998; Imsland *et al.*, 2001b) y la estimulación hormonal (McCormick, 1996; Bœuf y Payan, 2001; Handeland, 2000).

Generalmente la mayor ingesta de alimento tiene lugar a una salinidad intermedia (Klaoudatos y Conides, 1996; Partridge y Jenkins, 2002), pero como en toda generalización existen numerosas excepciones. Algunas especies, como la carpa de hierba (*Ctenopharyngodon idella*), la carpa común, la lubina y la platija Europea (*Paralichthys flesus*), aumentan su ingesta de alimento conforme aumenta la salinidad (Kilambi, 1980; Dendrinis y Torpe, 1985; Gutt, 1985; Wang *et al.*, 1997), por el contrario otras especies mantienen estable o aumentan su ingesta de alimento paralelamente a la disminución de la salinidad,



como por ejemplo el rodaballo (Imsland *et al.*, 2001b); disminuyen su ingesta con el aumento de la salinidad como el bacalao Atlántico, la dorada, la trucha arco iris y la chopa (*Acanthopagrus butcheri*) (McKay y Gjerde, 1985; Lambert *et al.*, 1994; Conides *et al.*, 1997; Partridge y Jenkins, 2002); o mantienen estable su ingesta independientemente de la salinidad, como la anchova de banco (*Pomatomus saltatrix*) y el perro chico (*Anarhichas minor*) (Buckel *et al.*, 1995; Foss *et al.*, 2001).

El periodo de adaptación a los cambios de salinidad es clave en cuanto a cambios de ingesta de alimento se refiere, y depende de la estación del año. Por ejemplo, la transferencia abrupta de agua salada a agua dulce en la trucha alpina produce una marcada reducción de la ingesta de alimento, y una pérdida de peso a corto plazo, durante el invierno, mientras que la transferencia gradual reduce dicho efecto. Por el contrario la transferencia abrupta en verano produce una pequeña reducción (Arnesen *et al.*, 1993a,b), lo que indica que la trucha alpina presenta cambios estacionales en su capacidad osmorreguladora, que a su vez influyen en su ingesta de alimento (Kestemont y Baras, 2001).

La lubina reduce la ingesta de alimento con la disminución de la salinidad de 25 ‰ a 7 y 0 ‰, mostrando una inhibición de la ingesta del 27 y 42 % para las salinidades de 7 y 0 ‰. Además dicha reducción de la salinidad modifica su patrón de selección de macronutrientes (Figura 3), ya que mientras que el porcentaje de selección de grasa se mantiene estable a las tres salinidades probadas, el porcentaje de CH se reduce y el de P aumenta significativamente conforme disminuye la salinidad. La tasa de crecimiento específica, el índice de eficacia alimentaria y el índice de eficacia proteica son afectados por el patrón de selección de macronutrientes, el cual a su vez es salinidad-dependiente (Rubio *et al.*, 2005). Estos resultados ponen de manifiesto la gran influencia que ejerce la salinidad en la ingesta de alimento y la selección de macronutrientes en una especie eurihalina, la lubina. Sin embargo, son necesarios estudios posteriores para determinar la composición óptima de la dieta en función de la salinidad, dada la posibilidad que ofrecen algunas especies, como la lubina, para ser cultivadas a diferentes salinidades, incluso en agua dulce.

Compuestos nitrogenados. Los compuestos nitrogenados tales como el amonio y los nitritos son factores contaminantes que, ade-

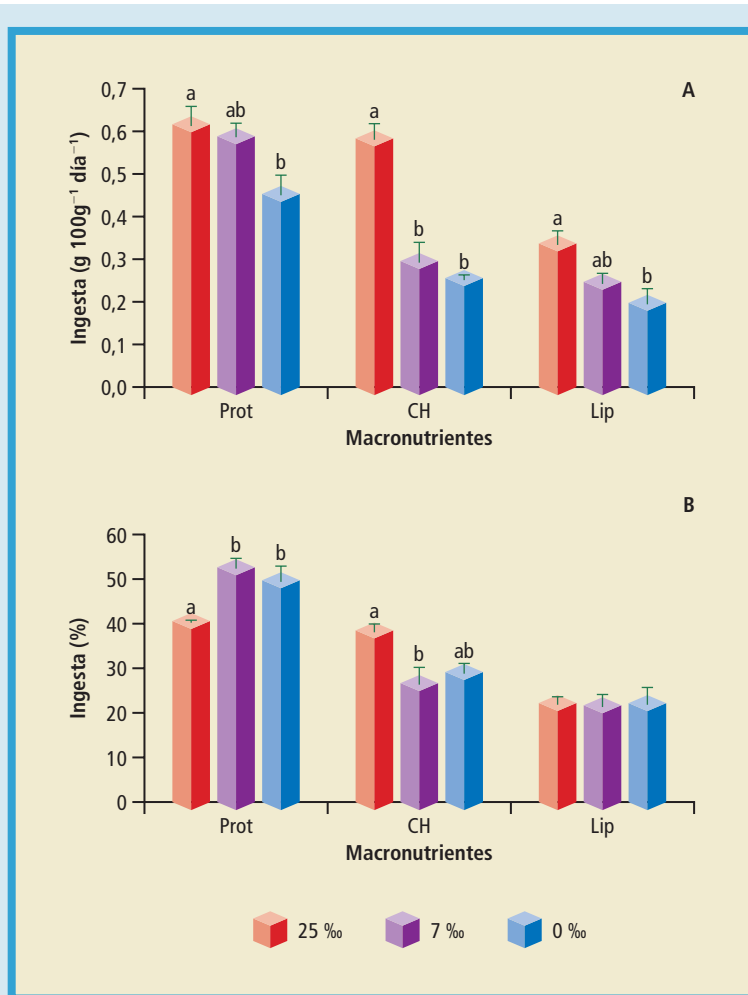


FIGURA 3.

Efecto de la disminución de la salinidad (25, 7 y 0 ‰) en el patrón de selección de macronutrientes expresados como: (a) ingesta de macronutrientes en g/100g p.c. por día; (b) porcentaje de macronutrientes ingeridos. Los valores representan la media \pm EEM de 8 grupos de 5 lubinas. Los diferentes superíndices indican diferencias estadísticamente significativas dentro de cada grupo de macronutrientes (ANOVA, $P < 0,05$). (Tomado de Rubio *et al.*, 2005).



más de perjudicar la salud de los peces, pueden afectar la ingesta de alimento. Concentraciones de amonio inferiores a 0,1 ppm no afectan la ingesta de alimento de la trucha lacustre (*Salvelinus namaycush*), niveles de 0,1 ppm disminuyen temporalmente la ingesta, mientras que valores de 0,3 ppm producen una gran disminución de la ingesta de alimento, disminución que fue mayor en peces alimentados con una dieta rica en proteína (Beamish y Tandler, 1990). El efecto observado a consecuencia del amonio en la trucha lacustre fue similar al del rodaballo, el cual a una concentración por debajo de 0,4 mg/l disminuye significativamente su ingesta durante la primera semana, sin embargo transcurrido este periodo el rodaballo se adapta y regula completamente su ingesta. Por el contrario entre 0,4 y 0,7 mg/l sólo la regula parcialmente y con niveles superiores no consigue regularla, permaneciendo drásticamente inhibida (Person-Le Ruyet *et al.*, 1997).

Se ha descrito que determinadas especies, como el bacalao Atlántico, son relativamente tolerantes al NH_3 , pero dado que la toxicidad del amonio es afectada por diversos factores medioambientales como el oxígeno disuelto (Foss *et al.*, 2003), el pH (Thurston *et al.*, 1981) y la salinidad (Sampaio *et al.*, 2002), la calidad del agua debe ser rigurosamente controlada, y no exclusivamente por su posible efecto negativo en la alimentación.

Pero no todos los efectos producidos por el amonio en la alimentación son negativos. Morgan *et al.*, (2001) encontraron que truchas arco iris expuestas a una concentración baja de amoniaco de 70 μg de T_{Amm} ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$) mantuvieron estable su ingesta, mostrando un mayor crecimiento y una mayor síntesis de proteína que los controles (7 μg), lo que sugiere que los peces pueden utilizar los niveles bajos de amonio como un substrato adicional para la síntesis proteica.

Otros factores tóxicos y contaminantes. A menudo el agua, a consecuencia de la acción humana, contiene sustancias tóxicas o contaminantes que puede afectar a la ingesta de alimento y por tanto al crecimiento de los peces. Así, por ejemplo, podemos encontrar metales pesados vertidos por la industria; fertilizantes, herbicidas y pesticidas derivados de la agricultura e incluso antibióticos y otras sustancias procedentes de los tratamientos terapéuticos y profilácticos que suministramos, en el caso de los circuitos cerrados.



Metales pesados. En general podríamos decir que disminuyen la ingesta de alimento, si bien su efecto depende del tipo de metal pesado, de su concentración, de la especie, y de la interacción con otros factores medioambientales, como por ejemplo la temperatura, pH, sales disueltas, etc.

Se ha descrito que el aluminio a concentraciones subletales disminuye drásticamente la ingesta de alimento del *Phoxinus phoxinus* y de larvas de salmón atlántico y de trucha común (*Salvelinus fontinalis*) a diferentes niveles del pH (Cleveland *et al.*, 1991; Norrgren *et al.*, 1991; Buckler *et al.*, 1995). El arsénico disminuye la ingesta en coregono de lago (*Coregonus clupeaformis*) y trucha arco iris, aunque dicha reducción en la trucha depende del tipo de arsénico suministrado (Cockell y Hilton, 1988; Pedlar *et al.*, 2002). Un hecho similar tiene lugar con el mercurio, el cual en forma de metilmercurio reduce la ingesta en el salmón Atlántico, mientras que el mercurio inorgánico no la afecta (Berntssen *et al.*, 2003).

Mención aparte merecen otros metales pesados que, siendo micronutrientes esenciales para los peces, pueden actuar como sustancias tóxicas dependiendo de su concentración en el medio. Por ejemplo, se ha determinado que una concentración de cobre de 2000 mg/kg dieta (25 mg Cu/Kg pez/día) induce una disminución de la ingesta y crecimiento en la tilapia del Nilo, que persistió cuando cesó la administración de cobre (Shaw y Handy, 2006). En el caso del selenio, otro micronutriente esencial, es su combinación con bajas temperaturas la que disminuye la ingesta del pez sol (*Lepomis macrochirus*), mientras que a elevadas temperaturas no la modifica (Lemly, 1993).

Anteriormente hemos indicado que en general los metales pesados a concentraciones subletales disminuyen la ingesta de alimento, pero como en toda generalización podemos encontrar numerosas excepciones, así en la trucha arco iris se ha descrito que el vanadio y el cadmio reducen la ingesta, el zinc y la de plata no la modifican y el cobre la aumenta (Hilton y Bettger, 1988; McGeer *et al.*, 2000; Galvez *et al.*, 2001).

Fertilizantes, herbicidas y pesticidas. El uso extensivo de dichas sustancias químicas por la agricultura contamina el agua, produciendo efectos negativos en la ingesta de alimento, crecimiento e índices de conversión de los peces. Así por ejemplo, la potasa (KOH) y la delata-



metrina administradas en concentraciones subletales disminuyen la ingesta de alimento de la tilapia de Mozambique (*Oreochromis mossambicus*) en un 33 y 25 % respectivamente, pero cuando se administran de forma conjunta la disminuyen un 49 %, así como el crecimiento que queda inhibido en un 64, 39 y 76 % respectivamente. Los resultados muestran, no sólo los efectos negativos de los herbicidas y fertilizantes, sino como se potencia su efecto cuando se produce su interacción (Vijayavel y Balasubramanian, 2007). El herbicida 2,3,7,8-tetracloro-dibenzo-p-dioxina (2,3,7,8-TCDD) disminuye la ingesta en carpa común y salmón plateado (*Oncorhynchus kisutch*) (Millar *et al.*, 1979; van der Weiden *et al.*, 1992). El pesticida permetrina (NRDC-143) disminuye la ingesta de la trucha arco iris al principio de su exposición, pero posteriormente hay una recuperación e incluso sobreingesta de alimento (Kumaraguru y Beamish, 1986). El pentaclorofenol (PCP), un biocida utilizado para preservar la madera y el papel, reduce la ingesta de alimento en la perca atruchada (Mathers *et al.*, 1985). En el PCP tenemos un ejemplo claro del efecto dosis dependiente de estos compuestos, ya que el pez sol a una concentración de 173 µg/L disminuye la ingesta un 29 %, mientras que a una dosis de 48 µg/L, si bien induce una disminución del 10 %, no la reduce significativamente (Samis *et al.*, 1993).

Agentes quimioterapéuticos y profilácticos. Son pocos los estudios que aborden el efecto de dichos agentes en la ingesta de alimento, pero de ellos se deduce que la reducen en mayor o menor medida en función de la dosis, la especie y su interacción con otros parámetros medioambientales. Se ha descrito que la eritromicina, oxitetraciclina, el ácido oxólinico, la ivermectina y la cloramina-T disminuyen la ingesta de alimento en trucha arco iris (Piper, 1961; Hustvedt *et al.*, 1991; Johnson *et al.*, 1993; Sánchez *et al.*, 1996), así como que la ivermectina reduce o cesa la alimentación en otros salmonidos como el salmón real, plateado y Atlántico (Johnson *et al.*, 1993).

12.2. FACTORES BIÓTICOS

Están basados en las interacciones que se producen entre organismos. Entre los factores bióticos encontramos la densidad de cultivo, la estructura social, la disponibilidad de presas, las perturbaciones humanas, la presencia de depredadores, parásitos, etc



12.2.1. Estructura social

Dentro de una misma especie los grupos de peces desarrollan relaciones jerárquicas entre ellos, apareciendo individuos dominantes frente a individuos subordinados. El establecimiento de dichas relaciones jerárquicas puede deberse a numerosos factores, así en trucha arco iris se han descrito: el abastecimiento de alimento, la densidad de población, la velocidad del agua, la presencia de depredadores, de sitios donde resguardarse, la estructura física del fondo y la competición inter- e intraespecífica, siendo de todos ellos los de mayor importancia el abastecimiento de alimento y la densidad de población (Alanärä, 1996), pero también podemos encontrar otros factores implicados, como la heterogeneidad de tamaño y el ratio sexual.

En general se ha descrito la existencia de una monopolización del comedero por los peces dominantes que bloquean su acceso a los peces subordinados, y por tanto, no les permite alimentarse adecuadamente, por lo que su crecimiento se ve afectado (Alanärä y Brännäs, 1996) y, en consecuencia, aumentan las diferencias de tamaño. En situaciones de alimentación a demanda, las truchas alpinas de mayor tamaño son las dominantes, las que activan el sensor alimentario, mientras que en la trucha arco iris no hay diferencias de tamaño entre los individuos que predominantemente lo activan (Alanärä y Brännäs, 1996). Para eludir a los individuos dominantes algunos peces pueden exhibir un cambio en el patrón de comportamiento alimentario, alimentándose en el periodo del día contrario al preferido por los dominantes (que suele ser el más beneficioso). Este tipo de establecimiento de relaciones sociales y de cambios en el comportamiento alimentario ha sido descrito en numerosas especies entre las que podemos encontrar a la trucha común (*Salmo trutta*), trucha arco iris, trucha alpina, lubina y el pargo (*Pagrus pagrus*) (Alanärä y Brännäs, 1996; Jobling y Koskela, 1996; Alanärä *et al.*, 2001; Maragoudaki *et al.*, 2001; Paspatis *et al.*, 2003).

12.2.2. Densidad de cultivo

La dominancia social ha mostrado determinar la capacidad competitiva para demandar alimento. Dentro de grupos pequeños (baja densidad de cultivo) de truchas auto-alimentadas, uno o dos individuos son



los que realizan la mayoría de las demandas de alimento dentro del mismo (Adron *et al.*, 1973; Landless, 1976; Alanära y Brännäs, 1993, 1996; Brännäs y Alanära, 1994). Pero la densidad de cultivo es un aspecto determinante en el establecimiento de dicha jerarquía social, ya que se ha observado que conforme aumenta el tamaño del grupo disminuye la tasa de agresión debido a que, bajo estas condiciones, los repetidos ataques por parte de los dominantes, para defender una posición o una fuente de alimento, no pueden ser mantenidos (Jørgensen *et al.*, 1993). Sin embargo, pese a la observación de la disminución de la dominancia con el aumento del tamaño del grupo, se han encontrado pruebas de dominancia social en grupos de truchas de todas las densidades (Alanära y Brännäs, 1996).

La densidad de cultivo es un factor que ejerce una pronunciada influencia en el crecimiento, mortalidad, eficacia alimentaria y heterogeneidad de tamaño de muchas especies de peces cultivados (Jørgensen *et al.*, 1993; Ewing *et al.*, 1998; Irwin *et al.*, 1999; Maragoudaki *et al.*, 1999, 2001; Lambert y Dutil, 2001; Jonassen, 2002; Paspatis *et al.*, 2003). Una vez más la estacionalidad también está implicada en los efectos producidos por la densidad de cultivo, ya que se ha determinado que mientras que una baja densidad disminuye el crecimiento y aumenta la mortalidad en el pargo durante los meses de verano, durante el resto del año permanecen estables el crecimiento, la mortalidad y la eficacia alimentaria, independientemente de la densidad del grupo (Maragoudaki *et al.*, 2001).

Se ha demostrado que la densidad de cultivo afecta al comportamiento alimentario, a la cantidad de alimento demandado y a la pérdida de alimento a causa del estrés y de la estructura social que se establece dentro del grupo (Alanära y Brännäs, 1996). La existencia de una relación inversa entre densidad de cultivo y crecimiento, así como eficacia alimentaria, en una gran variedad de especies, como la lubina, pargo, rodaballo, perro chico, bacalao, (Irwin *et al.*, 1999; Maragoudaki *et al.*, 1999; Lambert y Dutil, 2001; Jonassen, 2002; Paspatis *et al.*, 2003), es generalmente aceptada dentro de ciertos límites, si bien las explicaciones a la posible causa que la provocan difieren entre autores, proponiéndose la competición (Irwin *et al.*, 1999), la limitación de espacio (Ewing *et al.*, 1998) y la disponibilidad de alimento (Irwin *et*



al., 1999; Lambert y Dutil, 2001) y, por tanto, la ingesta de alimento (Jørgensen *et al.*, 1993; Lambert y Dutil, 2001; Almazán Rueda, 2004). De lo anteriormente expuesto, se podría deducir que el efecto de la densidad de cultivo en la ingesta de alimento, crecimiento, eficacia alimentaria y mortalidad, depende de la especie estudiada (Cuadro 3).

12.2.3. Predadores

El comportamiento alimentario de los peces presenta cambios que pueden estar asociados a la presencia de predadores en el medio. Ciertos peces, como el pez sol (*Lepomis macrochirus*) y el salmón Atlántico, en presencia de uno de sus predadores transcurren más tiempo en áreas con poco alimento pero con más zonas de refugio, eludiendo zo-

CUADRO 3.

Efecto de la elevada densidad de cultivo en el crecimiento (C), eficacia alimentaria (EA) y mortalidad (M) de diferentes especies de peces.

Especie	C	EA	M	Fuente bibliográfica
<i>Anarhichas minor</i>	↓	–	↑	Jonassen, 2002
<i>Clarias gariepinus</i>	↑	↓	=	Almazán Rueda, 2004
<i>Clarias gariepinus</i>	=	–	=	Hengsawat <i>et al.</i> , 1997
<i>Dicentrarchus labrax</i>	↓	↓	↑	Paspatis <i>et al.</i> , 2003
<i>Dicentrarchus labrax</i> (°)	↓ (=)	–	↑ (=)	Kestemont <i>et al.</i> , 2003
<i>Gadus morhua</i>	↓	↓	↑	Lambert y Dutil, 2001
<i>Gadus morhua</i> (°)	= (↓)	–	= (↓)	Baskerville-Bridges y Kling, 2000
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	↓	–	↑	Holm <i>et al.</i> , 1990
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	↓	–	↑	Papoutsoglou <i>et al.</i> , 1987
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	↓	=	=	Ewing <i>et al.</i> , 1998
<i>Pagrus pagrus</i> (*)	= (↑)	= (–)	= (↑)	Maragoudaki <i>et al.</i> , 2001
<i>Pagrus pagrus</i> (**)	= (↓)	= (=)	= (=)	Maragoudaki <i>et al.</i> , 1999
<i>Perca fluviatilis</i> (°)	↓ (↑)	–	↑ (↓)	Kestemont <i>et al.</i> , 2003
<i>Salvelinus alpinus</i>	↑	–	↓	Jørgensen <i>et al.</i> , 1993
<i>Scophthalmus maximus</i>	↓	–	↑	Irwin <i>et al.</i> , 1999

(°) Entre paréntesis los resultados obtenidos para larvas, fuera del paréntesis para post-larvas

(°) Entre paréntesis los resultados obtenidos con disponibilidad de alimento restringida.

(*) Entre paréntesis los resultados obtenidos durante el verano, fuera del paréntesis el resto del año.

(**) Entre paréntesis los resultados obtenidos durante la primavera, fuera del paréntesis en invierno.



nas abiertas (Werner *et al.*, 1983; Metcalfe *et al.*, 1987); otras especies permanecen escondidas durante ciertas horas del día, evitando las áreas peligrosas o escapando de los predadores (Smith, 1992); mientras que otros peces aprovechan para conseguir alimento en el periodo del día en el que sus predadores no son activos o pueden reaccionar al riesgo de predación reduciendo su actividad o aumentando el uso de refugios (Smith, 1992). La trucha común, se alimenta durante el anochecer y al principio del periodo de oscuridad, cuando el riesgo de predación es menor pero la alimentación es efectiva (Alanärä *et al.*, 2001). Cuando existe presencia de predadores, el carpín (*Carassius carassius*) cambia su patrón alimentario de nocturno a arrítmico (Pettersson *et al.*, 2001). La estrategia consistente en cambiar el periodo de alimentación para evitar la presencia de predadores visuales ha sido observada también en salmón Atlántico, el cual en invierno aumenta la seguridad, pero disminuye su eficacia de alimentación (Fraser y Metcalfe, 1997; Nicieza y Metcalfe, 1997). El salmón Atlántico en invierno es una especie predominantemente nocturna, consiguiendo evitar el riesgo de predación, pero a temperaturas elevadas presenta mayores requerimientos energéticos teniendo que cambiar su momento de alimentación para poder satisfacer sus necesidades nutricionales, aumentando el riesgo de predación (Fraser *et al.*, 1993, 1995).

Todas estas estrategias para eludir la predación están profundamente marcadas por la disponibilidad de alimento, ya que cuando no hay restricciones alimentarias los movimientos en busca de alimento se ven limitados por la presencia de predadores, mientras que cuando la cantidad de alimento es restringida, los peces aumentan la búsqueda de alimento aún en presencia de predadores (Figura 4) (Werner *et al.*, 1983; Magnhagen, 1988; Johnsson *et al.*, 2001; Vehanen, 2003), pasando menos tiempo en los refugios y, consecuentemente, aumentando el riesgo de ser capturados en los peces hambrientos respecto de los peces saciados (Höjesjö *et al.*, 1999; Vehanen, 2003).

12.2.4. Perturbaciones humanas

El ser humano es uno de los principales factores bióticos medioambientales, interfiriendo en el comportamiento alimentario de los peces por diversos procedimientos rutinarios desarrollados en la piscifactoría

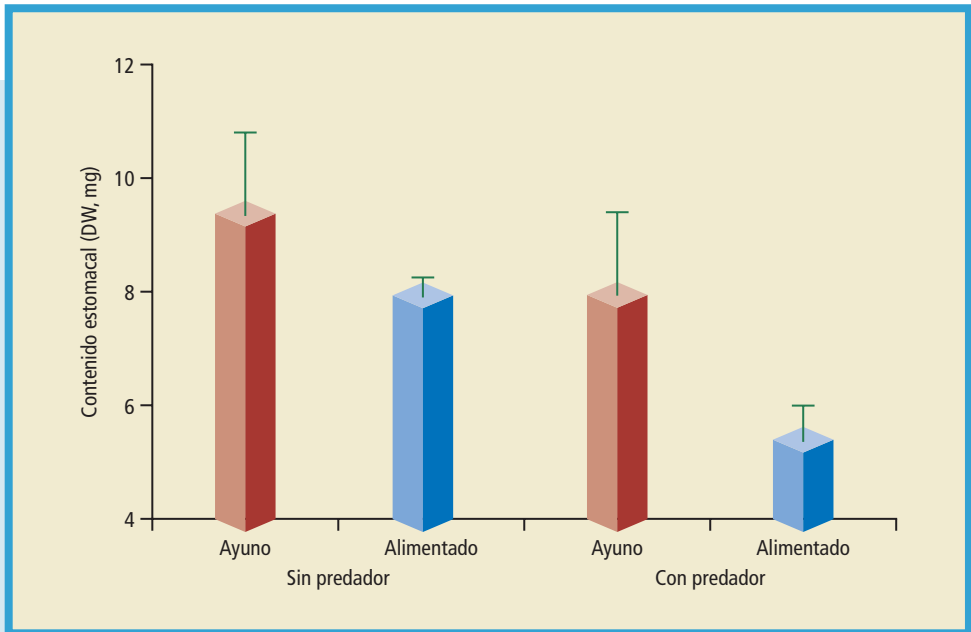


FIGURA 4.

Efecto de la presencia de predadores (bacalao) en la ingesta de alimento del gobio de arena (*Pomatoschistus minutus*) ayunados durante una semana. Predadores y presas se encontraban separados por una combinación de paredes opacas y transparentes que le permitían a los gobios refugiarse de los bacalaos (Modificado de Magnhagen, 1988).

como pueden ser la manipulación de los peces, la limpieza de los tanques, la profilaxis y tratamiento de enfermedades y la administración de alimento a los peces (Kestemont y Baras, 2001). Así por ejemplo, las perturbaciones producidas por la manipulación de los peces, debidas a los procesos de pesada de los animales o de transferencia, producen una reducción de la ingesta de alimento que puede prolongarse por periodos de varias horas o incluso días (Boujard *et al.*, 1992b). Pero las perturbaciones humanas no siempre producen una reducción de la ingesta de alimento. Se ha observado que juveniles de trucha arco iris alojados en tanques próximos a los pasillos más utilizados de una piscifactoría, aumentan su ingesta de alimento respecto a los animales confinados en tanques alejados de dichos pasillos, donde el nivel de perturbación es poco frecuente. Dichas truchas exhiben una sobrein-



gesta adicional de aproximadamente el 2 % en los pasillos donde la presencia humana es frecuente y del 7 % en los que es muy frecuente (Speare *et al.*, 1995).

12.2.5. Disponibilidad de presas (alimento): Alimentación

En la naturaleza la alimentación de las especies piscívoras está sujeta a la disponibilidad de presas en el medio, así como a su densidad, como por ejemplo la merluza norteamericana (*Merluccius bilinearis*), que en los 90 aumentó su ingesta de arenque del Atlántico en el ecosistema nororiental de U.S.A. como consecuencia de un aumento en la presencia de arenques en el medio (Overholtz *et al.*, 2000). Estos cambios pueden producirse tanto a lo largo del día como durante las diferentes estaciones.

Dicha variabilidad no sólo condiciona la cantidad de alimento, sino que también induce cambios en la dieta ingerida como ocurre, por ejemplo, en la ingesta a lo largo del día del pez sable (*Trichiurus lepturus*) o a lo largo del año en la trucha común y el verrugato de Manchuria (*Pseudosciaena polyactis*) o en la ingesta diaria y estacional del rutilo (*Rutilus rutilus*) (Kreivi *et al.*, 1999; Haertel y Eckmann, 2002; Xue *et al.*, 2005; Chiou *et al.*, 2006).

No obstante, los cambios dietarios pueden no relacionarse con la disponibilidad del alimento o con el desarrollo ontogénico del animal, como ocurre en la perca (*Perca fluviatilis*), que se alimenta consumiendo predominantemente peces durante agosto-enero, mientras que lo hace preferentemente con invertebrados bénticos de febrero a junio (Jacobsen *et al.*, 2002). Este último comportamiento alimentario sugiere la posibilidad de cambios dietarios como consecuencia de preferencias nutricionales que podrían deberse a la calidad nutricional de las presas, o al estatus fisiológico del animal, como ciclos reproductores, migratorios, o que podrían deberse a ciclos diarios de secreciones enzimáticas que preparen al animal para digerir un tipo concreto de dieta. La posibilidad de una preparación fisiológica circadiana para digerir diferentes tipos de dieta podría ser acreditada por los resultados obtenidos en lubina que, como se describió con anterioridad, cuando tiene la posibilidad de elegir entre dietas para hábitos carnívoros, omnívoros y herbívoros, selecciona la dieta para carnívoros durante el periodo de



iluminación, mientras que selecciona las dieta para herbívoros y omnívoros a lo largo de todo el día (Paspatis *et al.*, 2002). Dicha posibilidad debería ser definitivamente corroborada y tomada en cuenta a la hora de diseñar estrategias de alimentación para optimizar el cultivo de las diferentes especies de peces.

Normalmente las dos principales cuestiones que se plantean en relación con la estrategia de alimentación a utilizar son: (a) la cantidad de alimento que debe ser suministrado a los peces en función de los numerosos factores bióticos y abióticos que determinan el apetito de los animales, así como sus requerimientos nutricionales y (b) la forma en que debe ser dispensado dicho alimento con respecto al momento del día, la duración de la alimentación, el número de alimentaciones por día y la cantidad de alimento suministrado. Estos factores serán profusamente tratados en el capítulo siguiente (Cap. XIV), por lo que para evitar solapamientos, sólo se indicará su gran importancia en la alimentación de los peces.

Como se podrá constatar en el capítulo siguiente son numerosos y diversos los trabajos dedicados al estudio de la influencia de la estrategia de alimentación en la ingesta de alimento y el crecimiento (Alanärä, 1992a,b; Anthouard *et al.*, 1993; Divanach *et al.*, 1993; Brännäs y Alanärä, 1994; Boujard *et al.*, 1995; Sánchez-Vázquez *et al.*, 1995b; Gélineau *et al.*, 1996; Azzaydi *et al.*, 1998,1999, 2000) y han revelado que la estrategia de alimentación es fundamental en el cultivo intensivo de peces, ya que puede afectar de forma negativa al crecimiento de los peces y los índices de conversión, bien por una inadecuada relación alimento distribuido-alimento ingerido, o por un ineficaz aprovechamiento nutritivo del alimento ingerido, pudiendo todo ello influir, no sólo en el crecimiento del pez, sino también en su composición corporal y, por tanto, en la calidad de su carne.

CONCLUSIÓN

Dado que son múltiples los factores medioambientales implicados en el control de la ingesta de alimento, así como la interrelación existente entre ellos, lo idóneo sería monitorizar y controlar, de acuerdo con la idiosincrasia propia de la piscifactoría, el máximo posible de



dichos factores para poder minimizar su posible efecto negativo en la ingesta de alimento y bienestar de los peces y, consecuentemente, optimizar la productividad de la empresa.

BIBLIOGRAFÍA

- ADRON, J. W., GRANT, P. T., and C. B. COWEY, 1973 A system for the quantitative study of the learning capacity of rainbow trout and its application to the study of food preferences and behaviour. *J. Fish Biol.* 5: 625-636.
- ALANÄRÄ, A., 1992a The effect of time-restricted demand feeding on feeding activity, growth, and feed conversion in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 108: 357-368.
- ALANÄRÄ, A., 1992b Demand feeding as a self-regulating feeding system for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in net-pens. *Aquaculture* 108: 347-356.
- ALANÄRÄ, A., 1996 The use of self-feeders in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) production. *Aquaculture* 195: 1-20.
- ALANÄRÄ, A., and E. BRÄNNÄS, 1993 A test of the individual feeding activity and food size preference in rainbow trout using demand feeders. *Aquacult. Int.* 1: 47-54.
- ALANÄRÄ, A., and E. BRÄNNÄS, 1996 Dominance in demand-feeding behaviour in Arctic charr and rainbow trout, the effect of stocking density. *J. Fish Biol.* 48: 242-254.
- ALANÄRÄ, A., BURNS, M. D., and N. B. METCALFE, 2001 Intraspecific resource partitioning in brown trout: the temporal distribution of foraging is determined by social rank. *J. Anim. Ecol.* 70: 980-986.
- ALAVA, V. R., 1998 Effect of salinity, dietary lipid source and level on growth of milkfish (*Chanos chanos*) fry. *Aquaculture* 167: 229-236.
- ALMAZÁN RUEDA, P., 2004 Towards assessment of welfare in African catfish, *Clarias gariepinus*: the first step. Tesis Doctoral. Wageningen University, The Nederland.
- AMANO, M., IIGO, M., FURUKAWA, K., TABATA, M. and K. YAMAMORI, 2006 Photocircadian regulation of self-feeding activity in ayu. *Fish. Sci.* 72: 250-255.
- AMUNDSEN, P.-A., BERGERSEN, R., HURU, H., and T. G. HEGGBERGET, 1999 Diel feeding rhythms and daily food consumption of juvenile Atlantic salmon in the River Alta, northern Norway. *J. Fish Biol.* 54: 58-71.
- AMUNDSEN, P.-A., GABLER, H.-M., HERFINDAL, T., and L. S. RIISE, 2000 Feeding chronology of Atlantic salmon parr in subarctic rivers: consistency of nocturnal feeding. *J. Fish Biol.* 56: 676-686.
- ANTHOUDARD, M., KENTOURI, M., and P. DIVANACH, 1993 An analysis of feeding activities of sea-bass (*Dicentrarchus labrax*, Moronidae), raised under different lighting conditions. *Ichthyophysiol. Acta* 16: 59-73.



- ARANDA, A., MADRID, J. A., ZAMORA, S., and F. J. SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, 1999a Synchronizing effect of photoperiod on the dual phasing of demand-feeding rhythms in sea bass. *Biol. Rhythm Res.* 30: 392-406.
- ARANDA, A., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J., and J. A. MADRID, 1999b Influence of water temperature on demand-feeding rhythms in sea bass. *J. Fish Biol.* 55: 1029-1039.
- ARNENSEN, A. M., JØRGENSEN, E. H., and M. JOBLING, 1993a Feed intake, growth and osmoregulation in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.) transferred from freshwater to saltwater at 8 °C during summer and winter. *Fish Physiol. Biochem.* 12: 281-292.
- ARNENSEN, A. M., JØRGENSEN, E. H., and M. JOBLING, 1993b Feed intake, growth and osmoregulation in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.) following abrupt transfer from freshwater to more saline water. *Aquaculture* 114: 327-338.
- ARUNACHALAM, S., and S. R. REDDY, 1979 Food intake, growth, food conversion, and body composition of catfish exposed to different salinities. *Aquaculture* 16: 163-171.
- AZZAYDI, M., MADRID, J. A., ZAMORA, S., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J., and F. J. MARTÍNEZ, 1998 Effect of three feeding strategies (automatic, *ad libitum* demand-feeding and time-restricted demand-feeding) on feeding rhythms and growth in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture* 163: 285-296.
- AZZAYDI, M., MARTÍNEZ, F. J., ZAMORA, S., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J., and J. A. MADRID, 1999 Effect of meal size modulation on growth performance and feeding rhythms in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *Aquaculture* 170: 253-266.
- AZZAYDI, M., MARTÍNEZ, F. J., ZAMORA, S., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J., and J. A. MADRID, 2000 The influence of nocturnal vs. diurnal feeding under winter conditions on growth and feed conversion of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *Aquaculture* 182: 329-338.
- BARAS, E., 2000 Day-night alternation prevails over food availability in synchronising the activity of *Piaractus brachypomus* (Characidae). *Aquat. Living Resour.* 13: 115-120.
- BARNABÉ, G., 1991 *Acuicultura*. Vol. II. Omega, Barcelona.
- BASKERVILLE-BRIDGES, B., and L. J. KLING, 2000 Larval culture of Atlantic cod (*Gadus morhua*) at high stocking densities. *Aquaculture* 181: 61-69.
- BEAMISH, F. W. H., and A. TANDLER, 1990 Ambient ammonia, diet and growth in lake trout. *Aquat. Toxicol.* 17: 155-156.
- BÉGOUT ANRAS, M. L., 1995 Demand-feeding behaviour of sea bass kept in ponds: diel and seasonal patterns, and influences of environmental factors. *Aquacult. Int.* 3: 186-195.
- BÉGOUT ANRAS, M. L., BEAUCHAUD, M., JUELL, J. E., COVÈS, D., and J.-P. LAGARDÈRE, 2001 Environmental factors and feed intake: rearing systems, pp. 189-215



- in Food Intake in Fish, edited by D. Houlihan, T. Boujard and M. Jobling. Blackwell Science, Cornwall.
- BERNTSEN, M. H. G., AATLAND, A., and R. D. HANDY, 2003 Chronic dietary mercury exposure causes oxidative stress, brain lesions, and altered behaviour in Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr. Aquat. Toxicol. 65: 55-72.
- BOLUDA NAVARRO, D., RUBIO, V. C., LUZ, R. K., MADRID, J. A., and F. J. SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, 2009 Daily feeding rhythms of Senegalese sole under laboratory and farming conditions using self-feeding systems. Aquaculture doi: 10.1016/j.aquaculture.2009.02.039.
- BOUJARD, T., 1995 Diel rhythms of feeding activity in the European catfish, *Silurus glanis*. Physiol. Behav. 58: 641-645.
- BOUJARD, T., and J. F. LEATHERLAND, 1992 Demand-feeding behaviour and diel pattern of feeding activity in *Oncorhynchus mykiss* held under different photoperiod regimes. J. Fish Biol. 40: 535-544.
- BOUJARD, T., and P. LUQUET, 1996 Rythmes alimentaires et alimentation chez les siluroidei. Aquat. Living Resour. 9: 113-120.
- BOUJARD, T., KEITH, P., and P. LUQUET, 1990 Diel cycle in *Hoplosternum littorale* (Teleostei): evidence for synchronization of locomotor, air breathing and feeding activity by circadian alternation of light and dark. J. Fish Biol. 36: 133-140.
- BOUJARD, T., MOREAU, Y., and P., 1992a Luquet. Diel cycles in *Hoplosternum littorale* (Teleostei): entrainment of feeding activity by low intensity colored light. Environmental Biology of Fishes 35: 301-309.
- BOUJARD, T., DUGY, X., GENNER, D., GOSSET, C., and G. GRIG, 1992b Description of a modular, low cost, eater meter for the study of feeding behavior and food-preferences in fish. Physiol. Behav. 52: 1101-1106.
- BOUJARD, T., GÉLINEAU, A., and G. CORRAZE, 1995 Time of a single daily meal influences growth performance in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquacult. Res. 26 : 341-349.
- BOYD, C. E and D. TEICHERT-CODDINGTON, 1992 Relationship between wind speed and reaeration in small aquaculture ponds. Aquacult. Eng. 11: 121-131.
- BRADFORD, M. J., and P. S. HIGGINS, 2001 Habitat-, season-, and size-specific variation in diel activity patterns of juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*). Can. J. Fish. Aquat. Sci. 58: 365-374.
- BRETT, J. R. 1971 Energetic responses of salmon to temperature. A study of some thermal relations in the physiology and freshwater ecology of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). Am. Zool. 11: 99-113.
- BRETT, J. R., 1979 Environmental factors and growth, pp. 599-675 in Fish Physiology, Vol. 8, edited by W. S. Hoar, D. J. Randall and J. R. Brett. Academic Press, New York.



- BRÄNNÄS, E., and A. ALANÄRÄ, 1994 Effect of reward level on individual variability in demand feeding activity and growth rate in Arctic charr and rainbow trout. *J. Fish Biol.* 45: 423-434.
- BUCKEL, J. A., STEINBERG, N. D., and D. O. CONOVER, 1995 Effects of temperature, salinity, and fish size on growth and consumption of juvenile bluefish. *J. Fish Biol.* 47: 696-706.
- BUCKLER, D. R., CLEVELAND, L., LITTLE, E. E., and W. G. BRUMBAUGH, 1995 Survival, sublethal responses, and tissue residues of Atlantic salmon exposed to acidic pH and aluminum. *Aquat. Toxicol.* 31: 203-216.
- BUENTELLO, J. A., GATLIN III, D. M., and W. H. NEILL, 2000 Effects of water temperature and dissolved oxygen on daily feed consumption, feed utilization and growth of channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture* 182: 339-352.
- BUREL, C., LE-RUYET, J. P., GAUMET, F., LE ROUX, A., SÉVÈRE, A., and G. BŒUF, 1996 Effects of temperature on growth and metabolism in juvenile turbot. *J. Fish Biol.* 49: 678-692.
- BUREL, C., ROBIN, J., and T. BOUIJARD, 1997 Can turbot, *Psetta maxima*, be fed with self-feeders? *Aquat. Living Resour.* 10: 381-384.
- BŒUF, G., and P. L. BAIL, 1999 Does light have an influence on fish growth? *Aquaculture* 177: 129-152.
- BŒUF, G., and P. PAYAN, 2001 How should salinity influence fish growth? *Comp. Biochem. Physiol.* 130C: 411-423.
- CAÑAVATE, J.P., ZEROLO, R., and C. FERNÁNDEZ-DÍAZ, 2006. Feeding and development of Senegal sole (*Solea senegalensis*) larvae reared in different photoperiods. *Aquaculture* 258: 368-377.
- CHEN, W.-M., PURSER, J., and P. BLYTH, 1999. Diel feeding rhythms of greenback flounder *Rhombosolea tapirina* (Günther 1862): the role of light-dark cycles and food deprivation. *Aquacult. Res.* 30: 529-537.
- CHIOU, W.-D., CHEN, C.-Y., WANG, C.-M., and CHEN, C.-T., 2006 Food and feeding habits of ribbonfish *Trichiurus lepturus* in coastal waters of south-western Taiwan. *Fish. Sci.* 72: 373-381.
- CHRISTIANSEN, J. S., and M. JOBLING, 1990 The behaviour and the relationship between food intake and growth in juvenile Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L., subjected to sustained exercise. *Can. J. Zool.* 68: 2185-2191.
- CLEVELAND, L., LITTLE, E.E., INGERSOLL, C. G., WIEDMEYER R.H., and J. B. HUNN, 1991 Sensitivity of brook trout to low pH, low and elevated aluminum concentrations during laboratory pulse exposures. *Aquat. Toxicol.* 19: 303-317.
- COCKELL K. A., and J. W. HILTON, 1988 Preliminary investigations on the comparative chronic toxicity of four dietary arsenicals to juvenile rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Aquat. Toxicol.* 12: 73-82.



- CONIDES, A. J., PARPOURA, A. R., and G. FOTIS, 1997 Study on the effects of salinity on the fry of the euryhaline species gilthead sea bream (*Sparus aurata* L. 1758). *J. Aquacult. Trop.* 12: 297-303.
- CRESCÊNCIO, R., ITUASSÚ, D. R., ROUBACH, R., PEREIRA-FILHO, M., CAVERO, B. A. S., and A. L. GANDRA, 2005 Influência do período de alimentação no consumo e ganho de peso do pirarucu. *Pesq. agropec. Bras.* 40: 1217-1222.
- DANIELS, H. V., BERLINSKY, D. L., HODSON, R. G., and C. V. SULLIVAN, 1996 Effects of stocking density, salinity, and light intensity on growth and survival of Southern flounder *Paralichthys lethostigma* larvae. *J. World Aquac. Soc.* 27: 153-159.
- DENDRINOS, P., and J. P. THORPE, 1985 Effects of reduced salinity on growth and body composition in the European bass *Dicentrarchus labrax* (L.). *Aquaculture* 49: 333-358.
- DENSON, M. R., and T. I. J. SMITH, 1997 Diet and light intensity effects on survival, growth and pigmentation of Southern flounder *Paralichthys lethostigma*. *J. World Aquac. Soc.* 28: 366-371.
- DIVANACH, P., KENTOURI, M., CHARALAMBAKIS, G., POUGET, F., and A. STERIOTI, 1993 Comparison of growth performance of six Mediterranean fish species reared under intensive farming conditions in Crete (Greece) in raceways with use of self-feeders, pp. 285-297 in *Production, Environment and Quality*, vol 18, edited by G. Bernabé and P. Kestemont. EAS Special Publication, Ghent, Belgium.
- DOU, S., SEIKAI, T., and K. TSUKAMOTO, 2000 Feeding behaviour of Japanese flounder larvae under laboratory conditions. *J. Fish Biol.* 56: 654-666.
- DUTIL, J. D., LAMBERT, Y., and E. BOUCHER, 1997 Does higher growth rate in Atlantic cod (*Gadus morhua*) at low salinity result from lower standard metabolic rate or increased protein digestibility? *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 54: 99-103.
- ELLIOTT, J. M. 1976 The energetics of feeding, metabolism and growth of brown trout (*Salmo trutta* L.) in relation to body weight, water temperature and ration size. *J. Anim. Ecol.* 45: 923-948.
- ELLIOTT, J. M., 1991 Tolerance and resistance to thermal stress in juvenile Atlantic salmon *Salmo salar*. *Freshwater Biol.* 25: 61-70.
- ERIKSSON, L.O., 1978 Nocturnalism versus diurnalism- dualism within individuals, pp. 69-89 in: *Rhythmic Activity of Fishes*, edited by J. E. Thorpe. Academic Press, London.
- EWING, R. D., SHEAHAN, J. E., LEWIS, M. A., and A. N. PALMISANO, 1998 Effects of rearing density and raceway conformation on growth, food conversion, and survival of juvenile spring chinook salmon. *Prog. Fish-Cult.* 60: 167-178.
- FERMING, A. C., and G. A. SERONAY, 1997 Effects of different illumination levels on zooplankton abundance, feeding periodicity, growth and survival of the



- Asian sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch), fry in illuminated floating nursery cages. *Aquaculture* 157: 227-237.
- FIGUEREIDO, G. M., and J. P. VIEIRA, 2005 Diel feeding, daily food consumption and the predatory impact of whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) in an estuarine environment. *Marine Ecology* 26: 130-139.
- FLORE, L., and H. KECKEIS, 1998 The effect of water current on foraging behaviour of a rheophilic cyprinid, *Chondrostoma nasus* (L.), during ontogeny: evidence of a trade-off between energetic gain and swimming costs. *Regul. Rivers: Res. Manage.* 14: 141-154.
- FOSS, A., EVENSEN, T. H., IMSLAND, A. K., and V. ØIESTAD, 2001 Effects of reduced salinities on growth, food conversion efficiency and osmoregulatory status in the spotted wolffish. *J. Fish Biol.* 59: 416-426.
- FOSS, A., VOLLEN, T., and V. ØIESTAD, 2003. Growth and oxygen consumption in normal and O₂ supersaturated water, and interactive effects of O₂ saturation and ammonia on growth in spotted wolffish (*Anarhichas minor* Olafsen). *Aquaculture* 224: 105-116.
- FRASER, N. H. C., and N. B. METCALFE, 1997 The costs of becoming nocturnal: feeding efficiency in relation to light intensity in juvenile Atlantic salmon. *Funct. Ecol.* 11: 385-391.
- FRASER, N. H. C., METCALFE, N. B., and J. E. THORPE, 1993 Temperature-dependent switch between diurnal and nocturnal foraging in salmon. *Proc. R. Soc. London Ser B* 252: 135-139.
- FRASER, N. H. C., HEGGENES, J., METCALFE, N. B., and J. E. THORPE, 1995 Low summer temperatures cause juvenile Atlantic salmon to become nocturnal. *Can. J. Zool.* 73: 446-451.
- FRY, F. E. J., 1971 The effects of environmental factors on the physiology of fish, pp. 1-98 in *Fish Physiology*, Vol. 4, edited by W. S. Hoar and D. J. Randall. Academic Press, New York.
- GÁLVEZ, F. HOGSTRAND, C., McGEER J. C., and C. M. WOOD, 2001 The physiological effects of a biologically incorporated silver diet on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquat. Toxicol.* 55: 95-112.
- GEHRKE, P. C., 1994 Influence of light intensity and wavelength on phototactic behavior of larval silver perch *Bidyanus bidyanus* and golden perch *Macquaria ambigua* and the effectiveness of light traps. *J. Fish Biol.* 44: 741-751.
- GÉLINEAU, A., MAMBRINI, M., LEATHERLAND, J. F., and T. BOUJARD, 1996 Effect of feeding time on hepatic nuclei acid, plasma T₃, T₄, and GH concentrations in rainbow trout. *Physiol. Behav.* 59: 1061-1067.
- GUTT, J., 1985 The growth of juvenile flounders (*Paralichthys flesus* L.) at salinities of 0, 5, 15, and 35 ‰. *J. Appl. Ichthyol.* 1: 17-26.
- HAERTEL, S. S., and R. ECKMANN, 2002 Diel diet shift of roach and its implications for the estimation of daily rations. *J. Fish Biol.* 60: 876-892.



- HANDELAND, S. O., BERGE, Å., BJÖRNSSON, B. TH., LIE, Ø., and S. O. STEFANSSON, 2000 Seawater adaptation by out-of-season Atlantic salmon (*Salmo salar*) L. smolts at different temperatures. *Aquaculture* 181: 377-396.
- HEGGENES, J., KROG, O. M. W., LINDAS, O. R., DOKK, J. G., and T. BRENNES, 1993 Homeostatic behavioural responses in a changing environment: brown trout (*Salmo trutta*) become nocturnal during winter. *J. Anim. Ecol.* 62: 295-308.
- HEILMAN, M. J., and R. E. SPIELER, 1999 The daily feeding rhythm to demand feeders and the effects of timed meal-feeding on the growth of juvenile Florida pompano, *Trachinotus carolinus*. *Aquaculture* 180: 53-64.
- HENGSAWAT, K., WARD, F. J., and P. JARURATJAMORN, 1997 The effect of stocking density on, yield, growth and mortality of African catfish (*Clarias gariepinus* Burchell 1822) cultured in cages. *Aquaculture* 152: 67-76.
- HERRERO, M.J., PASCUAL, M., MADRID, J.A., and F. J. SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, 2005 Demand-feeding rhythms and feeding-entrainment of locomotor activity rhythms in tench (*Tinca tinca*). *Physiol. Behav.* 84: 595-605.
- HIDALGO, F., NOGALES, J. J., and A. ORTEGA, 1993 Estudio preliminar del efecto de la intensidad luminosa sobre el crecimiento, el rendimiento alimentario en lubina (*Dicentrarchus labrax*), pp. 109-113 in *Actas del IV Congreso Nacional de Acuicultura*,
- HILTON J. W., and W. J. BETTGER, 1988 Dietary vanadium toxicity in juvenile rainbow trout: a preliminary study. *Aquat. Toxicol.* 12: 63-71.
- HOAR, W. S., 1942 Diurnal variations in feeding activity of young salmon and trout. *J. Fish. Res. Board Can.* 6: 90-101.
- HOFMANN, N., and P. FISCHER, 2003 Impact of temperature on food intake and growth in juvenile burbot. *J. Fish Biol.* 63: 1295-1305.
- HOLM, J. C., REFSTIE, T., and S. BO, 1990 The effect of fish density and feeding regimes on individual growth rate and mortality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 89: 225-232.
- HOSSAIN, M. A. R., BATTY, R.S., HAYLOR, G.S., and M. C. M. BEVERIDGE, 1999 Diel rhythms of feeding activity in African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell 1822). *Aquacult. Res.* 30:901-905.
- HOWERTON, R. D., and C. E. BOID, 1992 Measurements of water circulation in ponds with gypsum blocks. *Aquacult. Eng.* 11: 141-155.
- HÖJESJÖ, J., JOHNSSON, J., and M. AXELSSON, 1999 Behavioural and heart rate responses to food limitation and predation risk: an experimental study on rainbow trout. *J. Fish Biol.* 55: 1009-1019.
- HUSTVEDT, S. O., STOREBAKKEN, T., and R. SALTE, 1991 Does oral administration of oxolinic acid or oxytetracycline affect feed intake of rainbow trout? *Aquaculture* 92: 109- 113.



- IMSLAND, A. K., JONASSEN, T. M., KADOWAKI, S., BERNTSEN, M., and S. O. STEFANSSON, 2000a Intraspecific differences in physiological efficiency of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). J. World Aquac. Soc. 31: 285-296.
- IMSLAND, A. K., FOSS, A., NÆVDAL, G., CROSS, T., BONGA, S. W., VAN HAM, E. H., and S. O. STEFANSSON, 2000b Countergradient variation in growth and food conversion efficiency of juvenile turbot. J. Fish Biol. 57: 1216-1226.
- IMSLAND, A. K., FOSS, A., SVEINSBØ, B., JONASSEN, T. M., and S. O. STEFANSSON, 2001a Intraspecific differences in RNA/DNA ratios and metabolism of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). J. World Aquac. Soc. 32: 1-10.
- IMSLAND, A. K., FOSS, A., GUNNARSSON, S., BERNTSEN, M. H. G., GERALD, R. F., BONGA, S. W., HAM, E.V., NÆVDAL, G., and S. O. STEFANSSON, 2001b The interaction of temperature and salinity on growth and food conversion in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). Aquaculture 198: 353-367.
- IMSLAND, A. K., FOSS, A., FOLKVORD, A., STEFANSSON, S. O., and T. M. JONASSEN, 2005 The interrelation between temperature regimes and fish size in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*): effects on growth and feed conversion efficiency. Fish Physiol. Biochem. 31: 347-361.
- IMSLAND, A. K., FOSS, A., SPARBOE, L. O., and S. SIGURDSSON, 2006 The effect of temperature and fish size on growth and feed efficiency ratio of juvenile spotted wolffish *Anarhichas minor*. J. Fish Biol. 68, 1107-1122.
- IRWIN, S., O'HALLORAN, J., and R. D. FITZGERALD, 1999 Stocking density, growth and growth variation in juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* (Rafinesque). Aquaculture 178: 77-88.
- IWATA, N., KIKUCHI, K., HONDA, H., KİYONO, M., and H. KUROKURA, 1994 Effects of temperature on the growth of Japanese flounder. Fish. Sci. 60: 527-531.
- JACOBSEN, L., BERG, S., BROBERG, M., JEPSEN, N., and C. SKOV, 2002 Activity and food choice of piscivorous perch (*Perca fluviatilis*) in a eutrophic shallow lake: a radio-telemetry study. Freshwater Biology 47: 2370-2379.
- JOBLING, M., 1994 Fish Bioenergetics Vol. XIV Chapman & Hall, London.
- JOBLING, M., 1997 Temperature and growth: modulation of growth rate via temperature rate, pp. 225-253 in Global Warming: Implications for freshwater and marine fish, edited by C. M. Wood and D. G. McDonald. Cambridge University Press, Cambridge.
- JOBLING, M., and J. KOSKELA, 1996 Interindividual variations in feeding and growth in rainbow trout during restricted feeding and in a subsequent period of compensatory growth. J. Fish Biol. 49: 658-667.
- JOBLING, M., CHRISTIANSEN, J. S., JØRGENSEN, E. H., and A. M. ARNESEN, 1993 The application of X-radiography in feeding and growth studies with fish: a summary of experiments conducted on Arctic Charr. Rev. Fish. Sci. 1: 223-237.



- JOHNSON, S.C., KENT, M. L., WHITAKER, D. J., and MARGOLIS, L., 1993 Toxicity and pathological effects of orally administered ivermectin in Atlantic, chinook, and coho salmon and steelhead trout. *Dis. Aquat. Org.* 17: 107-112.
- JOHNSON, J. I., HÖJESJÖ, J., and I. A. FLEMING, 2001 Behavioural and heart rate responses to predation risk in wild and domesticated Atlantic salmon. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 58: 788-794.
- JONASSEN, T. M., 2002 Effects of photoperiod, stocking density and diet on growth in young spotted wolffish (*Anarhichas minor olafsen*). *Aquacult. Int.* 10: 411-420.
- JONASSEN, T. M., IMSLAND, A. K., KADOWAKI, S., and S. O. STEFANSSON, 2000 Interaction of temperature and photoperiod on growth of Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L. *Aquacult. Res.* 31: 219-227.
- JUELL, J. E., 1995 The behaviour of Atlantic Salmon in relation to efficient cage rearing. *Rev. Fish Biol. Fish.* 12: 1-18.
- JØRGENSEN, E. H., and M. JOBLING, 1989 Patterns of food intake in Arctic charr, *Salvelinus alpinus*, monitored by radiography. *Aquaculture* 81: 155-160.
- JØRGENSEN, E. H., and M. JOBLING, 1990 Feeding modes in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L: the importance of bottom feeding for the maintenance of growth. *Aquaculture* 86: 379-385.
- JØRGENSEN, E. H., and M. JOBLING, 1992 Feeding behaviour and effect of feeding regime on growth of Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture* 101: 135-146.
- JØRGENSEN, E. H., and M. JOBLING, 1993 Feeding in darkness eliminates density-dependent growth suppression in Arctic charr. *Aquacult. Int.* 1: 90-93.
- JØRGENSEN, E. H., CHRISTIANSEN, J. S., and M. JOBLING, 1993 Effects of stocking density on food intake, growth performance and oxygen consumption in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Aquaculture* 110: 191-204.
- JØRGENSEN, E. H., BAARDVIK, B. M., ELIASSEN, R., and M. JOBLING, 1996 Food acquisition and growth of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) in relation to spatial distribution of food. *Aquaculture* 143: 277-289.
- KESTEMONT, P., BARAS, E., 2001 Environmental factors and feed intake: mechanisms and interactions, pp. 131-156 in *Food Intake in Fish*, edited by D. Houlihan, T. Boujard and M. Jobling. Blackwell Science, Cornwall.
- KESTEMONT, P., JOURDAN, S., HOUBART, M., MÉLAR, C., PASPATIS, M., FONTAINE, P., CUVIER, A., KENTOURI, M., and E. BARAS, 2003 Size heterogeneity, cannibalism and competition in cultured predatory fish larvae: biotic and abiotic influences. *Aquaculture* 227: 333-356.
- KILAMBI, R. V., 1980 Food consumption, growth and survival of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* at four salinities. *J. Fish Biol.* 17: 613-618.



- KLAUDATOS, S. D., and A. J. CONIDES, 1996 Growth, food conversion, maintenance and long-term survival of gilthead sea bream, *Sparus auratus* L., juveniles after abrupt transfer to low salinity. *Aquacult. Res.* 27: 765-774.
- KOHARA, J., HIDAHA, I., MATSUOKA, F., OSADA, T., FURUKAWA, K., YAMASHITA, M., and M. TABATA, 2003. Self-feeding behavior of yellowtail, *Seriola quinqueradiata*, in net cages: diel and seasonal patterns and influences of environmental factors. *Aquaculture* 220: 581-594.
- KOSKELA, J., PIIRHONEN, J., and M. JOBLING, 1997 Feed intake, growth rate and body composition of juvenile Baltic salmon exposed to different constant temperature. *Aquacult. Int.* 5: 351-360.
- KREIVI, P., MUOTKA, T., HUUSKO, A., MÄKI-PETÄYS, A., HUNTA, A., and K. MEISSNER, 1999 Diel feeding periodicity, daily ration and prey selectivity in juvenile brown trout in a subarctic river. *J. Fish Biol.* 55: 553-571.
- KUMARAGURU, A. K., and F. W. H. BEAMISH, 1986 Effect of permethrin (NRDC-143) on the bioenergetics of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Aquat. Toxicol.* 9: 47-58.
- LAGARDÈRE, J.-P., BÉGOUT, M. L., LAFAYE, J. Y., and J.-P. VILLOTTE, 1994 Influence of wind-produced noise on orientation in the sole *Solea solea*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 51: 1258-1264.
- LAMBERT, Y., and J.-D. DUTIL, 2001 Food intake and growth of adult Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) reared under different conditions of stocking density, feeding frequency and size-grading. *Aquaculture* 192: 233-247.
- LAMBERT, Y., DUTIL, J.-D., and J. MUNRO, 1994 Effects of intermediate and low salinity conditions on growth rate and food conversion of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 51: 1569-1576.
- LANDLESS, P. J., 1976 Demand feeding behaviour of rainbow trout. *Aquaculture* 7: 11-25.
- LAURENT, P., and S. DUNEL-ERB, 1984 The pseudobranch: morphology and function, pp. 285-320 in *Fish Physiology*, vol.10B., edited by W. S. Hoar. Academic Press, New York,
- LEMELY, A. D., 1993 Metabolic stress during winter increases the toxicity of selenium to fish. *Aquat. Toxicol.* 27: 133-158.
- LIANG, X. F., LIU, J. K. AND B. Y. HUANG, 1998 The role of sense organs in the feeding behaviour of Chinese perch. *J. Fish Biol.* 52: 1058-1067.
- LIKONGWE, J. S., STECKO, T. D., STAUFFER, J. R., and R. F. CARLINE, 1996 Combined effects of water temperature and salinity on growth and feed utilization of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus). *Aquaculture* 146: 37-46.
- LIU, J., CUI, Y., and J. LIU, 1998 Food consumption and growth of two piscivorous fishes, the mandarin fish and the Chinese snakehead. *J. Fish Biol.* 53: 1071-1083.



- LØKKEBORG, S., OLLA, B. L., PEARSON, W. H., and M. W. DAVIS, 1995 Behavioural responses of sablefish, *Anoplopoma fimbria*, to bait odour. J. Fish Biol. 46: 142-155.
- MA, A.-J., LIU, X.-Z., XU, Y.-J., LIANG, Y., and Z.-M. ZHUANG, 2006 Feeding rhythm and growth of the tongue sole, *Cynoglossus semilaevis* Günther, during its early life stages. Aquacult. Res. 37: 586-593.
- MAGNHAGEN, C., 1988 Changes in foraging as a response to predation risk in two gobiid fish species, *Pomatoschistus minutes* and *Gobius niger*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 49: 21-26.
- MALLEKH, R., LAGARDÈRE, J. P., BÉGOUT-ANRAS, M. L., and J. Y. LAFAYE, 1998 Variability in appetite of turbot *Scophthalmus maximus* under intensive rearing conditions: the role of environmental factors. Aquaculture 165: 123-138.
- MARAGOUDAKI, D., PASPATIS, M., and M. KENTOURI, 1999 Influence of stocking density on growth of juvenile red porgy *Pagrus pagrus* L. under different feeding conditions. Aquacult. Res. 30: 501-508.
- MARAGOUDAKI, D., PASPATIS, M., and M. KENTOURI, 2001 Growth and feeding responses of juvenile red porgy to restrictive self-feeding regimes. Aquacult. Int. 9: 153-170.
- MATHERS, R. A., BROWN, J. A., and P. H. JOHANSEN, 1985 The growth and feeding behaviour responses of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) exposed to PCP. Aquat. Toxicol. 6: 157-164.
- MCCORMICK, S. D., 1996 Effects of growth hormone and insulin-like growth factor I on salinity tolerance and gill Na⁺, K⁺-ATPase in atlantic salmon (*Salmo salar*): interaction with cortisol. Gen. Comp. Endocrinol. 101: 3-11.
- MCGEER, J. C., SZEDEDINSZKY, C., McDONALD, D. G., and C. M. WOOD, 2000 Effects of chronic sublethal exposure to waterborne Cu, Cd or Zn in rainbow trout. 1: Iono-regulatory disturbance and metabolic costs. Aquat. Toxicol. 50: 231-243.
- McKAY, L.R., and B. GJERDE, 1985. The effect of salinity on growth of rainbow trout. Aquaculture 49: 325-331.
- McMAHON, T. E., and S. H. HOLANOV, 1995 Foraging success of largemouth bass at different light intensities: implications for time and depth of feeding. J. Fish Biol. 46: 759-767.
- MÉLARD, C., 1986 Recherches sur la biologie d'Oreochromis (Tilapia) niloticus L. (Pisces, Cichlidae) en élevage expérimental: reproduction, croissance et bioénergétique. Can. Ethol. Appl. 6 suppl. 3, p. 224.
- MÉLARD, C., KESTEMONT, P., GRIGNARD, J.C., 1996. Intensive culture of juvenile and adult Eurasian perch (*P. fluviatilis*): effect of a major biotic and abiotic factors on growth. J. Appl. Ichthyol. 12, 175-180.



- METCALFE, N. B., HUNTINGFORD, F. A., and J. E. THORPE, 1987 The influence of predation risk on the feeding motivation and foraging strategy of juvenile Atlantic salmon. *Anim. Behav.* 35: 901-911.
- MILLAR, R.A., NORRIS, L.A., and B. R. LOPER, 1979 The response of coho salmon and guppies to 2,3,7,8-tetrachlorodibenceno-p-dioxin (TCDD) in water. *Trans. Am. Fish. Soc.* 108: 401-407.
- MORGAN, I. J., McDONALD, D. G., and C. M. WOOD, 2001 Mini-review: The cost of living for freshwater fish in a warmer, more polluted world. *Global Change Biol.* 7: 345-355.
- NICIEZA, A. G., and N. B. METCALFE, 1997 Effects of light level and growth history on attack distances of visually foraging juvenile salmon in experimental tanks. *J. Fish Biol.* 51: 643-649.
- NOBLE, C., MIZUSAWA, K., and M. TABATA, 2005 Does light intensity affect self-feeding and food wastage in group-held rainbow trout and white-spotted charr? *J. Fish Biol.* 66: 1387-1399.
- NORRGREN, L., WICKLUND, A., and G. O. MALMBORG, 1991 Accumulation and effects of aluminium in the minnow (*Phoxinus phoxinus* L.) at different pH levels. *J. Fish Biol.* 39: 833-847.
- NORTH, A. W. 1996 Locomotory activity and behaviour of the Antarctic teleost *Notothenia coriiceps*. *Marine Biology* 126: 125-132.
- OVERHOLTZ, W. J., LINK, J. S., and L. E. SUSLOWICZ, 2000 Consumption of important pelagic fish and squid by predatory fish in the northeastern USA shelf ecosystem with some fishery comparisons. *ICES J. Mar. Sci.* 57: 1147-1159.
- PAPOUTSOGLOU, S. E., PARASKEVA-PAPOUTSOGLOU, E., and M. N. ALEXIS, 1987 Effect of density on growth rate and production of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.) over a full rearing period. *Aquaculture* 66: 9-17.
- PARTRIDGE, G. J., and G. I. JENKINS, 2002 The effect of salinity on growth and survival of juvenile black bream (*Acanthopagrus butcheri*). *Aquaculture* 210: 219-230.
- PASPATIS, M., and T. BOUJARD, 1996 A comparative study of automatic feeding and self-feeding in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets of different energy levels. *Aquaculture* 145: 245-257.
- PASPATIS, M., MARAGOUDAKI, D., and M. KENTOURI, 2000 Self-feeding activity patterns in gilthead sea bream (*Sparus aurata*), red porgy (*Pagrus pagrus*) and their reciprocal hybrids. *Aquaculture* 190: 389-401.
- PASPATIS, M., MARAGOUDAKI, D., and M. KENTOURI, 2002 Feed discrimination and selection in self-fed European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. *Aquacult. Res.* 33: 509-514.



- PASPATIS, M., BOUJARD, T., MARAGOUDAKI, D., BLANCHARD, G., and M. KENTOURI, 2003 Do stocking density and feed reward level affect growth and feeding of self-fed juvenile European sea bass?. *Aquaculture* 216: 103-113.
- PAVLIDIS, M., PASPATIS, M., KOISTINEN, M., PAAVOLA, T., DIVANACH, P. and M. KENTOURI, 1999. Diel rhythms of serum metabolites and thyroid hormones in red porgy held in different photoperiod regimes. *Aquacult. Int.* 7: 29-44.
- PEDLAR, R. M., PTASHYNSKI, M. D., EVANS, R., and J. F. KLAVERKAMP, 2002 Toxicological effects of dietary arsenic exposure in lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*). *Aquat. Toxicol.* 57: 167-189.
- PERES, H., and A. OLIVA-TELES, 1999 Influence of temperature on protein utilization in juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 170: 337-348.
- PERSON-LE RUYET, J., GALLAND, R., LE ROUX, A., and H. CHARTOIS, 1997 Chronic ammonia toxicity in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture* 154: 155-171.
- PERSON-LE RUYET, J., PICHAVANT, K., VACHER, C., LE BAYON, N., SÉVÈRE, A., and G. Bœuf, 2002 Effects of O₂ supersaturation on metabolism and growth in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture* 205: 373-383.
- PERSON-LE RUYET, J., MAHÉ, K., LE BAYON, N., and H. LE DELLIOU, 2004 Effects of temperature on growth and metabolism in a Mediterranean population of European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 237: 269-280.
- PERSON-LE RUYET, J., BUCHET, V., VINCENT, B., LE DELLIOU, H., and L. QUÉMÈNER, 2006 Effects of temperature on the growth of pollack (*Pollachius pollachius*) juveniles. *Aquaculture* 251: 340-345.
- PETERSON-CURTIS, T. L., 1997 Effects of salinity on survival, growth, metabolism, and behavior in juvenile hogchokers, *Trinectes maculatus fasciatus* (Achiridae). *Env. Biol. Fish.* 49: 323-331.
- PETRELL, R. J., and K. P. ANG, 2001 Effects of pellet contrast and light intensity on salmonid feeding behaviours. *Aquacult. Eng.* 25: 175-186.
- PETTERSSON, L. B., ANDERSSON, K., and K. NILSSON, 2001 The diel activity of crucian carp, *Carassius carassius*, in relation to chemical cues from predators. *Env. Biol. Fish.* 61: 341-345.
- PICHAVANT, K., PERSON-LE RUYET, J., LE BAYON, N., SÉVÈRE, A., LE ROUX, A., QUÉMÈNER, L., MAXIME, V., NONNOTTE, G., and G. BœUF, 2000 Effects of hypoxia on growth and metabolism of juvenile turbot. *Aquaculture* 188: 103-114.
- PICKETT, G. D., and M. G. PAWSON, 1994 Sea bass. Biology, exploitation and conservation. Chapman & Hall, London.
- PIPER, P. G., 1961 Toxic effects of erythromycin thiocyanate on rainbow trout. *Prog. Fish-Culturist.* 23: 134-135.



- RICHKUS, W. A., and H. E. WINN, 1979 Activity cycles of adult and juvenile alevines, *Alosa pseudoharengus*, recorded by two methods. Transactions of the National Academy of Sciences U.S.A. 75: 6276-6280.
- ROWE, D. K., DEAN, T. L., WILLIAMS, E., and J. P. SMITH, 2003 Effects of turbidity on the ability of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, to feed on limnetic and benthic prey in laboratory tanks. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research 37: 45-52.
- RUBIO, V. C., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J., and J. A. MADRID, 2003 Nocturnal feeding reduces sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) pellet-catching ability. Aquaculture 220: 697-705.
- RUBIO, V. C., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J., and J. A. MADRID, 2004 Oral administration of melatonin reduces food intake and modifies macronutrient selection in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). J. Pineal Res. 37: 42-47.
- RUBIO, V. C., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J., and J. A. MADRID, 2005 Effects of salinity on food intake and macronutrient selection in European sea bass. Physiol. Behav. 85: 333-339.
- RUBIO, V. C., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J., ZAMORA, S., and J. A. MADRID, 2008 Endogenous modification of macronutrient selection pattern in sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). Physiol. Behav. 95: 32-35.
- RYER, C. H., and B. L. OLLA, 1999 Light-induced changes in the prey consumption and behavior of two juvenile planktivorous fish. Mar. Ecol. Prog. Ser. 181: 41-51.
- SAMIS, A. J. W., COLGAN, P. W., and P. H. JOHANSEN, 1993 Pentachlorophenol and reduced food intake of bluegill. Trans. Am. Fish. Soc. 122: 1156-1160.
- SANCHEZ, J. G., SPEARE, D. J., MACNAIR, N., and G. JOHNSON, 1996 Effects of a prophylactic chloramine-T treatment on growth performance and condition indices of rainbow trout. J. Aquat. Anim. Health 8: 278-284.
- SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J., and M. TABATA, 1998 Circadian rhythms of demand-feeding and locomotor activity in rainbow trout. J. Fish Biol. 52: 255-267.
- SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J., MADRID, J. A., and S. ZAMORA, 1995a Circadian rhythms of feeding activity in sea bass, *Dicentrarchus labrax* L.: dual phasing capacity of diel demand-feeding pattern. J. Biol. Rhythms 10: 256-266.
- SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J., ZAMORA, S., and J. A. MADRID, 1995b Light-dark and food restriction cycles in sea bass: effect of conflicting zeitgebers on demand-feeding rhythms. Physiol. Behav. 58: 705-714.
- SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J., AZZAYDI, M., MARTÍNEZ, F. J., ZAMORA, S., and J. A. MADRID, 1998a Annual rhythms of demand-feeding activity in sea bass: Evidence of a seasonal phase inversion of the diel feeding pattern. Chronobiol. Int. 15: 607-622.



- SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J., YAMAMOTO, T., AKIYAMA, T., MADRID, J. A., and M. TABATA, 1998b Selection of macronutrients by goldfish operating self-feeders. *Physiol. Behav.* 65: 211-218.
- SAMPAIO, L.A., WASIELESKY, W., and K. C. MIRANDA-FILHO 2002. Effect of salinity on acute toxicity of ammonia and nitrite to juvenile *Mugil platanus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 68: 668-674.
- SAUNDERS, R. L., SPECKER, J. L., and M. P. KOMOURDJIAN, 1989 Effects of photoperiod on growth and smelting in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 82: 103-117.
- SHAW, B. J. and R. D. HANDY, 2006 Dietary copper exposure and recovery in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquat. Toxicol.* 76: 111-121.
- SMITH, R. J. F., 1992 Alarm signals in fishes. *Rev. Fish Biol. Fisheries*, 2, 33-63.
- SMITH, I. P., METCALFE, N. B., HUNTINGFORD, F. A., and S. KADRI, 1993 Daily and seasonal patterns in the feeding behaviour of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in a sea cage. *Aquaculture* 117: 165-178.
- SPEARE, D. J., MACNAIR, N., and K. L. HAMMEL, 1995 Demonstration of tank effect on growth indices of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during an ad libitum feeding trial. *Am. J. Vet. Res.* 56: 1372-1379.
- SRIVASTAVA, R., BROWN, J. A., and J. ALLEN, 1991 The influence of wave frequency and wave height on the behaviour of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in cages. *Aquaculture* 97: 143-153.
- STEFANSSON, S. O., and T. HANSEN, 1989 The effect of spectral composition on growth and smolting in Atlantic salmon (*Salmo salar*) and subsequent growth in sea cages. *Aquaculture* 82: 155-162.
- STEFANSON, S. O., NORTVEDT, R., HANSEN, T. J., and G. L. TARANGER, G.L. 1990 First-feeding of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., under different photoperiods and light intensities. *Aquac. Fish. Manage.* 21: 435-441.
- STONER, A. W., 2003 Hunger and light level alter response to bait by Pacific halibut: laboratory analysis of detection, location and attack. *J. Fish Biol.* 62: 1176-1193.
- SUN, L., CHEN, H., and L. HUANG, 2006 Effect of temperature on growth and energy budget of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture* 261: 872-878.
- SUNDBY, S., ELLERTSEN, B., and P. FOSSUM, 1994 Encounter rates between first feeding cod larvae and their prey during moderate to strong winds. *ICES J. Mar. Sci.* 198: 393-405.
- SWANSON, C., 1996 Early development of milkfish: effects of salinity on embryonic and larval metabolism, yolk absorption and growth. *J. Fish Biol.* 48: 405-421.



- TAKESHITA, N., IKEDA, I., ONIKURA, N., NISHIKAWA, M., NAGATA, S., MATSUI, S., and S. KIMURA, 2005. Growth of the fourspine sculpin *Cottus kazika* in the Gonnokawa River, Japan, and effects of water temperature on growth. *Fish. Sci.* 71: 784-790.
- THETMEYER, H., WALLER, U., BLACK, K. D., INSELMANN, S., and H. ROSENTHAL, 1999. Growth of European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. under hypoxic and oscillating oxygen conditions. *Aquaculture* 174: 355-367.
- THORPE, J. E., 1978 *Rhythmic activity of fishes*. Academic Press, London.
- THURSTON, R.V., RUSSO, R.C., and G. A. VINOGRADOV, 1981 Ammonia toxicity to fishes. Effect of pH on the toxicity of the un-ionized ammonia species. *Environ. Sci. Technol.* 15: 837-840.
- TOGUYENI, A., FAUCONNEAU, B., BOUJARD, T., FOSTIER, A., KUHN, E. R., MOL, K. A., and J. F. BAROILLER, 1997 Feeding behaviour and food utilisation in tilapia, *Oreochromis niloticus*: effect of sex-ratio and relationship with the endocrine status. *Physiol. Behav.* 62: 273-279.
- UTNE-PALM, A. C., and J. E. STIANSEN, 2002 Effect of larval ontogeny, turbulence and light on prey attack rate and swimming activity in herring larvae. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 268: 147-170.
- VAN DAM, A. A., and D. PAULY, 1995 Simulation of the effects of oxygen on food consumption and growth of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture Research* 26: 427-440.
- VAN DER WEIDEN, M. E. J., VAN DER KOLK, J., BLEUMINK, R., SEINEN W., and M. VAN DEN BERG, 1992 Concurrence of P450 IAL induction and toxic effects after administration of a low dose of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-P-dioxin (TCDD) in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) *Aquat. Toxicol.* 24: 123-142.
- VEHANEN, T., 2003 Adaptive flexibility in the behaviour of juvenile Atlantic salmon: short-term responses to food availability and threat from predation. *J. Fish Biol.* 63: 1034-1045.
- VELÁZQUEZ, M., ZAMORA, S., and F. J. MARTÍNEZ, 2004 Influence of environmental conditions on demand-feeding behaviour of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *J. Appl. Ichthyol.* 20: 536-541.
- VERA, L.M., MADRID, J.A., and F.J. SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, 2006 Locomotor, feeding and melatonin daily rhythms in sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*) *Physiol. Behav.* 88: 167-172.
- VIJAYAVEL, K., and M.P. BALASUBRAMANIAN, 2007 Interaction of potash and decis in the ecophysiology of a freshwater fish *Oreochromis mossambicus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 66: 154-158.
- WANG, J.-Q., FLICKINGER, S.A., BE, K., LIU, Y. and H. XU, 1989 Daily food consumption and feeding rhythm of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during fry to fingerling period. *Aquaculture* 83: 73-79.



- WANG, J. Q., LUI, H., PO, H., and L. FAN, 1997 Influence of salinity on food consumption, growth and energy conversion efficiency of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Aquaculture* 148: 115-124.
- WERNER, E. E., GILLIAM, J. F., HALL, D. J., and G.G. MITTELBACH, 1983 An experimental test of the effects of predation risk on habitat use in fish. *Ecology* 64: 1540-1548.
- WOIWODE, J.G., and I. R. ADELMAN, 1991 Effects of temperature, photoperiod, and ration size on growth of hybrid striped bass \times white bass. *Trans. Am. Fish. Soc.* 120: 217-229.
- WOO, N. Y. S., and S. P. KELLY, 1995 Effects of salinity and nutritional status on growth and metabolism of *Sparus sarba* in a closed seawater system. *Aquaculture* 135: 229-238.
- WURTSBAUGH, W. A., and G. E. DAVIS, 1977. Effects of temperature and ration level on the growth and food conversion efficiency of *Salmo gairdneri*, Richardson. *J. Fish Biol.* 11: 87-98.
- XUE, Y., JIN, X., ZHANG, B., and Z., LIANG, 2005 Seasonal, diel and ontogenetic variation in feeding patterns of small yellow croaker in the central Yellow Sea. *J. Fish Biol.* 67: 33-50.
- YAMAMOTO, T., SHIMA, T., FURUITA, H., SHIRAISHI, M., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J., and M. TABATA, 2001 Influence of decreasing water temperature and shortening of the light phase on macronutrient self-selection by rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and common carp *Cyprinus carpio*. *Fish. Sci.* 67: 420-429.
- YAMAMOTO, T., SHIMA, T., FURUITA, H., and N. SUZUKI, 2003 Effect of water temperature and short-term fasting on macronutrient self-selection by common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture* 220: 655-666.

13

ALIMENTACIÓN EN PISCICULTURA



ALIMENTACIÓN EN PISCICULTURA

**Madrid, J. A., Sánchez-Vázquez, F. J.
y Martínez, F. J.**

Facultad de Biología.
Universidad de Murcia

Resumen

La eficiencia con la que los peces ingieren y utilizan el alimento es un factor principal a la hora de determinar el balance económico de una explotación piscícola, de modo que el acuicultor debe gestionar la alimentación de forma que asegure un máximo crecimiento con un mínimo desperdicio. Por tanto, la optimización de las variables que influyen en la utilización del alimento es de gran importancia en la gestión de una granja de peces. Hasta fechas recientes, la aproximación tradicional en la investigación sobre la alimentación de los peces se basó en la realización de numerosos experimentos en los que una o unas pocas variables se cambiaban cada vez y se comprobaba el crecimiento de los mismos, estos diseños requerían gran cantidad de tiempo con el fin de optimizar la alimentación de una determinada especie. Sin embargo, con la introducción de los alimentadores a demanda, la investigación sobre la alimentación se ha entrado en los peces. Cuando el pez puede decidir cuándo, cómo, qué cantidad y qué tipo de alimento, la mayoría de las cuestiones relevantes en alimentación pueden ser resueltas con menor inversión de tiempo y haciendo intervenir simultáneamente muchas variables.

A partir de experimentos de alimentación a demanda, en este capítulo se aporta nueva información sobre los ritmos de alimentación de diferentes periodicidades, el papel de la alimentación periódica sobre la actividad anticipatoria al alimento, las estrategias alimentarias, los modelos de estima-



ción de la ingesta y crecimiento y, finalmente, el auto-diseño de dietas por los peces. El capítulo también contiene ejemplos que ilustran la utilización de sistemas de alimentación automática y a demanda en granjas de peces.

Summary

The efficiency with which fish use the food supply is a major factor determining the economical balance of a fish farm, so the farmer should aim to feed the fish in a manner that ensures both rapid growth and minimal waste. Thus, the optimization of variables influencing feed utilization is of prime importance in the management of a fish farm. Until recently, the traditional approach to research in fish feeding was based in the realization of many experiments in which only one or two variables related to feed composition or fed strategy were changed every time, thus long-term experiments were needed to optimize feeding for a given fish species. However, with the introduction of self-feeders, the research on feeding management can be shift to be centred in the fish. When fish can decide when, how, how much and what kind of feed they want to ingest, many relevant questions can be answered with low time and considering simultaneously many variables.

Based in the self-feeding experiments, this chapter consider new insights on the existence of feeding rhythms of different periodicities, the role of feeding time on the anticipatory behaviour, feeding strategies, feed intake and growth performance models and, finally, the diet self-design by fish. The chapter also contains examples illustrating the use of on-demand and automatic feeding systems in a practical setting.

13.1. INTRODUCCIÓN

La alimentación de los peces en cultivo constituye uno de los factores clave en el éxito o fracaso de una granja dedicada al engorde de peces. El alimento es hoy por hoy el factor económico de mayor incidencia en los costes de producción de las empresas, no solo por el coste que representa el propio pienso sino también por el generado por los sistemas empleados en su distribución. Además, la optimización de las tasas de crecimiento, la reducción del impacto medioambiental de la acuicultura y el bienestar animal son en buena medida dependientes del tipo de alimento empleado y de cómo éste se suministre a los peces.



Los estudios sobre alimentación de peces se han basado tradicionalmente en la administración de piensos en los que se varía la cantidad de macro y micronutrientes, la presencia de saborizantes o bien el tipo de granulado (tamaño, textura...) y se evalúa en un determinado periodo de tiempo qué grupos de peces son los que ingieren más alimento y cuales los que crecen en mejores condiciones. Estos estudios continúan siendo necesarios en la actualidad si bien, una nueva herramienta, cuyos principios se aplicaron por vez primera a los peces en 1961 por Rozin y Mayer, el alimentador a demanda, vino a revolucionar el campo de la alimentación experimental en acuicultura al permitir abordar problemas de difícil resolución con las técnicas convencionales. Así, por ejemplo, la alimentación a demanda permite responder cada una de las cuatro preguntas clave que hay que se plantean cuando tratamos de desarrollar un alimento para una determinada especie: ¿cuándo alimentar?, ¿cómo alimentar?, ¿cuánto alimento hemos de proporcionar? y, finalmente, ¿qué tipo de alimento?.

13.2. CUÁNDO ALIMENTAR

La alimentación es una variable que no solamente está sometida a ritmos diarios, lunares y estacionales, sino que además, cuando esta se realiza a horas determinadas constituye un factor sincronizador de

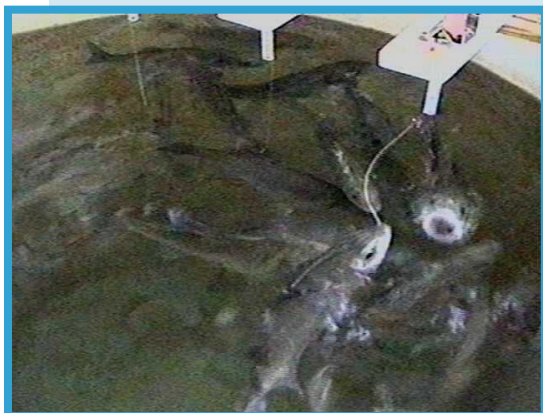


FIGURA 1.

La alimentación a demanda, basada en la activación de un sensor que actúa sobre un dispensador liberando una cierta cantidad de alimento, permite abordar nuevas cuestiones relacionadas con la alimentación de los peces. Mediante este sistema es el pez el que responde con su actividad voluntaria a las preguntas ¿cuándo?, ¿cuánto alimento?, ¿cómo alimentar? Y ¿qué tipo de alimento prefieren?



primer orden de los ritmos biológicos de los peces. El hecho de que el pez sea un sistema funcional diferente a lo largo del día, las estaciones o el año justifica que la hora de alimentación influya poderosamente en la ingesta y el rendimiento del alimento ingerido. Todo lo anterior justifica que la contestación a la pregunta ¿Cuándo alimentar? sea prioritaria en la acuicultura práctica.

13.2.1. Ritmos de alimentación

13.2.1.1. Ritmos diarios

La mayoría de las especies animales permanecen activas, bien durante el día o bien durante la noche, y raramente lo hacen durante las 24 horas. Los animales han adquirido estos patrones de actividad como resultado de largos periodos de evolución bajo fuerzas selectivas constantes como la evitación de depredadores y la optimización de la ingesta de alimento y el éxito reproductivo. En la mayoría de las especies el comportamiento alimentario diurno o nocturno ha sido fijado genéticamente y a menudo está también condicionado por la existencia de requerimientos sensoriales especiales, como, por ejemplo, la dependencia de la visión para la captura del alimento (Madrid *et al.* 2001). Sin embargo, entre los peces no son raras las especies que muestran una gran flexibilidad en sus patrones de alimentación y actividad motora. Algunas de ellas son capaces de mostrar comportamientos diurnos y nocturnos en diferentes momentos de su vida, estas son las especies duales. El que una especie adopte un tipo de comportamiento u otro depende fundamentalmente de dos factores, a) de un marcapasos circadiano que genera autónomamente oscilaciones en variables comportamentales y b) del efecto enmascarante que ejerce la luz sobre la actividad del pez. Las especies diurnas son aquellas en las que su marcapasos circadiano está sincronizado con la fase de iluminación (fotofase) del ciclo luz/oscuridad y además muestran un enmascaramiento positivo por la luz o lo que es lo mismo, la luz estimula o permite su comportamiento alimentario. Por su parte, en las nocturnas, la luz ejerce un efecto enmascarante negativo y además su marcapasos está sincronizado a la fase de oscuridad (escotofase). La trucha es una especie principalmente diurna (Boujard & Leatherland, 1992),



mientras que la tenca (Herrero et al, 2005, Vera et al, 2005) y pez gato son estrictamente nocturnas. En el caso de las especies duales, su marcapasos podría sincronizar con las dos fases del ciclo de luz oscuridad, mientras que la luz puede ejercer efectos estimulantes o inhibidores dependiendo de si se encuentra en la fase de comportamiento diurno o nocturno, respectivamente. Entre estas especies la más estudiada ha sido la lubina (Aranda et al, 1999a; Sánchez-Vázquez et al, 1995a, b).

En el laboratorio, lubinas procedentes de la misma puesta y mantenidas en un circuito cerrado de agua y alimentadas a demanda, pueden mostrar comportamiento alimentario nocturno en unos tanques, mientras que, simultáneamente, en otros tanques, que comparten el mismo agua, muestran comportamientos diurnos (Figura 2). Además, el mismo pez puede invertir su comportamiento de diurno a nocturno y viceversa en solo unos pocos días (Sánchez-Vázquez et al, 1995a, 1995b). En estas condiciones ambientales estrictamente controladas, si las recompensas a las demandas de alimento se restringen a la fase opuesta a la que el pez se alimentaba espontáneamente a demanda, es posible que algunos peces inviertan su comportamiento para adecuarlo a la disponibilidad de alimento, sin embargo, algunos peces persisten en sus demandas en la fase no recompensada, lo que indica una cierta resistencia de los peces a alimentarse fuera de su fase de actividad espontánea (Sánchez-Vázquez et al. 1995b).

Cuando se analiza el comportamiento alimentario de lubinas en condiciones ambientales naturales, es posible observar también las inversiones de comportamiento, aunque en este caso estas parecen estar sincronizadas a los cambios estacionales de fotoperiodo y de temperatura. Así, en invierno, las lubinas son nocturnas, con un pico de alimentación tras la puesta del sol y la mayoría de las demandas repartidas durante la noche, mientras que en verano, sus demandas son diurnas. Durante la primavera y el otoño muestran patrones de transición de un tipo a otro de comportamiento (Sánchez-Vázquez et al. 1998) (Figura 3).

Las inversiones de comportamiento de la lubina también se siguen produciendo cuando se les alimenta mediante auto-demanda restringida a tres horas al día, repartidas en tres periodos de una hora de duración cada uno de ellos, dos periodos diurnos y uno nocturno (Azzaydi,

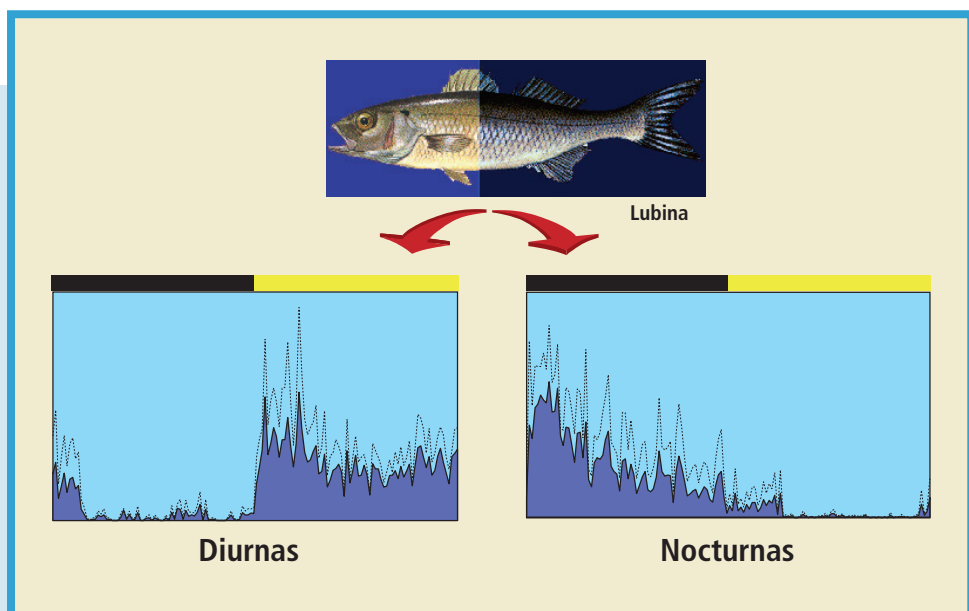


FIGURA 2.

La lubina es un representante de una categoría de peces denominados duales, cuya principal característica es su capacidad de mostrar dos tipos de comportamientos alimentarios, diurnos (izquierda) y nocturnos (derecha). En la gráfica se representan las demandas de alimento de dos lubinas alojadas en las mismas condiciones experimentales. Además, un mismo pez puede invertir su comportamiento en muy poco tiempo. Tomado de Sánchez-Vázquez *et al.*, 1995a.

1998). Sorprende aún más que las inversiones también aparezcan cuando se les alimenta de forma automática distribuyendo la misma ración (muy por encima de sus necesidades) en tres comidas, dos diurnas y una nocturna. En este caso la cantidad de alimento no consumido asociada a cada horario de comidas va variando a lo largo de las estaciones. La comida nocturna es rechazada en verano, mientras que es muy aceptada en invierno.

Además de la lubina, otras especies como el salmón atlántico (Fraser *et al.* 1995) y en menor medida el carpín (Sánchez-Vázquez *et al.* 1996) y el sargo picudo (Vera *et al.* 2006) parecen mostrar este comportamiento dual. Aunque el significado biológico de estos cambios no se conoce aún es posible que esté relacionado con uno o varios de los siguientes



factores: a) evitar depredadores; b) aprovechar los cambios en la disponibilidad de alimento y c) la reproducción. En cualquier caso, el dualismo de la lubina y el de otras especies en las que este comportamiento pueda aparecer, ha de tenerse en cuenta a la hora de establecer estrategias de alimentación adaptadas a sus ritmos de alimentación. En ocasiones, lejos de constituir un modo de comportamiento flexible, el dualismo revela un patrón de alimentación mucho más rígido de lo que se pueda pensar. Así, si bien es posible que una lubina ingiera algo de alimento durante el día en invierno, cuando solo se le suministra alimento durante las horas de luz, en el momento en que al pez se le permite utilizar alimentadores a demanda, su comportamiento se hace estrictamente nocturno desde el primer día de alimentación, hecho que es especialmente sorprendente dado que el pez había permanecido adaptado a la alimentación diurna durante meses (Azzaydi, observaciones no publicadas).

13.2.1.2. Ritmos mareales y lunares de alimentación

Estos ritmos, en la naturaleza, se relacionan especialmente con los movimientos verticales y horizontales de pequeñas presas que utilizan las corrientes mareales para emigrar y sincronizar su ciclo reproductivo. Particularmente interesantes fueron los resultados descritos por Brown (1946) en la trucha arcoiris en las que describe una periodicidad en su ingesta de aproximadamente 3-4 semanas. Posteriormente, se describieron ritmos, con un periodo relacionado con el ciclo lunar en la ingesta de alimento y en el crecimiento ponderal, en diferentes especies como el salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*), Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) y trucha arcoiris. En estudios realizados por Farbridge y Leatherland (1987a, 1987b) trabajando con el salmon coho y con trucha arcoiris, los peces se alimentaron cuatro veces al día *ad libitum* bajo un fotoperiodo LD 12:12 y temperatura constante. Sin embargo, a pesar de mantenerse en condiciones de alimentación y ambientales constantes, se detectaron ritmos en la ingesta de alimento y en el crecimiento con un periodo de 14-15 días, con picos situados entre la luna nueva y luna llena en el caso del salmón y 4-5 días antes de la luna nueva o la luna llena en el caso de la trucha arcoiris. Se desconocen cuales pueden ser las señales no controladas relacionadas con el ciclo lunar que actúan como sincronizadoras de tales ritmos.



13.2.1.3. Ritmos anuales

La ingesta y crecimiento de los peces, al tratarse de animales poiquilothermos, están condicionados por la temperatura ambiental, sin embargo, también se producen cambios en el nivel de ingesta relacionados con el fotoperiodo. En general, para la misma temperatura, se observa un incremento de la ingesta en primavera, coincidiendo con el alargamiento del fotoperiodo, y un descenso en otoño, asociado a la reducción del fotoperiodo (Madrid et al 2001).

Las variaciones estacionales en el fotoperiodo y la temperatura pueden influir decisivamente en la fase de los ritmos diarios de actividad alimentaria. Las primeras pruebas acerca de tales cambios estacionales se obtuvieron en peces del Ártico. Se trata de especies que en su medio natural están sometidos a condiciones extremas de fotoperiodo y de intensidad luminosa durante los solsticios de verano e invierno árticos. De acuerdo con Eriksson (1978), los peces que muestran inversiones de fase en su patrón diario de actividad locomotora pueden dividirse en dos categorías:

- a) Peces crepusculares, como el salmón atlántico y la trucha arcoiris en los que el nocturnalismo o diurnalismo es el resultado de la fusión de las actividades relacionadas con el alba y el crepúsculo.
- b) Peces bifásicos, tales como *Lota lota* y *Cottus carolinae* en los que la inversión estacional es un fenómeno real de inversión de fase de su ciclo circadiano.

Las primeras observaciones de Eriksson indujeron a pensar que las inversiones estacionales de fase eran un fenómeno restringido a especies que viven en latitudes altas. Sin embargo, más tarde se comprobó que otras especies de latitudes templadas, como la lubina, también muestran verdaderas inversiones de fase. A pesar de que cada vez está mejor caracterizado el fenómeno del dualismo, aún hoy se desconocen las razones biológicas que inducen dicho comportamiento. En el caso de las especies del Ártico, sometidas a condiciones ambientales extremas, los cambios estacionales en su comportamiento pueden justificarse por las amplias variaciones en el fotoperiodo. Sin embargo, esto



no es válido para especies como la lubina. En este caso, factores bióticos como la adaptación a la variable disponibilidad de alimento, tanto en calidad como en cantidad, junto con cambios en factores abióticos, podrían ser responsables de este comportamiento (Figura 3).

Ya que el dualismo en condiciones naturales está sincronizado con las estaciones, se ha tratado de inducir dichas inversiones en el laboratorio mediante la manipulación del fotoperiodo y de la temperatura. La modificación del fotoperiodo entre un amplio espectro comprendido

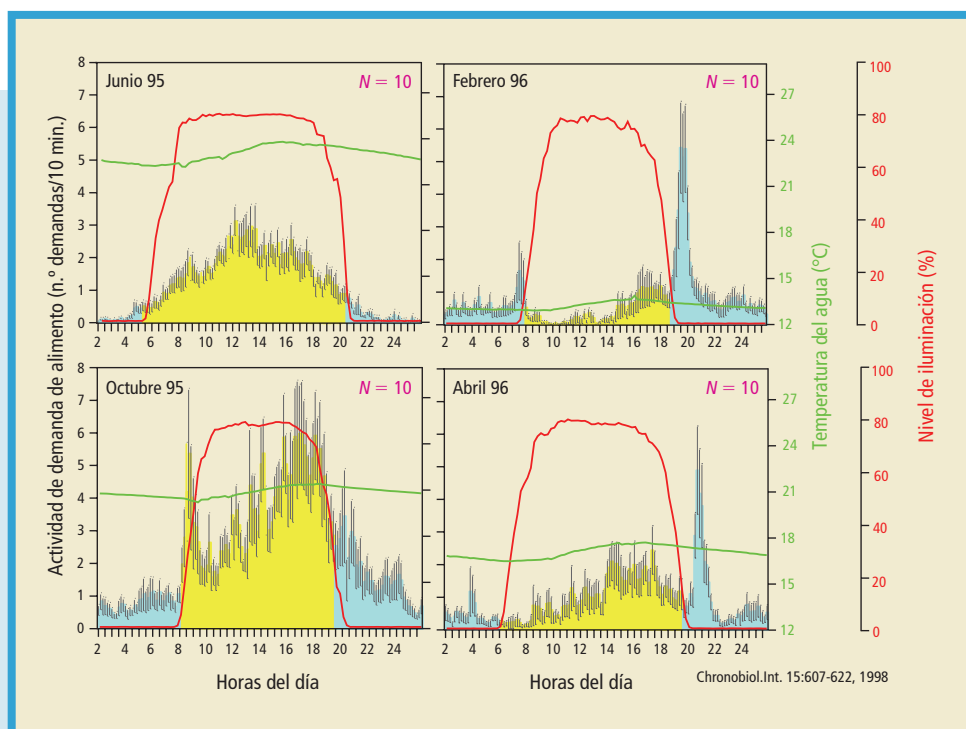


FIGURA 3.

Cambios estacionales en los patrones diarios de demanda de alimento de 10 grupos de lubinas alojadas en tanques en condiciones ambientales naturales y registradas a lo largo de un año completo. La línea roja indica la intensidad luminosa media de cada uno de los meses, mientras que la línea verde representa el ciclo diario de temperatura del agua. Las demandas medias diarias de cada mes en la fase de luz se han representado en amarillo, mientras que las efectuadas en la fase de oscuridad se muestran en azul. Tomado de Sánchez-Vázquez *et al.* 1998a.



entre 2 y 22 horas de luz (LD 2:22-LD 22:2), no fue capaz de inducir inversiones de comportamiento en la lubina (Aranda *et al.*, 1999a). Sin embargo, en el caso de *Ictalurus nebulosus*, los cambios en la intensidad de la luz si que fueron efectivos induciendo inversiones de comportamiento alimentario (Eriksson, 1978). Peces expuestos a ciclos de LD 12:12 de diferentes intensidades mostraron patrones nocturnos con elevadas intensidades lumínicas y diurnos con bajas intensidades.

En condiciones ambientales naturales la temperatura fluctúa en paralelo a los cambios en el fotoperiodo. En el salmón atlántico, Fraser *et al.* (1995) encontró que temperaturas por debajo de 10 °C favorecen los comportamientos nocturnos. Por el contrario, en la lubina alimentada a demanda, incrementos graduales de temperatura entre 22 y 28 °C o descensos entre 22 y 16 °C no consiguieron inducir inversiones de fase. (Aranda *et al.*, 1999b). Además, la combinación de fotoperiodos largos y cortos (16L:8D y 8L:16D) y temperatura del agua cálida o fría (28 y 16 °C) simulando las temperaturas del Mediterráneo en verano e invierno fueron incapaces de modificar la distribución temporal de la comida (Aranda *et al.*, 1999b).

Si bien no se conoce el mecanismo que regula la inversión de fase de los patrones de alimentación, es posible hipotetizar que además de señales externas debe existir un reloj endógeno anual que favorezca en ciertos momentos del año la aparición de tales comportamientos. La existencia de un reloj endógeno anual podría explicar el fallo de ciertos sincronizadores para inducir inversiones de fase en momentos en los que el sistema es refractario a ellas. En apoyo de esta hipótesis, Eriksson (1978) encontró que al transferir *Salmo trutta* del medio natural a un laboratorio con fotoperiodo LD 12:12, los peces mostraban más comportamientos diurnos cuando eran transferidos en verano que en invierno.

13.2.2. El alimento como sincronizador de los ritmos

13.2.2.1. Actividad anticipatoria al alimento

Cuando se considera la alimentación de los peces, uno de los temas que merece atención es la regularidad o no en la ingesta de alimento. La mayoría de los peces no consumen alimento continuamente a lo largo de las 24 horas sino a ciertas horas del día. La alimentación a

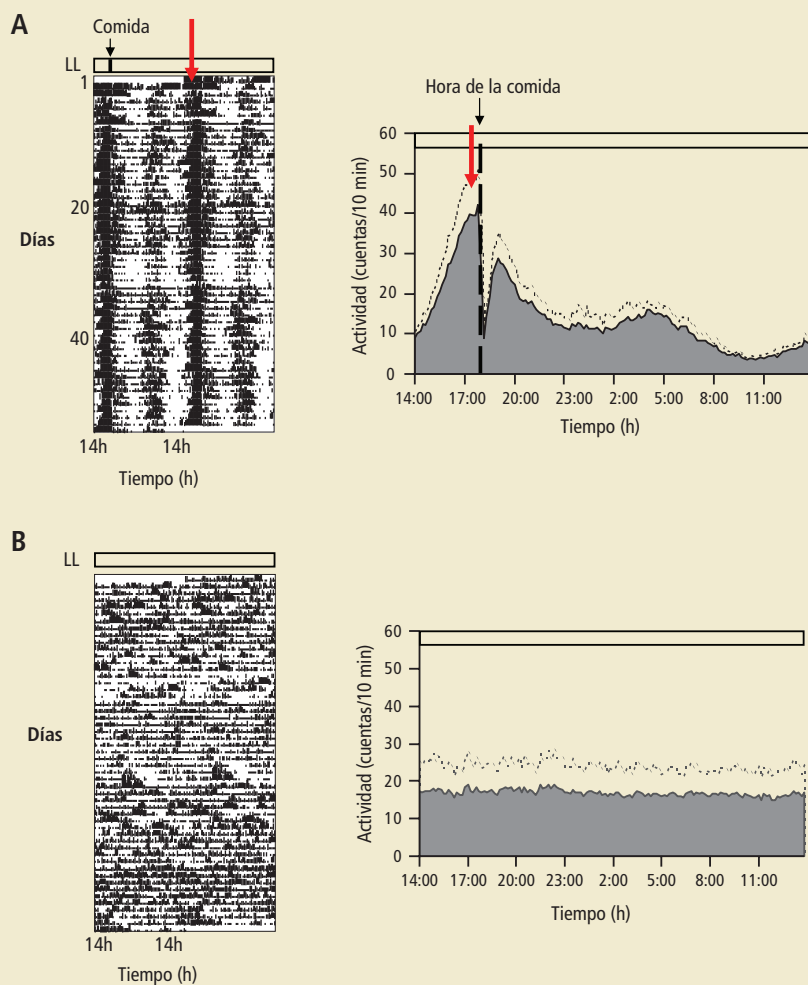


horarios regulares produce cambios importantes en muchas funciones, algunos de los cuales ocurren poco antes de la hora de alimentación, se trata de la denominada actividad anticipatoria al alimento; otros, por el contrario, ocurren como consecuencia de la ingestión del alimento (Sánchez-Vázquez y Madrid, 2001).

La actividad anticipatoria se ha definido como un aumento, al menos del doble con respecto a una línea base, de la actividad de un pez, mantenida ininterrumpidamente más de 30 min, antes de la hora de la comida. Esta actividad anticipatoria aparece no solo cuando los peces están sometidos a un ciclo de luz-oscuridad sino que también se desarrolla cuando los animales no disponen de ninguna señal sincronizadora ambiental excepto la hora de alimentación, como ocurre en peces mantenidos en iluminación u oscuridad continua (Figura 4).

Los beneficios que supone para un pez estar sincronizado a la hora de alimentación son similares a los que obtiene cuando se sincroniza a ciclos de LD. Cuando estos eventos son predecibles, el animal puede utilizar ventajosamente esta información para anticiparse a los mismos y maximizar el aprovechamiento del alimento. Mantener un estado de activación continuo, como sucedería con la alimentación aleatoria durante las 24 horas, es antieconómico para el animal, por el contrario, la anticipación a una comida prepara al pez para mejorar su ingesta de alimento y su utilización nutritiva (Sánchez-Vázquez, Madrid, 2001).

Una de las características principales de la actividad anticipatoria al alimento es que se desarrolla gradualmente, requiriendo varios ciclos de alimentación para que aparezca una actividad anticipatoria significativa. Así mismo, tras un cambio en el horario de alimentación, el tiempo que tarda el pez en desarrollar actividad anticipatoria es proporcional al número de horas de desfase horario. Estos hechos, junto con la observación de que la actividad anticipatoria aparece en condiciones de iluminación constantes (LL o DD) y que permanece durante algunos días tras mantener al animal en ayuno total, ha hecho pensar que se trata de un proceso dirigido por marcapasos endógenos y que en condiciones normales está sincronizado por el horario de alimentación (Sánchez-Vázquez, Madrid, 2001).

**FIGURA 4.**

Efecto sincronizador de la hora de alimentación sobre los ritmos de actividad motora del carpín. En el panel A se han representado los ritmos de actividad motora en peces mantenidos en luz continua y alimentados todos los días a la misma hora. Obsérvese como unas tres horas antes de la hora de la comida los peces muestran una activación importante. En el panel B se han representado los ritmos de actividad motora en carpines alimentados de forma aleatoria. En esta situación los peces muestran una actividad mantenida durante las 24 horas. Tomado de Vera *et al.* 2007.



13.2.2.2. Variables que muestran actividad anticipatoria al alimento

La sincronización al alimento ocurre en numerosas variables comportamentales y metabólicas de mamíferos como actividad locomotora, alimentación, bebida de agua, temperatura corporal y corticosterona plasmática, sin embargo, son mucho menos conocidos sus efectos en peces. La actividad natatoria es, probablemente, una de las variables mas investigadas; sin embargo, la anticipación también puede observarse en la actividad alimentaria cuando se alimenta a los peces mediante distribuidores a demanda con restricción del tiempo de recompensa. En estos casos, el pez comienza a activar el sensor de alimentación, unas horas antes de que se abra la ventana de disponibilidad alimentaria, aumentando progresivamente sus activaciones hasta que obtiene la primera recompensa de alimento. Además de la actividad natatoria y la de demandas de alimento, la anticipación también ha sido demostrada en enzimas digestivas, neuropéptido Y y en el cortisol plasmático (Vera et al , 2006).

El desarrollo de actividad anticipatoria está influido por la cantidad de alimento dispensado, puesto que si bien es posible que los peces anticipen hasta tres comidas diferentes al día, la actividad anticipatoria es proporcionalmente menor que la obtenida con solo una comida al día. Además, la cantidad de alimento también influye, ya que por encima de un mínimo diario, cantidades pequeñas de alimento inducen mayor actividad anticipatoria que si se distribuyen raciones muy elevadas (Sánchez-Vázquez *et al.* 2001b). Por último cabe reseñar que los peces son capaces de anticipar no solo las horas de alimentación sino también los lugares en los que se libera el alimento, realizando una integración espacial y temporal para optimizar la ingesta de alimento.

13.2.2.3. Modelos para explicar la actividad anticipatoria al alimento

Para explicar la aparición de la actividad anticipatoria se propuso inicialmente que los animales utilizan señales externas asociadas a la hora de la comida para predecir el momento de la alimentación, sin embargo, si esto fuera cierto, la eliminación de todas las señales externas mediante un ambiente constante debería llevar a una rápida extinción de la actividad anticipatoria y esto no ocurre ninguna de las especies



estudiadas. Esto indica que la actividad anticipatoria tiene un origen endógeno sin que se requieren otras señales periódicas externas salvo la propia alimentación.

Para explicar un origen endógeno de la actividad anticipatoria se han propuesto dos modelos, uno basado en procesos del tipo «reloj de arena» y otro basado en la existencia de un marcapasos circadiano (Mistlberger, 1994). El modelo de reloj de arena propone que la actividad anticipatoria aparece en relación con los ciclos de depleción y repleción de la energía que se producen cada día como consecuencia de la llegada periódica de alimento. Este modelo, sin embargo, no puede explicar por qué la actividad anticipatoria persiste en ayuno total durante varios días, durante los cuales los animales continúan mostrando anticipación a la hora habitual de la comida.

En la actualidad la presencia de un marcapasos encarrilable por la comida es la hipótesis más ampliamente aceptada. Según esta hipótesis, debe existir alguna estructura, aún no identificada anatómicamente, con capacidad para oscilar autónomamente, capaz de generar los ritmos de actividad anticipatoria (Sánchez-Vázquez *et al.* 1997). En mamíferos, esta estructura es diferente al núcleo supraquiasmático (NSQ) de hipotálamo, marcapasos circadiano principal que es sincronizado por los ciclos de LD. Los animales sin NSQ siguen mostrando ritmos de actividad anticipatoria.

13.2.2.4. Estímulo sincronizador de la actividad anticipatoria

Se han realizado varios intentos para identificar las señales utilizadas por el pez para sincronizar su actividad anticipatoria. El tamaño de la comida y su composición son factores importantes para la sincronización. La energía de la dieta y no la distensión gástrica es más importante para inducir anticipación (Sánchez-Vázquez *et al.* 2001). Una dieta deficiente en aminoácidos Trip. Tyr y Phea no afecta la capacidad de los peces de resincronizar tras un cambio de horario de alimentación (Spieler *et al.* 1987). Es posible que otros factores relacionados con la alimentación y no el alimento en sí mismo sean responsables de la sincronización de la actividad anticipatoria. Por ejemplo, el nivel de excitación provocado por la alimentación, la interacción social, la producción de melatonina gastrointestinal, etc.)



13.2.2.5. Utilidad práctica de la actividad anticipatoria

Dado que el horario de alimentación posee efectos sincronizadores sobre numerosos ritmos diarios en peces, la alimentación a horas fijas puede ayudar a sincronizar sus ritmos digestivos y metabólicos. Durante la alimentación periódica, los peces pueden anticipar la alimentación y prepararse para aprovecharla máximamente, por el contrario, si el momento de la alimentación es aleatorio, los peces son incapaces de predecir la llegada del alimento y la pérdida de alimento podría verse aumentada.

La actividad anticipatoria puede ser utilizada para conocer el apetito de los peces ante una comida. Si los peces han sido entrenados a autoalimentarse mediante la utilización de distribuidores a demanda con horarios restringidos de disponibilidad alimentaria, la activación de los sensores previa a los horarios de alimentación es proporcional al apetito de los peces y a la cantidad de alimento que demandarán con posterioridad. Combinando el sistema de alimentación a demanda con la detección de alimento no consumido, se observó en la lubina que la menor anticipación se correspondió con la comida menos demandada, mientras que elevada actividad anticipatoria fue seguida de un elevado número de demandas recompensadas y de muy poco alimento desperdiciado (Madrid et al, 1997).

13.3. ¿CÓMO ALIMENTAR?

El modo en que el alimento se suministre a los peces constituye un factor de gran importancia en el rendimiento de una explotación ya que afecta al crecimiento de los peces, al desperdicio de alimento y sobre todo al coste de mano de obra empleada en la alimentación. Para tratar de optimizar los sistemas de alimentación a emplear para una determinada especie en una instalación concreta se ha de poder analizar con la mayor precisión posible la cantidad real de alimento ingerido, por ello es fundamental conocer cuánto alimento se ha suministrado y cuánto alimento se ha desperdiciado.

13.3.1. Sistemas de alimentación

Un principio que hay que tener en cuenta cuando se habla de alimentación de los peces es el hecho de que muchas especies no regulan su ingesta de alimento sobre una base diaria, sino que utilizan periodos mu-



cho más amplios para su regulación. Ello supone que en determinados días su apetito es reducido e ingieren raciones por debajo de lo esperado, mientras que otros días son capaces de ingerir cantidades superiores a las esperadas. Esta amplia variación diaria, a menudo, es impredecible aún teniendo en cuenta las condiciones ambientales, por lo que los sistemas de alimentación dotados de una cierta flexibilidad son preferibles a los sistemas programados rígidamente (Madrid *et al.* 2001).

A continuación trataremos de hacer una clasificación de los diferentes sistemas de alimentación empleados en acuicultura. Hay que tener presente que la alimentación de los peces es un proceso voluntario basado en la motivación que tenga el pez a ingerir el alimento. La diferencia entre los distintos sistemas se ha establecido en función de los grados de libertad que se ofrezcan al pez a la hora de alimentarse. Así, de menor a mayor libertad en su capacidad de elección, podemos clasificarlos como:

A) Los peces no pueden elegir ni la cantidad de alimento ni el horario de las comidas

Administración de raciones fijas predeterminadas, por ejemplo, a partir de las tablas de racionamiento proporcionadas por los fabricantes de alimento u obtenidas por la misma empresa acuícola o a partir de modelos matemáticos que calculan los requerimientos diarios. El suministro de la dieta puede hacerse a mano o mediante dispositivos automáticos que liberan raciones fijas a intervalos previamente establecidos. Sin embargo, la predicción de la ingesta precisa que van a realizar los peces es difícil de realizar, debido a variaciones relacionadas con factores ambientales, su estatus de salud, tamaño y estado de desarrollo. Esto supone un factor negativo ya que las posibles variaciones a corto plazo de la ingesta de alimento no son tenidas en cuenta en la gestión diaria de la alimentación (Alanara *et al.* 2001).

B) Los peces pueden elegir la cantidad de alimento pero no el momento en el que se le suministra

B1) Alimentación basada en la saciación (control *a posteriori*). Se trata de sistemas que programan la liberación de alimento a intervalos regulares y que determinan la cantidad de alimento dispensado en función de señales de retroalimentación proporcionadas por los peces. Según el tipo de retroalimentación encontramos:



- Retroalimentación mediante control visual. Este es el caso de la alimentación manual a saciedad. Es uno de los procedimientos más ampliamente utilizados en la mayoría de las instalaciones. La ración se reparte en diferentes tomas y se controla el tamaño de la comida atendiendo a las señales de apetito proporcionadas por los propios peces. Aunque se trata de un buen sistema de alimentación, sus principales limitaciones son: la dificultad que implica la observación del comportamiento de los peces desde la superficie, la gran cantidad de tiempo que precisa y la falta de control del alimento no consumido (Figura 5).
- Retroalimentación automática a partir de la detección del alimento no consumido. El más conocido entre estos sistemas es el desarrollado por la empresa Aquasmart (UK), que ha sido am-



FIGURA 5.

La alimentación manual permite un adecuado control de la alimentación a partir de las observaciones de la actividad motora, alimentaria y posición en la columna de agua, sin embargo, este sistema presenta importantes limitaciones como: el gran consumo de tiempo, no se controla el alimento desperdiciado al observarse la actividad de los peces desde la superficie y ha de realizarse en función de las horas de trabajo del personal.

plamente utilizado en el cultivo del salmón en el norte de Europa (Figura 6). Su funcionamiento se basa en la distribución de pequeñas comidas de prueba a intervalos regulares y la determinación simultánea, mediante sensores sumergidos en el fondo de la jaula, del alimento no consumido. En el caso de que una distribución fuera ingerida totalmente por los peces el sistema continua alimentando hasta el momento en que se rebase un umbral de alimento desperdiciado, en cuyo caso cesa la alimentación. Estos

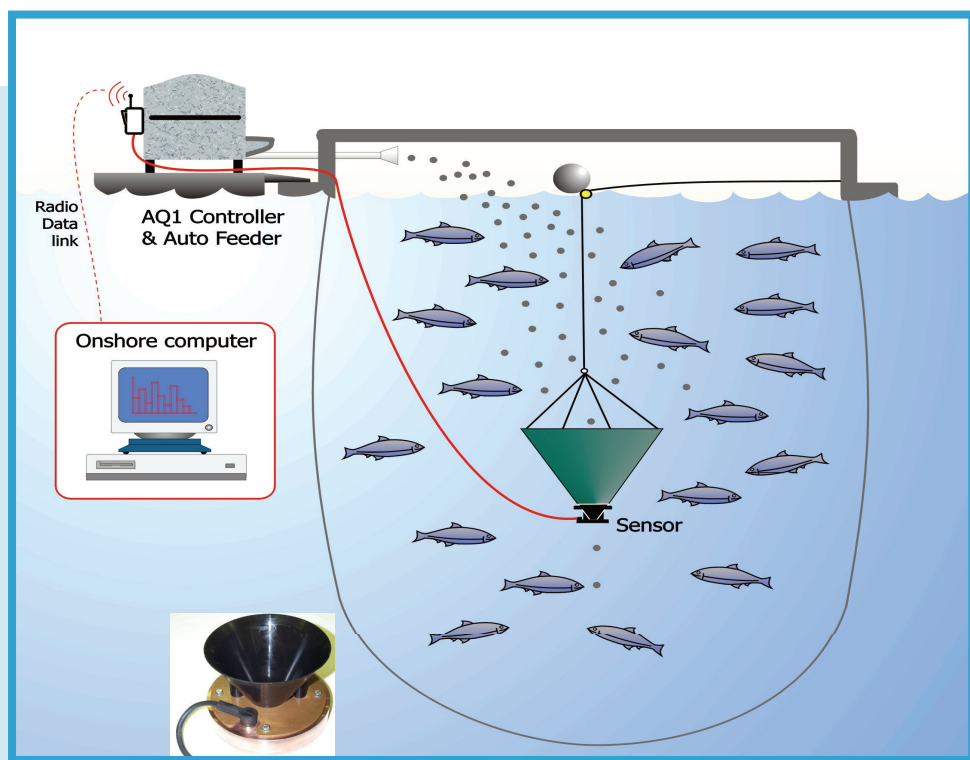


FIGURA 6.

Sistema de alimentación automático, tipo Aquasmart, con retroalimentación a partir de la detección del alimento consumido. Periódicamente el sistema libera una pequeña cantidad de alimento, en el caso de que sea ingerido por los peces, se continua alimentado a intervalos discretos. Cuando el alimento ya no es ingerido el sistema detiene la alimentación hasta que transcurre un determinado tiempo y el ciclo comienza de nuevo. Tomado de Blyth *et al.* 1999.



sistemas si bien funcionan bastante bien con temperaturas frías, no son tan fiables en el Mediterráneo ya que obligan a la limpieza frecuente de los sensores infrarrojos como consecuencia del crecimiento de organismos sobre los mismos. En la práctica, y siempre que se programen frecuentes liberaciones de alimento, este sistema permite a los peces decidir la cantidad y también el momento de alimentación, por lo que han sido utilizados para el estudio de los ritmos de alimentación del salmón atlántico (Blyth *et al.* 1999).

B2) Sistemas de alimentación basados en la posición de los peces en la jaula (sistema tipo *Peneye*). Se basa en la colocación de una sonda hidroacústica montada en el fondo de la jaula. La señal es procesada por un ordenador que integra el eco generado a diferentes profundidades de la jaula (Figura 7). En el caso del salmón atlántico y antes de la hora de alimentación, las mayores densidades de peces se localizan a profundidades medias. Cuando la comida comienza, la densidad en la superficie aumenta significativamente y permanece a un nivel elevado mientras que el apetito permanezca alto. Cuando la intensidad del eco en la capa superior de la jaula disminuye por debajo de un cierto umbral, los comederos dejan de suministrar alimento. Otras aplicaciones del sistema son la detección de peces muertos, así como la estimación de la biomasa (Juell *et al.* 1993).

B3) Sistemas de alimentación basados en control acústico de la ingestión de alimento. Este sistema, propuesto por Lagardère y Mallekh (2000) para la alimentación del rodaballo, se basa en la detección de los sonidos generados por la ingestión del alimento. Cuando los peces dejan de alimentarse, el sistema detiene el suministro de alimento.

C) Los peces pueden elegir la cantidad y el momento de alimentación

Alimentación basada en la motivación, control *a priori*.

- Sistemas de alimentación a demanda (Figura 8). Estos sistemas de alimentación se están imponiendo, sobre todo en la alimentación en instalaciones en tierra debido a su flexibilidad y sencillez de manejo. Se basan en el desarrollo de un condicionamiento instrumental mediante el cual el pez aprende a activar un sensor con el fin de

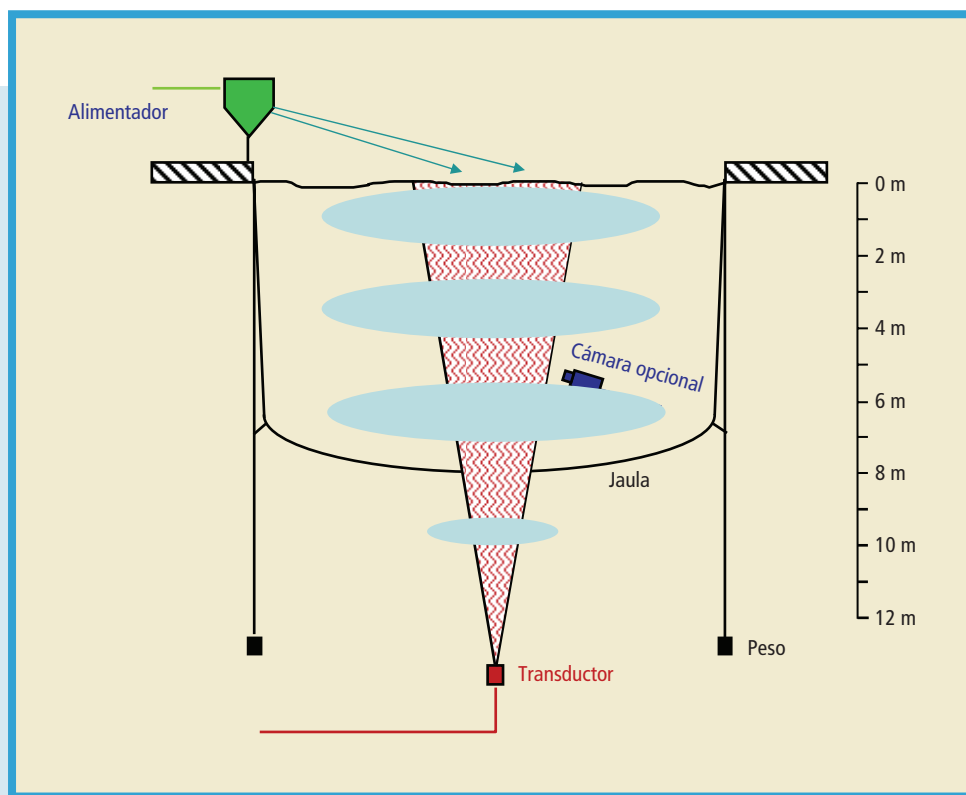


FIGURA 7.

Esquema del funcionamiento del sistema de alimentación automática, tipo *Peney*. La alimentación utiliza como señal de retroalimentación la posición que ocupan los peces en la columna de agua. Cuando los peces se van al fondo, la alimentación se detiene hasta pasado un tiempo. La posición de los peces y su biomasa se determinan mediante la detección del eco generado por ultrasonidos. Tomado de Juell *et al.* 1993.

obtener una recompensa en forma de alimento (Sánchez Vázquez *et al* 1994). En su forma más completa el sistema se compone de tres elementos: a) un sensor que ha de ser fácilmente activado por una actuación voluntaria del pez, pero que ha de evitar activaciones involuntarias o como consecuencia del movimiento del agua; b) un distribuidor de alimento que reparte una cierta cantidad de dieta en respuesta a la activación del sensor; c) un controlador que registra el número de demandas y que determina en función de una progra-



mación previa si habrá o no recompensa. En muchos casos este controlador es un ordenador, aunque en las versiones más sencillas el sensor está acoplado directamente con el distribuidor sin necesidad de controlador. De los tres elementos anteriores, el sensor es el componente decisivo ya que ha de adaptarse al comportamiento particular del pez. Los primeros sensores utilizados fueron del tipo «barra rígida activada por desplazamiento», sin embargo, la existencia de

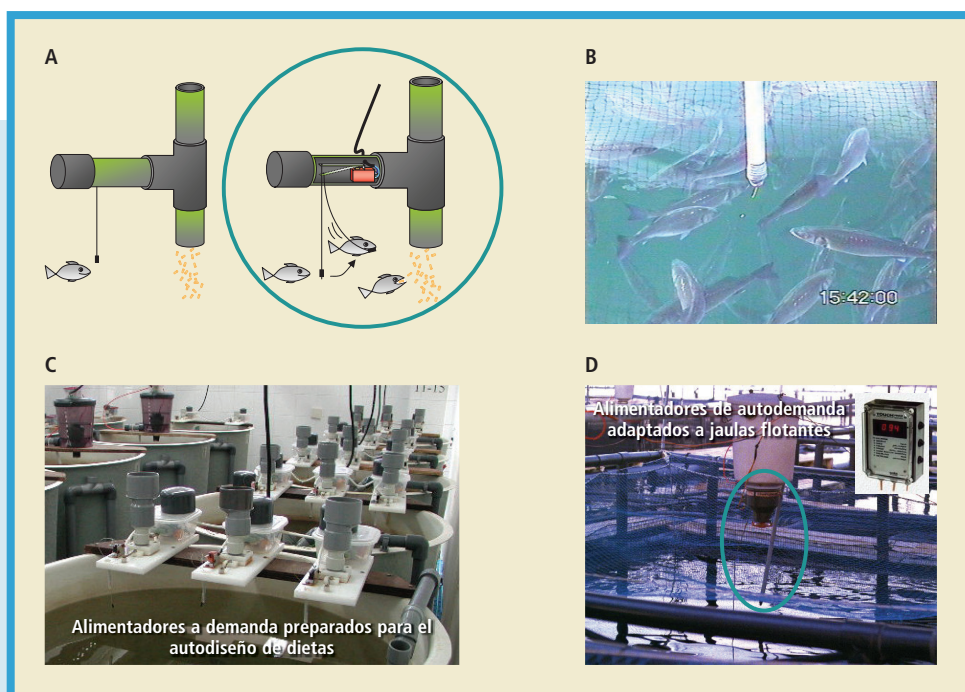


FIGURA 8.

Esquema de los componentes principales de los dispensadores a demanda. A) Esquema del funcionamiento del sensor de estiramiento; el pez ha de morder y tirar del extremo del sensor para que se libere el alimento. B) Fotografía de un sensor de estiramiento emplazado en una jaula flotante. C) Organización de los dispensadores a demanda para el diseño de dietas. Cada dispensador libera un tipo diferente de dieta compuesta por uno o dos macronutrientes. Para alimentarse el pez ha de seleccionar entre varias de ellas para componer una dieta balanceada. D) Fotografía de un distribuidor de alimento, su caja de control y del emplazamiento del sensor (marcado con un círculo verde) en una jaula flotante. Tomado del Laboratorio de Cronobiología de la Universidad de Murcia.

activaciones involuntarias debidas al movimiento de los peces al recibir alimento o al viento o movimiento de las olas llevó al diseño de sensores de estiramiento (Rubio *et al.* 2004). Estos se componen de interruptor, un hilo y un señuelo. El pez al morder el señuelo tira del hilo y activa el interruptor. Hasta el momento la alimentación a demanda con sensores de estiramiento ha sido utilizada con éxito por nuestro grupo en lubina, dorada, trucha, sargo picudo, lenguado, rodaballo, trucha alpina, carpín y tenca (Figura 9).



FIGURA 9.

Relación de especies en las que se ha probado con éxito la alimentación a demanda mediante sensores de estiramiento. Datos del Laboratorio de Cronobiología de la Universidad de Murcia.



D) Los peces pueden elegir la cantidad, el momento y el tipo de alimento

- Sistemas de alimentación a demanda con dispensadores que liberen diferentes dietas. Combinando varios alimentadores a demanda en el mismo tanque, es posible ofrecer a los peces distintas dietas que varíen en su composición, en su textura, o en el tamaño del granulado (Aranda *et al*, 2000). De este modo es posible conocer las preferencias de los peces por un tipo u otro de alimento. Esta información puede ser muy valiosa a la hora de diseñar dietas y seleccionar alimentos adaptados a las preferencias de la especie.

Este sistema de alimentación solo se ha empleado en el laboratorio, sin que por el momento existan aplicaciones comerciales del mismo. Este tipo de estudios conviene hacerlos con peces alojados en grupos ya que la selección dietaria de peces alojados individualmente se ve afectada en gran medida por el estrés que conlleva su aislamiento. Sin embargo, la activación de los diferentes alimentadores a demanda por los individuos que forman parte de un grupo no es posible de determinar con la técnica descrita anteriormente. Por ello, recientemente nuestro grupo ha ensayado un procedimiento que combina el marcaje individual de los peces con PIG TAGS junto a la presencia de varios dispensadores a demanda acoplados a antenas que registran el pez que realiza las demandas. De este modo es posible conocer la selección dietaria realizada por cada uno de los peces dominantes (Herrero, 2007).

E) Sistemas mixtos en los que una parte del alimento se administra de forma predeterminada y el resto es demandada por los peces.

Las combinaciones entre los diferentes sistemas expuestos anteriormente abren un abanico extenso de posibilidades a la hora de alimentar a los peces. Así, es posible, utilizando alimentadores a demanda, combinar la distribución de una parte de la ración de modo preprogramado y dejar que el resto lo demanden los peces hasta completar sus necesidades diarias. Aunque no ha sido probado en instalaciones acuícolas, es muy probable que este sistema mixto mejore el rendimiento de cada uno de los sistemas por separado.



A menudo un mismo sistema de alimentación puede emplearse de modo diferente pudiendo ser incluido en diferentes categorías, así por ejemplo, los sistemas de alimentación a demanda, pueden permitir a los peces elegir cuánto, cuándo y qué tipo de alimento en unos casos (varios distribuidores con alimentos diferentes), o limitar la selección a cuánto y cuándo (un solo distribuidor sin restricción de tiempo o cantidad), o reducir la selección a cuánto alimento (restringiendo los momentos de activación de los dispensadores), o, incluso, limitar la máxima cantidad de alimento (fijando un límite superior a las demandas de los peces).

13.3.2. Registro del alimento no consumido

El alimento ingerido por los peces es el resultado del balance entre el alimento distribuido y el alimento no consumido. Asumir que los peces consumen todo el alimento que se les suministra es incurrir en un error a la hora de estimar la ingesta real. Por tanto, se hace necesario determinar de forma precisa y sencilla la cantidad de alimento no consumido por los peces.

En tanques en tierra esta variable es fácil de determinar siempre que dispongamos de colectores de alimento a la salida de los tanques. Estos colectores funcionan mediante la reducción de la velocidad de la corriente de agua al pasar por una zona expandida. Si además se acopla el colector con una fotocélula infrarroja, es posible determinar en tiempo real el número de gránulos desperdiciados por los peces (Rubio *et al.* 2003).

Más difícil resulta registrar el alimento no ingerido cuando este procede de diferentes comederos emplazados en el mismo tanque, como ocurre, por ejemplo cuando se realizan estudios de selección dietaria. En este caso, se ha recurrido a dos posibles soluciones, una consiste en marcar los gránulos de diferente composición con distintos colores, haciendo posible su cuantificación individual, otra solución se basa en colocar colectores cónicos acoplados a decantadores de alimento justo debajo de cada uno de los comederos (Vivas *et al.* 2006).

La situación es muy diferente cuando se trabaja en jaulas flotantes. En este caso la determinación del alimento no consumido es de gran importancia debido al escaso tiempo de disponibilidad del alimento



cuando cae en la columna de agua antes de abandonar la jaula. Entre los sistemas más utilizados cabe señalar la colocación de conos colectores en el fondo de la jaula de modo que recogen un porcentaje del total del alimento no consumido. La cuantificación de los gránulos de alimento se realiza mediante sensores infrarrojos colocados al final del cono o bien mediante el bombeo continuo del agua a través del cono y su paso por un decantador colocado en la superficie de la jaula.

13.3.3. Estrategias de alimentación

Como se ha mostrado en apartados anteriores, la ingesta de alimento está sometida a ritmos diarios y estacionales de apetito modulados por factores ambientales. Con la utilización de dispensadores a demanda ha sido posible establecer los patrones de alimentación diarios diseñados por los propios peces. Estos patrones son de gran importancia a la hora de planificar la alimentación mediante sistemas automáticos de alimentación; sin embargo, dado que la regulación de la ingesta de los peces no se realiza sobre una base diaria sino que abarca varios días y que los factores ambientales pueden variar de un día a otro de modo poco previsible, los sistemas de alimentación flexibles que permiten a los peces ajustar su ración entre ciertos límites, poseen ventajas sobre los que se basan en la distribución de raciones fijas calculadas previamente mediante las cartas de alimentación (Madrid *et al.* 2001).

Muchas instalaciones acuícolas utilizan sistemas de alimentación automáticos, programados para distribuir cantidades fijas de alimento a intervalos regulares a lo largo del día. En estas instalaciones, si bien se presta atención a las cantidades globales de alimento, se desatiende a menudo al ajuste temporal de la distribución del alimento, o a los momentos horarios más adecuados para el suministro del mismo.

La existencia de ritmos biológicos tanto en la ingesta de alimento como en varios parámetros hormonales y enzimáticos implicados en los procesos de utilización metabólica de los nutrientes en los peces, permite considerar al pez como un sistema fisiológico diferente en distintos momentos del día, de la estación o del año. Por ello, la hora del día en la que el alimento es suministrado podrá influir en la tasa de crecimiento y utilización del alimento, y la respuesta puede ser diferente según las características de cada especie.



En especies de comportamiento nocturno, como los silúridos, varios trabajos han mostrado el efecto negativo de la alimentación diurna sobre el crecimiento y el índice de conversión. En el pez gato, el momento en el cual se administra el alimento afecta no solo al crecimiento sino también al contenido graso abdominal, siendo los peces que peor crecieron los que más grasa abdominal presentaron (Kerdchuen y Legendre, 1991). En esta misma línea de investigación, diferentes publicaciones han mostrado un efecto diferencial de la hora de alimentación sobre el crecimiento, la eficacia alimentaria y retención y síntesis proteica en trucha arcoiris (Boujard *et al*, 1995). También se han realizado estudios sobre el efecto de la hora de alimentación en lubina y en dorada, observándose diferencias significativas en los parámetros estudiados según la hora del día en que se alimentaron. Por ejemplo en la dorada, las mayor ingesta y ganancia de biomasa se observó en el grupo alimentado a demanda durante 4 horas por la mañana, mientras que la peor se obtuvo al mediodía (Anthouard *et al*. 1996). Sin embargo, asumir que una determinada pauta de alimentación puede ser la más favorable en todo momento, exige amplias comprobaciones experimentales. Muchas especies muestran a lo largo del año cambios graduales en sus ritmos biológicos, por ello, es necesario incluir las dinámicas estacionales a la hora de elaborar cartas temporales de alimentación.

La determinación de la pauta de alimentación más favorable, en términos de eficacia alimentaria, requeriría, en principio, la realización de numerosos experimentos, sin embargo, varios investigadores han comprobado que el mayor rendimiento se obtiene frecuentemente alimentando a los peces de acuerdo con sus ritmos de apetito. De este modo es posible deducir cual será la estrategia de alimentación más adecuada a partir de los perfiles de alimentación obtenidos mediante los registros de las demandas de alimento de los peces.

13.3.4. Efecto del sistema de alimentación sobre el crecimiento y la eficacia alimentaria

De lo comentado anteriormente, se puede deducir que la estrategia utilizada para alimentar los peces puede influir en buena medida sobre el rendimiento de la dieta. Peces alimentados con sistemas que



no se adecuan a sus ritmos biológicos naturales pueden no alcanzar el máximo rendimiento de la dieta. La ingesta que finalmente realiza un pez es el resultado de la interacción de dos componentes: un factor predecible, los ritmos de apetito y un conjunto de factores que evolucionan de un modo mucho más impredecible: estado de crecimiento, temperatura, luminosidad, oxígeno, estrés, enfermedades, etc. La conjunción de todas estas variables hace que sea difícilmente predecible conocer la cantidad óptima de alimento que los peces consumirán un día determinado.

La alimentación manual es la técnica de alimentación más simple. Permite un buen control del cultivo ya que la observación del comportamiento de los peces frente al alimento, la respuesta al mismo y la distribución homogénea en la superficie, facilita el que se alcance una tasa de alimentación óptima, modificando cuando sea necesario la ración. Sin embargo, la alimentación manual es extremadamente costosa y dependiente de una mano de obra experimentada. Por este motivo está siendo progresivamente sustituida, sobre todo en grandes instalaciones, por distribuidores automáticos y por autodispensadores a demanda.

Disponer de una tabla de alimentación que cuantifique las necesidades diarias en nutrientes es un prerequisite a la hora de utilizar los sistemas automáticos. Estas tablas deberían tener en cuenta, además de la biomasa y la temperatura del agua, las variaciones diarias en el apetito. Sin embargo, las variaciones comportamentales y fisiológicas que pueden afectar a los requerimientos nutricionales diarios son difíciles de predecir y de ahí las ventajas de los distribuidores de autodemanda. Estos sistemas, además de ser económicos y de prácticamente no precisar mano de obra, ofrecen a los peces la posibilidad de alimentarse de acuerdo con sus propios ritmos, integrando los cambios ambientales en sus patrones de alimentación, lo que permite una mejor adecuación entre el suministro y la ingesta de alimento. Un inconveniente de estos sistemas es que pueden no ofrecer buenos índices de conversión cuando el acceso al alimento es libre durante las 24 horas y el nivel de recompensa por cada activación del comedero es demasiado elevado. Inconvenientes que se solucionan fácilmente ajustando la recompensa a las características del cultivo y/o restringiendo el funcionamiento



de los dispensadores a ciertas horas del día, con lo que, además, se consigue que los peces sincronicen sus ritmos a la disponibilidad de alimento y desarrollen una cierta actividad anticipatoria.

En relación con los dispensadores automáticos programables, estos sistemas ofrecen claras ventajas cuando se trata de jaulas flotantes, sin embargo, para la correcta utilización de estos se precisa de un conocimiento preciso de las pautas de comportamiento alimentario de la especie objeto de cultivo. En este sentido el desarrollo de los sistemas automáticos interactivos basados en el control simultáneo del alimento liberado y no consumido, ha contribuido en gran medida a la optimización de la alimentación en estas condiciones de cultivo.

Varios autores han realizado análisis comparativos en diferentes especies para valorar la eficacia de distintos sistemas de alimentación.

En la trucha arcoiris, alojada en jaulas flotantes durante un fotoperiodo de verano se observó que los peces alimentados a demanda *ad libitum* tuvieron un mejor crecimiento que los alimentados de forma automática. Sin embargo, cuando el acceso al dispensador de autodemanda fue restringido a dos periodos al comienzo y al final de la fotofase, la mejora en el índice de conversión fue significativa, manteniéndose el crecimiento igual al del grupo alimentado a demanda sin restricción (Alanärä, 1992). Así mismo, en la dorada la sustitución de alimentadores automáticos por dispensadores de autodemanda mejoró el crecimiento, índice de conversión y la tasa de supervivencia (Kentouri *et al.* 1993).

La lubina ha sido una especie a la que se ha prestado mucha atención en relación con las estrategias de alimentación, por lo que se detallarán algo más los resultados obtenidos con esta especie y que podrían servir como modelos para abordar las estrategias de alimentación en otras especies. La lubina es especialmente interesante debido a la existencia de inversiones de fase en el comportamiento alimentario, hecho que descarta la posibilidad de establecer un horario único de alimentación en el que el alimento sea aprovechado de forma óptima por esta especie.

Los resultados de los experimentos sobre comportamiento alimentario suscitan inmediatamente el interrogante de conocer cual o cuales



son las implicaciones del dualismo de fase en el rendimiento del alimento.

En un primer momento, nuestro grupo se planteó la conveniencia de comparar la eficacia de dos sistemas de alimentación a demanda: uno en el que los peces podían alimentarse durante las 24 h, y el otro, en el que los peces solamente recibían el alimento demandado durante tres horas al día (por la mañana, a mediodía y a medianoche), con un sistema de alimentación automática en el que los peces recibían el alimento sin necesidad de demandarlo, durante las mismas horas seleccionadas en el grupo anterior. Este experimento permitió concluir que son los sistemas de alimentación a demanda los que producen mejores rendimientos en términos de eficacia alimentaria y crecimiento. Por el contrario, los peores índices de rendimiento se obtuvieron en el grupo alimentado de forma automática (Azzaydi *et al.* 1998). Estos resultados pueden ser consecuencia de la imposibilidad de predecir los cambios diarios en el apetito de los peces lo que lleva a que ciertos días el alimento suministrado por el sistema automático fuera insuficiente, mientras que en otros momentos fuera excesivo. Por otro lado, la similitud de resultados mostrados por los dos grupos alimentados a demanda sugiere que la existencia de tres ventanas de alimentación de una hora de duración, repartidas a intervalos regulares durante las 24 horas es suficiente para que los peces puedan alimentarse siguiendo sus ritmos diarios de apetito (Figura 10).

Los resultados obtenidos en el experimento anterior revelaron la necesidad de alimentar a los peces de acuerdo con sus ritmos de apetito, sin embargo, era conveniente avanzar en la posibilidad de utilizar sistemas de alimentación automática dada la dificultad de implantar la alimentación a demanda en jaulas flotantes. Por ello se diseñó un experimento, similar al anterior en cuanto a número de peces y metodología, en el que se establecieron tres grupos experimentales: un grupo control, alimentado a demanda *ad libitum*, otro grupo alimentado con un sistema automático con tres comidas de tamaño constante, y un tercero, alimentado a las mismas horas que el grupo anterior, pero modulando el tamaño de cada comida en función de los ritmos correspondientes a la época del año en la que se realizó el experimento. Esta información fue obtenida a partir de la información proporcio-

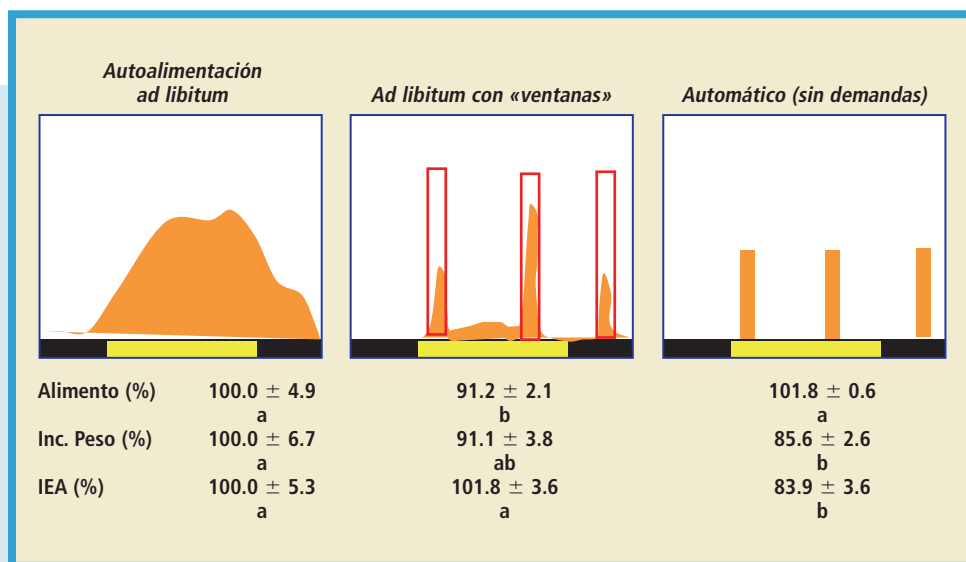


FIGURA 10.

Análisis comparativo de tres sistemas de alimentación en la lubina. Se analizaron la ingesta de alimento, el incremento de peso y el índice de eficacia alimentaria (ganancia de peso/alimento ingerido) en tres situaciones diferentes: alimentación a demanda *ad libitum*, alimentación a demanda con restricción temporal (8-9 h, 16-17 h y de 0-1 h) y alimentación automática con la misma ración que el grupo a demanda *ad libitum* y a las mismas horas que el grupo a demanda con restricción temporal. Los valores que se muestran son relativos, tomándose como 100 los índices obtenidos en el grupo a demanda *ad libitum*. Obsérvese como las lubinas alimentadas de forma automática reciben al misma cantidad de alimento que el grupo a demanda *ad libitum* pero crecen un 15 % menos y su IEA es un 16 % menor. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre grupos. Tomado de Azzaydi *et al.* 1998.

nada por los experimentos de alimentación a demanda a lo largo del año. Los dos grupos alimentados de forma automática recibieron en todo momento la misma cantidad de alimento, calculada a partir de las tablas de alimentación proporcionadas por el fabricante del pienso. En esta situación, los peores índices globales de eficacia alimentaria y de crecimiento se obtuvieron con el sistema de alimentación automática con comidas de tamaños constantes. Sin embargo, lo más interesante fue comprobar que tanto el grupo alimentado de forma automática modulada como el grupo a demanda *ad libitum* mostraron unos



rendimientos similares (Azzaydi *et al* 1999). Estos resultados abren la posibilidad de utilizar sistemas automáticos en lugar de a demanda en los que el suministro del alimento se module en función de los ritmos de alimentación de la especie (Figura 11).

Tal y como se ha puesto de manifiesto a partir de los experimentos sobre comportamiento alimentario, la lubina muestra preferencias por la alimentación nocturna durante el invierno. Por ello, se realizó un experimento en el que se trató de demostrar la posibilidad de mejorar

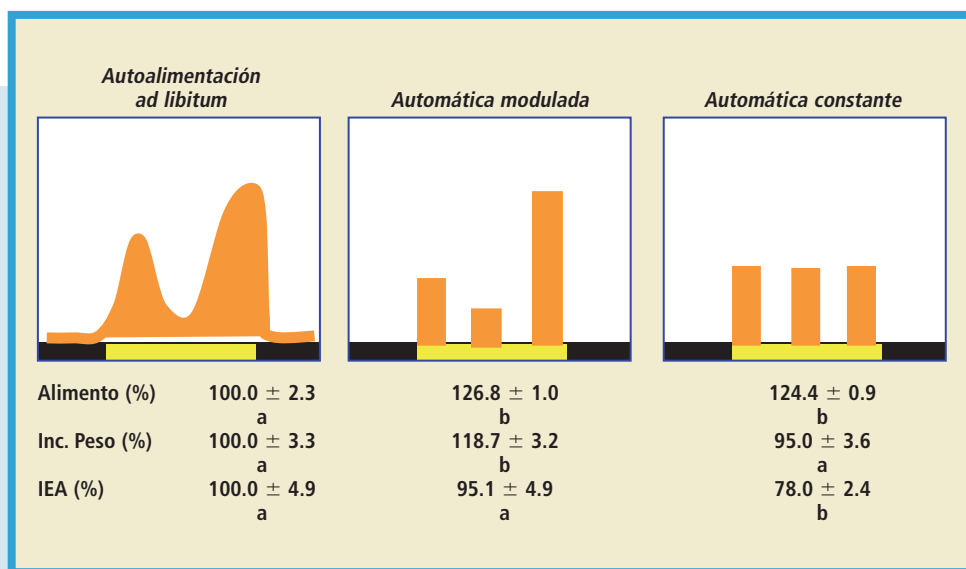


FIGURA 11.

Análisis comparativo de tres sistemas de alimentación en la lubina. Se analizaron la ingesta de alimento, el incremento de peso y el índice de eficacia alimentaria (ganancia de peso/ alimento ingerido) en tres situaciones diferentes: alimentación a demanda *ad libitum*, alimentación automática modulada (tres comidas de una hora de duración y de tamaños diferentes, calculados a partir de los ritmos de alimentación de los peces alimentados a demanda) y automática constante (mismos horarios y cantidad de alimento que en el grupo automático modulado, pero con comidas de tamaño constante). Los valores que se muestran son relativos, tomándose como 100 los índices obtenidos en el grupo a demanda *ad libitum*. Obsérvese como las lubinas alimentadas de forma automática constante reciben la misma cantidad de alimento que el grupo automático modulado pero crecen un 23 % menos y su IEA es un 17 % menor. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre grupos. Tomado de Azzaydi *et al.* 1999.



el rendimiento de la alimentación invernal mediante el empleo de alimentación nocturna. El experimento se planteó utilizando tres grupos experimentales: uno control alimentado a demanda *ad libitum*, otro automático, alimentado mediante tres comidas de tamaño constante liberadas durante la fotofase y un tercer grupo, también alimentado de forma automática, pero solamente durante la escotofase y modulando el tamaño de las comidas de acuerdo con los patrones invernales previamente obtenidos. Los resultados obtenidos permiten concluir que la alimentación diurna, durante el periodo de las inversiones invernales puede no ser aprovechada por los peces, por lo que su crecimiento es muy reducido (Figura 12). Por el contrario, los peces alimentados de forma automática modulando el tamaño de las comidas nocturnas mostraron unos notables índices de transformación, similares a los alimentados a demanda (Azzaydi *et al.* 2000). Es importante señalar que la forma de los tanques y el flujo de agua eran tales que el alimento podía permanecer en el fondo del tanque durante algún tiempo antes de ser evacuado, por lo que las lubinas alimentadas de noche podían ingerirlo directamente del fondo de la cuba. Son necesarios nuevos experimentos que muestren la capacidad de la lubina de capturar en alimento en la columna de agua durante la escotofase, ya que en las jaulas flotantes el alimento únicamente puede ser capturado en su caída hacia el fondo. De cualquier modo parece evidente que la alimentación modulada de acuerdo con los ritmos del pez, incluso en invierno, cuando la lubina es nocturna, es el método que más se aproxima al sistema de alimentación a demanda en cuanto a, rendimiento del alimento, tasas de crecimiento y reducción de alimento no consumido.

Si bien es difícil la alimentación a demanda en jaulas flotantes, los resultados obtenidos en el laboratorio también se han probado experimentalmente en las jaulas con similares resultados. Dos jaulas con 180.000 lubinas fueron alimentadas manualmente a saciedad mediante tres comidas diarias, mientras que otras dos jaulas lo fueron a demanda sin restricción alguna, aunque su recompensa fue estudiada con detalle en un experimento anterior. Al final del periodo experimental de dos meses de duración, los peces alimentados a demanda mostraron un índice de conversión más favorable debido a que demandaron una menor cantidad de alimento y crecieron más

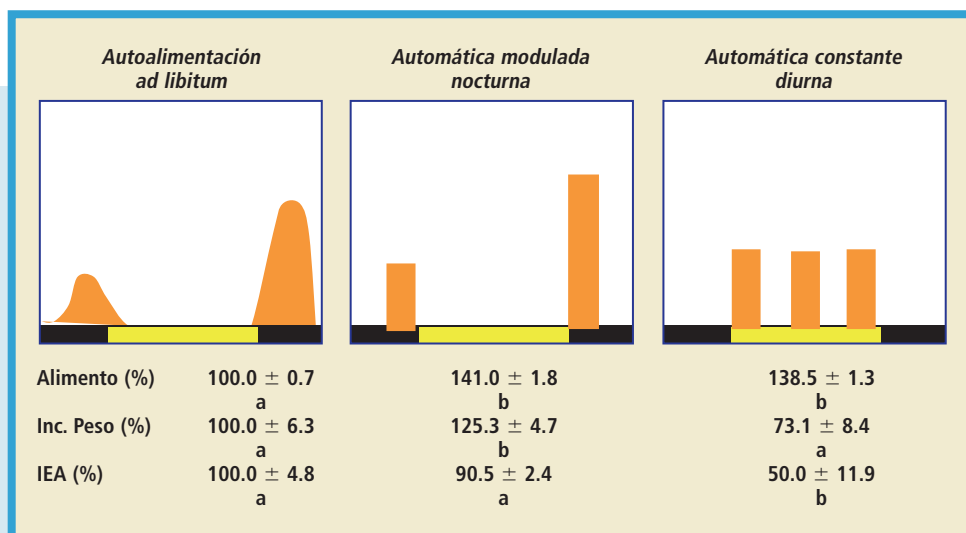


FIGURA 12.

Eficacia de la alimentación nocturna durante el invierno en la lubina. Se analizaron la ingesta de alimento, el incremento de peso y el índice de eficacia alimentaria (ganancia de peso/alimento ingerido) en tres situaciones diferentes: alimentación a demanda *ad libitum*, alimentación automática modulada nocturna (dos comidas nocturnas de una hora de duración y de tamaños diferentes, calculados a partir de los ritmos de alimentación de los peces alimentados a demanda) y automática constante (tres comidas diurnas del mismo tamaño, dispensando la misma cantidad de alimento que en el grupo automático modulado nocturno). Los valores que se muestran son relativos, tomando como 100 los índices obtenidos en el grupo a demanda *ad libitum*. Obsérvese como las lubinas alimentadas de forma automática durante el día reciben la misma cantidad de alimento que el grupo automático modulado nocturno pero crecen un 52 % menos y su IEA es un 40 % menor. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre grupos. Tomado de Azzaydi et al. 2000.

que los alimentados manualmente a saciedad (Madrid, resultados no publicados) (Figura 13).

Los experimentos descritos anteriormente permiten concluir que son los sistemas que se adecuan a los ritmos de alimentación de los peces los que mejores resultados producen. La alimentación a demanda *a libitum* con buen control de la recompensa, la alimentación a demanda con restricción temporal de al menos tres horas al día, así como la alimentación automática modulada según los ritmos de alimentación son sistemas perfectamente

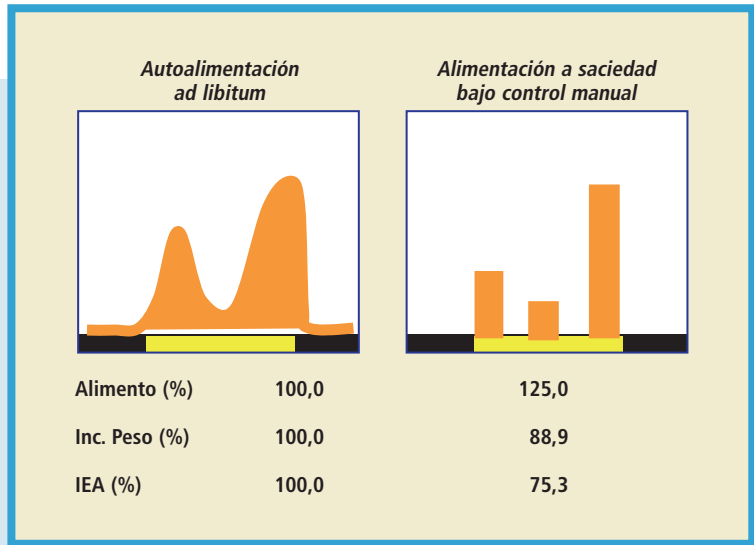


FIGURA 13.

Análisis comparativo de dos sistemas de alimentación en jaulas flotantes. Dos jaulas con un total de 180.000 lubinas fueron alimentadas mediante un sistema a demanda *ad libitum*, mientras que otras dos jaulas, con el mismo número de peces, fueron alimentadas manualmente a saciedad utilizando como retroalimentación las señales de apetito proporcionadas por los propios peces. Los valores obtenidos en el grupo alimentado a saciedad se han calculado de forma relativa tomando como 100 los índices obtenidos en el grupo alimentado a demanda *ad libitum*. Obsérvese como con una menor cantidad de alimento los peces crecen más en el grupo alimentado a demanda. Datos del Laboratorio de Cronobiología de la Universidad de Murcia.

válidos que permiten optimizar la alimentación de la lubina y que podrían aplicarse con pequeñas modificaciones a la alimentación de otras especies.

13.3.5. Estrategias de alimentación en relación con el tipo de instalación

13.3.5.1. Esteros

La alimentación en estanques de amplias dimensiones en tierra está muy condicionada por las grandes variaciones impuestas por las con-



diciones meteorológicas lo que condiciona fuertes variaciones diarias y estacionales en la temperatura del agua, oxígeno disuelto, salinidad y transparencia del agua. En estas condiciones tan variables y teniendo en cuenta la posibilidad de que los peces ingieran alimento natural en cantidades muy variables, la alimentación a demanda se convierte en el sistema de alimentación más recomendable. Varias son las razones para ello: a) los peces pueden ajustar sus demandas en función de la disponibilidad de oxígeno, cesando la alimentación voluntaria cuando sus niveles pueden ser peligrosos para la supervivencia del cultivo; b) las demandas se modulan en función de la temperatura del agua; c) los gránulos de alimento no consumido tras su liberación pueden permanecer en el agua durante suficiente tiempo para ser consumidos; d) con un buen sistema de dispersión de alimento la competencia entre los peces puede ser minimizada; e) la flexibilidad de la alimentación a demanda permite compensar las fuertes variaciones de ingesta debidas a los cambios en las condiciones fisicoquímicas y a la disponibilidad de presas naturales (Begout *et al.* 2001).

13.3.5.2. Tanques en tierra

Estos sistemas de cultivo, especialmente cuando el agua se hace recircular, permiten niveles de control de las variables ambientales muy superiores a los cultivos en esteros y en jaulas flotantes. Las condiciones de iluminación y de temperatura en algunos casos también pueden ser reguladas, el agua de entrada puede ser filtrada y tratada para reducir la materia particulada y los patógenos. La cantidad de oxígeno disuelto también puede ajustarse a las condiciones de cultivo. Un inconveniente, en los sistemas de recirculación está ligado al metabolismo de los peces, cuyos productos finales en caso de no ser eliminados eficientemente podrían afectar a la ingesta de los peces. Sin embargo, a pesar de la imposición de un elevado grado de control ambiental en los tanques de cultivo, son varios los factores que pueden mostrar fluctuaciones. Algunos de ellos están relacionadas con la alimentación y los ritmos de actividad de los peces, lo que lleva a patrones rítmicos de concentración de O₂ disuelto, de producción de CO₂ y de excreción de nitrógeno.

En instalaciones en el exterior existen muchos más factores incontrolados como por ejemplo los relacionados con el tiempo atmosférico



(lluvia o viento), lo que puede afectar al comportamiento alimentario de los peces. En estas condiciones de cultivo, los sistemas de alimentación a demanda *ad libitum* serían los más recomendados ya que aportarían varias ventajas: a) reducirían la amplitud de los ritmos de consumo de oxígeno, producción de CO₂ y productos nitrogenados al expandir la ingesta de alimento a las 24 horas; b) permitirían compensar los cambios de ingesta debidos a fluctuaciones en el tiempo atmosféricos; c) la persistencia de los gránulos de alimento en el fondo del tanque permitiría reducir el alimento no consumido sin necesidad de requerir de ajustes muy finos en la recompensa de alimento (Begout *et al*, 2001).

13.3.5.3. Jaulas flotantes

La alimentación en jaulas flotantes supone unas condiciones especiales mucho más exigentes a la hora de planificar la alimentación de un cultivo. La reducida disponibilidad de los gránulos de alimento en su caída hacia el fondo de la jaula hace especialmente necesaria la optimización de la ingesta en la columna de agua disponible. Además, las duras condiciones ambientales del mar abierto condicionan los sistemas de alimentación de un modo importante. Si bien es posible utilizar la alimentación demanda en jaulas flotantes, la necesidad de disponer de distribuidores flotantes de gran capacidad, de sensores de alimentación muy robustos, dispositivos de control y de equipos de detección de alimento no consumido, ha limitado hasta el momento su utilización en estas condiciones.. Por tanto, el empleo de sistemas centralizados de impulsión de alimento de forma automática programada, teniendo en cuenta los patrones estacionales de alimentación de la especie y utilizando las tablas de racionamiento, sería el procedimiento de elección en tales circunstancias. La colocación de sensores o de videocámaras para el control del alimento no consumido proporcionaría a estos sistemas «ciegos» la retroalimentación necesaria para su optimización. Así mismo, los sistemas tipo Aquasmart podrían ser interesantes, si bien es necesario resolver antes el problema asociado a la limpieza diaria del sensor de alimento no consumido, imprescindible para su correcto funcionamiento en las cálidas aguas del Mediterráneo.



13.4. ¿CUÁNTO ALIMENTO?

La cantidad de alimento dispensado a los peces en los cultivos es un aspecto de gran importancia. Su ajuste a las necesidades es crítico ya que representa un alto porcentaje de carga en la producción y tiene consecuencias biológicas: si es insuficiente, los animales no crecen y pueden sufrir enfermedades, que incluso pueden causar su muerte; mientras que si es excesivo, suponen un aporte de materia orgánica al medio, cuya descomposición contribuye a la eutrofización del mismo y otros problemas medioambientales. Finalmente, la alimentación afecta a la tasa de crecimiento y al índice de conversión, es decir, a la producción y a los resultados económicos de la misma (Alanärä *et al.* 2001).

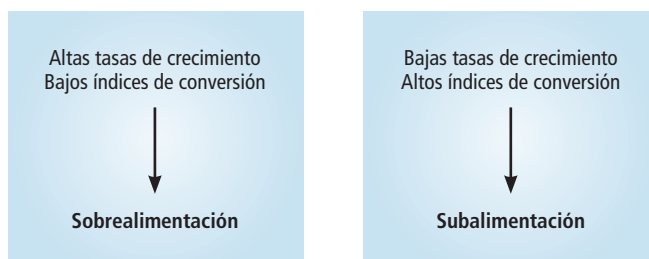
La cantidad de alimento que hay que dispensar diariamente se basa en la ración. Esta es el porcentaje de la biomasa que debe ser suministrado diariamente, y depende de dos factores: de los requerimientos energéticos y nutritivos de los animales, por una parte, y por otra, de la energía y composición de la dieta.

Los requerimientos, tanto de energía como de nutrientes varían, dependiendo de muchos factores, pero especialmente del peso-tamaño y de la temperatura del agua. Al aumentar el peso de los animales, aumentan los requerimientos de energía en valores absolutos, pero disminuyen cuando se expresan por unidad de peso. Si medimos las necesidades de energía de los peces en función de la tasa metabólica y ésta en función del consumo de oxígeno se observará, que un pez más grande consume más oxígeno que otro más pequeño, de forma absoluta, pero si se expresa como consumo de oxígeno por unidad de peso dicho consumo disminuye, o lo que es lo mismo, un pez de un kilogramo consume menos oxígeno que 1.000 peces de 1 gramo. También se ha comprobado que con el aumento de peso-tamaño de los peces empeora la conversión del alimento, consumiendo más energía con fines distintos a los de producir biomasa. Además, el gasto de energía por los peces es proporcional a la temperatura del medio ya que su metabolismo se ve directamente afectado por este factor al tratarse de animales poiquilotermos.

La energía de la dieta depende de los componentes energéticos de la misma, pero dichos componentes son aportados por unos ingre-

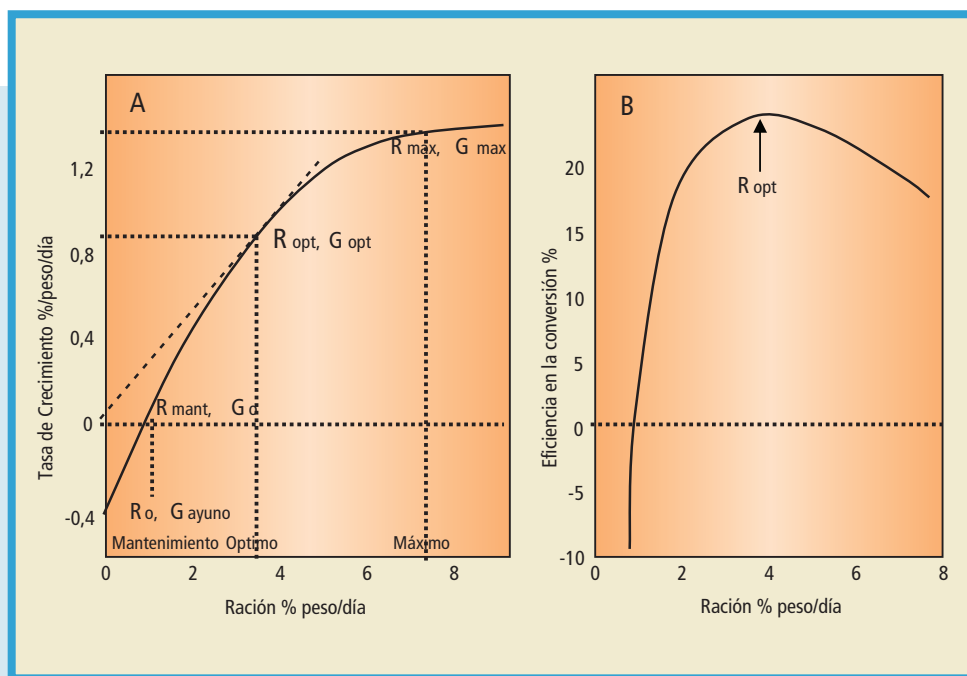


dientes de características muy variables y, en consecuencia con diferente disponibilidad para el animal. Por tanto, lo importante no es la energía que contenga la dieta sino la que el animal es capaz de obtener realmente de la misma después de digerirla y metabolizarla, lo que se conoce como «energía neta». Como planteamiento general, los peces comen hasta saciar sus necesidades energéticas, por tanto podemos decir que si la energía de la dieta es menor comerán más y si es mayor comerán menos. Pero crecimiento y conversión máximos no siempre se producen con la máxima ración. En la figura 14 se muestra cómo afecta al crecimiento y a la conversión el tamaño de la ración. Se observa que a medida que aumenta la ración (% peso/día) el crecimiento, expresado como la tasa de crecimiento (% peso/día) y la eficiencia de conversión (%) también aumentan. En el caso del crecimiento esto es así hasta que a partir de un cierto tamaño de la ración no se produce un aumento adicional de la tasa de crecimiento, lo que se corresponde con el crecimiento máximo. Sin embargo en el caso de la eficiencia de conversión, el máximo se produce con una ración menor que la ración máxima que producía el mayor crecimiento. Esta es la que se denomina ración óptima. Si se aumenta esta ración, aunque la tasa de crecimiento pueda aumentar lo hace a expensas de una peor utilización nutritiva de la dieta. Esto conduce a:



Esto ocurre cuando a los peces se les suministra una cantidad limitada de alimento, pero ¿qué sucede cuando el animal se alimenta a demanda *ad libitum*?, en estos casos la diferencia entre ración máxima y ración óptima es discutible.

La tasa de alimentación o de racionamiento debe escogerse en función de un objetivo de crecimiento. Las empresas dedicadas a la fa-

**FIGURA 14.**

A) Tasa instantánea de crecimiento de alevines de salmón (peso medio 13 g) en relación con la ración, a 10 °C. Los parámetros clave de la curva de crecimiento aparecen sobre el gráfico. B) Curva de eficacia en la conversión del alimento para los mismos datos que los utilizados en el panel A.

bricación de pienso comerciales suelen suministrar para cada pienso unas tablas de racionamiento, que tienen en cuenta tres aspectos: la especie, la temperatura y el peso-talla de los peces. Por tanto para cada especie a la que se destina el pienso la tabla de alimentación es una tabla de doble entrada, en la que a cada peso y temperatura le corresponde una tasa de alimentación. En términos generales la tasa de alimentación disminuye con el aumento de la talla y aumenta con el incremento de la temperatura. Obviamente dichas tablas son un punto de partida, y deben ser adaptadas a las características propias de la explotación. Transcurrido un periodo determinado de días de alimentación, para calcular la tasa a la que se han alimentado nuestros peces se aplica la ecuación siguiente:



$$\text{Tasa diaria de alimentación: TDA (\%/día)} = [(\text{Ingerido/días}) 100] / \text{Peso promedio}$$
$$\text{Donde } \text{Peso promedio} = (\text{Peso inicial} + \text{Peso final}) / 2$$

Sin embargo puede ser necesaria la planificación de la alimentación de acuerdo con un modelo de crecimiento esperado, en función de la experiencia anterior. Para ello se puede recurrir al modelo de Alanära *et al.* (2001). Dicho modelo trata de determinar la cantidad de alimento diaria a dispensar a los animales. Para ello parte del requerimiento teórico de energía digestible por pez y día (RET) y la energía digestible del pienso:

$$\text{Cantidad de alimento} = (n.^{\circ} \text{ peces} \times \text{RET}) / \text{Energía digestible (MJ/kg)}$$

El RET se determina a partir de la energía digestible necesaria para ganancia de peso, que es determinada experimentalmente, y del incremento diario teórico:

$$\text{RET} = \text{EDN} \times \text{IPD}$$

Donde EDN es la Energía Digestible Necesaria para ganancia de peso (expresada en MJ de ED/kg), que se obtiene experimentalmente, es decir a partir de observaciones previas, $\text{EDN} = (\text{Alimento Ingerido} \times \text{Energía digestible del alimento}) / \text{Incremento de peso}$, e IPD es el incremento de peso diario teórico (kg/día), esperado según el modelo de crecimiento que se utilice.

Son numerosos los modelos de crecimiento que se han desarrollado dependiendo de los factores que se tienen en cuenta. El más sencillo es el que considera que el crecimiento de los peces, cuando se representa gráficamente se comporta como una función sigmoideal (Figura 15), y sólo es función del peso del individuo y de la duración del periodo de tiempo de medida, obteniéndose como índice de la tasa de crecimiento, la tasa específica de crecimiento o de crecimiento instantáneo (en inglés SGR, *specific growth rate*):

$$\text{SGR} = \frac{\ln \text{Pf} - \ln \text{Pi}}{\text{Días}} \times 100$$

Donde Pf es peso final y Pi es el peso inicial.

Pero, últimamente se ha observado que el crecimiento se aproxima más a la ecuación que lo considera como función de la potencia $1/3$ del peso. De aquí se obtiene lo que se ha llamado el Coeficiente de Crecimiento Diario (en inglés DGC de daily growth coefficient):

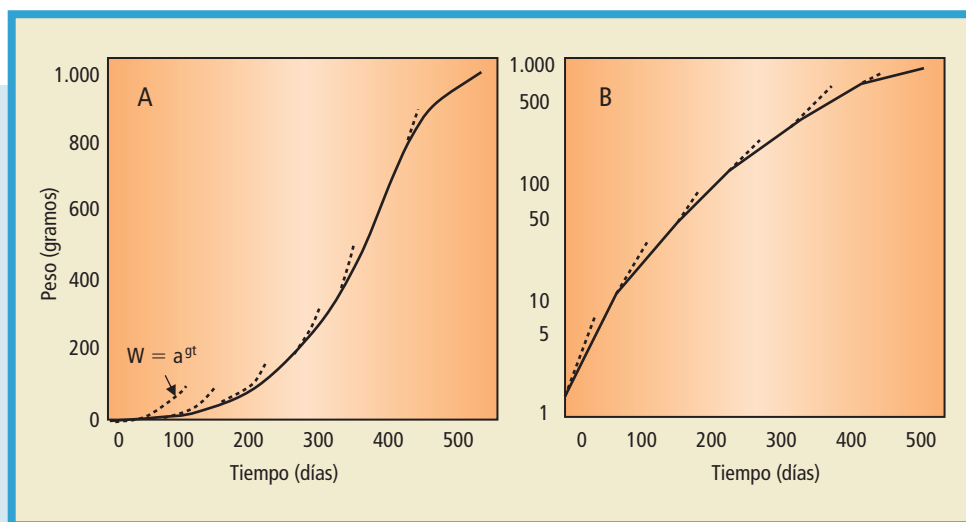


FIGURA 15.

A) Curva de crecimiento generalizada para un pez mantenido en condiciones ambientales constantes, y B) curva transformada utilizando una escala logarítmica para el peso. W , peso; t , temperatura, y a y g son constantes. Las líneas punteadas muestran la tendencia que seguiría un pez si se mantuviera su tasa de crecimiento instantánea inalterada. Cuando el alimento no es el factor limitante, el tamaño y la edad progresivamente deprimen la tasa de crecimiento instantánea.

$$DGC = \frac{Pf^{1/3} - Pi^{1/3}}{\text{Días}} \times 100$$

Donde Pf y Pi son los pesos final e inicial.

Estos modelos se pueden mejorar introduciendo factores tan importantes y con tanta influencia sobre el crecimiento como la temperatura y la ración.

Si se tiene en cuenta la temperatura, la tasa de crecimiento la podemos calcular como el Coeficiente Térmico del Crecimiento (Cho, 1990):

$$CTC = [(Pf^{1/3} - Pi^{1/3}) / (T \times D)] \times 1000$$

donde $T \times D$ es el producto de la temperatura por el número de días transcurrido entre pesadas; si la temperatura es variable sería el sumatorio de la temperatura media de cada día.

Cualquier modelo de crecimiento utilizado nos permite estimar el alimento necesario para una fase de crecimiento determinada y es-



tablecer modelos bioeconómicos que permitan estimar cómo va a evolucionar nuestra producción y necesidades de alimento, de forma periódica, mes a mes, semana a semana o diaria si se quiere, dependiendo de la energía del pienso. Desde un punto de vista económico, también podemos estimar el gasto a partir de estos modelos bioeconómicos. En trabajos de investigación se usan índices para predecir los resultados económicos teniendo en cuenta el crecimiento, conversión del alimento, el coste del pienso y el precio de venta del producto. Por ejemplo, se usa el Índice de Conversión Económico, (ICE) que resulta de multiplicar el Índice de Conversión del Alimento (ingesta total de alimento (g)/incremento de biomasa (g)), por el coste de pienso. Otro índice es el índice de Rentabilidad Económica, que tiene en cuenta el peso final de los peces, el precio de venta y el ICE, como se expresa a continuación:

$$\text{IRE} = \text{Peso final (kg)} \times \text{precio de venta (euros/kg)} - \text{ICE (euros/kg)} \times \text{incremento de peso (kg)}$$

13.5. ¿QUÉ TIPO DE ALIMENTO?

Aunque algunas especies pueden sobrevivir a partir de una única fuente de alimento, la mayoría de animales se ven forzados a consumir diferentes alimentos para obtener todos los nutrientes que necesitan. Los peces en la naturaleza seleccionan activamente lo que comen de entre una gran variedad de comida, ya que su contenido estomacal nunca es un muestreo al azar de toda la comida disponible en el medio (Kaiser and Hugnes, 1993). Además, la disponibilidad de alimento puede variar en cantidad y calidad (p.e. estacionalmente), e incluso los requerimientos del pez pueden variar según su estado fisiológico en ciertos momentos de su vida (durante el crecimiento, reproducción, etc).

La selección dietaria no ha de considerarse como un fenómeno aleatorio o sin sentido, sino más bien una habilidad o mecanismo básico de supervivencia dirigido a satisfacer los requerimientos nutricionales de animal (Figura 16). Un pez elegirá un alimento en particular basándose en los beneficios metabólicos y efectos fisiológicos positivos que le produce, evitando ingerir un alimento nocivo o que le produzca efectos negativos. Esta «sabiduría nutricional» parece ser un atributo básico

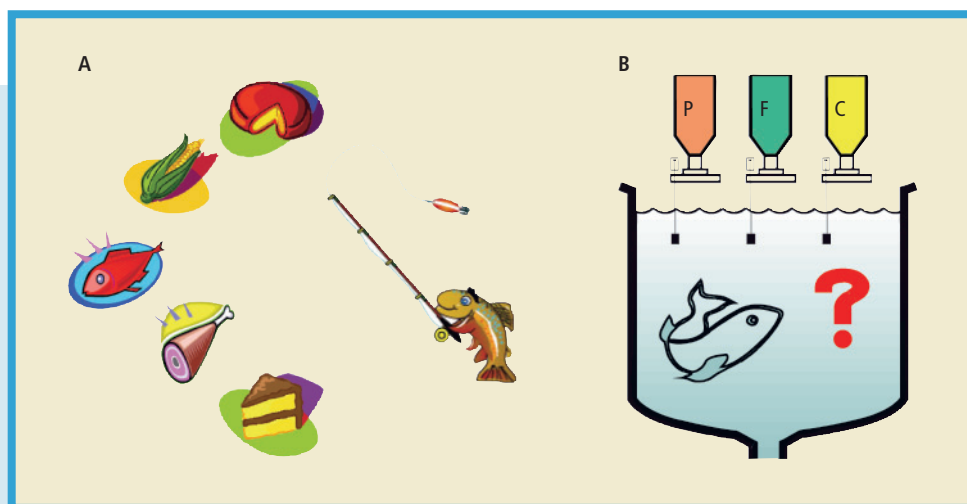


FIGURA 16.

Esquema alegórico de la selección dietaria en peces (A), y de un sistema de libre selección múltiple de macronutrientes mediante tres comederos a demanda (B).

de todos los animales, los cuales realizan selección dietaria para asegurarse un adecuado suministro de nutrientes esenciales y mantener las funciones biológicas normales (Simpson and Raubenheimer, 2001). Teniendo en cuenta lo anterior, alimentar un pez con un solo tipo de alimento (como a menudo ocurre en acuicultura) debe considerarse poco natural e ineficaz, ya que una dieta equilibrada puede dejar de serlo según el estado fisiológico del pez o en condiciones ambientales extremas (verano/invierno).

En resumen, los dos retos más importantes a los que se enfrenta la acuicultura actual son (I) el desarrollo de dietas óptimas para nuevas especies adaptadas a sus requerimientos cambiantes, y (II) equilibrar múltiples criterios para conseguir una alimentación óptima de los peces, asegurando su bienestar y la sostenibilidad medioambiental. La tarea más inmediata para diseñar una nueva dieta balanceada consiste en encontrar el equilibrio adecuado entre energía, proteína, lípidos y carbohidratos. Los estudios tradicionales de requerimientos consumen una importante cantidad de tiempo y recursos (en el caso de salmónidos, se han necesitado varias décadas de trabajo de decenas de labora-



torios para optimizar las dietas actuales). A continuación estudiaremos como abordar el diseño y optimización de dietas desde un nuevo punto de vista, otorgando un mayor protagonismo al pez, estudiando sus respuestas, su comportamiento alimentario y selección dietaria.

13.5.1. Comportamiento alimentario y preferencias dietarias de los peces

Los animales tienen la habilidad de elegir entre una variedad de alimentos para seleccionar una dieta adecuada nutricionalmente, tal y como demostrara Richter *et al.* (1938) en su primer trabajo. Estos autores observaron que, tras ofrecer hasta 17 tipos distintos de derivados alimenticios, las ratas mostraron un crecimiento normal, comparable al de los animales alimentados con una única dieta completa. Posteriormente, otros autores comprobaron que las ratas son capaces de componer una dieta equilibrada si se les permite seleccionar libremente entre fuentes separadas de proteína, grasa y carbohidratos, entre dietas conteniendo solo dos macronutrientes, o entre dietas completas con los tres macronutrientes en diferentes proporciones. Este mismo fenómeno ha sido observado en otros animales terrestres, tales como vacas, ovejas o pollos. Estos animales de granja muestran su capacidad de seleccionar la mejor dieta posible o de combinar dietas para obtener todos los macro- y micro-nutriente que necesitan (Forbes, 1995).

En el caso del medio acuático, el alimento obviamente no puede dejarse en el agua durante mucho tiempo para que los peces tengan libre acceso al mismo. Por tanto, se requiere otra forma de alimentar voluntariamente al pez, a fin de que este pueda realizar su selección dietaria. Esta es posiblemente la causa por la cual este tipo de experimentos no se llevó a cabo hasta finales del siglo xx, cuando se desarrolló una nueva aproximación experimental mediante la cual los peces eran capaces de auto-alimentarse empleando comederos a demanda. Estos primeros sistemas de auto-alimentación permitieron al pez obtener libremente la comida, proporcionando una herramienta básica para abordar el estudio de las preferencias alimentarias de los peces (Adron *et al.* 1973). Esta metodología, acoplada a sistemas informáticos de registro y control de la alimentación, permitieron a diferentes labora-



torios de todo el mundo investigar extensivamente el comportamiento alimentario de diversas especies de peces (Madrid *et al.* 2001).

13.5.2. Autoselección de macronutrientes en peces

El uso de múltiples comederos a demanda con fuentes disociadas de proteína, grasa o carbohidratos, supuso un avance notable para abordar el estudio de la autoselección y diseño de dietas por los propios peces (Figura 17). En los primeros estudios se emplearon dietas purificadas que contenían un único macronutriente: proteína (caseína + gelatina), grasa (aceite de pescado y soja) y carbohidratos (dextrina). Ofreciendo simultáneamente estas dietas en tres comederos distintos, tanto el carpín dorado como la trucha arcoiris aprendieron rápidamente a seleccionar entre ellos y componer una dieta completa, cuya composición reflejaba claramente sus hábitos alimentarios (Sánchez-Vázquez *et al.* 1998, 1999). El carpín mostró predilección por los carbohidratos (46 %, en términos de energía digestible) y menor por grasa (32 %) o proteína (22 %), reflejo de su carácter omnívoro, mientras que la trucha mostró mayoritariamente preferencia por proteína (64 %), comportamiento típico de un pez carnívoro (Fig. 2). Posteriormente, utilizando una técnica basada en la selección de tres dietas de pares de macronutrientes (PC, proteína + carbohidratos; PF, proteína + grasa; FC, grasa + carbohidratos), la lubina también ha mostrado una clara preferencia por una dieta rica en proteína (57 %), típica de un depredador (Aranda *et al.* 2000). Incluso el sargo picudo, un espárido con hábitos omnívoros o generalistas, mostró una mayor preferencia por la proteína (similar a la lubina), si bien su respuesta frente a ayunos selectivos de grasa o proteína fue muy distinta, mostrando una mayor flexibilidad que un pez especialista (Vivas *et al.* 2006).

Si comparamos la composición en macronutrientes de las dietas autoseleccionadas por los peces frente a las dietas que se emplean en acuicultura, encontramos importantes diferencias. En general, las dietas comerciales suelen contener un exceso de grasa y una deficiencia de proteína, respecto de las autoseleccionadas. Este dato pone de manifiesto la falta de coherencia entre las preferencias de los peces y el alimento que de hecho se les suministra actualmente en condiciones de cultivo intensivo, donde habitualmente se emplea una única dieta

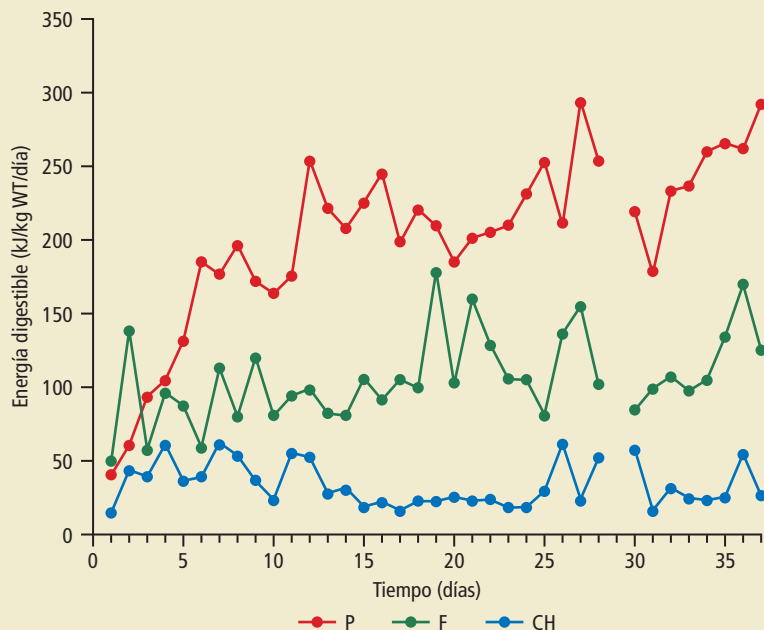


FIGURA 17.

Autoselección de macronutrientes en la trucha arcoiris. Los peces fueron capaces de discriminar y seleccionar entre tres dietas elaboradas cada una con un macronutriente diferente. P, proteína; F, grasa y CH, carbohidratos. Transcurrido un periodo de aprendizaje los peces estabilizan su ingesta demandando proteína en primer lugar y en menor medida carbohidratos. Tomado de Sánchez-Vázquez *et al.* 1999.

sin atender a posibles cambios en las preferencias durante la cría o engorde. Debemos considerar que una dieta inadecuada, que no cubra los requerimientos específicos del pez, puede tener efectos negativos no solo en el crecimiento o desperdicio de alimento, sino que puede someter al pez a un estrés nutricional, comprometiendo su supervivencia y bienestar.

La investigación en selección dietaria por los peces ha dado un salto metodológico importante a partir de los estudios de encapsulación de dietas en el interior de cápsulas de gelatina (Rubio *et al.* 2003). Esta técnica permite abordar la selección de macronutrientes evitando



la interferencia de las propiedades organolépticas del alimento en las preferencias mostradas por los peces por un tipo u otro de alimento. Además, la encapsulación permite suministrar macronutrientes puros, como por ejemplo, aceites, sin necesidad de agregar otras sustancias para compactar la dieta. Por último, las cápsulas de gelatina permiten la administración de fármacos o de hormonas sin el estrés que conllevan otras vías de administración (Figura 18).

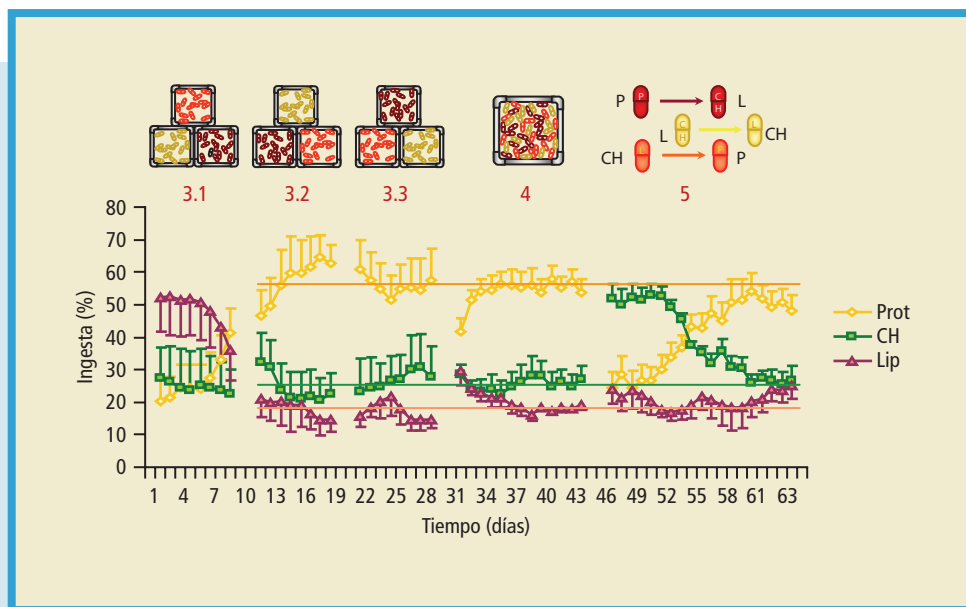


FIGURA 18.

Evolución de la selección de macronutrientes encapsulados en gelatina, en lubinas. Cada día los peces fueron alimentados con tres conjuntos de cápsulas de diferente color, conteniendo por separado proteína, grasa y carbohidratos. La cantidad suministrada de cada uno de los macronutrientes fue superior a la máxima cantidad que los peces podían ingerir en un día. Durante la fase 3.1 los peces aprenden a discriminar el contenido de la cápsula asociando su color al macronutriente que contenían. En la fase 3.2 y 3.3 se rotó la posición de las cápsulas en los contenedores. En la fase 4 todas las cápsulas se suministraron juntas en el mismo contenedor. Finalmente, en la fase 5 se intercambió el color de las cápsulas de modo que el que anteriormente se correspondía con la proteína ahora contiene lípidos, el de lípidos ahora contiene carbohidratos y el de carbohidratos ahora contiene proteína. Al cabo de una semana los peces aprenden la nueva asociación color-macronutriente. Tomado de Rubio *et al.* 2003.



Resulta sorprendente que los peces sean capaces de discriminar y seleccionar de forma diferente cápsulas de gelatina cargadas con distintos macronutrientes. Esta selección ocurre como consecuencia de la instauración de un aprendizaje asociativo entre el color de la cápsula ingerida y las consecuencias postingestivas del nutriente ingerido. De este modo, al cabo de una semana, los peces son capaces de seleccionar los macronutrientes en proporciones similares a cuando los seleccionan a partir de gránulos de alimento. Esta metodología, que aún se encuentra en sus inicios, ha sido probada en un carnívoro estricto, la lubina (Rubio *et al.*, 2003, 2004, 2005a, 2005b, 2006) y en una especie generalista, el sargo picudo (Almaida-Pagán *et al.* 2006). Ambas especies se caracterizan por ingerir las cápsulas intactas produciéndose su ruptura en el estómago. Mediante la encapsulación de macronutrientes, se ha comprobado que los peces regulan la energía de la dieta, ya que son capaces de compensar las diluciones con material inerte o las reducciones en el contenido de energía de las cápsulas, manteniendo esta variable constante. Además, en el caso del sargo se ha podido determinar de forma inequívoca que esta especie mantiene una ingesta constante de proteína a pesar de las diluciones del 50 % contenido de las cápsulas proteicas con celulosa (Almaida-Pagán *et al.* 2006).

El papel de diferentes hormonas y neurotransmisores, como la serotonina, melatonina y CCK, así como de factores ambientales como la salinidad sobre la selección dietaria también ha sido estudiada mediante la encapsulación de macronutrientes en la lubina (Rubio *et al.*, 2003, 2004, 2005a, 2005b, 2006).

13.5.3. ¿Defienden los peces la dieta autoseleccionada?

Para investigar la estabilidad y robustez de la selección de macronutrientes realizada por un pez, es necesario someterlo a diferentes pruebas que nos muestren si el animal es capaz de «defender» la composición de la dieta autoseleccionada. Por ejemplo, en la lubina Aranda *et al.* (2001) estudió la respuesta de los peces sometidos a un ayuno total de 6 o 15 días. Tras el ayuno, durante los primeros dos-tres días de realimentación los peces mostraron hiperfagia (incremento significativo de la ingestión diaria de alimento). Curiosamente, durante este periodo los peces mantuvieron la misma proporción de selección



de macronutrientes, a excepción de un ligero incremento de la demanda de proteína solo observable tras el ayuno de 15 días. También se ha comprobado en la lubina que tras un ayuno selectivo de proteína, cuando solo está disponible la dieta de grasa + carbohidratos, los peces rechazan esta dieta y prefieren no ingerir ningún tipo de alimento. El ayuno selectivo de grasa, cuando solo está disponible la dieta proteínica + carbohidrato, produjo un resultado comparable, ya que la lubina disminuyó la demanda de esta dieta y no fue capaz de compensar la ingestión total de energía (Vivas *et al.* 2003). Estos resultados revelan que, al menos en el caso de la lubina, se requieren los tres macronutrientes (seleccionados en una proporción adecuada) para componer una dieta completa equilibrada, la cual no es posible componer en ausencia de proteína o grasa.

En investigaciones recientes sobre selección dietaria en el sargo picudo, se comprobó la capacidad de este pez para mantener la composición de la dieta autoseleccionada tras diluir las dietas más demandadas, ricas en proteína (PC y PF) con un 50 % de celulosa. Los peces respondieron duplicando la demanda de estas dietas a fin de compensar la dilución y mantener tanto la ingestión calórica como la proporción relativa de macronutrientes (Vivas *et al.* 2006).

La selección dietaria que realizan los peces no es solo cuantitativa (porcentaje determinado de cada macronutrientes), sino que también lo es cualitativa. Es decir, el pez es capaz de distinguir entre dietas con un mismo nivel proteico, pero diferente composición aminoacídica. Yamamoto *et al.* (2000, 2001) mostró que la trucha evita demandar dietas ricas en gelatina, con deficiencias en lisina, o incluso es capaz de seleccionar una dieta elaborada con una fuente proteica subóptima (gluten de trigo) suplementada con todos los aminoácidos esenciales.

13.5.4. Diseño de dietas

Diseñar dietas óptimas para peces de acuicultura implica la consideración de múltiples criterios (por ejemplo, la tasa de crecimiento, calidad de la carne, salud y bienestar de los peces, impacto medioambiental, costes de fabricación y distribución del pienso, etc). Estos criterios, además, pueden entrar en conflicto. Se necesita de una metodología adecuada para combinar y sopesar estos criterios de acuerdo con el



mercado y la política actual de producción. A continuación se discuten brevemente las técnicas más empleadas para el diseño de dietas.

a) Estudios univariantes

La mayoría de estudios que describen los requerimientos de proteína, grasa o carbohidratos han empleado este tipo de experimentos. En ellos, el nivel de una variable, la proteína por ejemplo, se modifica mientras se mantiene constante la energía, la grasa y los carbohidratos. Los riesgos de esta técnica derivan del hecho de que al cambiar los niveles de un ingrediente, se varían inevitablemente los niveles del resto de nutrientes, obteniendo resultados confusos sin posibilidad de excluir este efecto (Ruohonen & Kettunen, 2004).

b) Diseños factoriales

Algunos estudios a pequeña escala han empleado esta técnica para investigar las interacciones entre nutrientes. En dichos experimentos, cada macronutriente se suministra en uno de unos pocos niveles fijos combinado en todas las posibles combinaciones. Por ejemplo, se puede probar uno de tres niveles de proteína con uno de tres niveles de energía no proteica (lo cual hace un total de 9 dietas). Estos diseños, aunque son más completos que los anteriores, implican serias limitaciones, ya que cada nivel o nutriente extra que se añade, multiplica el tamaño del experimento

c) Diseños mixtos

Este tipo de diseño es relativamente reciente y pretende evitar los riesgos de los estudios univariantes, al tiempo que simplifica los diseños factoriales y tiene en cuenta diversos criterios de valoración (biológicos y económicos) del rendimiento óptimo de la dieta. Por ejemplo, en el *Coregonus clupeaformis* se estudió este diseño con diferentes niveles de harina de pescado, almidón de maíz y aceite de pescado, ensayando 9 dietas y construyendo una «superficie de respuesta» con todos los datos obtenidos y definiendo un área óptima de formulación (Ruohonen & Kettunen, 2004).

d) Selección dietaria y análisis geométrico

La información suministrada por los animales acerca de sus preferencias alimentarias es una herramienta muy útil que sitúa a los peces,



y a no a las dietas, en el centro de la investigación. Mediante el análisis geométrico de la selección realizada es posible conocer si el pez regula la ingestión de múltiples nutrientes y cómo combina dicha ingestión cuando se suministran dietas subóptimas (Simpson and Raubenheimer, 2001) (Figura 19).

En este tipo de análisis, la demanda nutricional o «ingesta diana» se representa en un espacio de n-dimensiones nutricionales. Cada dieta se representa como una línea o «rail nutricional» que pasa por el origen. Cuando el pez selecciona entre dos o más dietas subóptimas, su situación cambia en este espacio nutricional hasta alcanzar su diana. Si el pez no tiene la posibilidad de alcanzar dicha diana, porque solo tiene acceso a una única dieta subóptima o se suministran dos dietas subóptimas que no se complementan, el animal se verá forzado a balancear unas «reglas de compromiso», es decir, la sobre- o sub-ingestión de un determinado nutriente. Por ejemplo, si se suministra una dieta rica en grasa y pobre en proteína, el pez se verá obligado a sopesar las conse-

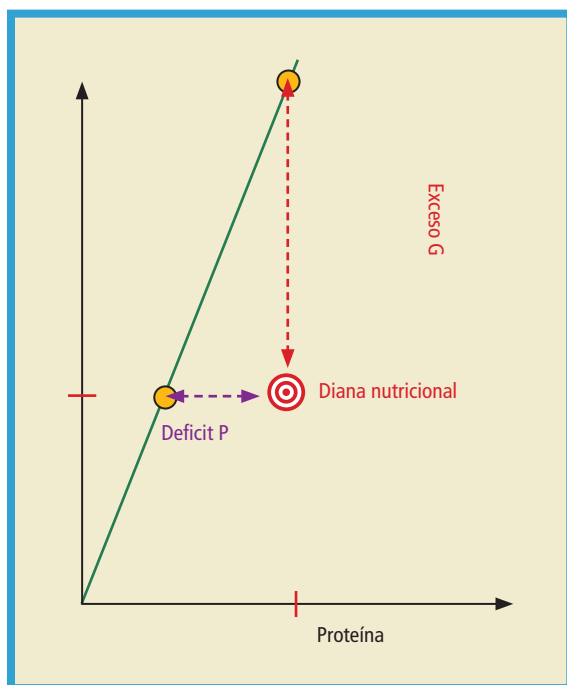


FIGURA 19.

Análisis geométrico de la selección dietaria, mostrando el espacio nutricional, la diana nutricional y las reglas de compromiso que se establecen cuando el pez se ve obligado a alimentarse de una dieta subóptima rica en grasa y pobre en proteína. Tomado de Simpson y Raubenheimer 2001.



cuencias de ingerir un exceso de grasa para sus cubrir sus requerimientos proteicos, o bien un déficit de proteína si deja de ingerir alimento al cubrir sus requerimientos de grasa (Fig. 3).

AGRADECIMIENTOS

Estos trabajos han sido realizados en el contexto de las Tesis Doctorales de F. Javier Sánchez-Vázquez, Mezian Azzaydi, Ana Aranda, Veracruz Rubio, Miguel Vivas, Pedro Almaila y M^a Jesús Herrero y la Tesis de Licenciatura de Jesús Cerezo Valverde. Los experimentos citados en esta ponencia han sido realizados en los laboratorios de la Facultad de Biología de la Universidad de Murcia, en colaboración con el Centro de Recursos Marinos de San Pedro del Pinatar (IMIDA), el Instituto Español de Oceanografía de Mazarrón y la empresa Culmarex S.A. Agradecemos asimismo la financiación concedida por la CICYT, proyecto AGL2004-08137-CO4-02/ACU, a J.A. Madrid.

BIBLIOGRAFÍA

- ADRON, J.W., GRANT, P.T. and C.B. COWEY, 1973 A system for the quantitative study of the learning capacity of rainbow trout and its application to the study of food preferences and behaviour. *Journal of Fish Biology* 5: 625-636.
- ALANĂRĂ, A. 1992 Demand-feeding as a self-regulating feeding system for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in net-pens. *Aquaculture* 108: 347-356.
- ALANĂRĂ, A., KADRI, S. and M. PASPATIS, 2001 Feeding management, pp. 332-353 In *Food Intake in Fish* edited by D. Houlihan, T. Boujard and M. Jobling. Blackwell Science. UK.
- ALMAIDA-PAGÁN, RUBIO, V.C., MENDIOLA, P., DE COSTA, J. and J.A. MADRID, 2006 Macronutrient selection through post-ingestive signals in sharpnose seabream fed gelatine capsules and challenged with protein dilution. *Physiology & Behavior*, 88: 550-558.
- ANTHOUDARD, M., DERMONCOURT, E., DIVANACH, P., PASPATIS, M. and M. KENTOURI, 1996 Les rythmes d'activité trophique chez la dourade (*Sparus aurata*, L.) en situation libre accès alimentaire total ou temporellement limité. *Ichthyophysiological Acta* 19: 91-113.
- ARANDA, A., SANCHEZ-VAZQUEZ F.J., ZAMORA S. and J.A. MADRID, 2000 Self-design of diets by means of self-feeders: validation of procedures. *Journal Physiology and Biochemistry* 56: 155-166.



- ARANDA, A.; SANCHEZ-VAZQUEZ, F.J. and J.A. MADRID, 2001 Effect of short term fasting on macronutrient self-selection in sea bass. *Physiology & Behavior* 73: 1-5.
- ARANDA, A., MADRID, J.A., ZAMORA, S. and F.J. SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, 1999a Synchronizing effect of photoperiod on the dual phasing of demand-feeding rhythms in sea bass. *Biological Rhythm Research*, 30: 392-406.
- ARANDA, A., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J. and J.A. MADRID, 1999b Influence of water temperature on demand-feeding rhythms in sea bass. *Journal of Fish Biology*, 55: 1029-1039.
- ARANDA, A., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J., ZAMORA, S. and J.A. MADRID, 2000 Self-design of fish diets by means of self-feeders: validation of procedures. *Journal of Physiology and Biochemistry* 56: 155-166.
- AZZAYDI, M. 1998 Adecuación de las estrategias alimentarias de la lubina a sus ritmos de alimentación: influencia sobre el crecimiento y el rendimiento de la dieta. Tesis Doctoral, Universidad de Murcia.
- AZZAYDI, M., MADRID, J.A., ZAMORA S., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J. and F.J. MARTÍNEZ, 1998 Effect of three feeding strategies (automatic, ad libitum demand-feeding and time-restricted demand-feeding) on feeding rhythms and growth in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture* 163: 285-296.
- AZZAYDI, M., MARTÍNEZ, F.J., ZAMORA, S., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J. and J.A. MADRID, 1999 Effect of meal size modulation on growth performance and feeding rhythms in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *Aquaculture* 170: 253-266.
- AZZAYDI, M., MARTÍNEZ, F.J., ZAMORA, S., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J. and J.A. MADRID, 2000 The influence of nocturnal versus diurnal feeding under winter conditions on growth and feed conversion of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *Aquaculture* 182: 329-338.
- BEGOUT, M.L., BEAUCHAUD, M., JUELL, J.E., COVÈS, D. and J.P. LAGARDÈRE, 2001 Environmental factors and feed intake: rearing systems. pp 157-188, in *Food Intake in Fish*, edited by D. Houlihan, T. Boujard and M. Jobling. Blackwell Science. UK.
- BOUJARD, T. and J.F. LEATHERLAND, 1992 Demand-feeding behaviour and diel pattern activity in *Oncorhynchus mykiss* held under different photoperiod regimes. *Journal of Fish Biology* 40: 535-544.
- BOUJARD, T., GELINEAU, A. and G. CORRAZE, 1995 Time of a single daily meal influences growth performance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research* 26: 341-349.
- BLYTH, P.J., KADRI, S., VALDMIRSSON, S.K., MITCHELL, D.F. and G.J. PURSER, 1999 Diurnal and seasonal variation in feeding patterns of Atlantic Salmon, *Salmo salar* L., in sea cages. *Aquaculture Research*, 30: 530-544.



- BROWN, M.E. 1946 The growth of brown trout (*Salmo trutta*, L.). II. The growth of two-year-old trout at a constant temperature of 11.5 °C. *Journal of Experimental Biology*, 22: 130-144.
- CHO, C.Y. 1990 Fish nutrition, feeds and feeding with special emphasis on salmonid aquaculture. *Food Reviews International*, 6: 333-357.
- ERIKSSON, L.O. 1978 Nocturnalism versus diurnalism-dualism within individuals. In: *Rhythmic Activity of Fishes* (ed. J.E. Thorpe), pp. 69-89. Academic press, London.
- FARBRIDGE, K.J. and J.F. LEATHERLAND, 1987a Lunar cycles of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. I. Growth and feeding. *Journal of Experimental Biology*, 128: 165-178.
- FARBRIDGE, K.J. and J.F. LEATHERLAND, 1987b Lunar periodicity of growth cycles in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Interdisciplinary Cycle Research*, 18: 169-177.
- FORBES, J. M. 1995 Diet selection. In: Forbes, J. M., ed. *Voluntary food intake and diet selection in farm animals*. Wallingford: CAB International.
- FRASER, N.H.C., HEGGENES, J., METCALFE, N.B. and J.E. THORPE, 1995 Low summer temperatures cause juvenile Atlantic salmon to become nocturnal. *Canadian Journal of Zoology*, 73: 446-451.
- HERRERO, M.J. 2007 Tesis Doctoral Universidad de Murcia.
- JUELL, J.E., FUREVIK, D.M. and A. BJORDAL, 1993 Demand feeding in salmon farming by hydro acoustic food detection. *Aquacultural Engineering*, 12: 155-167.
- KAISER M.J. and R.N. HUGHNES, 1993 Factors affecting the behavioural mechanisms of diet selection in fishes. *Mar. Behav. Physiol.* 23: 105-118.
- KENTOURI, M., DIVANACH, P. and E. MAINGET, 1993 Comparaison de l'efficacité-coût de trois techniques d'alimentation de la dourade *Sparus aurata* en élevage intensif en bassin. In *Production Environment and Quality*. European Aquaculture Society, Special Publication, edited by G. Barnabé, P. Kestemont, 18:273-283. Ghent, Belgica.
- KERDCHUEN, N. and M. LEGENDRE, 1991 Influence de la fréquence et de la période de nourrissage sur la croissance et l'efficacité alimentaire d'un silure africain, *Heterobranchus longifilis*. *Aquatic Living Resources* 4: 241-248.
- LAGARDÈRE, J.P. and R. MALLEKH, 2000 Feeding sounds of Turbots (*Scophthalmus maximus*) and their potential use in the control of food supply in aquaculture. I. Spectrum analysis of the feeding sounds. *Aquaculture*, 189 : 251-258.
- MADRID, J.A., BOUJARD, T. and F.J. SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, 2001 Feeding rhythms, pp 189-215 in *Food Intake in Fish*, edited by D. Houlihan, T. Boujard and M. Jobling. Blackwell Science. UK.



- MADRID, J.A., AZZAYDI, M., ZAMORA, S. and F.J. SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, 1997 Continuous recording of uneaten food pellets and demand-feeding activity: a new approach to studying feeding rhythms in fish. *Physiology & Behavior*, 62: 689-695.
- MISTLBERGER, R.E. 1994 Circadian food-anticipatory activity: formal models and physiological mechanisms. *Neuroscience and Behavioural Reviews* 18: 171-195.
- RICHTER C.P., HOLT L.E. and B. BARELARE, 1938 Nutritional requirements for normal growth and reproduction in rats studied by the self-selection method. *American Journal of Physiology* 122: 734-744.
- ROZIN, P. and J. MAYER, 1961 Regulation of food intake in the goldfish. *American Journal of Physiology* 201:968-974.
- RUBIO, V.C., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J. and J.A. MADRID, 2003a Nocturnal feeding reduces sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) pellet-catching ability. *Aquaculture* 220: 697-705.
- RUBIO, V.C., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J. and J.A. MADRID, 2003b Macronutrient selection through postingestive signals in sea bass fed on gelatine capsules. *Physiology & Behavior* 78: 795-803.
- RUBIO, V.C., VIVAS, M., SÁNCHEZ-MUT, A., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J., COVES, D., DUTTO, G. and J.A. MADRID, 2004 Self-feeding of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) under laboratory and farming conditions using a string sensor. *Aquaculture*, 233: 393-403.
- RUBIO, V. C., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J., and J. A. MADRID, 2004 Oral administration of melatonin reduces food intake and modifies macronutrient selection in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *Journal of Pineal Research* 37: 42-47.
- RUBIO, V. C., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J., and J. A. MADRID, 2005a Fish macronutrient selection through post-ingestive signals: effect of selective macronutrient deprivation. *Physiology & Behavior*. 84: 651-657.
- RUBIO, V. C., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J., and J. A. MADRID, 2005b Effects of salinity on food intake and macronutrient selection in European sea bass. *Physiol. Behav.* 85: 333-339.
- RUBIO, V. C., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J., and J. A. MADRID, 2006 Oral serotonin administration affects the quantity and the quality of macronutrients selection in European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. *Physiology & Behavior* 87: 7-15.
- RUOHONEN K. and J. KETTUNEN, 2004 Effective experimental designs for optimizing fish feeds. *Aquaculture Nutrition*. 10: 145-151.
- SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J., MARTÍNEZ, M., ZAMORA, S. and J.A. MADRID, 1994 Design and performance of a fan actuated demand feeder for the study of feeding



- behaviour in sea bass, *Dicentrarchus labrax*, L. *Physiology & Behavior*, 56: 789-794.
- SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J., MADRID, J.A. and S. ZAMORA, 1995a Circadian rhythms of feeding activity in sea bass, *Dicentrarchus labrax*, L.: dual phasing capacity of diel demand-feeding pattern. *Journal of Biological Rhythms*, 10: 256-266.
- SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J., ZAMORA, S. and J.A. MADRID, 1995b Light-dark and food restriction cycles in Sea bass: effect of conflicting zeitgebers on demand-feeding rhythms. *Physiology & Behavior*, 58: 705-714.
- SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J., MADRID, J.A., ZAMORA, S., IGO, M. and M. TABATA. 1996 Demand feeding and locomotor circadian rhythms in the goldfish, *Carassius auratus*: dual and independent phasing. *Physiology & Behavior*, 60: 665-674.
- SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J., MADRID, J.A., ZAMORA, S. and M. TABATA, 1997 Feeding entrainment of locomotor activity rhythms in the goldfish is mediated by a feeding-entrainable circadian oscillator. *Journal of Comparative Physiology* 181A: 121-132.
- SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J., AZZAYDI, M., MARTÍNEZ, F.J., ZAMORA, S. and J.A. MADRID, 1998a Annual rhythms of demand-feeding activity in sea bass: evidence of a seasonal phase inversion of the diel feeding pattern. *Chronobiology International* 15: 607-622.
- SÁNCHEZ-VÁZQUEZ F.J., YAMAMOTO T., AKIYAMA T., MADRID J.A. and M. TABATA 1998b Selection of macronutrient by goldfish operating self-feeders. *Physiology & Behavior* 65: 211-218.
- SÁNCHEZ-VÁZQUEZ F.J., YAMAMOTO T., AKIYAMA T., MADRID J.A. and M. TABATA, 1999 Macronutrient self-selection through demand-feeders in rainbow trout. *Physiol. Behav.* 66:45-51.
- SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J. and J.A. MADRID, 2001 Feeding anticipatory activity, pp 216-232 in *Food Intake in Fish* edited by D. Houlihan, T. Boujard and M. Jobling. Blackwell Science. UK.
- SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J., ARANDA, A. and J.A. MADRID, 2001 Differential effects of meal size and food energy density on feeding entrainment in goldfish. *Journal of Biological Rhythms* 16: 58-65.
- SIMPSON, S. J. and D. RAUBENHEIMER, 2001 A framework for the study of macronutrient intake in fish. *Aquaculture Research* 23: 421-432.
- SPIELER, R.E., NOESKE-HALLIN, T.A., DEROSIER, T.A. and H.A. POSTON, 1987 Some dietary amino acids and meal-feeding phase shifts of locomotor activity. *Medical Science Research*, 15: 921-922.
- VERA, L.M., LÓPEZ-OLMEDA, J.F., BAYARRI, M.J., MADRID, J.A. and F.J. SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, 2005 Influence of light intensity on plasma melatonin and locomotor activity rhythms in tench. *Chronobiology International*, 22: 67-78.



- VERA, L.M., MADRID, J.A. and F.J. SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, 2006 Locomotor, feeding and melatonin daily rhythms in sharpnose sea bream (*Diplodus puntazzo*). *Physiology & Behavior* 88: 167-172.
- VERA, L.M., SÁNCHEZ-MUROS, M.J., DE PEDRO, N., DELGADO, M.J., MADRID, J.A. and SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J., 2006 Feeding entrainment of digestive enzymes, neuropeptide Y (NPY) and cortisol in goldfish. *Journal of Experimental Zoology, part A-Comparative Experimental Biology*, 305A: 190-198.
- VERA, L.M., DE PEDRO, N., GÓMEZ-MILLÁN, E., DELGADO, M.J., SÁNCHEZ-MUROS, M.J., MADRID, J.A. and F.J. SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, 2007 Feeding entrainment of locomotor activity rhythms, digestive enzymes and neuroendocrine factors in goldfish. *Physiology & Behavior* 90: 518-524.
- VIVAS, M.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J.; GARCÍA-GARCÍA, B. and J.A. MADRID, 2003 Macronutrient self-selection in European sea bass in response to dietary protein or fat restriction. *Aquaculture Research* 34: 271-280.
- VIVAS, M., RUBIO, V.C., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J., MENA, C., GARCÍA-GARCÍA, B. and J.A. MADRID, 2006 Dietary self-selection in sharpnose seabream (*Diplodus puntazzo*) fed paired macronutrient feeds and challenged with protein dilution. *Aquaculture*, 251: 430-437.
- YAMAMOTO, T., SHIMA, T., FURUITA, H., SHIRAISHI, M., SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. J. and M. TABATA, 2000 Self-selection of diets with different amino acid profiles by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 187, 375-386.
- YAMAMOTO T.; SHIMA T.; FURUITA H.; SUZUKI N.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ F.J. and M. TABATA, 2001 Self-selection and feed consumption of diets with a complete amino acid composition and a composition deficient in either methionine or lysine by rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research* 32: 83-91.



14

LOS IMPACTOS DE LA ACUICULTURA: MINIMIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN



LOS IMPACTOS DE LA ACUICULTURA: MINIMIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN

Juan Bald, Oihana Solaun
y Angel Borja

AZTI-Tecnalia

Resumen

España es una potencia acuicultora en Europa, que ha incrementado progresivamente la producción realizada en jaulas en el mar. Para que la acuicultura sea sostenible en el tiempo, este capítulo propone un decálogo de acciones a seguir en la acuicultura española que impida que esta actividad colisione con otras que se realizan en el medio marino. Para ello se hace un repaso de los impactos que la acuicultura de peces y moluscos puede producir, proponiéndose un protocolo para la identificación de áreas adecuadas para la acuicultura y otro para la gestión medioambiental de las instalaciones. Además, la certificación de las instalaciones es otro de los sistemas que puede hacer sostenible esta actividad. La acuicultura será sostenible si se planifica bien y se gestiona adecuadamente la producción.

Palabras clave: Acuicultura, sostenibilidad, impactos, protocolo, gestión ambiental, vigilancia ambiental.

Abstract

Spain is a major aquaculture producer in Europe, and its sea cage production has been progressively increasing. This chapter proposes a decalogue for action in the Spanish aquaculture industry, in order to avoid interfering with other marine activities. After reviewing the main impacts of fish and



mollusc aquaculture, we propose a protocol to identify the appropriate areas for aquaculture, as well as a protocol for the environmental management of these companies. Moreover, the certification of aquaculture farms can assist in the sustainability of this activity. Aquaculture will be sustainable if it is well planned, and production is properly managed.

Keywords: Aquaculture, sustainability, impacts, protocol, environmental management, monitoring.

14.1. INTRODUCCIÓN

La producción acuícola española está claramente diferenciada en dos grupos: acuicultura continental y acuicultura marina. Según las estadísticas de JACUMAR, Junta Nacional Asesora de Cultivos Marinos (www.mapa.es/es/pesca/pags/jacumar/estadisticas/especies.htm#), la producción acuícola española se eleva a unas 289.000 t anuales (346.629 t en 2006 y 260.377 t en 2007), de las que alrededor del 89 % es marina y el resto de aguas continentales. El producto marino dominante es el mejillón (301.865 t en 2006 y 211.983 t en 2007, lo que representa entre el 87 y 81 % del total marino), pero el grupo que presenta un crecimiento sostenido y relevante es el de los peces marinos (su producción se ha multiplicado por 80 en el periodo 1985-2007, y su crecimiento medio anual en los últimos años ha sido espectacular, sobrepasando las 30.000 t en 2005). En este grupo, aunque todavía es previsible que continúe el crecimiento de su producción, parece que tiende a estabilizarse. Entre las especies actualmente cultivadas destacan la dorada (*Sparus auratus* Linnaeus, 1758) (49 % de la producción actual de peces), lubina (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758) (25 %), rodaballo (*Psetta máxima* Linnaeus, 1758) (15 %) y túnidos (7 %) (Figura 1).

En cuanto a la acuicultura continental, claramente dominada por la trucha arco-iris, en los últimos años se asiste a un descenso continuado en la producción, desde las 35.000 t en 2001 a las 25.000 t de 2006, con un ligero repunte en 2008 (28.000 t).

El sector empresarial acuícola está dominado por las empresas pequeñas y medianas. España es actualmente una potencia acuicultora en Europa, pero para mantener su posición e incrementar los recursos que genera se debería hacer lo siguiente (según Borja, 2002): a) op-

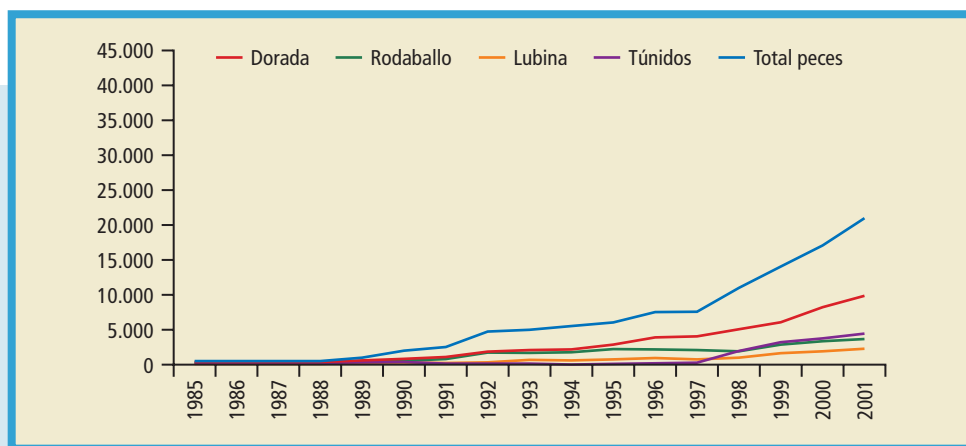


FIGURA 1.

Evolución de la producción acuícola marina en España, para el total de especies y para las especies con mayor producción (fuente: / www.mapa.es/es/pesca/pags/jacumar/estadisticas/especies.htm#).

timizar las actuales unidades de producción, mediante la mejora de la genética, la nutrición, el control de enfermedades (patología) o la mecanización y automatización; b) cultivar nuevas especies, especialmente de peces marinos; c) desarrollar nuevos sistemas de cultivo que permitan aprovechar zonas o recursos hasta ahora no explotados (por ejemplo, jaulas en mar abierto, jaulas sumergidas, circuito cerrado,...); y d) proteger el medio ambiente, tanto desde el punto de vista del impacto sobre el medio, como el impacto producido por la introducción de nuevas especies o nuevas enfermedades.

Los dos últimos aspectos (nuevos sistemas de cultivo y protección del medio ambiente) se encuentran en gran expansión. Así, gran parte del éxito habido en España en el incremento de producción marina se debe al desarrollo de cultivo en jaulas de peces. Este cultivo requiere que los lugares donde se realice tengan unas características determinadas, que incluyen una buena calidad de aguas, ya que ésta incide en la producción y en la calidad del producto, lo que permitirá el desarrollo sostenible de la actividad acuicultura.

El desarrollo sostenible es un objetivo social ampliamente aceptado para el desarrollo económico de los recursos naturales, de acuerdo con



el informe de la comisión Bruntland. Según la FAO (Anónimo, 1988): «Desarrollo sostenible es la gestión y conservación de los recursos naturales y el cambio en la orientación tecnológica e institucional que asegure el alcance y la continua satisfacción de las necesidades humanas para las generaciones actuales y futuras. Tal desarrollo sostenible conserva la tierra, el agua, los recursos genéticos de plantas y animales, no degrada el medio ambiente, es técnicamente adecuado, económicamente viable y socialmente aceptable».

En este sentido, el Gesamp (Anónimo, 1991) propuso una serie de cinco estrategias para la sostenibilidad de la actividad acuicultura: (1) hacer un uso correcto de la capacidad ecológica de las zonas costeras para generar productos acuícolas e ingresos; (2) desarrollar mecanismos de gestión que reduzcan conflictos con otras actividades; (3) prevenir y reducir los impactos ambientales de la acuicultura; (4) gestionar y controlar las actividades de acuicultura para asegurar que sus impactos se sitúen en límites aceptables; (5) reducir los riesgos sanitarios por consumo de productos acuícolas.

A partir de estas propuestas es preciso definir unas acciones que posibiliten dicha sostenibilidad. Así, Borja (2002) establece un decálogo según las características de la acuicultura española (adaptado de Barg, 1994):

- Realizar planes de gestión y desarrollo de acuicultura costera (gestión integrada de las zonas costeras).
- Aplicar los procesos de evaluación de impacto ambiental (EIA) a la acuicultura.
- Mejorar las operaciones de gestión de la acuicultura, asegurando la salud del stock, reduciendo los vertidos, etc.
- Establecer la capacidad del ecosistema para conseguir una acuicultura sostenible.
- Establecer guías de buenas prácticas para el uso de compuestos bioactivos.
- Evaluar las consecuencias de la introducción de especies alóctonas, utilizando los códigos del CIEM.
- Regular los vertidos desde tierra mediante estándares de calidad (límites de vertido, objetivos de calidad).



- Establecer medidas de control de los productos acuícolas, incluyendo Directivas Europeas, Codex Alimentarius, etc., e informando al público.
- Aplicar incentivos para reducir la degradación ambiental por la acuicultura.
- Vigilar el cambio ecológico (incluyendo aspectos genéticos).

Gran parte de estas acciones deben realizarse por imperativo de la legislación vigente en materia de control de calidad de las aguas de cultivo (Directiva 2006/113/CEE, Real Decreto 345/1993), pero también dentro de lo que supone la filosofía europea en materia de protección del estado ecológico del medio, como la Directiva Marco de Aguas (Borja, 2005) o en la Directiva sobre la Estrategia Marina Europea (Borja, 2006).

La planificación del desarrollo costero en general, y de la acuicultura en particular, es necesaria, ya que los conflictos que surgen de la utilización de los recursos costeros por parte de la acuicultura en desarrollo, así como los efectos adversos que puede tener este tipo de industria sobre el medio ambiente, han dado lugar a ciertas dudas sobre la idoneidad y continuidad del sostenimiento de la acuicultura en el medio marino.

Al igual que la mayor parte de las industrias costeras tradicionales, la acuicultura está en conflicto creciente con otras actividades costeras (navegación, pesca, esparcimiento, desarrollo industrial, vida salvaje, etc.).

En el Cuadro 1 se pueden observar algunas de las interacciones más importantes existentes entre la acuicultura y las actividades más importantes que compiten con ella por los recursos espaciales, se enfrentan por la calidad del medio, se complementan en aspectos socioeconómicos o es preciso regular (Borja, 2002).

Así, la industria, los puertos (comerciales o deportivos) y las urbanizaciones compiten negativamente con la acuicultura por el uso de terrenos, el tráfico marítimo, los dragados, el aporte de contaminantes por parte de aquellos, etc. En cambio, el aporte de aguas calientes de la industria energética puede ser positivo para el desarrollo de cultivos, al igual que las infraestructuras compartidas. Por su parte,

CUADRO 1.

Interacciones entre la acuicultura y diversas actividades que se realizan en el medio marino. (–): la interacción es negativa; (+): la interacción es positiva; (–/+): puede ser de los dos tipos. (Adaptado por Borja (2002) de PAP/RAC (1996)).

ACTIVIDAD	INDUSTRIA Y PUERTOS	URBANIZACIÓN	TURISMO	AGRICULTURA	PESCA
Recursos espaciales	Necesidad de tierra (–)	Uso de tierras (–)	Necesidad de tierra (–)	Tierras costeras (–)	Áreas de puesta y cría (–)
	Navegación (–)	Necesidad de espacio (–)	Puertos deportivos (–)		Arrecifes artificiales (–/+)
	Usos militares (–)		Navegación, baño, pesca (–)		Zonas de pesca (–)
	Dragado (–)		Lugares históricos (–)		
Calidad ambiental	Contaminantes (–)	Vertidos (–)	Pinturas antifouling (–)	Fertilizantes (–)	Transmisión de enfermedades (–)
	Aguas de lastre (–)	Materia orgánica (–)	Bacterias y virus (–)	Pesticidas (–)	Fugas genéticas (–)
	Aguas de refrigeración (+)	Bacterias y virus (–)		Materia orgánica (–)	
		Nutrientes (–)		Sólidos en suspensión (–)	
				Gestión aguas dulces (–/+)	
Economía	Infraestructuras (+)	Mercados (+)	Atracción inversiones (–/+)	Infraestructuras (+)	Atracción inversiones (–/+)
	Atracción inversiones (–/+)	Infraestructuras (+)	Empleo estacional (–/+)		Mercados (+)
			Mercados locales (+)		Infraestructuras (+)
			Infraestructuras (+)		Alimento para acuicultura (+)
Recursos sociales		Áreas residenciales (–)	Ecoturismo (+)		Educación (+)
			Vida salvaje (–)		Competencia interna (–)
Regulación	Áreas cercanas (–)	Regional/local (–)	Áreas protegidas (–)		Reservas pesca (–/+)
	Reserva portuaria (–)	Políticas (–/+)	Fauna y flora salvajes (–)		
	Áreas militares (–)		Estándares ambientales (+)		

el turismo compite de manera negativa en aspectos similares a estos mencionados, pero hay que añadir aspectos como el mantenimiento de la naturalidad del paisaje, la vida salvaje o la protección de la naturaleza; mientras que el desarrollo de mercados locales, empleo o infraestructuras provoca sinergias positivas. Quizá las actividades más complementarias sean la acuicultura y la pesca ya que, aun cuando haya aspectos negativos (competencia en áreas de pesca o puesta, fugas genéticas o enfermedades), la formación especializada del sector pesquero lo hace susceptible de engrosar el empleo acuícola, los mercados son comunes, la pesca puede proveer alimento para los animales estabulados, etc.

El desarrollo sostenible de la acuicultura costera pasa por un buen entendimiento con el medio ambiente, respetándolo y realizando acciones que tiendan a disminuir los posibles impactos que se deriven de



dicha actividad. Para ello, han de adoptarse medidas en la producción para no degradar el medio ambiente y que a su vez sean técnicamente apropiadas, económicamente viables y socialmente aceptadas.

Antes del desarrollo de la tecnología para el cultivo en jaulas en los años sesenta, la mayor parte de la producción piscícola se realizaba en viveros y estanques. A partir de entonces, el cultivo de especies piscícolas tomó un gran impulso gracias al cultivo de ciertas especies, como salmón atlántico (*Salmo salar* Linnaeus, 1758), dorada, lubina, etc., en jaulas flotantes.

Se ha escrito bastante sobre los factores primarios que influyen en el impacto final de la acuicultura. Entre éstos destacan el tipo de organismos cultivados (peces, crustáceos o moluscos), la localización de la granja (agua dulce, estuárica o marina), la biomasa estabulada, el número de especies, la calidad o cantidad y tipo de alimento o las prácticas de gestión (cultivo intensivo, extensivo, etc.) o las condiciones hidrográficas. Una buena revisión de este tema, junto con abundante bibliografía, puede verse en Sarà (2007). En el Cuadro 2 se pueden observar algunos de los impactos más importantes que puede producir (basado en Borja, 2002).

Los desechos, tanto orgánicos como inorgánicos, de las piscifactorías pueden causar un enriquecimiento en nutrientes e incluso eutrofización en el caso de que las zonas destinadas al cultivo sean zonas semiconfinadas. Cerca de un 85 % del fósforo, un 80-88 % del carbono y un 52-95 % del nitrógeno introducido en las jaulas puede pasar al medio marino a través de los desechos de la comida, las excreciones de los peces, la producción de heces y la respiración. El fósforo total vertido por una piscifactoría cuya producción sea de 50 t·año⁻¹ correspondería al vertido tratado de una población de 7.000 habitantes, teniendo en cuenta que el 90 % del fósforo es eliminado del vertido urbano (Holby y Hall, 1991). Sin embargo, cabe señalar que los desechos de una piscifactoría no son directamente comparables con los vertidos domésticos, principalmente debido a que la relación Carbono:Nitrógeno:Fósforo varía y a la diferencia en lo que respecta a la sedimentación y solubilidad de los desechos (Rosenthal *et al.*, 1988).

Estudios llevados a cabo en diversas piscifactorías han demostrado que en ciertas ocasiones se puede detectar un impacto significativo

CUADRO 2.

Actividades de la acuicultura que producen impactos y principales factores que pueden verse impactados. (● = impacto notable; ○ = impacto moderado; — = no hay relación).

Actividades de la acuicultura										
Impactos	Especies	Alimento	Productos químicos	Pesticidas	Hormonas	Heces	Lugares	Especies autóctonas	Pozos	Anti-Fouling
Enriquecimiento	—	●	—	—	—	●	—	—	—	—
Cadenas tróficas	●	●	○	○	—	●	—	○	—	○
Consumo de oxígeno	●	●	—	—	—	●	—	○	—	—
Biodiversidad	—	●	●	●	○	○	—	●	—	○
Fouling	—	—	—	—	—	—	●	—	—	●
Cambios bentos	—	○	●	○	—	○	—	○	—	○
Resistencia antibióticos	—	—	●	—	—	—	—	—	—	—
Salinización acuíferos	—	—	—	—	—	—	●	—	●	—
Acidificación suelos	—	○	—	—	—	●	●	—	—	—
Subsidencia de tierras	—	—	—	—	—	—	●	—	●	—
Afección vida salvaje	—	—	—	—	—	—	○	—	—	—
Salinización suelos	—	—	—	—	—	—	●	—	○	—
Cambios de sustrato	—	●	—	—	—	●	—	—	—	—
Especies no deseables	—	●	—	—	—	●	—	—	—	○
Eutrofia	—	●	—	—	—	●	—	—	—	—
Toxicidad de especies marinas	—	—	—	—	—	—	—	—	—	●

en un radio de un kilómetro alrededor de las jaulas de cultivo, siendo éste generalmente mayor en el fondo, donde se puede observar, entre otros efectos, incremento en la demanda de oxígeno, producción de sedimentos anóxicos y de gases tóxicos, cambios en las comunidades, disminución de la diversidad del bentos (Gowen y Bradbury, 1987; Weston, 1990; Tsutsumi *et al.*, 1991; Wu *et al.*, 1994; Wu, 1995), alteraciones en la biodiversidad, desarrollo de especies resistentes a la contaminación que pueden resultar dañinas para las especies cultivadas y blooms de fitoplancton (Cuadro 2). En todo caso, los impactos más importantes tienen lugar en los primeros 25 m de distancia (Muxika *et al.*, 2005).

Otro problema que se plantea en ciertas regiones es la introducción de especies autóctonas para su cultivo, lo que se traduce en un



empobrecimiento de la biodiversidad del ecosistema marino debido a la competencia e hibridación y alteraciones en las cadenas tróficas (Cuadro 2).

El uso indiscriminado de fármacos (antibióticos para controlar o prevenir enfermedades de los peces en granjas costeras y hormonas para el crecimiento) ha dado como resultado cambios cualitativos y cuantitativos en la flora microbiana, efectos tóxicos en los organismos salvajes, alteraciones en la biodiversidad, incidencia en las cadenas tróficas, desarrollo de defensas antibacterianas en patógenos de los peces y transferencia de resistencia antibacteriana a patógenos humanos (Cuadro 2).

Otro tipo de agentes químicos, como los pesticidas o los antiincrustantes, son también contaminantes para el medio marino y pueden alterar gravemente el ecosistema al resultar tóxicos para la vida marina y la especie cultivada, lo cual, a través de su consumo, puede convertirse en un peligro para la salud humana (Cuadro 2). Además, hay que añadir a todo ello la carga orgánica debida a la limpieza periódica de las incrustaciones orgánicas de las jaulas.

El propio lugar donde se realice la actividad puede provocar alteraciones. Por ejemplo, en la ubicación en tierra se puede dar salinización de suelos o acuíferos, acidificación de suelos, cambios en la vida salvaje, etc. (Cuadro 2).

Así pues, en este capítulo se estudiarán los principales impactos producidos por el cultivo de moluscos bivalvos, el cultivo de peces, y las herramientas para minimizar dichos impactos y mejorar la calidad de los productos de la acuicultura.

14.2. IMPACTOS PRODUCIDOS POR LOS CULTIVOS

Como se ha dicho, en España hay dos grupos de cultivos principales: los moluscos bivalvos (en su gran mayoría mejillón en batea) y los peces (mayoritariamente en jaulas en el mar). En este apartado se verán los impactos que producen estos cultivos, que en algunos aspectos son similares, por lo que se agrupará su estudio cuando esto sea posible.

El cultivo de moluscos bivalvos, tales como el mejillón, ostras, almejas, etc., es una forma particularmente atractiva de acuicultura ya que



el stock cultivado no necesita una adición externa de alimento (Gibbs, 2007), siendo uno de los sectores acuícolas con un mayor crecimiento (Hawkins *et al.*, 2002). Como contrapartida, el hecho de que el cultivo dependa en gran medida de la disponibilidad natural de alimento puede suponer una limitación importante para la actividad, por lo que disponer de un conocimiento de la capacidad de carga del medio es muy importante (Gibbs, 2007).

El cultivo de moluscos se basa en la obtención de semillas y su posterior desarrollo hasta que la especie alcanza una talla que permita su comercialización y consumo. Así, su cultivo puede decirse que se desarrolla en tres fases: (a) obtención de la semilla; (b) preengorde y (c) engorde (Corral *et al.*, 2000), tal y como se ha visto en otros capítulos de este libro.

En el caso de los peces, la utilización de jaulas se da mayoritariamente en especies nadadoras (lubina, dorada, túnidos,...), mientras que los peces sedentarios (rodaballo,...) se cultivan en instalaciones terrestres. Normalmente el mayor impacto en estas instalaciones proviene de los restos de alimento no ingerido, y de la eliminación de desechos, pero tampoco es desdeñable en algunos casos la sobrepesca de individuos jóvenes para engorde o engrase (casos del pulpo y de los túnidos) o la presión pesquera sobre especies de poco valor comercial, pescados para alimento fresco de la especie cultivada.

Las principales actividades generadoras de impacto asociadas a cultivos suspendidos (bateas, jaulas y *long-lines*) se encuentran en relación con: las estructuras flotantes; la especie cultivada (molusco o pez); la producción de biodepositos (restos de alimento, heces y pseudoheces); en el caso de los mejillones, las pérdidas de individuos y fauna epibionte por desprendimiento, asociadas a la agitación del medio y las labores de mantenimiento y limpieza de las instalaciones; y el tráfico de barcos necesario para el mantenimiento y explotación de las instalaciones.

14.2.1. Las estructuras flotantes

Se han descrito afecciones a la hidrodinámica como consecuencia de la presencia de las estructuras flotantes (bateas, jaulas, cuerdas, boyas, fondeos, etc.). Todas estas estructuras pueden dar lugar a una reducción de las corrientes en el área de ocupación de la instalación y



en consecuencia a un aumento en las tasas de sedimentación natural de la zona (WGMASC, 2003). Así, la interferencia de los fondeos alterando la hidrodinámica de la zona ha sido descrita por algunos autores (Silvert y Sowles, 1996; Boyd y Heasman, 1998; Ogilvie *et al.*, 2000; Hartstein y Rowden, 2004), si bien su efecto es muy bajo.

En lo que respecta a la línea de amarre utilizada en el tren de fondeo de estas estructuras, cabe señalar que en el radio de acción de la sección de roce con el fondo la zona puede quedar desprovista de flora y fauna.

Las estructuras flotantes también pueden afectar a la ictiofauna del lugar de tres formas diferentes según Gibbs (2004a): por atracción o desplazamiento; por disminución del reclutamiento como consecuencia del consumo de huevos y larvas del zooplancton y por alteración de las redes tróficas.

En este sentido, Morrissey *et al.* (2006) en estudios llevados a cabo en relación con el cultivo de mejillón mediante *long-lines* en Nueva Zelanda, determinaron que la abundancia de especies de peces en relación con un polígono de cultivo depende en gran medida del lugar, es variable a lo largo del tiempo y difícil de predecir. La capacidad de proporcionar un hábitat adicional por parte de un polígono de cultivo es mayor en lugares en donde exista una abundancia de individuos juveniles y una cierta escasez de hábitats naturales (Morrissey *et al.*, 2006).

Los fondeos localizados arrastrados durante temporales especialmente fuertes pueden afectar a estructuras rocosas, hacer girar rocas y piedras, etc. Este efecto puede ser especialmente severo cuando el fondo afectado es de tipo detrítico-costero como los fondos de maërl, que representa una de las comunidades de mayor diversidad de los sustratos blandos (BIOMAERL-Team, 2003).

Por otra parte, en zonas sedimentarias, los fondeos ofrecen una superficie de sustrato duro artificial que puede atraer a algas y fauna sésil.

14.2.2. La especie cultivada

14.2.2.1. Moluscos

La propia especie cultivada también es fuente de impactos tanto en la columna de agua como en los sedimentos y el bentos. Los mejillones



excretan amonio pudiendo dar lugar a una afección a sobre la dinámica de los nutrientes en la columna de agua y a una alteración en la comunidades de fitoplancton, tal y como ha sido descrito, entre otros, por Prints y Smaal (1994), Prints *et al.* (1995) y Philippart *et al.* (2000). Por otro lado, según Riegman *et al.* (1992), la modificación del ratio nitrógeno/fósforo puede dar lugar a la generación de blooms de microalgas como *Phaeocystis* sp. Ferreira (2006) ofrece un interesante modelo de libre acceso en Internet sobre el cual poder llevar a cabo la modelización del impacto de una instalación sobre la columna de agua.

El mejillón, como organismos filtrador que es, puede dar lugar a reducciones importantes del fitoplancton y seston residente en zonas dedicadas al cultivo en grandes densidades (Cloern, 1982; Officer *et al.*, 1982; Nichols, 1985; Jorgensen, 1996; Dame y Prins, 1998; Prins *et al.*, 1998; Cranford *et al.*, 2003; Hily, 1991). Este efecto ha sido descrito por multitud de autores en relación con el mejillón (*M. galloprovincialis*) (Ceccherelli y Barboni, 1983; van Erkom Schurink y Griffiths, 1993; Sara *et al.*, 1998; Babarro *et al.*, 2000), así como otras especies de bivalvos como la ostra (Gangnery *et al.*, 2003; Gangnery *et al.*, 2004), otras especies de mejillón como *Mytilus edulis* (Bayne *et al.*, 1989; Garen *et al.*, 2004; Karayücel y Karayücel, 2000) y *Perna canaliculus* (Ogilvie *et al.*, 2000) y berberechos, ostras y mejillón (*Mytilus edulis*) (Smaal *et al.*, 1997; Hawkins *et al.*, 1998).

Trabajos desarrollados por Grant (2000) en diversos estuarios de Canadá determinaron que el efecto de sustracción de la materia particulada, fuente de alimento para el mejillón, puede ser mayor que la sustracción asociada al efecto de renovación de la marea. Meeuwig *et al.* (1998) determinaron mediante el empleo de modelos de balance de masas una reducción del orden de un 45 a un 88 % de la biomasa fitoplanctónica en estuarios en donde se encuentran instalaciones de cultivo de mejillón en Canadá.

El cultivo de mejillones en las rías españolas destruye un 35 o 40 % de plancton y detritus (Figueras, 1989), y se retiene un 30 % del carbono, un 42 % del nitrógeno, y un 60 % de la clorofila *a* de las partículas de materia orgánica presentes en el agua (Pérez Camacho *et al.*, 1991).

La introducción de bivalvos podría tener efectos ecológicos negativos (Chew, 1990), especialmente cuando se introducen también



parásitos y enfermedades (Barg, 1994). La reintroducción en Europa de la ostra plana Europea (*Ostrea edulis*) procedente de Norteamérica provocó la propagación de la *Bonamia ostreae*, un parásito de células malignas en las ostras, que devastó la industria de la ostra plana Europea (Barg, 1994). Con la introducción en Norteamérica de la ostra del Pacífico (*Crassostrea gigas*) procedente de Japón, se introdujeron conjuntamente dos predadores de bivalvos, la ostra rizada Japonesa (*Ceratomyxus edwardsii*) y la ostra plana alargada (*Pseudostylochus ostreophagus*), así como el parásito *Mytilicola orientalis*, que puede afectar gravemente a varias especies de bivalvos (Barg, 1994). Al introducir y trasladar especies de mejillones, se corre también el riesgo de propagar enfermedades infecciosas y parásitos que son perjudiciales para mejillones y otros bivalvos (Bower y Figueras, 1989).

14.2.2.2. Peces

El cultivo de peces en jaulas suele atraer a otras especies, tanto de invertebrados como de vertebrados (peces, aves y mamíferos) (Beveridge et al., 1994; Machias et al., 2004; Valle et al., 2007). Se atribuye a las pérdidas de alimento no utilizado a esta atracción, pero también la presencia de los peces desencadena la atracción de la misma u otras especies (bien por la presencia de alimento o bien por hormonas liberadas al medio), y también el stock suele ser utilizado como presa por las aves.

Se han descrito algunas de estas relaciones, así la abundancia y supervivencia de *Micropterus salmoides* aumenta durante el cultivo de *Oncorhynchus mykiss* e *Ictalurus punctatus* (Iwama 1991). También se han descrito aumentos del número y peso de las capturas de peces salvajes cerca de las zonas de cultivo, respecto a las capturas en zonas control (Loyacano y Smith, 1975; Valle et al., 2007).

En Canarias (Vergara et al., 2005) y Alicante (Valle et al., 2007) se ha observado que las jaulas ejercen un efecto de atracción sobre los peces de las zonas próximas. Según estos autores este incremento en el número de peces se debe al alimento sobrante, además del efecto protector de las jaulas. Este efecto es importante sobre peces tanto de hábitats pelágicos (*Boops boops* y *Sphyrna viridensis*), como de hábitats bentónicos (condrictios, *Synodus* spp. y *Trachinus draco*), en Canarias.



La pesca dentro de las concesiones acuícolas puede suponer un marcado desequilibrio ecológico debido a este efecto atractor de las jaulas (Vergara *et al.*, 2005; Machias *et al.*, 2006; Valle *et al.*, 2007), pero este desequilibrio también puede estar en relación con aumentos de pesca de especies que sirven de alimento a los peces cultivados.

Un impacto potencialmente importante es la introducción de especies no autóctonas para el cultivo, que puede traducirse en escapes al medio de la especie introducida y la introducción de sus patógenos y parásitos. Según Vergara *et al.* (2005) las especies de cultivo se escapan frecuentemente de los cultivos durante los procesos de manejo diarios, así como en grandes fugas debidas a rotura de las instalaciones por tormentas o vandalismo. Estos organismos pueden suponer una alteración del medio por modificación del hábitat de las especies autóctonas, competición, depredación o por cruce con las especies nativas, en caso de establecerse.

El cultivo de especies nativas reduce el riesgo de interacciones interespecíficas, mientras que siguen existiendo las intraespecíficas. El cruce de los animales de cultivo, sometidos a selecciones genéticas con variedades indógenas, puede resultar en la transferencia de genes que afecten a la adaptación al medio de las futuras generaciones (Vergara *et al.*, 2005).

14.2.3. La producción de biodepósitos

En los cultivos suspendidos (bateas y jaulas), los fondos marinos bajo los mismos se ven muy alterados por la aportación de materia procedente de las actividades de cultivo. Según Chanberlain (2001), estos efectos se pueden observar en un radio de acción de unos 40 m alrededor de la batea o jaula, mientras que Hartstein y Rowden (2004) indican un área de afección de 5-30 m y Hartstein y Stevens (2005) de 30-50 m. Normalmente el área de afección depende de la situación de las bateas y las jaulas (zonas protegidas o expuestas al oleaje y las corrientes), la velocidad de la corriente y la tasa de renovación general del entorno. Estos depósitos pueden separarse en función de su procedencia: alimentos, heces y pseudoheces, residuos del laboreo y desprendimientos.



Restos de alimento, heces y pseudoheces de moluscos y peces:

La alimentación de especies filtradoras como el mejillón da lugar a la concentración del material particulado presente en la columna de agua en forma de heces y pseudoheces de mayor tamaño, que sedimentan de forma rápida especialmente en zonas con reducido régimen de corrientes y renovación de las aguas. Esta actividad da lugar a un desvío de la producción primaria y del flujo de energía desde las redes tróficas planctónicas hacia las redes tróficas del bentos (Cranford *et al.*, 2003) y a un enriquecimiento en materia orgánica de los sedimentos bajo las bateas (Cabanas *et al.*, 1979; Grenz, 1989; 1990; Macias *et al.*, 1991; Jaramillo *et al.*, 1992; Hatcher *et al.*, 1994; Hartstein y Rowden, 2004; Hartstein y Stevens, 2005), así como a un cambio en su granulometría (Grenz *et al.*, 1990) y una alteración de la macrofauna bentónica al reducirse su abundancia y diversidad (Stenton-Dozey *et al.*, 1999; 2001; Mirto *et al.*, 2000; Chamberlain *et al.*, 2001; Crawford *et al.*, 2003; Hartstein y Rowden, 2004).

La intensidad de la afección procedente de estos residuos depende, en gran medida, de la capacidad de dispersión del medio donde se encuentran las bateas, siendo menor en zonas donde las corrientes son los suficientemente intensas como para asegurar una buena dispersión de estos desechos ($> 0,5 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ para las heces y $> 0,8 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ para las pseudoheces) (Chamberlain *et al.*, 2001).

Harstein y Stevens (2005) indican la posibilidad no sólo del impacto asociado a la deposición de heces y pseudoheces, sino también advierten del peligro de resuspensión de los desechos depositados. Así, Cromei *et al.* (2002), en estudios realizados en piscifactorías de salmón, determinan una velocidad de $9,5 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ como suficiente para producir este fenómeno.

En el Cuadro 3 se observan las tasas de deposición de desechos según diversos autores. Así, según Chanberlain (2001) la sedimentación de biodepósitos puede alcanzar los $345 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{año}^{-1}$; Freire (2006) la estima en 200 kg por batea y día; Grenz (1989) y Hatcher *et al.* (1994) determinaron en 945 y $88,7 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{día}^{-1}$ el flujo de heces y pseudoheces (en peso seco) bajo la instalación, mientras que Jaramillo *et al.* (1992) obtuvieron tasas de $553 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{día}^{-1}$. Por su



parte, Grant *et al.* (1995) determinaron un flujo de $88,5 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{día}^{-1}$ (en peso seco) y Harstein y Stevens (2005) un flujo de $84 \text{ a } 133 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{día}^{-1}$. Las elevadas tasas de sedimentación encontradas por Grenz (1989) y Jaramillo *et al.* (1992) pueden explicarse debido a un aporte adicional de materia orgánica como alimento en el primero, así como elevadas tasas de sedimentación natural en el segundo (del orden de $400 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{día}^{-1}$) (Cuadro 3).

Estudios llevados a cabo en zonas protegidas determinaron unos ratios de acumulación de $10 \text{ cm} \cdot \text{año}^{-1}$ que dieron lugar a cambios significativos del sedimento a una distancia máxima de 20 m de las instalaciones (Dahlback y Gunnarsson, 1981; Mattsson y Linden, 1983; Hartstein y Rowden, 2004). Grenz (1989) determinó en $3.000 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{año}^{-1}$ la cantidad de biodepósitos acumulados bajo las instalaciones de cultivo de mejillón.

Cálculos realizados por Cabanas *et al.* (1979) en Galicia ponen de manifiesto la importancia de esta sedimentación, que estiman en unos $190 \text{ kg} \cdot \text{día}^{-1} \cdot \text{batea}^{-1}$ de biodepósito seco, del cual $31,6 \text{ kg}$ se corresponderían con materia orgánica. Expresada en carbono y nitrógeno, la biodeposición es de $14,3 \text{ kg C} \cdot \text{día}^{-1}$ y $1,7 \text{ kg N} \cdot \text{día}^{-1}$ (cifra muy similar al nitrógeno producido por una explotación de 100 cerdos en ceba, en Colombia, estimada en $1,5 \text{ kg} \cdot \text{día}^{-1}$ (ACP, Comare y Corantoqia, 1997)). Estos cálculos fueron realizados sobre una batea de 22×24

CUADRO 3.
Resumen de las estimas de biodeposición realizadas
por los autores consultados.

Autor	Estima
Freire (2006)	$200 \text{ kg} \cdot \text{batea}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$
Chanberlain (2001)	$345 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{año}^{-1}$
Grenz (1989) y Hatcher <i>et al.</i> (1994)	$945 \text{ y } 88,7 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{día}^{-1}$
Grenz (1989) y Hatcher <i>et al.</i> (1994)*	$545 \text{ y } 51,15 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{día}^{-1}$
Jaramillo <i>et al.</i> (1992)	$553 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{día}^{-1}$
Grant <i>et al.</i> (1995)	$88,5 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{día}^{-1}$
Harstein y Stevens (2005)	$84 - 133 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{día}^{-1}$
Cabanas <i>et al.</i> (1979)	$190 \text{ kg} \cdot \text{día}^{-1} \cdot \text{batea}^{-1}$

* Valores corregidos a partir de la sedimentación natural estimada en $400 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{día}^{-1}$ (ver texto).



m (528 m^{-2}) y 88 t de producción y los resultados obtenidos fueron similares a los obtenidos por Tenore y Dunstan (1973).

El efecto de la deposición de este tipo de biodepósitos se deja sentir en diversos compartimentos del medio marino. Así, diversos estudios han señalado el cultivo de mejillón como un factor enriquecedor del sedimento en materia orgánica como consecuencia de la deposición de heces y pseudoheces procedentes de los cultivos (Grenz, 1989; 1990; Mirto *et al.*, 2000; Hartstein y Rowden, 2004; Hartstein y Stevens, 2005; Stenton-Dozey *et al.*, 2001).

Es por ello que la determinación de la concentración de materia orgánica total en el sedimento se haya utilizado como trazadora del área de afección de este tipo de instalaciones (Hartstein y Stevens, 2005). Este enriquecimiento alcanza un área de no más de 50 m alrededor de cada instalación y supone un incremento de 2 veces el contenido de materia orgánica del área afectada en comparación con otras zonas control. Chivilev y Ivanov (1997) establecen en un 9-10 % de concentración de materia orgánica en el sedimento como el límite a partir del cual comienzan a darse un cambio en las características del mismo.

Grenz *et al.* (1990) determinaron una reducción por degradación bioquímica del 20 % de la materia orgánica procedente de biodepósitos a los 50 días de su deposición. Sin embargo, hay que señalar la ausencia de nuevos aportes durante los 50 días que duró la experiencia de los mencionados autores, mientras que la realidad es que el aporte de heces y pseudoheces se realiza de forma continua. Asimismo, esta materia orgánica puede ser consumida por invertebrados bentónicos, tales como anélidos poliquetos, así como ser reducida por procesos de denitrificación (Kasper *et al.*, 1985).

La descomposición de la materia orgánica depositada da lugar a un incremento de la demanda de oxígeno en el sedimento y en consecuencia la generación de zonas anaerobias que pueden inducir un aumento de los procesos de liberación de amonio y de sulfato-reducción, tal y como se han observado en determinados lugares (Dahlback y Gunnarsson, 1981; Tenore *et al.*, 1982; Kasper *et al.*, 1985; Grant *et al.*, 1995; Stenton-Dozey *et al.*, 2001).

Asimismo, estos sedimentos se caracterizan por elevados ratios de C/N (Jaramillo *et al.*, 1992; Hartstein y Stevens, 2005). De acuerdo con



Jaramillo *et al.* (1992), dichos ratios sugieren una reducción del nitrógeno en la columna de agua asociada a su consumo por el fitoplancton, así como consecuencia de la escorrentía procedente de tierra que lleva asociada desechos vegetales de bajo valor nutricional y elevados ratios de C/N. Otra posible explicación podría ser el enriquecimiento en bacterias de los *pellets* fecales al pasar por el tracto digestivo de los mejillones (Jaramillo *et al.*, 1992).

Sin embargo, a pesar de que autores como Kasper *et al.* (1985) determinaron pérdidas de nitrógeno asociadas a la mineralización de la materia orgánica y a la denitrificación, globalmente determinaron una mayor acumulación de nitrógeno orgánico en comparación con el carbono, dando lugar a un ratio bajo de C/N. Según Jaramillo *et al.* (1992), dicho resultado se explica por la antigüedad del biodepósito analizado por Kasper *et al.* (1985). Así, a medida que pasa el tiempo, el porcentaje de nitrógeno aumenta, reduciéndose el ratio de C/N.

Sin embargo de acuerdo con Harstein y Rowden (2004b) y Harstein y Stevens (2005) el enriquecimiento del sedimento en materia orgánica de instalaciones en zonas expuestas (velocidad media de $10 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-2}$ y máxima de $25 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-2}$ en su estudio) no tuvieron un impacto significativo sobre el fondo marino asociado a las instalaciones, bien debido a una mayor dispersión de los desechos (que facilita su degradación al no acumularse en un punto), bien por efecto de una resuspensión y transporte de los mismos. En este sentido, Cromey *et al.* (2002) en estudios realizados en piscifactorías de salmón que generan biodepósitos similares a los producidos por cultivos de mejillón determinan una velocidad de $9,5 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ como suficiente para producir este fenómeno.

Bajo las jaulas o bateas de cultivo se dan numerosos procesos químicos (Porrello *et al.*, 2005). En la columna de agua, los procesos de remineralización de la materia orgánica depositada pueden dar lugar a la liberación de amonio en procesos aerobios de degradación y fosfato cuando la biodeposición es tan intensa que se generan condiciones anaerobias (Nixon *et al.*, 1980). Estos procesos pueden dar lugar a una influencia significativa en la concentración de nitrógeno en determinadas zonas costeras (Dame *et al.*, 1991; Strain, 2002) favoreciendo de forma positiva a las comunidades de fitoplancton (Maestrini *et al.*, 1986; Strain, 2002). Según Cranford (2003) existen pocas evidencias



en relación a la importancia relativa del enriquecimiento en nutrientes debido a la mineralización de la materia orgánica procedente de la sedimentación de biodepósitos o a la generada por parte de los procesos de excreción de la propia especie. En cualquier caso, parece que el primer proceso tiene una mayor importancia en comparación con el segundo (Asmus y Asmus, 1991; Prins y Smaal, 1994).

Por otra parte, numerosos estudios han relacionado el enriquecimiento del sedimento en materia orgánica con el cambio en la estructura de la población de la macrofauna bentónica (Pearson y Rosenberg, 1978; Díaz y Rosenberg, 1995; Borja *et al.*, 2000; 2003; Borja y Muxika, 2005; Klaoudatos *et al.*, 2006; Kalantzi y Karakassis, 2006), así como con impactos severos a praderas de fanerógamas, como *Posidonia oceanica* (Marbà *et al.*, 2006), que han hecho recomendar a algunos autores la instalación de jaulas a no menos de 1.000 m de dichas praderas (Pergent-Martini *et al.*, 2006).

Los efectos mencionados más arriba se traducen en alteraciones graves en el compartimiento biológico. Uno de los más significativos tiene lugar al alterarse las redes tróficas al darse un aumento de bacterias saprófitas, así como la aparición de moluscos, crustáceos y anélidos carroñeros. Por el contrario, suelen disminuir aquellas especies características de lugares limpios. Todo ello induce cambios en la biodiversidad de la zona, que tiende a reducirse, puesto que bajo las instalaciones predomina la vía detrítica sobre cualquier otra.

Diversos estudios inciden en el impacto del enriquecimiento en materia orgánica procedente de la biodeposición generada por los cultivos sobre las poblaciones de la macrofauna bentónica. De acuerdo con Hartstein y Rowden (2004b) dichos estudios se dividen en dos grupos; aquellos que indican una alteración significativa de las poblaciones al reducirse su abundancia y diversidad (Mattsson y Linden, 1983; Jaramillo *et al.*, 1992; Chivilev y Ivanov, 1997; Stenton-Dozey *et al.*, 1999; Mirto *et al.*, 2000) y aquellos que no encuentran tal efecto (Hatcher *et al.*, 1994; Grant *et al.*, 1995; Crawford *et al.*, 2003; Miron *et al.*, 2005). En cambio, la abundancia de especies oportunistas tiende a incrementarse cerca de las instalaciones (Muxika *et al.*, 2005).

Sin embargo, estudios realizados por Chamberlain *et al.* (2001) y Hartstein y Rowden (2004b) que examinaron diversas instalaciones de



cultivo en dos zonas con un régimen de corrientes diferente, uno poco intenso y el otro con fuertes corrientes con una velocidad media de $10 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$, encontraron evidencias a favor de cada uno de los grupos anteriormente indicados. De acuerdo con los mencionados autores, el régimen de corrientes en la zona asociado a una mayor o menor exposición de las instalaciones explicaría las diferencias encontradas. Esta explicación es la que ofrecen también Muxika *et al.* (2005) respecto de las diferencias de impacto sobre el bentos entre tres granjas de cultivo.

Los resultados obtenidos por Hartstein y Rwoden (2004b) fueron coincidentes con los estudios realizados por Chamberlain (2001), los cuales indican la ausencia de una modificación en la estructura de la macrofauna bentónica en relación con las instalaciones situadas en zonas con un régimen hidrodinámico alto.

Sin embargo, algunos de los resultados encontrados en los estudios clásicos de impacto ambiental, tan sólo recientemente contradiados por Sarà (2007), al estudiar 425 casos procedentes de diversas partes del mundo, con diferentes especies, distintos ecosistemas y métodos de cultivo. Así, encuentra que independientemente del tipo de cultivo y de la especie, el efecto acumulativo de amonio, nitrito y nitrato es mayor y significativo, que para el fósforo (cuyo efecto es medio) o el silicato (cuyo efecto no es significativo). Los efectos de los nutrientes están correlacionados principalmente con el grado de intercambio de las masas de agua, siendo el amonio y las formas nitrogenadas los descriptores que mejor informan sobre la situación alrededor de las zonas de cultivo.

En síntesis, los procesos que tienen lugar en la interfase agua-sedimento, los resumen Belias *et al.* (2007) en cuatro fases de la manera siguiente:

- Durante tres de las fases (desoxigenación, hipoxia y anoxia), la concentración de amonio se incrementa rápidamente, decreciendo los nitratos, debido a la acción bacteriana. En cambio, los fosfatos se incrementan debido a esta actividad sobre la materia orgánica.
- Durante la fase de reoxigenación parte de la materia orgánica se oxida, incrementándose el nitrito. La caída de nitrato se retarda, siendo menor que durante la fase anterior, indicando la dificultad de las áreas bajo jaulas o bateas para recuperarse si hay períodos



intermitentes de hipoxia. La concentración de amonio varía mucho en esta fase, debido a la actividad aeróbica bacteriana, que también consume fosfatos.

Residuos procedentes del laboreo en bateas:

Los residuos procedentes del laboreo se generan durante los procesos de desdoble y cosecha y están constituidos principalmente por mejillón pequeño y roto, conchas, así como la epifauna¹ y flora epibionte acompañante. El volumen de estos residuos puede representar el 10 % del peso total de las cuerdas (Figura 2).

Los desprendimientos se producen por malas operaciones de encordado, excesiva acumulación de epibiontes, o enfermedades en la glándula del biso. Según algunos productores, puede alcanzar el 20 % de la co-

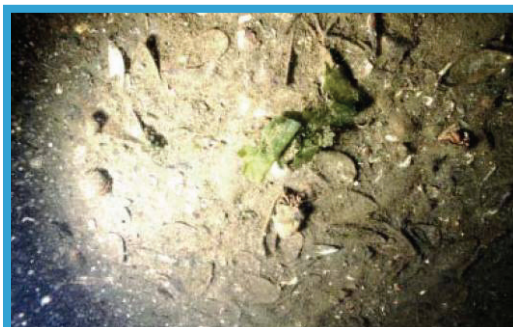


FIGURA 2.

Imagen del fondo marino afectado por la deposición de residuos procedentes de una batea en Galicia. Fuente: Freire (2006).

¹ La presencia de amarres, cabos, muertos de anclaje y de las bateas, favorece la captación de larvas y propágulos reproductores de diferentes especies animales y vegetales que con el tiempo desarrollan una comunidad característica presente en todo tipo de estructuras artificiales sumergidas, conocidas con el nombre genérico de «fouling». En las instalaciones de cultivos marinos, el desarrollo de este tipo de comunidades se ve favorecido por los aportes de nutrientes y de materia orgánica particulada que propicia el crecimiento de especies filtradoras y suspensívoras (moluscos, ascidias, briozoos y algas de crecimiento rápido). Con el tiempo, bien por el desprendimiento natural de esta comunidad como consecuencia de la erosión o muerte de los individuos que la componen, bien por el mantenimiento periódico de las estructuras, se van acumulando restos de la misma en los fondos sobre los que se asientan las instalaciones.



secha anual (Freire, 2006). Pérez Camacho *et al.* (1991) y Pérez y Román (1979) estimaron que estas pérdidas pueden alcanzar el 40 % en zonas muy expuestas y reducirse a un 14 % en zonas protegidas. Asimismo, Pérez Camacho *et al.* (1991; 1995) estimaron entre un 2 y un 36 % la mortalidad natural del mejillón durante la fase de siembra (desde la siembra hasta el desdoble) y en un 15 % una vez realizado el desdoble. Fuentes *et al.* (1992; 1994; 1998) encontraron diferencias similares al obtener mortalidades del orden de 4,5 % y 43,8 % desde la siembra hasta el desdoble y del orden de 16,4 % y 21,3 % desde el desdoble hasta la siembra. Pérez y Román (1979) obtuvieron mortalidades superiores, del 32 al 36 % en el periodo de siembra y del 14-15 % en el desdoble, siendo la mortalidad total durante todo el periodo de cultivo del orden de un 18 a un 20 %. De acuerdo con el mencionado autor, si se unen las pérdidas por desprendimiento a la mortalidad natural, éstas serían del orden de un 29 % en zonas resguardadas y un 55 % en zonas expuestas.

Los materiales desprendidos se acumulan en forma de pirámide truncada de base cuadrangular, exactamente bajo cada batea (Freire, 2006). El efecto del cambio que esta deposición produce sobre el sustrato es inmediato y fácilmente apreciable (Freire, 2006). La fauna original es sustituida por otra más adaptada a este ambiente por su alimentación carroñera; de este modo en Galicia se ha constatado que el rodaballo, sepia y solla dan paso a nécora, camarón o mújol (Freire, 2006). Además de esto, el alto porcentaje de materia orgánica que estos sedimentos presentan da lugar a la aparición de zonas anóxicas, donde se producen procesos de reducción independiente de oxígeno, dando lugar a la emisión de gases nocivos. Esta misma falta de oxígeno evita la implantación de animales detritívoros en estos ambientes (Freire, 2006).

En cualquier caso, el impacto ambiental de los biodepósitos procedentes de las instalaciones para el cultivo de mejillón tienen un impacto menos severo en comparación con las instalaciones para el cultivo de peces en mar abierto mediante jaulas debido al enriquecimiento extra en materia orgánica procedente del alimento empleado en estas últimas (Hartstein y Rowden, 2004; Hatcher *et al.*, 1994; Grant *et al.*, 1995). Sin embargo la zona de influencia puede ser mayor debido a la mayor extensión de los polígonos dedicados al cultivo moluscos bivalvos como el mejillón (Cranford *et al.*, 2003).



La epifauna asociada a las cuerdas de cultivo así como el mejillón, puede servir de alimento a los peces demersales (Tenore y González, 1975; Chesney y Iglesias, 1979; López-Jamar *et al.*, 1984; Iglesias, 1982), equinodermos (Olaso, 1982) y crustáceos (González-Gurriarán, 1982; Romero *et al.*, 1982; González-Gurriarán *et al.*, 1989; Freire *et al.*, 1990), traducándose en un aumento en los valores de densidad de la megafauna bentónica.

Asimismo, se han descrito aumentos de salmonete (*Mullus surmuletus*) de 5 a 88 veces más individuos bajo jaulas de cultivo de lubina y proliferación de *Sarpa salpa* (Verneau *et al.*, 1995), especie que suele ser un herbívoro común de fanerógamas, como *Posidonia oceanica* (Sánchez y Ramos, 1994). Su proliferación se debe al aumento desmesurado de epifitos sobre las hojas de *Posidonia*, lo que produce un incremento del sobrepasto y muerte del 52 al 72 % de ellas, con la consiguiente desaparición de muchas matas.

Los valores de densidad y biomasa correspondientes a los crustáceos decápodos determinados por González-Gurriarán (1986) en la Ría de Arousa, llegaron a ser 6 veces más altos al comparar las áreas dedicadas al cultivo de mejillón con zonas próximas.

14.2.4. El tráfico de barcos

La presente actividad se refiere al generado por las embarcaciones que sirven al polígono de cultivo. En general el impacto que producen es bajo, especialmente en lo referido a calidad de aguas (por vertido accidental de aceites y gasoil) (WGMASC, 2003) y al ocio (interferencia con otras actividades de la zona).

14.3. MINIMIZACIÓN DE IMPACTOS Y GESTIÓN AMBIENTAL

Hasta ahora se ha visto una serie de impactos que tienen lugar por parte de la acuicultura, tanto de bivalvos como de peces. No todo ello tiene por qué darse en un mismo lugar y momento, pero la posibilidad de que alguno de esos efectos no deseados pueda llegar a desarrollarse hace que sea preciso establecer una metodología que trate de minimizar dichos impactos para proteger el medio y garantizar la sos-



tenibilidad de la actividad. Por ello, AZTI propuso a Jacumar una metodología aplicable a las jaulas de cultivo en mar, que fue adoptada en su 49ª reunión de 6 de noviembre de 2000 y que incluye: un protocolo para la identificación de zonas adecuadas para la instalación de jaulas de cultivo en el mar, y un protocolo para la gestión medioambiental de las instalaciones de acuicultura en jaulas (ver Borja, 2002).

Por otro lado, la internacionalización de los mercados ha aumentado las exigencias en relación con la calidad. De ahí que las estrategias empresariales tiendan a enfocarse hacia la implantación de sistemas de gestión que garanticen la calidad de los servicios y productos. En los últimos años, estas expectativas se han extendido al ámbito medioambiental, promoviendo que productos y servicios impliquen además, un buen comportamiento medioambiental por parte de las empresas (Manteiga *et al.*, 2002). Este hecho aumenta si se habla de un sector como el acuícola, altamente competitivo, en el que los productores, sobre todo aquellos interesados en la exportación, se ven en la necesidad de dar a sus productos un valor añadido que responda a la presión de distribuidores y consumidores (Mispeces.com, 2002).

Una adecuada gestión medioambiental se consigue mediante la implantación de un Sistema de Gestión Medioambiental (SGMA), es decir, un instrumento voluntario integrado en la gestión general de las empresas que incluye la estructura organizativa, planificación de actividades, prácticas, procedimientos, procesos y recursos para desarrollar, implantar, llevar a efecto, revisar y mantener al día la política medioambiental (Mispeces.com, 2002). Así, un instrumento que evidencia de manera formal y objetiva la existencia y validez de estos sistemas de gestión es la certificación según unas normas establecidas. Mediante la certificación, un organismo independiente garantiza que el sistema de calidad o de gestión medioambiental implantado en una empresa satisface los requisitos establecidos por la norma correspondiente (Manteiga *et al.*, 2002).

14.3.1. Protocolo para la identificación de zonas adecuadas para la instalación de jaulas de cultivo en el mar

Las áreas marinas donde se puede realizar la acuicultura en jaulas con ciertas garantías de éxito deben reunir una serie de condiciones que es preciso que se cumplan en mayor o menor grado. Algunos de



los principales factores involucrados, así como los rangos en que su presencia puede considerarse buena, media o mala para realizar esta actividad se pueden observar en el Cuadro 4. Estos factores se pueden reunir en varios grupos.

- *Factores que inciden en la calidad del producto elaborado y en la sostenibilidad de la actividad*
 - 1) Buena calidad de las aguas: entendida como suficiente para realizar la actividad, evitando lugares contaminados. La concentración de oxígeno disuelto debe ser normalmente alta (orientativamente > 70 % de saturación). Se deben controlar los siguientes variables: temperatura, salinidad, oxígeno disuelto, turbidez, sólidos en suspensión y contaminantes (en este caso no de manera sistemática, sólo en caso de sospechas de que existan sospechas de una posible presencia). Hay que hacer notar la importancia

CUADRO 4.

Factores que se deben tener en cuenta al seleccionar un lugar para acuicultura en jaulas. (Adaptado de PAP/RAC, 1996 y Borja 2002).

Factor	Bueno	Medio	Malo
Exposición	Parcial	Abrigado	Expuesto
Oleaje	de 1 a 3 m	< 1 m	> 3 m
Profundidad	> 30 m	de 15 a 30 m	< 15 m
Velocidad de la corriente (a – 10 m)	> 15 cm/s	de 5 a 15 cm/s	< 5 cm/s
Contaminación aguas	Bajo	Medio	Alto
Temperatura máxima	de 22 a 24 °C	de 24 a 27 °C	> 27 °C
Temperatura mínima	12 °C	10 °C	< 8 °C
Salinidad media	de 25 a 35 USP	de 15 a 25 USP	< 15 USP
Salinidad (fluctuación)	< 5 USP	de 5 a 10 USP	> 10 USP
Oxígeno disuelto (% saturación)	> 100 %	de 70 a 100 %	< 70 %
Turbidez, sólidos en suspensión	Bajo	Moderado	Alto
Pendiente (topografía)	> 30 %	de 10 a 30 %	< 10 %
Sustrato	Arena o grava	Mezcla	Fango
Estado trófico	Oligotrófico	Mesotrófico	Eutrófico
Fouling	Bajo	Moderado	Alto
Depredadores	No	Algunos	Abundantes



que determinados eventos pueden tener localmente, por ejemplo, escorrentías o avenidas de ríos cercanos, por lo que es necesario disponer de datos históricos.

- 2) Buena renovación de las aguas: la corriente en la zona debe ser suficiente para evitar que los acúmulos de productos de desecho (heces y restos de comida) generen desoxigenación del agua. La corriente debe favorecer la dispersión, difusión y mezcla de los residuos, evitando para la actividad lugares muy cerrados o con poca renovación del agua. Se recomienda controlar la velocidad y dirección de la corriente durante al menos 30 días, tomando datos cada 10 minutos (al menos debe colocarse un correntímetro a la profundidad media de la jaula y, si es posible, a varias profundidades en la zona), las mareas (en el caso de que sea aplicable), la meteorología (velocidad y dirección del viento a lo largo del año, principalmente) y los aportes cercanos (caudales de ríos o ramblas, si los hubiera, y materiales en suspensión). Siempre que sea posible, es mejor disponer de datos históricos.

- *Factores que inciden en la seguridad de las jaulas y su contenido*

- 1) Oleaje. Se encuentra en relación con la resistencia de las jaulas y con el estrés al que se ven sometidos los peces, por tanto, con la supervivencia del negocio. Se debe asegurar que la frecuencia y las alturas de la ola (máxima y significativa) no sobrepasen los estándares de resistencia fijados para el modelo de jaula. Los datos se pueden obtener de la red de boyas de medida de oleaje del Departamento de Clima Marítimo, perteneciente al ente público de Puertos del Estado, o bien haciendo cálculos teóricos a partir del viento. Se recomienda controlar la dirección predominante del oleaje (frecuencia de cada cuadrante); el periodo de la ola; las alturas significativa y máxima (según los regímenes extremales escalares); el oleaje umbral para la consideración de temporal en la zona; los días por año que se supera dicho valor; el *fetch* o barrido (longitud del área de exposición al oleaje, es decir, recorrido sin obstáculos del viento en el mar); y el tipo de oleaje (sea o mar de viento: olas de origen próximo, o *swell* o mar de fondo: olas generadas a gran distancia).



- 2) Profundidad. En lugares con mareas se deberá tener en cuenta su presencia en relación con la seguridad, y en lugares tanto con mareas como sin ellas en relación con la dispersión de los residuos. Deben evitarse los lugares donde la profundidad por debajo de las jaulas sea menor que dos veces la profundidad que alcancen los paños de la jaula. Orientativamente, nunca deberían situarse con fondos de menos de 15 m de profundidad.
- 3) Viento. Aunque se ha mencionado en el apartado anterior, debe ser tenido en cuenta como generador de oleaje. Para ello es preciso disponer de datos del lugar más cercano posible, de al menos 10 años.

- *Factores que inciden en la competencia de usos*

- 1) Se deben evitar los usos poco o nada compatibles con la acuicultura, como los vertidos, áreas protegidas, el turismo (parcialmente), las playas, el baño o la navegación, entre otros. Se debe tener idea de los usos actuales y futuros, mediante intercambio de información entre Administraciones, tratando de disponer de un catálogo de usos.
- 2) En este sentido, sería preciso tener una idea primaria sobre la biodiversidad de la zona (a través de datos de cartografía y evaluación de poblaciones, entre otros) para evitar llevar adelante proyectos que pudieran alterar comunidades de interés o especies protegidas. En todo caso, si fuera preceptivo, se debería acometer un estudio más profundo de estos aspectos al realizar el estudio de impacto ambiental.

Como resumen de los datos que se deben tener en cuenta para que una instalación pueda considerarse que está en un lugar idóneo, puede observarse el Cuadro 4 que es válida para instalaciones acuícolas en el Mediterráneo, aunque también puede adaptarse con facilidad al Atlántico. La combinación de los valores de los diferentes factores debe ser evaluada por un experto en medio marino y acuicultura, con el fin de establecer la importancia de cada uno y su posible incidencia en la actividad en el lugar escogido.

Mediante los datos arriba obtenidos y a partir de un modelo hidrodinámico contrastado (validado, probado y utilizado por personal



experto), se deben realizar diversas simulaciones con los vientos más comunes en el área, validando los resultados con los datos de corrientes obtenidos y procediendo a estudiar la dispersión, la difusión y la mezcla de los residuos. Para ello, se utilizarán, además los datos de batimetría del área, los datos de densidad, las mareas (si es el caso), los caudales (si es el caso) y el oleaje. Se deben utilizar tasas de sedimentación (como función de decaimiento) adecuadas al tamaño de las partículas alimenticias y a las heces.

Con esto se delimitará el alcance de la pluma de los desechos generados por la instalación, lo que proporcionará datos útiles para realizar el EsIA (si fuera preceptivo), tales como posibles áreas afectadas, carga contaminante, etc. En el posterior EsIA se establecerá la posible incidencia sobre otros usos, así como la distancia entre jaulas o entre instalaciones (es decir, pasillos de seguridad entre instalaciones) para evitar efectos sinérgicos entre ellas, y la capacidad de carga de la zona (para ello se puede consultar Beveridge, 1986).

14.3.2. Protocolo para la gestión medioambiental de las instalaciones de acuicultura en jaulas

En este protocolo se trata de recoger el contenido mínimo que deberían tener los EsIA y la posterior vigilancia ambiental a realizar en caso de que la instalación vaya adelante.

- *Estudios de impacto ambiental*

Los estudios deberán tener en cuenta las legislaciones europeas, españolas y autonómicas y lo que en cada una se exija. Además, se puede consultar Barg (1994) para algunas actuaciones del EsIA.

Se estima que los EsIA no deben tener una receta única. Los estudios deben ser hechos por expertos en el medio marino y la acuicultura. En general, y como ya se ha dicho antes, estos estudios deben estar ligados a los resultados obtenidos en la modelización realizada en el primer protocolo y a los datos obtenidos en la primera fase. Los estudios se deberán adaptar a cada lugar, no haciendo listas exhaustivas de todo, sino centrándose en los aspectos que tengan mayor incidencia sobre los factores ambientales y únicamente en aquéllos que puedan verse afectados. Como guía, se deberán aportar datos de:



- 1) Descripción del proyecto y alternativas, que incluyan localización, ocupación, señalización, características de la obra de instalación, características de la producción (especies, cantidades a producir, etc.) y características del manejo (alimentación, medicación, tratamiento de residuos, ciclos de producción, etcétera).
- 2) Columna de agua: temperatura, salinidad, oxígeno disuelto, propiedades ópticas (turbidez, sólidos en suspensión, transparencia medida mediante el disco de Secchi), nutrientes (fósforo, amonio y nitrógeno), clorofila. Podrían estudiarse contaminantes como metales o pesticidas (en este caso sería más conveniente su análisis en animales filtradores como mejillón u ostra). Estos datos deben servir para establecer el estado cero que permita comparar durante la vigilancia ambiental (una vez en funcionamiento la empresa) que los impactos reales se ciñen a los predichos, para poder actuar en consecuencia si esto no fuera así.
- 3) Sedimentos: distribución de sustrato blando en el área (unido a batimetría) con datos de granulometría, materia orgánica y potencial redox. En su caso podrán estudiarse contaminantes.
- 4) Comunidades de fondo: incidiendo especialmente en la presencia de comunidades de alto valor ecológico (fanerógamas marinas, coralígenas) o con interés especial (praderas de algas). Además de la identificación, se deberá disponer de datos de riqueza, abundancia, biomasa y diversidad. Se deberá evitar la cercanía de estas zonas, estableciendo un área de seguridad que deberá ser proporcionada por la modelización obtenida en el protocolo anterior.
- 5) Áreas protegidas: establecimiento de su existencia y tipos de protección.
- 6) Presencia de otras empresas de acuicultura: estudiar las posibles sinergias o efectos acumulativos (capacidad máxima de carga), a partir de los datos de simulación del protocolo anterior.
- 7) Interferencia con otros usos: centrarse en la pesca, la navegación y el turismo, principalmente.
- 8) La determinación de los impactos deberá hacerse de la manera más objetiva posible, para ello, se utilizarán datos de base de contaminación, datos de legislaciones, datos de estudios ante-



rios de impacto ambiental, etc. El estudio se centrará en los impactos notables.

9) Un programa de vigilancia: debe incluir una propuesta de vigilancia.

En cuanto al diseño de muestreo, se debe decidir en cada caso en función del conocimiento previo que exista de la zona. En caso de no haber ninguna información previa el mínimo exigible podría ser:

- Dos muestreos en épocas extremas: invierno y verano.
- Cinco puntos de muestreo, diseñados en función de la dispersión preferente de los residuos de las jaulas. De ellos al menos uno deberá encontrarse bajo el punto donde se vayan a instalar las jaulas y otro deberá servir de control para el futuro en un área que previsiblemente no vaya a verse afectada.

Las profundidades de muestreo quedan al criterio del especialista que haga el trabajo, en función del proyecto que se presente.

14.3.3. Programa de vigilancia ambiental

Se deberá centrar únicamente en aquellos aspectos que el EsIA haya determinado como afectados de manera notable. Deberá ser claro, explicitando qué factores ambientales se deben controlar (sólo los que sean afectados de manera notable) y qué variables se deben medir (algunas de las más utilizadas se pueden observar en la tabla IV). En este sentido, no todas las variables tienen por qué ser incluidas en la vigilancia. Sólo deberán tenerse en cuenta aquellas variables y matrices que sean relevantes para el seguimiento, valorando la relación coste de su adquisición-valor que proporciona (entendido como información que aporta a la vigilancia).

Para poder corregir en el futuro impactos no deseados no se debe vigilar lo accesorio sino lo fundamental. Por ejemplo, si se ha determinado que el problema radica en una pradera de fanerógamas el programa de vigilancia se centrará en ella, evitando hacer estudios caros y poco operativos sobre contaminantes en moluscos u otros compartimientos que no se vean afectados de manera notable. En este sentido, cada programa debe ser único; no hay recetas de aplicación general. Lo ideal es que el programa lo diseñe un experto.

La frecuencia de muestreo deberá determinarla el EsIA, aunque, como regla general, cada compartimiento del sistema puede tener frecuencias



diferentes: más cortas, o estacionales, los de gran variabilidad natural (como la columna de agua), y más largas, o anuales, los integradores de impacto (como los sedimentos o las comunidades del bentos).

Como conclusión, puede decirse que la acuicultura será sostenible si se planifica bien previamente y se gestiona adecuadamente mientras se realiza la producción (Borja, 2002).

14.3.4. Promoción y fomento de los sistemas de gestión medioambiental en el sector acuícola

Existen dos tipos de Sistemas de Gestión Medio Ambiental (SGMA) según la norma que se tome por referencia:

- Los basados en la Norma UNE-EN ISO 14.001, que es una Norma Internacional (ISO = Organización Internacional de Normalización), aprobada y adoptada por el Comité Europeo de Normalización (EN = Norma Europea), traducida al castellano y reconocida con igual rango en España (UNE = Una Norma Española), sobre «Sistemas de Gestión Medioambiental: especificaciones y directrices para su utilización». La certificación es realizada por organismos certificadores acreditados.
- Los basados en el Reglamento Europeo 761/2001 (EMAS), que al igual que la ISO es un instrumento voluntario por el que se permite que las organizaciones se adhieran a un Sistema de Gestión y Auditoría Medioambientales. Este reglamento es de alcance europeo y se diferencia del anterior en que incluye una declaración pública que proporciona a las administraciones, organizaciones y público en general, información sobre la adecuada y transparente gestión medioambiental de las empresas.

La implantación de una norma UNE-EN ISO 14.001 supone la realización de un diagnóstico inicial para establecer la situación actual medioambiental de las empresas, la elaboración y desarrollo documental del SGMA, la puesta en marcha del SGMA y formación de todo el personal de las empresas, la realización de una auditoría interna previa a la certificación y establecimiento de acciones correctoras, la revisión de la Dirección y la certificación por un organismo certificador acreditado.



Para la implantación del EMAS se requiere la realización de una revisión inicial de unos requisitos adicionales: aspectos indirectos, aspectos medioambientales en proceso de adquisición, la participación activa de los trabajadores y la obligación de proveedores y subcontratistas de cumplir con la política medioambiental. Además se debe redactar una declaración medioambiental clara y transparente que facilite al público la información medioambiental de la empresa constituyendo un instrumento de comunicación y diálogo con las partes interesadas, la verificación de la Declaración Medioambiental a través de un verificador acreditado, y la inclusión de la empresa en el Registro público del EMAS.

Los beneficios comerciales de la implantación de estas normas vienen de ofrecer una ventaja competitiva para introducirse en mercados más restrictivos, creando nuevos mercados, evitando barreras técnicas y facilitando el acceso a mercados exteriores mediante el reconocimiento del logotipo de certificación/verificación. El uso adecuado de los logotipos de certificación / verificación demuestran la adecuada gestión medioambiental frente a las partes interesadas y es una eficaz herramienta de marketing, que facilitará un aumento de la cuota de mercado. La implantación de un Sistema de Gestión Medioambiental representa la sustitución de soluciones costosas de última hora por unos procedimientos integrados que conducen a una protección preventiva del medio ambiente, y que a la vez comporta un mayor rendimiento de la actividad y un aumento de la competitividad (Mispeces.com: 13 de diciembre de 2002).

El 19 de septiembre de 2002, la Comisión de las Comunidades Europeas emitió una comunicación al Consejo y al Parlamento Europeo referida a la Estrategia para el desarrollo sostenible de la acuicultura Europea, en la que plantea como reto para el futuro de la acuicultura, entre otros, la toma de medidas dirigidas a prevenir y minimizar la degradación del medioambiente como consecuencia de la actividad acuícola.

Así, uno de los objetivos propuestos por la Comisión es el cumplimiento de las normas medioambientales por parte del sector. Para ello la Comisión recomienda a la industria de la acuicultura su participación en el Sistema de Gestión y Auditoria Medioambientales (EMAS) esta-



blecido en el Reglamento Europeo 761/2001, anteriormente mencionado.

Finalmente, el 17 de enero de 2003, El Parlamento Europeo aprobó por amplia mayoría el informe de la Comisión Europea sobre Estrategia para el Desarrollo Sostenible de la Acuicultura Europea.

El Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación tiene la competencia en el desarrollo y fomento de la investigación en materia de acuicultura, en virtud de lo establecido en el artículo 149.1.15.a de la Constitución. La Ley 3/2001, de 26 de marzo, de Pesca Marítima del Estado, trata en su artículo 84 del fomento de la investigación pesquera y oceanográfica, estableciéndose, en el artículo 85.g), como uno de los objetivos esenciales de dicha investigación, el desarrollo de la acuicultura.

Estas funciones se ejercen a través de JACUMAR, creada por la Ley 23/1984, de 25 de junio, de Cultivos Marinos.

Así, JACUMAR, en 2002, acordó, con el fin de fomentar el desarrollo de la acuicultura, convocar el I Premio en implantación de sistemas medioambientales, al cual pueden optar cualquier instalación acuícola privada con sede en el territorio español que se haya implantado un SGMA certificado internacionalmente.

- *La ISO 14.001*

La Familia de las ISO 14.001 son las relativas a sistemas de gestión medioambiental. Incluyen procedimientos para el correcto cumplimiento de la legislación medioambiental, a la vez que permiten optimizar los procesos productivos y los recursos. El cumplimiento de la norma garantiza el compromiso empresarial con el medioambiente.

Los principios que promueve la norma ISO 14.001 son los siguientes:

- Definir una política ambiental: implica establecer, objetivos, metas y programas con relación a la interacción entre la empresa y el medioambiente.
- Establecer un plan: en general implica identificar los impactos ambientales y definir la legislación ambiental aplicable, y en particular, evaluar la posibilidad de reducir el material utilizado, identi-



ficar la existencia de tecnologías más eficientes y limpias, ahorrar recursos y reciclar materiales durante el proceso, entre otros.

- Definir procedimientos de mejora: implica definir los procesos para controlar y mejorar las operaciones de la empresa que resultan críticas desde la perspectiva ambiental, incluyendo productos y servicios.
- Establecer medidas de control y corrección: implica establecer medidas de seguimiento, evaluación y registro de las actividades que pueden tener un impacto significativo sobre el medioambiente.
- Revisar la gestión: implica que los altos responsables de la empresa revisen el sistema para garantizar su adecuación y eficiencia.
- Mejora continua: implica mantener activo el ciclo: planificar-ejecutar-comprobar-ajustar.

Además, son requisitos para el cumplimiento de la norma:

- Disponer de información actualizada sobre requisitos legales aplicables a su producto o actividad y situación de los objetivos y metas planteados.
- Identificar responsables, medios y calendarios para cumplir los programas.
- La formación y sensibilización del personal cuyo trabajo pueda generar un impacto significativo.
- El establecimiento de planes de emergencia y capacidad de respuesta.

Las normas ISO son validadas por entidades de certificación acreditadas para tal fin por una entidad oficial. En España, la entidad de acreditación es ENAC (Entidad Nacional de Acreditación y Certificación), que depende del Ministerio de Ciencia y Tecnología. Cada entidad de certificación cuenta con su propio registro de organizaciones que ha acreditado según la norma ISO.

De los 8 países europeos estudiados por Manteiga *et al.* (2002), un total de 52 empresas del sector de la acuicultura y el procesado de pescado han certificado sus sistemas de gestión ambiental o de calidad. El 80 % de las certificaciones se refirieron a sistemas de gestión de la calidad, y sólo un 20 % en relación con sistemas de gestión ambiental, en su gran mayoría según la norma ISO 14.000. Las encuestas realiza-



das por Manteiga *et al.* (2002) apuntan a un rápido desarrollo de estos sistemas en el sector, sobre todo en los subsectores más interesados en la exportación (lubina, dorada y rodaballo).

En 2002 estos autores indican la ausencia en España de empresas de acuicultura con sistemas de calidad y/o de gestión medioambiental certificados, pero, a partir de la entrada en vigor de los premios JACUMAR, se tiene constancia de al menos dos instalaciones certificadas por la implantación de ISO 14.001: Tinamenor, S.A., situada en Pesués (Cantabria) (la primera empresa española de acuicultura en obtener esta certificación); y Piscifactoría de Aguadulce, S.L., situada en Almería.

- *El Reglamento EMAS*

La diferencia entre el EMAS y la ISO 14.001 radica fundamentalmente en que el EMAS es un Reglamento comunitario que dispone de estatus legal. Además, hace una aproximación más prescriptiva en la gestión de los aspectos ambientales que la ISO 14.001. En este sentido cabe destacar la exigencia de una evaluación ambiental previa, la implicación activa de los empleados en su aplicación y la publicación de la información ambiental más relevante.

El nuevo reglamento EMAS, integra los procedimientos de la ISO 14.001 por lo que las empresas pueden implantar un sistema EMAS a partir de un sistema ISO 14.001, siempre que se someta a los requisitos de validación por parte de los verificadores ambientales acreditados y solicite su registro en el organismo competente.

Los principios que promueve el EMAS son similares a los de la ISO 14.001, si bien cabe destacar algunas diferencias:

- El EMAS requiere una evaluación ambiental previa: el análisis global de las cuestiones, impactos, comportamientos en materia de medioambiente y la mejora permanente de la organización en relación con los mismos. Dicha declaración ambiental o evaluación ambiental previa debe estar a disposición del público de forma fácil y gratuita.
- El EMAS precisa provisiones para cumplir con la legislación ambiental, la ISO 14.001 sólo un compromiso voluntario.



- El EMAS hace unas indicaciones muy detalladas sobre los aspectos e impactos ambientales a considerar, la ISO 14.001 no habla de la cobertura.
- El EMAS tiene en cuenta aquellos impactos ambientales significativos sobre los que la organización no tiene pleno control de la gestión.
- El EMAS exige periodicidad concreta en las auditorias, la ISO 14.001 no.

Por otra parte, el Reglamento EMAS contempla la figura del «Verificador Ambiental» cuya función es la de certificar:

- El cumplimiento de todos los requisitos del Reglamento: análisis medioambiental si procede, sistema de gestión medioambiental, auditoria medioambiental y sus resultados, y la declaración medioambiental;
- La fiabilidad, verosimilitud y corrección de los datos y la información incluidos en la declaración medioambiental y la información medioambiental que deberá validarse.

El verificador medioambiental investigará, en particular, con un método profesional sólido, la validez técnica del análisis medioambiental, si procede, o las auditorias u otros procedimientos seguidos por la organización, sin duplicar los procedimientos de forma innecesaria. El verificador medioambiental deberá realizar sondeos para determinar la fiabilidad de las auditorias internas.

En España, la entidad de acreditación es ENAC (Entidad Nacional de Acreditación y Certificación), que depende del Ministerio de Ciencia y Tecnología es la encargada de llevar a cabo la acreditación de personas físicas u organizaciones como verificadores medioambientales. A intervalos regulares de 24 meses llevará a cabo una supervisión para garantizar que el verificador medioambiental sigue cumpliendo los requisitos de acreditación y controlar la calidad de las verificaciones realizadas, mediante auditorias en las oficinas, testimonios de las organizaciones verificadas, cuestionarios, examen de las declaraciones ambientales validadas por los verificadores y examen de los informes de verificación.



A continuación, a modo de resumen, se detallan los requisitos para la acreditación de los verificadores ambientales según el Reglamento (CE) 761/2001:

- Conocimiento y comprensión del Reglamento, del funcionamiento general de los sistemas de gestión medioambiental, de las normas aplicables y de las establecidas por la Comisión, en virtud del artículo 4 y del apartado 2 del artículo 14, para la aplicación del Reglamento (CE) 761/2001.
- Conocimiento y comprensión de los requisitos legales, reglamentarios y administrativos pertinentes a la actividad objeto de la verificación.
- Conocimiento y comprensión de los problemas medioambientales, incluida la dimensión medioambiental del desarrollo sostenible.
- Comprensión del funcionamiento general de la actividad sujeta a verificación, con el fin de evaluar la pertinencia del sistema de gestión.
- Conocimiento y comprensión de los requisitos y métodos de la auditoría medioambiental.
- Competencia en materia de verificación de informaciones (declaración medioambiental).

En España existen 9 organizaciones acreditadas como Verificadores Ambientales, sin embargo, ninguna de ellas está acreditada para verificar actividades relacionadas con la actividad acuicultora según los códigos NACE establecidos (B05.0 y B05.02) según el Reglamento (CEE) nº 3037/90 del Consejo, de 9 de octubre de 1990, relativo a la nomenclatura estadística de actividades económicas en la Comunidad Europea (Diario Oficial nº L 293 de 24/10/1990 p. 0001 ñ 0026).

Asimismo, existe una asociación nacional de auditores y verificadores ambientales (Anavam) www.anavam.com donde se hayan incluidas las consultoras más grandes (Bureau, DNV, SGS, Novotec, etc.). Dicha asociación ha constituido un grupo de trabajo para debatir sobre la necesidad de una posible acreditación/certificación para los redactores de estudios de impacto y/o evaluadores, promovido por ANAVAM y en el que participan distintas empresas del sector, universidades, la



Asociación Española de EIA y la Escuela de Organización Industrial, entre otros.

Al igual que para la norma ISO 14.001, en España la implantación EMAS es muy escasa. En relación con la acuicultura marina tan sólo se conoce el caso de Luso Hispana de Acuicultura, S.L. situada en Valdoviño (La Coruña) y perteneciente al grupo empresarial de Isidro de la Cal.

Sin embargo, en algunos países como Italia, se están llevando a cabo las primeras experiencias para la certificación de dos instalaciones para el cultivo de dorada y lubina, y una para el cultivo de trucha según el citado reglamento (Iandoli y Cozzolino, 2002).

REFERENCIAS

- ACP, CORNARE y CORANTOQUIA, 1997. Manejo de elementos de la producción porcina que pueden causar efectos ambientales. Convenio de concentración para una producción más limpia en el sector porcícola y ambientales del Departamento de Antioquia. Medellín: 155 pp.
- Anónimo. 1988. Aspectos de las políticas, programas, presupuesto y actividades de la FAO encaminados a contribuir a un desarrollo viable. Documento para el 94.º periodo de sesiones del Consejo de la FAO, Roma. CL 94/6.
- Anónimo. 1991. Reducing environmental impacts of coastal aquaculture. Rep. Stud. GESAMP 47: 35 pp.
- Anónimo. 1996. Monitoring the ecological effects of coastal aquaculture wastes. Rep. Stud. GESAMP 57: 38 pp.
- Anónimo. 2001. Acta de la 50.ª reunión de JACUMAR. (mayo, 2001. Santander, España).
- ASMUS, H. y R. M. ASMUS, 1991. Mussel beds-limiting or promoting phytoplankton. *J.Exp.Mar.Biol.Ecol.*, **148**:215-232.
- BABARRO, J. M. F., M. J. FERNÁNDEZ-REIRIZ y U. LABARTA, 2000. Growth of seed mussel *Mytilus galloprovincialis* Lmk): effects of environmental parameters and seed origin. *Journal of Shellfish Research*, **19**:187-193.
- BARG, U. C., 1994. *Orientaciones para la promoción de la ordenación medioambiental del desarrollo de la acuicultura costera*. FAO documento técnico de pesca. N.º 328 FAO. Roma. 138 pp.
- BAUSSANT, T., S. SANI, G. JONSSON, A. SKADSHEIM y J. FREDRIK, 2001. Bioaccumulation of polycyclic aromatic compounds: 1. Bioconcentration in two marine species and in semipermeable membrane devices during chronic exposure to dispersed crude oil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **20** (6):1175-1184.



- BAYNE, B. L., A. J. S. HAWKINS, E. NAVARRO y J. I. P. IGLESIAS, 1989. Effects of seston concentration on feeding, digestion and growth in the mussel *Mytilus edulis*. *Mar.Ecol.Prog.Ser.*, **55**:47-54.
- BELIAS, C., M. DASSENAKIS, M. SCOULLOS, 2007. Study of the N, P and Si fluxes between fish farm sediment and seawater. Results of simulation experiments employing a benthic chamber under various redox conditions. *Marine Chemistry*, **103**: 266-275.
- BEVERIDGE, M. C. M. 1986. Piscicultura en jaulas y corrales. Modelos para calcular la capacidad de carga y las repercusiones en el ambiente. FAO Doc. Técn. Pesca 255: 100 pp.
- BEVERIDGE, M. C. M., ROSS, L. G. y KELLY, A. 1994. Aquaculture and biodiversity, Royal Swedish Academy of Sciences, **23** (8), 497-502.
- Biomaerl-Team, 2003. Conservation and management of northeast Atlantic and Mediterranean maerl beds. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **13** (1):65-76.
- BORJA, A., 2002. Los impactos ambientales de la acuicultura y la sostenibilidad de esta actividad. Boletín del Instituto Español de Oceanografía, **18**(1-4): 41-49.
- BORJA, A., 2005. The European Water Framework Directive: a challenge for nearshore, coastal and continental shelf research. *Continental Shelf Research*, **25**(14): 1768-1783.
- BORJA, A., 2006. The new European Marine Strategy Directive: difficulties, opportunities, and challenges. *Marine Pollution Bulletin*, **52**: 239-242.
- BORJA, A., J. FRANCO y V. PÉREZ, 2000. A marine biotic index to establish the ecological quality of soft-bottom benthos within European estuarine and coastal environments. *Marine Pollution Bulletin*, **40** (12):1100-1114.
- BORJA, A., I. MUXIKA y J. FRANCO, 2003. The application of a Marine Biotic Index to different impact sources affecting soft-bottom benthic communities along European coasts. *Mar.Poll.Bull.*, **46**:835-845.
- BORJA, A., F. AGUIRREZABALAGA, J. MARTÍNEZ, J. C. SOLA, L. GARCÍA-ARBERAS y J. M. GOROSTIAGA. 2004a. Benthic communities, biogeography and resources management. En: *Oceanography and Marine Environment of the Basque Country*. A. Borja y M. COLLINS (Ed.). Elsevier Oceanography Series 70. Elsevier, Amsterdam. 455-492 pp.
- BORJA, A., O. SOLAUN, J. FRANCO y V. PÉREZ. 2004b. Biomonitoring of heavy metals and organic compounds, at the tissue-organism level. En: *Oceanography and Marine Environment of the Basque Country*. A. Borja y M. Collins (Ed.). Elsevier Oceanography Series 70. Elsevier, Amsterdam. 319-334 pp.
- BORJA, A. y I. MUXIKA, 2005. Guidelines for the use of AMBI (AZTI's Marine Biotic Index) in the assessment of the benthic ecological quality. *Marine Pollution Bulletin*, **50** (7):787-789.



- BOWER, S. B. y A. J. FIGUERAS, 1989. Infectious diseases of mussels, especially pertaining to mussel transplantation. *World Aquaculture*, **20** (4):89-93.
- BOYD, A. J. y K. HEASMAN, 1998. Shellfish mariculture in the Benguela system: water flow patterns within a mussel farm in Saldanha Bay, South Africa. *Journal of Shellfish Research*, **17** (1):25-32.
- BREHMER, P., C. VERCELLI, F. GERLOTTO, F. SANGUINETE, Y. PICHOT, Y. GUENNEGAN y D. BUESTEL, 2006. Multibeam sonar detection of suspended mussel culture grounds in the open sea: Direct observation methods for management purposes. *Aquaculture*, **252** (2-4):234-241.
- CABANAS, J. M., J. J. GONZÁLEZ, J. MARINO, A. PÉREZ y G. ROMAN, 1979. Estudio del mejillón y de su epifauna en los cultivos flotantes de la Ría de Arosa. *Bol. Inst.Esp.Oceanogr.*, **V**:44-50.
- CASTRO, M., B. ESCARIZ, M. V. ITURRALDE DE LA FUENTE, S. LAGO, M. L. LAMAS, M. J. LÓPEZ, M. PEREIRA, M. RIOBOO y M. A. SANTORUM, 2003. *Producción. Marisqueo a Pé*. Xunta de Galicia. Conselleria de Pesca e Asuntos Marítimos. 35 pp.
- CECCHERELLI, V. U. y A. BARBONI, 1983. Growth, survival and yield of *Mytilus galloprovincialis* Lamk. on fixed suspended culture in a bay of the Po River Delta. *Aquaculture*, **34** (1-2):101-114.
- CHAMBERLAIN, J., T. F. FERNANDES, P. READ, T. D. NICKELL y I. M. DAVIES, 2001. Impacts of biodeposits from suspended mussel (*Mytilus edulis* L.) culture on the surrounding surficial sediments. *ICES Journal of Marine Science*, **58** (2):411-416.
- CHESNEY, E. J. J. y J. IGLESIAS, 1979. Seasonal distribution, abundance and diversity of demersal fishes in the inner Ría de Arosa, Northwest Spain. *Estuar. Coast. Mar. Sci.*, **8**:227-239.
- CHEW, K. K., 1990. Global bivalve shellfish introductions. *World Aquaculture*, **21** (3):9-22.
- CHIVILEV, S. y M. IVANOV, 1997. Response of the Arctic benthic community to excessive amounts of nontoxic organic matter. *Marine Pollution Bulletin*, **35** (7-12):280-286.
- CLOERN, J. E., 1982. Does the benthos control phytoplankton biomass in southern San Francisco Bay? *Mar.Ecol.Prog.Ser.*, **210**:223-253.
- CORRAL, M. L., H. GRIZEL, J. MONTES y E. POLANCO, 2000. LA ACUICULTURA: Biología, regulación, fomento, nuevas tendencias y estrategia comercial. Tomo I. Análisis del desarrollo de los cultivos: medio, agua y especies. Mundi Prensa Libros, S.A. Madrid. 246 pp.
- CRANFORD, P., M. DOWD, J. GRANT, B. HARGRAVE y S. MCGLADDERY, 2003. Ecosystem level effects of marine bivalve aquaculture. *Can. Tech. Rept. Fish. Aquat. Sci.* **2450**, IX+131p.



- CRAWFORD, C. M., C. K. A. MACLEOD y I. M. MITCHELL, 2003. Effects of shellfish farming on the benthic environment. *Aquaculture*, **224** (1-4):117-140.
- CROMEY, C., T. D. NICKELL, D. B. KENNETH, G. P. PAUL y R. G. COLIN, 2002. Validation of a Fish Farm Waste Resuspension Model by Use of a Particulate Tracer Discharged from a Point Source in a Coastal Environment. *Estuaries*, **25** (5):916-929.
- DAHLBACK, N. y L. A. H. GUNNARSSON, 1981. Sedimentation and sulphate reduction under a mussel culture. *Marine Biology*, **63**:269-275.
- DAME, R. F., N. DANKERS, T. PRINS, H. JONGSMA y A. C. SMAAL, 1991. The influence of mussel beds on nutrient in the Western Wadden Sea and Eastern Scheldt estuaries. *Estuaries*, **14**:130-138.
- DAME, R. F. y T. C. PRINS, 1998. Bivalve carrying capacity in coastal ecosystems. *Aquatic Ecology*, **31**:409-421.
- DIAZ, R. J. y R. ROSENBERG, 1995. Marine benthic Hypoxia: a review of its ecological effects and the behavioural responses of benthic macrofauna. *Oceanography and Marine Biology Annual Review*, **33**:245-303.
- FERREIRA, J. G., 2006. Farm Aquaculture Resource Management Model. www.farmscale.org
- FIGUERAS, A. J., 1989. Mussel culture in Spain and France. *World Aquaculture*, **20** (4):8-17.
- FREIRE, J., A. L. FERNÁNDEZ y E. GONZÁLEZ-GURRIARÁN, 1990. Influence of mussel raft culture on the diet of *Liocarcinus depurator* (Leach) (Brachyura: Portunidae) in the Ria de Arosa (Galicia, NW Spain). *Journal of Shellfish Research*, **9**:45-57.
- FREIRE, J., 2006. Efectos del cultivo de *Mytilus galloprovincialis* sobre el fondo marino. [http://www.udc.es/dep/bave/jfreire/CERA05_06/Ensayos/7_Efectos %20cultivo %20mejillon.pdf](http://www.udc.es/dep/bave/jfreire/CERA05_06/Ensayos/7_Efectos%20cultivo%20mejillon.pdf)
- FUENTES, J., I. REYERO, C. ZAPATA y G. ÁLVAREZ, 1992. Influence of stock and culture site on growth rate and mortality of mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lmk.) in Galicia, Spain. *Aquaculture*, **105** (2):131-142.
- FUENTES, J., I. REYERO, C. ZAPATA y G. ÁLVAREZ, 1994. Production traits of the mussel *Mytilus galloprovincialis* cultured in Galicia (NW of Spain): relative effects of source of seed and growing environment. *Aquaculture*, **122** (1):19-31.
- FUENTES, J., J. MOLARES y A. VILLALBA, 1998. Growth, mortality and parasitization of mussels cultivated in the Ria de Arousa (NW Spain) from two sources of seed: intertidal rocky shore vs. collector ropes. *Aquaculture*, **162** (3-4):231-240.
- GANGNERY, A., J.-M. CHABIRAND, F. LAGARDE, P. LE GALL, J. OHEIX, C. BACHER y D. BUESTEL, 2003. Growth model of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, cultured in Thau Lagoon (Mediterranean, France). *Aquaculture*, **215** (1-4):267-290.
- GANGNERY, A., C. BACHER y D. BUESTEL, 2004. Modelling oyster population dynamics in a Mediterranean coastal lagoon (Thau, France): sensitivity of marketable production to environmental conditions. *Aquaculture*, **230** (1-4):323-347.



- GAREN, P., S. ROBERT y S. BOUGRIER, 2004. Comparison of growth of mussel, *Mytilus edulis*, on longline, pole and bottom culture sites in the Pertuis Breton, France. *Aquaculture*, **232** (1-4):511-524.
- GIBBS, M. T., 2007. Sustainability performance indicators for suspended bivalve aquaculture activities. *Ecological Indicators*, **7** (1):94-107.
- GONZÁLEZ-GURRIARÁN, E., 1982. Estudio de la comunidad de crustáceos decápodos (Brachyura) en la Ría de Arousa (Galicia-NW España) y su relación con el cultivo de mejillón en batea. *Bol.Inst.Esp.Oceanogr.*, **7** (2):223-254.
- GONZÁLEZ-GURRIARÁN, E., 1986. Seasonal changes of benthic megafauna in the Ría de Muros e Noia (Galicia, North-West Spain). II: Decapod Crustaceans (Brachyura). *Mar.Biol.*, **92**:201-210.
- GONZÁLEZ-GURRIARÁN, E., J. FREIRE, L. FERNÁNDEZ y E. POZA, 1989. Incidencia del cultivo de mejillón en la dieta de *Liocarcinus depurator* (L.) (Brachyura: Portunidae) en la Ría de Arousa (Galicia, NW España). *Cah. Biol. Mar.*, **30**:307-319.
- GOWEN, R. J. y N. B. BRADBURY, 1987. The ecological impact of salmonid farming in coastal waters: a review. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.*, **25**:563-575.
- GRANT, A., A. HATCHER, D. B. SCOTT, P. POCKLINGTON, C. T. SCHAFER y G. V. WINTERS, 1995. A Multidisciplinary Approach to Evaluating Impacts of Shellfish Aquaculture on Benthic Communities. *Estuaries*, **18** (1A):124-144.
- GRENZ, C. 1989. Quantification et de la biodeposition en zones de production conchylicole intensive en Mediterranee. Ph.D. thesis. Universite d'Aix-Marseille II. 144 p.
- GRENZ, C., M. HERMIN, D. BAUDINET y R. DAUMAS, 1990. In situ biochemical and bacterial variation of sediments enriched with mussel biodeposits. *Hydrobiologia*, **207**:153-160.
- HARTSTEIN, N. D. y A. A. ROWDEN, 2004. Effect of biodeposits from mussel culture on macroinvertebrate assemblages at sites of different hydrodynamic regime. *Marine Environmental Research*, **57** (5):339-357.
- HARTSTEIN, N. D. y C. L. STEVENS, 2005. Deposition beneath long-line mussel farms. *Aquacultural Engineering*, **33** (3):192-213.
- HATCHER, A., J. GRANT y H. SCHOFIELD, 1994. Effects of suspended mussel culture (*Mytilus spp.*) on sedimentation, benthic respiration and sediment nutrient dynamics in a coastal bay. *Mar.Ecol.Prog.Ser.*, **115**:219-235.
- HAWKINS, A. J. S., B. L. BAYNE, S. BOUGRIER, M. HERAL, J. I. P. IGLESIAS, E. NAVARRO, R. F. M. SMITH y M. B. URRUTIA, 1998. Some general relationships in comparing the feeding physiology of suspension-feeding bivalve molluscs. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **219** (1-2):87-103.
- HAWKINS, A. J. S., P. DUARTE, J. G. FANG, P. L. PASCOE, J. H. ZHANG, X. L. ZHANG y M. Y. ZHU, 2002. A functional model of responsive suspension-feeding and



- growth in bivalve shellfish, configured and validated for the scallop *Chlamys farreri* during culture in China. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **281** (1-2):13-40.
- HILY, C., 1991. Is the activity of benthic suspension feeders a factor controlling water quality in the Bay of Brest? *Mar.Ecol.Prog.Ser.*, **69**:179-188.
- HOLBY, O. and HALL, P.O.J. (1991). Chemical flux and mass balances in a marine fish cage farm. II. Phosphorous. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **70**, 263-272.
- IANDOLI, C. y M. COZZOLINO. 2002. EMAS (Eco.Management and audit. Scheme) - Reg. CEE N. 761/01 - Voluntary Scheme: Application to the Aquaculture Sector in Italy. En: *Seafarming today and tomorrow. Extended abstracts and short communications presented at the International Conference Aquaculture Europe 2002* (Trieste, Italy). European Aquaculture Society. 266-267 pp.
- IGLESIAS, J. I. P. 1982. Ecología de la comunidad de peces demersales de la Ría de Arosa, con especial referencia a la familia Gobiidae. Resumen tesis doctoral. Universidad de Santiago. 54 p.
- IWAMA, G. K., 1991. Interactions between aquaculture and the environment. *Critical Reviews in Environmental Control*, **21** (2), 177-216.
- JARAMILLO, E., C. BERTRAN y A. BRAVO, 1992. Mussel biodeposition in an estuary in southern Chile. *Mar.Ecol.Prog.Ser.*, **82**:85-94.
- JORGENSEN, C. N., 1996. Bivalve filter feeding revisited. *Mar.Ecol.Prog.Ser.*, **142**:287-302.
- KALANTZI, I., I. KARAKASSIS, 2006. Benthic impacts of fish farming: Meta-analysis of community and geochemical data. *Marine Pollution Bulletin*, **52**: 484-493.
- KARAYÜCEL, S. y I. KARAYÜCEL, 2000. The effect of environmental factors, depth and position on the growth and mortality of raft-cultured blue mussels (*Mytilus edulis*). *Aquaculture Research*, **31**:893-899.
- KASPER, H. F., P. A. GILLESPIE, I. C. BOYER y A. L. MACKENZIE, 1985. Effects of mussel aquaculture on the nitrogen cycle and benthic communities in Kopenuru Sound, Marlborough Sounds, New Zealand. *Mar.Biol.*, **85**:127-136.
- KLAUDATOS, S. D., D. S. KLAUDATOS, J. SMITH, K. BOGDANOS, E. PAPAGEORGIOU, 2006. Assessment of site specific benthic impact of floating cage farming in the eastern Hios island, Eastern Aegean Sea, Greece. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **338**: 96-111.
- LÓPEZ-JAMAR, E., J. I. P. IGLESIAS y J. J. OTERO, 1984. Contribution of infauna and mussel-raft epifauna to demersal fish diets. *Mar.Ecol.Prog.Ser.*, **15**:13-18.
- LOYACANO, H. A. y SMITH, G. K. 1975. Attraction of native fish to catfish culture cages in reservoirs. *Proc. Annu. Conf. Southeast Assoc. Game Fish. Comm*, **29**, 63p.
- MACHIAS, A., I. KARAKASSIS, M. LABROPOULOU, S. SOMARAKIS, K. N. PAPADOPOULOU, C. PAPAIOANNIDOU, 2004. Changes in wild fish assemblages after the establis-



- hment of a fish farming zone in an oligotrophic marine ecosystem. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 60: 771-779.
- MACHIAS, A., M. GIANNOULAKI, S. SOMARAKIS, C. D. MARAVELIAS, C. NEOFITOU, D. KOUTSOUBAS, K. N. PAPADOPOULOU, I. KARAKASSIS, 2006. Fish farming effects on local fisheries landings in oligotrophic seas. *Aquaculture*, 261: 809-816.
- MACIAS, F., J. L. A. FERNÁNDEZ DE LANDA y R. CALVO DE ANTA, 1991. Composición química y mineralógica de biodepósitos bajo bateas de mejillón. Datos para la evaluación de su uso como fertilizante y/o enmendante de suelos de Galicia. *Thalassas*, 9:23-29.
- MARBÀ, N., R. SANTIAGO, E. DÍAZ-ALMELA, E. ÁLVAREZ, C. M. DUARTE, 2006. Seagrass (*Posidonia oceanica*) vertical growth as an early indicator of fish farm-derived stress. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 67: 475-483.
- MAESTRINI, S. Y., J. M. ROBERT, J. W. LEFLEY y Y. COLLOS, 1986. Ammonium thresholds for simultaneous uptake of ammonium and nitrate by oyster-pond algae. *J.Exp.Mar.Biol.Ecol.*, 102:75-98.
- MANTEIGA, L., J. M. SANTIAGO y C. SUNYER, 2002. Análisis y Evaluación de la situación, oportunidades y limitaciones de la certificación de la calidad y de la gestión medioambiental en el sector de la acuicultura. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Secretaría General de Pesca Marítima. Madrid. 70 pp.
- MATSSON, J. y O. LINDEN, 1983. Benthic macrofauna succession under mussels, *Mytilus edulis* L. (Bivalvia), cultured on hanging long-line. *Sarsia*, 68:97-102.
- MEEUWIG, J. J., J. B. RASMUSSEN y R. H. PETERS, 1998. Turbid waters and clarifying mussels: their moderation of empirical chl:nutrient relations in estuaries in Prince Edward Island, Canada. *Mar.Ecol.Prog.Ser.*, 171:139-150.
- MIRON, G., T. LANDRY, P. ARCHAMBAULT y B. FRENETTE, 2005. Effects of mussel culture husbandry practices on various benthic characteristics. *Aquaculture*, 250 (1-2):138-154.
- MIRTO, S., T. LA ROSA, R. DANOVARO y A. MAZZOLA, 2000. Microbial and Meiofaunal Response to Intensive Mussel-Farm Biodeposition in Coastal Sediments of the Western Mediterranean. *Marine Pollution Bulletin*, 40 (3):244-252.
- Mispecies.Com, 2002. Aprobado el Plan Fischler para la acuicultura. Promoción y fomento de los sistemas de gestión medioambiental en el sector acuícola. <http://www.mispecies.com/noticias/2002/dic/021213-mapa.asp>
- MORRISEY, D. J., R. G. COLE, N. K. DAVEY, S. J. HANDLEY, A. BRADLEY, S. N. BROWN y A. L. MADARASZ, 2006. Abundance and diversity of fish on mussel farms in New Zealand. *Aquaculture*, 252 (2-4):277-288.
- MUXIKA, I., A. BORJA y W. BONNE, 2005. The suitability of the marine biotic index (AMBI) to new impact sources along European coasts. *Ecological Indicators*, 5 (1):19-31.



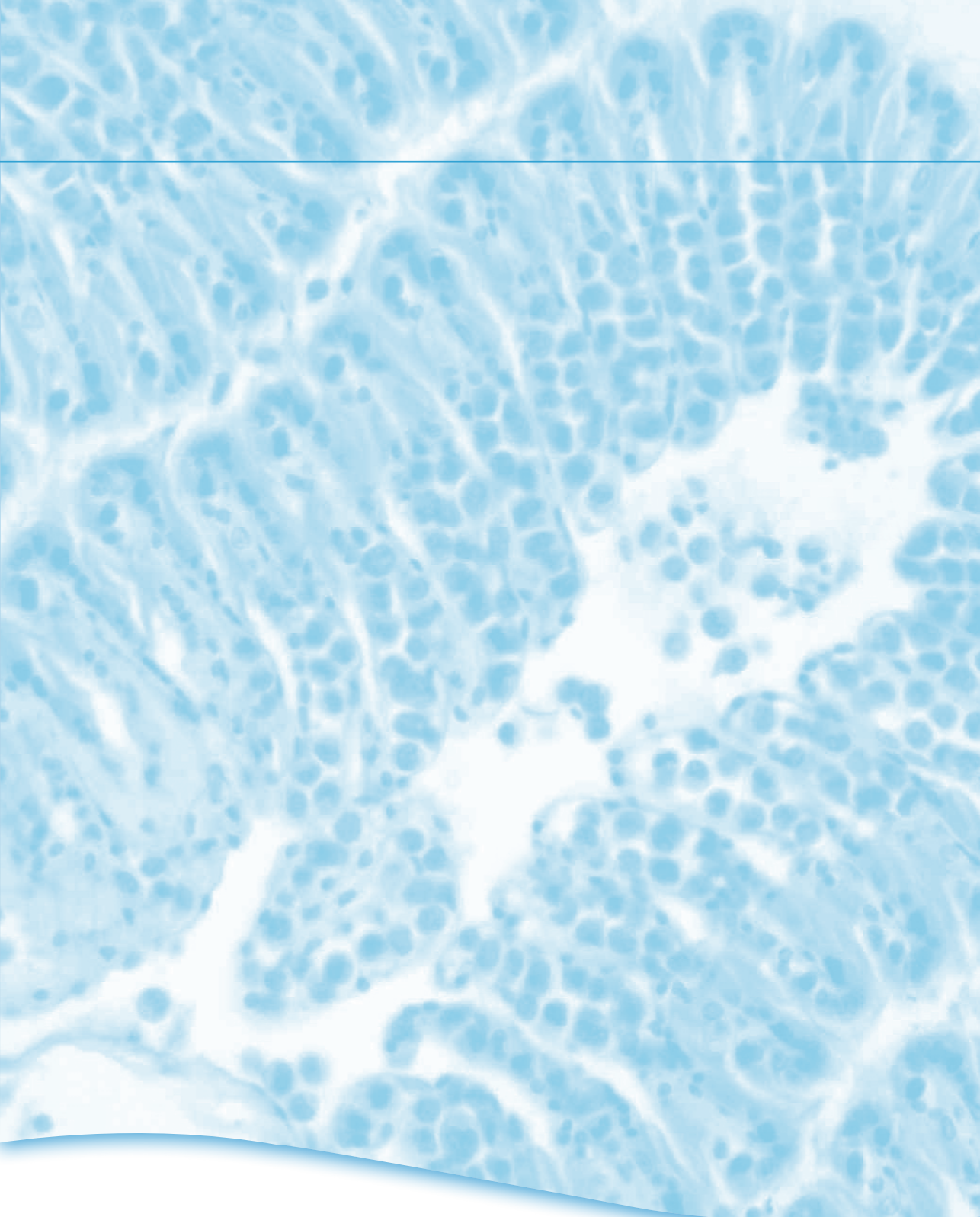
- NICHOLS, F. H., 1985. Increased benthic grazing: an alternative explanation for low phytoplankton biomass in northern San Francisco Bay during the 1976-1977 drought. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, **21**:379-388.
- NIXON, S. W., J. R. KELLY, B. N. FURNAS, C. A. OVIATT y S. S. HALE. 1980. Phosphorus regeneration and the metabolism of coastal marine bottom communities. En: *Marine Benthic Dynamics*. K. R. Tenore y B. C. Coull (Ed.). Univ. S. Carolina Press. Columbia. 219-242 pp.
- OFFICER, C. B., T. J. SAYDA y R. MANN, 1982. Benthic filter feeding: a natural eutrophication control. *Mar.Ecol.Prog.Ser.*, **9**:203-210.
- OGILVIE, S. C., A. H. ROSS y D. R. SCHIEL, 2000. Phytoplankton biomass associated with mussel farms in Beatrix Bay, New Zealand. *Aquaculture*, **181** (1-2):71-80.
- OLASO, I., 1982. Ecología de los equinodermos de la Ría de Arosa. *Bol.Inst.Esp. Oceanogr.*, **7** (334):3-29.
- PAP/RAC. 1996. Approaches for zoning of coastal areas with reference to Mediterranean aquaculture. PAP-10/EAM/GL.1. Split, Croatia: iv+37 pp.
- PEARSON, T. H. y R. ROSENBERG, 1978. Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanography and Marine Biology Annual Review*, **58**:417-426.
- PÉREZ, A. y G. ROMAN, 1979. Estudio del mejillón y de su epifauna en los cultivos flotantes de la Ría de Arosa. II. Crecimiento, mortalidad y producción de mejillón. *Bol.Inst.Esp.Oceanogr.*, **V**:22-41.
- PÉREZ CAMACHO, A., R. GONZÁLEZ y J. FUENTES, 1991. Mussel culture in Galicia (N.W. Spain). *Aquaculture*, **94** (2-3):263-278.
- PÉREZ CAMACHO, A., U. LABARTA y R. BEIRAS, 1995. Growth of mussels (*Mytilus edulis galloprovincialis*) on cultivation rafts: influence of seed source, cultivation site and phytoplankton availability. *Aquaculture*, **138** (1-4):349-362.
- PERGENT-MARTINI, C., C. F. BOUDOURESQUE, V. PASQUALINI, G. PERGENT, 2006. Impact of fish farming facilities on *Posidonia oceanica* meadows: a review. *Marine Ecology*, **27**: 310-319.
- PHILIPPART, C. J. M., G. C. CADÉE, W. VAN RAAPHORST y R. RIEGMAN, 2000. Long-term phytoplankton-nutrient interactions in a shallow coastal sea: Algal community structure, nutrient budgets, and denitrification potential. *Limnol. Oceanogr.*, **45**:131-144.
- PORRELLO, S., P. TOMASETTI, L. MANZUETO, M. G. FINOIA, E. PERSIA, I. MERCATALI, P. STIPA, 2005. The influence of marine cages on the sediment chemistry in the Western Mediterranean Sea. *Aquaculture*, **249**: 145-158.
- PRINS, T. y A. C. SMAAL, 1994. The role of the blue mussel *Mytilus edulis* in the cycling of nutrients in the Oosterschelde estuary (The Netherlands). *Hydrobiologia*, **282/283**:413-429.



- PRINS, T. C., A. C. SMAAL y R. F. DAME, 1998. A review of the feedbacks between bivalve grazing and ecosystem processes. *Aquatic Ecology*, **31**:349-359.
- PRINTS, T. C. y A. C. SMAAL, 1994. The role of the blue mussel *Mytilus edulis* in the cycling of nutrients in the Oosterschelde estuary (The Netherlands). *Hydrobiologia*, **282-283** (1):413-429.
- RIEGMAN, R., A. A. M. NOORDELOOS y G. C. CADEE, 1992. Phaeocystis blooms and eutrophication of the continental coastal zones of the North Sea. *Mar.Biol.*, **122**:479-484.
- RNO, 2000. *Surveillance du Milieu Marin. Travaux du Réseau National d'Observation de la qualité du milieu marin*. Bulletin RNO IFREMER. Nantes. 32 pp.
- ROMERO, P., E. GONZÁLEZ-GURRIARÁN y E. PENAS, 1982. Influence of mussel rafts on spatial and seasonal abundance of crabs in the Ría de Arousa, North-West Spain. *Mar.Biol.*, **72**:201-210.
- ROSENTHAL, H., WESTON, D., GOWEN, R. & BLACK, E. (1988). Report of the ad hoc Study Group on «Environmental Impact of Mariculture». Cooperative Research Report No. 154, 83 pp.
- SÁNCHEZ, J. L. y A. A. RAMOS, 1994. Incidencia de los herbívoros sobre la fanerógama marina *Posidonia oceanica* en la reserva marina de Tabarca, España. *Invest. Mar.*, **9** (2):103-108.
- SARÀ, G., 2007. A meta-analysis on the ecological effects of aquaculture on the water column: Dissolved nutrients. *Marine Environmental Research*, **63**: 390-408.
- SARÀ, G., A. MANGANARO, G. CORTESE, A. PUSCEDDU y A. MAZZOLA, 1998. The relationship between food availability and growth in *Mytilus galloprovincialis* in the open sea (southern Mediterranean). *Aquaculture*, **167** (1-2):1-15.
- SILVERT, W. y J. W. SOWLES, 1996. Modelling environmental impacts of marine finfish aquaculture. *J.Appl.Ichthyol.*, **12**:75-81.
- SMAAL, A. C., A. P. M. A. VONCK y M. BAKKER, 1997. Seasonal variation in physiological energetics of *Mytilus edulis* and *Cerastoderma edule* of different size classes. *J.Mar.Biol.Assoc.U.K.*, **77**:817-838.
- STENTON-DOZEY, J. M. E., L. F. JACKSON y A. J. BUSBY, 1999. Impact of Mussel Culture on Macrobenthic Community Structure in Saldanha Bay, South Africa. *Mar.Poll.Bull.*, **39** (1-12):357-366.
- STENTON-DOZEY, J. M. E., T. PROBYN y A. BUSBY, 2001. Impact of mussel (*Mytilus galloprovincialis*) raft-culture on benthic macrofauna, in situ oxygen uptake, and nutrient fluxes in Saldanha Bay, South Afrika. *Can.J.Fish.Aquat.Sci.*, **58**:1021-1031.
- STRAIN, P. M., 2002. Nutrient dynamics in Ship Harbour, Nova Scotia. *Atmosphere-Ocean*, **40**:45-58.
- TENORE, K. R. y W. M. UNSTAN, 1973. Comparison of feeding and biodeposition of there Bivalves at Different Food Levels. *Mar.Biol.*, **21**:190-195.



- TENORE, K. R. y N. GONZÁLEZ, 1975. Food chain patterns in the Ría de Arosa, Spain: an area of intense mussel aquaculture. 10th Eur. Symp. Mar. Biol. Oostend, Belgium, Sept. 17-23 2: 601-619.
- TENORE, K. R., L. F. BOYER, R. M. CAL, J. CORRAL, C. GARCÍA-FERNÁNDEZ, N. GONZÁLEZ, E. GONZÁLEZ-GURRIARÁN, R. B. HANSON, M. KROM, E. LÓPEZ-JAMAR, J. MCCLAIN, M. M. PAMATMAT, A. PÉREZ, D. C. RHOADS, G. DESANTIAGO, J. TIETJEN, J. WESTRICH y H. L. WINDOM, 1982. Coastal upwelling in the Rías Bajas, n.w. Spain, contrasting benthic regimes of the Ría de Arosa and de Muros. *Journal of Marine Research*, **40**:701-772.
- TSUTSUMI, H., T. KIRUCHI, M. TANAKA, T. HIGASHI y K. IMASAKA, 1991. Benthic faunal succession in a cove organically polluted by fish farming. *Mar. Pollut. Bul.*, **23**:233-238.
- VALLE, C., J. T. BAYLE-SEMPERE, T. DEMPSTER, P. SÁNCHEZ-JEREZ, F. GIMÉNEZ-CASALDUERO, 2007. Temporal variability of wild fish assemblages associated with a sea-cage fish farm in the south-western Mediterranean Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **72**: 299-307.
- VAN ERKOM SCHURINK, C. y C. L. GRIFFITHS, 1993. Factors affecting relative rates of growth in four South African mussel species. *Aquaculture*, **109** (3-4):257-273.
- VERNEAU, N., B. A. THOMASSIN y D. VIALE, 1995. Modifications de l'herbier de Posidonies et des populations des poissons dans l'ombre portée sur le fond par des radeaux aquacoles installés dans le golfe d'Ajaccio (Corse-du-Sud, Méditerranée nord-occidentale). *J. Rech. Océanogr.*, **20** (1-2):33-41.
- VERGARA MARTÍN, J. M., R. J. HAROUN, M. N. GONZÁLEZ, 2005. Evaluación de Impacto Ambiental de Acuicultura en Jaulas en Canarias. Oceanográfica, Telde. ISBN:84-609-4073-: 1-110.
- WESTON, D. P., 1990. Quantitative examination of macrobenthic community changes along an organic enrichment gradient. *Mar.Ecol.Prog.Ser.*, **61**:233-244.
- Wgmasc, 2003. *Working Group on Marine Shellfish Culture*. ICES CM 2003/F:05. Trondheim, Norway. 50 pp.
- WU, R. S. S., K. S. LAM, D. W. MACKAY, T. C. LAU y V. YAM, 1994. Impact of marine fish farming on water quality and bottom sediment: a case study of the sub-tropical environment. *Marine Environmental Research*, **38**:115-145.
- WU, R. S. S., 1995. The environmental impact of marine fish culture: towards a sustainable future. *Mar.Poll.Bull.*, **31** (4-12):159-166.



MINISTERIO
DE MEDIO AMBIENTE
Y MEDIO RURAL Y MARINO



FUNDACIÓN
OESA
OBSERVATORIO ESPAÑOL DE ACUICULTURA



MINISTERIO
DE CIENCIA
E INNOVACIÓN



CSIC