

DESARROLLO DE LAS TÉCNICAS DE PRODUCCIÓN DE CRÍAS DE BOCINEGRO (*PAGRUS PAGRUS*) EN CANARIAS

T. Benítez-Santana

R. Masuda

A. Valencia

M.S. Izquierdo

La incorporación de nuevas especies de peces marinos a la acuicultura, es un reto para el futuro desarrollo de esta actividad. Los avances realizados en el establecimiento de las técnicas de cultivo de bocinegro (pargo, *Pagrus pagrus*), permiten considerarlo como una especie con un fuerte potencial para la acuicultura siendo previsible que su cultivo experimente un impulso importante en el archipiélago canario. Sin embargo, las investigaciones han permitido identificar varios problemas que deben solventarse antes de que el bocinegro pueda cultivarse comercialmente, siendo una de las necesidades más acuciantes la de completar las técnicas de producción de larvas y alevines, y estudiar detenidamente la alimentación a suministrar durante todo el ciclo larvario. Por ello, el trabajo que se presenta tiene como objetivo principal tratar de optimizar las técnicas de producción de larvas y alevines de bocinegro en las condiciones ambientales del archipiélago canario. Esto se realizará a partir de una técnica japonesa muy novedosa, para establecer según el comportamiento larvario, las pautas de alimentación a seguir para completar el ciclo larvario del bocinegro. El comportamiento obtenido se comparará con el de la dorada, ya que es una de las especies más estudiadas debido a la importancia adquirida en la acuicultura europea de los últimos años. Con todo esto, se construirá un criterio de calidad de la dieta a partir de las pautas de comportamiento establecidas.

*The incorporation of new marine species in aquaculture is essential for the development of this activity. The recent advances on the establishment of techniques to produce red porgy (*Pagrus pagrus*), allow us to consider it a strong potential to aquaculture, being predictable its implement in the Canary Archipel. Nevertheless, it has been not possible so far to produce it commercially, due to difficulties in assuring a continual supply of larvae and fry. Knowing this, it is crucial to continue studying the production techniques of larvae and the feeding system during this period. The aim of the work is then to optimize production techniques of larvae and fry of the red porgy according to the environmental conditions of the Canary Archipel. The work is based on a novel japanese technique, which intends to establish the feeding system in accordance with larvae behaviour, as to complete the larval cycle of *Pagrus pagrus*. The observed behaviour will be compared with the seabream one (*Sparus aurata*), one of the most studied species due to its importance in European aquaculture in the past years. In the light of these analyses a quality diet criteria based on the padrons of larval behaviour will be established.*

PRESENTACIÓN

Los avances realizados en el establecimiento de las técnicas de cultivo de bocinegro (pargo, *Pagrus pagrus*), permiten considerarlo como una especie con un fuerte potencial para la Acuicultura, siendo previsible que su cultivo experi-

mente un impulso importante tanto en áreas del Mediterráneo, como en zonas templadas del Atlántico, incluyendo el archipiélago canario, ya que esta especie constituye un plato fundamental en la gastronomía típica de las Islas. Sin embargo, las investigaciones han permitido identificar varios problemas que deben resolverse

antes de que el bocinegro pueda cultivarse comercialmente, siendo una de las necesidades más acuciantes la de completar las técnicas de producción de larvas y alevines.

INTRODUCCIÓN

Importancia del cultivo larvario en el desarrollo de la acuicultura

Hoy en día, la producción larvaria y la obtención de alevines de buena calidad, siguen representando el cuello de botella para el desarrollo de la acuicultura, sobre todo en ciertas especies marinas como el bocinegro. Esto es debido a que las larvas de peces marinos no están completamente desarrolladas cuando eclosionan. Sus tejidos y órganos, así como el sistema nervioso, no están del todo formados y experimentan importantes cambios de tipo morfológico, funcional y fisiológico durante la maduración. Por esta razón, durante estas primeras etapas de desarrollo de estos organismos, se necesitará un manejo más delicado. Una solución a este inconveniente, sería optimizar las condiciones de manejo de las diferentes especies marinas que actualmente se cultivan.

Dentro de este contexto, son muy importantes los estudios referentes a la nutrición y selección genética de reproductores, requerimientos nutricionales de las larvas, mejora de las técnicas de cultivo, estudios patológicos,... Pero todavía existen diferentes áreas de estudio que no han sido prácticamente abordadas, como el estudio del comportamiento de larvas y alevines. El estudio del comportamiento de las larvas a lo largo de su desarrollo permitiría establecer los momentos de aparición de determinadas pautas típicas en animales sanos. Posibles desviaciones en el tipo de comportamiento o retrasos en la aparición de esas pautas, constituirían indicadores del estado de desarrollo, madurez y salud del animal. Así, estos es-

tudios se revelan como excelentes indicadores del estado de bienestar de las larvas, y por lo tanto, del éxito del cultivo larvario. La llave del desarrollo del comportamiento de escuelas (formación de cardúmenes) implica en mayor medida al sistema nervioso central que a los órganos sensoriales y de natación (Masuda y Tsukamoto, 1998). El DHA (Ácido docosahexaenoico) en la dieta influye en el desarrollo del comportamiento de escuelas y cerebro en larvas de seriola (*Seriola quinqueradiata*) (Ishizaki, 2001). Determinados autores, trabajando con larvas de dorada, como con otras especies de peces marinos, han demostrado que al aumentar el porcentaje de n-3 HUFA tanto en alimento vivo como en microdietas, se obtienen larvas con un mejor crecimiento y una supervivencia más alta (Salhi, 1997; Sargent *et al.*, 1999). También se ha descrito que cuando se suministran rotíferos o microdietas deficientes en n-3 HUFA se produce además una mayor sensibilidad al estrés para algunas especies

El estudio del comportamiento de las larvas a lo largo de su desarrollo permitiría establecer los momentos de aparición de determinadas pautas típicas en animales sanos



Bocinegro (*Pagrus pagrus*)

marinas (Izquierdo, 1996). La composición de ácidos grasos de los tejidos como ojo y cerebro se muestra como un claro reflejo de la dieta de la larva, así, Navarro *et al.* (1993) señalan que la cantidad de DHA en los ácidos grasos de la fosfatidiletanolamida de los ojos es particularmente susceptible a la deficiencia de los mismos en la dieta. La importancia de altos niveles de DHA para el correcto desarrollo neural en larvas ha sido demostrada.

El DHA en la dieta influye en el desarrollo del comportamiento de escuelas y cerebro en larvas

Este trabajo tiene como objetivo principal establecer el momento de aparición de ciertas respuestas del comportamiento a lo largo de los primeros días de vida del bocinegro, determinar el efecto de la alimentación con diferentes tipos de fuentes lipídicas y distintos niveles de DHA sobre dichas pautas y construir un criterio de calidad de la dieta a partir de las pautas de comportamiento establecidas. El comportamiento obtenido se comparará con el de la dorada, que es una de las especies más estudiadas debido a la importancia en la acuicultura mediterránea de los últimos años.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en el Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM). Los huevos de dorada utilizados procedían del "stock" de reproductores existente en la propia planta de cultivos del ICCM, mientras que los huevos de bocinegro procedían de un "stock" de reproductores de la planta de cultivos del Centro de Maricultura de Calheta (Madeira). Estos fueron distribuidos en dieciséis tanques de fibra de vidrio de 170 l de capacidad (100 huevos/l). Las larvas de bocinegro y dorada fueron alimentadas con rotíferos enriquecidos con aceite de pescado (FO), aceite de soja (SBO), aceite de lino (LSO) y aceite de colza (RSO).

Al día 10 de experimentación, un tanque de cada dieta de dorada fue sacrificado para realizar análisis del contenido total de lípidos y de la composición de ácidos grasos. Al final del periodo experimental, 100 larvas de dorada fueron separadas para la extracción de cerebro y ojos, y el resto de larvas supervivientes se guardaron en bolsas de plástico a -80°C para realizar análisis bioquímicos.

La velocidad de natación en larvas de bocinegro fue medida los días 9, 10, 12 y 13 de vida, y en dorada los días 6, 10, 16 y 19. Se utilizó un vaso precipitado de 500 ml con agua de

mar cubierto por una funda negra. Las larvas fueron grabadas con una cámara de video digital Sony DCR-TRV27. Después de 90 s de grabación, se suministró un estímulo (sonoro o visual) (Masuda *et al.*, 2002). Se utilizaron 5 larvas de cada replicado. Se realizó un análisis de imagen para calcular la velocidad de crucero y la velocidad de huída.

Los datos fueron analizados estadísticamente con el programa STATGRAPHICS PLUS para Windows 3.1 (Statistical Graphics Corp., Englewood Cliffs, NJ, USA) usando un análisis de una sóla vía (ANOVA) y Duncan ($P < 0.05$) para una comparación de medias.

RESULTADOS

Composición de ácidos grasos obtenida en las muestras de dorada

En el presente apartado se hace una valoración comparada de la composición lipídica que presentan los rotíferos cuando son enriquecidos con aceites que contienen distintos porcentajes de n-3 HUFA. En la tabla I se presentan los resultados de los análisis lipídicos para la determinación de los lípidos totales y ácidos grasos de los aceites y presas utilizados en el experimento.

Examinando los ácidos grasos de los aceites enriquecedores cabe destacar algunas diferencias importantes. El aceite de pescado posee un 17.11% de n-3 HUFA, de los cuales el EPA (20:5n-3) tiene una representación ligeramente superior al DHA (22:6n-3), siendo la relación entre ambas de 1.04/1. El contenido en ácidos grasos saturados es elevado, sobre todo en el ácido palmítico (16:0), 13.22%. También es bastante alto el contenido en ácidos monoenoicos, principalmente en 22:1n-11 con un 16.63%. El aceite de soja se caracteriza por presentar una mayor cantidad en ácidos grasos de la familia n-6, 52.77%. También es rico en ácido oleico (18:1n-9) con un porcentaje de

Ácidos Grasos	ACEITE FO	ACEITE SBO	ACEITE LSO	ACEITE RSO	Rot. FO	Rot. SBO	Rot. LSO	Rot. RSO
14:0	0,28	0.51	0,07	0,02	6,98	1,45	0,06	1,38
14:1	0,34	0.01	n.d.	n.d.	1,10	0,99	0,01	0,53
15:0	0,08	0.18	n.d.	n.d.	0,74	0,28	0,03	0,31
16:0	13,23	14.86	6,95	4,88	18,99	8,99	5,39	10,89
16:1n-7	7,61	0.31	n.d.	0,46	30,62	9,57	0,12	15,49
16:1n-5	0,12	0.04	n.d.	n.d.	0,79	0,36	0,01	0,03
17:0	0,48	0.08	n.d.	n.d.	1,44	0,67	0,04	0,15
16:4n-4	0,45	0.11	n.d.	n.d.	0,33	0,69	0,01	0,57
18:0	1,46	2.96	0,97	1,31	0,98	0,86	2,85	0,71
18:1 (n-9+ n-7)	12,53	15.12	3,21	63,37	31,10	24,23	19,64	71,86
18:2n-6	1,56	27.43	14,80	20,72	20,30	35,42	14,89	33,52
18:3n-3	0,88	2.73	53,67	n.d.	3,52	3,76	56,42	9,51
18:4n-3	2,29	n.d.	n.d.	8,03	3,33	0,13	n.d.	0,04
18:4n-1	0,15	0.04	n.d.	n.d.	0,26	0,11	n.d.	n.d.
20:0	0,13	0.18	n.d.	n.d.	0,18	0,13	0,05	0,28
20:1n-9	12,92	1.55	0,15	1,17	10,25	1,70	0,14	3,68
20:1n-7	n.d.	0.05	0,23	n.d.	n,d	0,43	n.d.	n.d.
20:2n-9	0,20	n.d.	n.d.	n.d.	0,65	0,25	n.d.	0,11
20:2n-6	n.d.	0.11	n.d.	n.d.	0,52	0,74	n.d.	0,36
20:3n-6	0,09	n.d.	n.d.	n.d.	0,13	0,15	n.d.	0,07
20:4n-6	0,02	0.31	0,01	n.d.	0,69	0,61	0,01	0,11
20:3n-3	0,15	0,2	n.d.	n.d.	0,15	0,09	0,02	0,13
20:4n-3	0,43	0.05	n.d.	n.d.	1,16	0,15	0,02	0,19
20:5n-3	8,12	4.42	n.d.	n.d.	13,47	0,90	0,02	0,36
22:1n-11	16,63	0.25	n.d.	0,01	11,25	0,70	0,02	1,62
22:3n-6	0,28	0.06	n.d.	n.d.	0,45	0,35	0,01	0,07
22:4n-6	0,02	0.06	n.d.	n.d.	0,07	0,29	n.d.	n.d.
22:5n-6	0,11	n.d.	n.d.	n.d.	0,16	0,01	n.d.	n.d.
22:4n-3	0,05	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,10
22:5n-3	0,45	0.12	n.d.	n.d.	0,86	0,29	0,02	0,08
22:6n-3	7,91	0.12	n.d.	n.d.	11,19	2,16	0,04	0,31
Saturados	21,79	19.02	8,20	6,20	21,02	12,49	8,44	13,76
Monoinsaturados	53,98	17.90	3,59	65,01	59,15	37,78	20,05	93,18
n-3	20,28	34.66	53,67	8,03	17,81	10,17	56,53	13,77
n-6	2,34	27.97	14,81	20,72	0,48	37,63	14,91	34,14
n-9	25,74	16.70	23,10	64,54	29,84	26,49	19,89	76,27
n-3HUFA	17,11	16.81	n.d.	n.d.	17,81	3,59	0,11	1,17
AA/EPA	n.d.	14.09	n.d.	n.d.	0,05	0,68	0,55	0,32
EPA/DHA	1,03	2.72	n.d.	n.d.	1,20	0,42	0,48	1,13
n-3 HUFA % peso seco					15.77	3.18	0.10	1.04

n.d. < 0.005

Tabla I. Principales ácidos grasos encontrados en las muestras

26.91. El aceite de lino posee una mayor proporción de ácidos grasos de la familia n-3, sobre todo linolénico (18:3n-3) con un 53.68%. Por otro lado, el aceite de colza se caracteriza por mostrar una proporción alta en ácidos grasos de la familia n-9, sobre todo en ácido oleico (63.37%), y también en monoenoicos. La cantidad de n-3 HUFA presente en los aceites vegetales es inapreciable.

Reconociendo las muestras de rotíferos enriquecidos con los distintos aceites, se puede comprobar que los ácidos grasos presentes en los aceites, comentados anteriormente, están presentes en éstos. Hay que señalar que en la muestra de rotíferos enriquecidos con aceite de pescado, la relación EPA/DHA es mayor a la del aceite de pescado. Esta relación es de 1.2/1. Para el

Ácidos Grasos	L3d	FO 10d	SBO 10d	LSO 10d	RSO 10d	FO 20d	SBO 20d	LSO 20d	RSO 20d
14:0	2,56	1,41	1,09	1,17	0,91	1,82	0,86	0,48	0,52
14:1	0,08	0,86	0,35	0,38	0,27	0,48	0,49	0,02	0,33
15:0	0,30	0,15	0,40	0,44	0,51	0,81	0,60	0,09	0,13
16:0iso	0,43	0,46	0,38	0,41	0,34	0,36	0,26	0,11	0,19
16:0	20,50	10,32	13,44	14,45	16,27	17,72	15,15	7,09	10,40
16:1n-7	6,54	9,39	5,84	6,28	5,72	11,27	1,20	4,91	5,90
16:1n-5	0,08	0,46	0,36	0,39	0,31	0,69	4,32	0,48	0,17
16:2	0,48	0,95	0,57	0,61	0,70	1,36	0,78	0,52	0,72
17:0	0,38	0,53	0,65	0,67	0,66	1,21	0,32	0,17	0,74
16:4n4	n.d.	0,06	n.d.	0,18	0,42	0,89	0,33	0,20	0,31
16:4n-3	0,18	4,49	0,04	7,74	0,22	12,20	0,51	4,40	0,06
18:0	4,91	0,87	7,20	0,92	9,70	0,84	0,56	0,47	5,28
18:1(n-9+ n-7)	19,57	14,23	7,41	14,98	32,18	3,53	20,17	28,21	39,87
18:1n-5	0,29	0,99	n.d.	0,70	n.d.	0,32	0,33	0,07	n.d.
18:2n-9	0,20	n.d.	0,65	n.d.	n.d.	0,32	0,78	0,19	0,13
18:2n-6	7,88	8,56	20,37	0,10	14,66	0,15	28,73	14,40	16,56
18:3n-9	0,07	0,10	20,37	n.d.	n.d.	0,17	0,42	n.d.	n.d.
18:3n-6	0,19	0,12	1,01	1,08	n.d.	1,13	0,51	0,31	n.d.
18:4n-6	n.d.	1,39	0,51	n.d.	n.d.	0,21	n.d.	n.d.	n.d.
18:3n-3	0,13	0,06	n.d.	21,90	1,80	0,66	2,14	23,85	2,93
18:4n-3	1,39	0,51	0,09	0,07	n.d.	0,12	0,24	0,35	0,12
18:4n-1	0,43	0,05	0,12	n.d.	n.d.	0,14	0,28	n.d.	n.d.
20:0	0,15	0,10	0,06	0,21	0,09	0,26	0,37	0,13	0,35
20:1n-9	1,24	2,64	0,20	2,01	2,71	3,07	1,05	1,09	1,68
20:2n-9	0,06	0,43	n.d.	0,26	0,27	0,41	n.d.	0,10	0,29
20:2n-6	n.d.	0,63	0,24	1,01	0,28	0,85	1,11	0,56	1,18
20:3n-6	n.d.	0,19	0,93	0,24	0,16	0,21	0,56	0,11	0,43
20:4n-6	1,10	1,80	0,12	1,40	0,09	1,49	1,18	0,49	1,40
20:3n-3	0,10	0,12	1,31	0,14	1,14	0,11	0,28	1,36	0,33
20:4n-3	0,43	0,71	0,13	0,24	0,19	1,08	0,23	0,34	0,07
20:5n-3	4,59	6,73	0,22	2,20	2,25	9,12	1,67	1,51	1,91
22:1n-11	0,29	1,48	0,71	0,76	0,12	0,81	0,37	0,22	0,47
22:1n-9	0,11	n.d.	0,30	0,32	n.d.	0,66	0,20	0,34	n.d.
22:1n-7	n.d.	n.d.	0,24	0,26	n.d.	0,44	n.d.	0,22	n.d.
22:3n-6	0,13	0,18	0,05	0,05	0,21	0,72	0,38	0,02	0,06
22:4n-6	0,08	0,13	0,15	n.d.	n.d.	0,15	0,22	n.d.	n.d.
22:5n-6	0,19	0,30	0,21	0,23	n.d.	0,29	0,44	0,14	n.d.
22:4n-3	0,04	n.d.	0,03	n.d.	0,22	0,13	0,21	0,22	0,24
22:5n-3	1,57	1,26	0,47	0,51	0,10	1,88	0,37	0,19	0,23
22:6n-3	23,15	18,38	9,88	10,63	7,50	21,92	6,99	6,66	7,06
Saturados	29,23	13,85	17,02	18,28	28,49	23,02	18,78	8,53	17,60
Monoinsaturados	28,30	38,54	16,51	32,74	41,00	20,58	28,54	35,08	48,24
n-3	31,58	32,27	20,19	21,62	13,42	47,23	12,65	38,88	12,93
n-6	9,57	13,30	23,64	25,93	15,40	5,19	33,13	16,03	19,62
n-9	21,25	17,41	30,32	17,57	35,16	6,05	22,62	23,56	41,97
n-3HUFA	29,88	27,21	12,78	13,71	11,39	34,25	9,76	10,28	9,83
AA/EPA	0,24	0,27	0,64	0,64	0,04	0,16	0,70	0,32	0,73
EPA/DHA	0,20	0,37	0,21	0,21	0,30	0,42	0,24	0,23	0,27
Lípidos totales									
% Peso seco	14±0.0a	17±0.0a	15.30±0.0a	16.58±0.0a	12.21±0.0a	19.17±0.0a	16.42±0.0a	20.75±0.0a	17.96±0.0a

n.d. ≤ 0.005

Tabla II. Ácidos grasos presentes en lípidos totales de larvas de 72 horas (Ld3), larvas de 10 y 20 días de dorada alimentadas con las diferentes dietas

Ácidos Grasos	CER FO	CER SBO	CER LSO	CER RSO	OJO FO	OJO SBO	OJO LSO	OJO RSO
12:0	5,37	9,12	6,41	9,01	4,29	3,95	6,08	7,13
14:0	3,47	6,25	4,24	4,75	3,21	3,42	3,47	2,71
14:01	1,57	2,42	0,95	n.d.	1,67	0,60	1,73	2,71
15:0	0,74	1,17	0,88	1,68	1,61	1,06	0,50	0,89
16:0iso	2,02	3,97	2,56	2,56	2,68	0,47	0,30	2,59
16:0	17,07	18,10	17,24	20,06	19,50	2,03	16,72	18,40
16:1 n-7	7,01	4,09	3,14	5,94	5,93	19,43	3,45	3,76
16:1n-5	n.d.	2,25	2,33	2,42	2,53	0,13	1,71	0,57
16:02	n.d.	0,54	n.d.	n.d.	n.d.	0,26	n.d.	n.d.
17:0	n.d.	0,49	0,40	n.d.	n.d.	0,19	0,46	0,30
16:4n4	n.d.	0,86	n.d.	n.d.	n.d.	0,71	n.d.	1,49
16:4 n-3	0,66	n.d.	0,35	n.d.	n.d.	0,72	0,30	0,00
18:0	10,35	8,30	13,66	9,84	9,27	10,52	10,63	9,99
18:1 n-9	13,73	15,54	21,18	17,24	15,81	27,59	19,94	15,98
18:1 n-7	3,79	2,05	2,62	2,35	2,47	1,55	2,46	2,48
18:1 n-5	n.d.	n.d.	0,35	n.d.	n.d.	0,17	11,70	0,91
18:2n-9	0,84	n.d.	0,42	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,61
18:2 n-6	7,34	10,94	7,56	13,95	12,29	20,16	3,27	10,90
18:3 n-9	n.d.	0,47	n.d.	n.d.	n.d.	0,94	n.d.	2,32
18: 3n-6	n.d.	n.d.	0,43	n.d.	n.d.	0,23	n.d.	0,47
18: 4 n-6	1,47	1,45	n.d.	1,26	1,91	0,13	n.d.	1,67
18:3 n-3	n.d.	0,70	3,48	n.d.	n.d.	0,47	0,85	0,56
18:4 n-3	0,66	n.d.	1,04	1,37	1,38	0,98	1,67	2,23
18:4 n-1	n.d.	1,27	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,33	n.d.
20:0	n.d.	n.d.	0,84	n.d.	0,91	0,69	0,94	0,82
20:1 n-9	1,58	0,63	0,83	1,26	0,95	0,67	0,52	1,46
20: 1n-7	n.d.	0,81	0,41	n.d.	n.d.	0,24	0,37	0,30
20: 2n-9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,27	n.d.	n.d.
20:2 n-6	n.d.	n.d.	0,36	n.d.	n.d.	0,16	n.d.	1,28
20:3 n-6	n.d.	n.d.	0,62	n.d.	n.d.	0,45	n.d.	0,17
20:4 n-6	0,99	0,70	0,27	1,08	n.d.	0,17	0,63	0,82
20: 3n-3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,29	0,84	n.d.
20:4 n-3	0,87	0,74	1,24	n.d.	n.d.	0,49	0,84	1,00
20:5 n-3	5,95	1,45	0,49	1,28	2,78	0,34	1,23	0,89
22:1 n-11	n.d.	n.d.	0,42	n.d.	n.d.	n.d.	0,54	1,04
22:5 n-6	0,66	n.d.	n.d.	n.d.	1,38	n.d.	n.d.	n.d.
22:4n-3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,03	n.d.
22:5 n-3	1,65	n.d.	0,61	n.d.	n.d.	0,20	1,05	0,51
22:6 n-3	12,21	5,69	4,66	3,97	9,42	0,34	4,81	3,04
Saturados	39,02	47,39	46,24	47,89	41,49	22,32	39,10	42,82
Monoinsaturados	27,68	25,55	29,91	26,79	26,83	50,25	41,37	28,66
n-3	22,01	8,58	11,87	6,62	13,58	3,82	12,60	8,23
n-6	10,46	13,09	9,23	16,29	15,57	21,30	3,90	15,30
n-9	16,14	16,64	22,43	18,50	16,76	29,47	21,12	20,38
n-3HUFA	20,68	7,88	6,99	5,25	12,20	1,65	9,79	5,44
EPA/DHA	0,49	0,25	0,10	0,32	0,30	1,00	0,25	0,29

Tabla III. Ácidos grasos presentes en lípidos totales de cerebro y ojos de larvas de dorada de 20 días alimentadas con las diferentes dietas

Comportamiento

1.- Dorada

a) Estímulo Sonoro

La figura 1 muestra el efecto de la alimentación sobre la velocidad de crucero (mm/s) adquirida por las diferentes larvas. En el día 19 se obtuvieron diferencias significativas entre las dietas, siendo las larvas alimentadas con rotíferos ricos en FO las que obtuvieron una mayor velocidad de crucero.

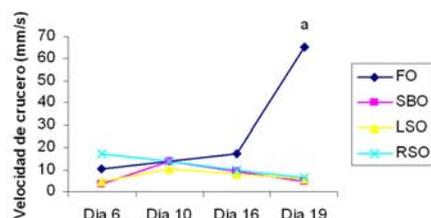


Figura 1. Desarrollo temporal de la velocidad de crucero (mm/s) en condiciones de aislamiento luminoso y previa al estímulo sonoro

La figura 2, muestra el efecto de la alimentación sobre la velocidad de huida (mm/s) conseguida por las diferentes larvas. Como se puede observar, no se encontraron diferencias significativas entre dietas a lo largo del estudio.

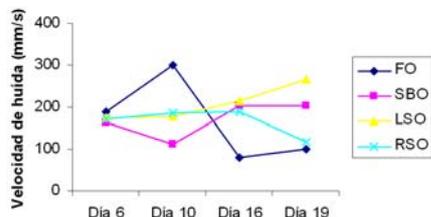


Figura 2. Desarrollo temporal de la velocidad de huida (mm/s)

b) Estímulo Visual

En la figura 3 se puede observar el desarrollo temporal de la velocidad de crucero en mm/s obtenida por las diferentes larvas. Se observaron diferencias significativas entre las dietas a partir del día 16 siendo las larvas alimentadas con rotíferos ricos en FO las que pre-

sentaron mayores resultados.

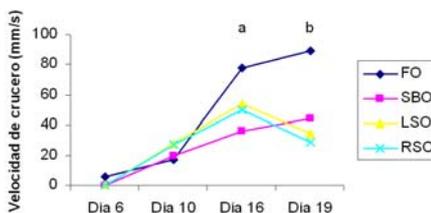


Figura 3. Desarrollo temporal de la velocidad de crucero (mm/s) en condiciones de aislamiento luminoso y previa al estímulo visual

Con respecto a la velocidad de huida (figura 4), en el día 16 las larvas mantenidas con rotíferos enriquecidos con FO y SBO mostraron diferencias significativas con el resto de las dietas, siendo las alimentadas con rotíferos enriquecidos con FO las que obtuvieron un mayor resultado. Por otro lado, en el día 19 indicaron diferencias significativas y resultados mayores, las larvas alimentadas con rotíferos enriquecidos con FO y LSO.

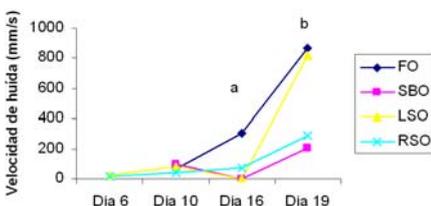


Figura 4. Desarrollo temporal de la velocidad de huida (mm/s)

2. Bocinegro

a) Estímulo Sonoro

La velocidad de crucero (figura 5) y la velocidad de huida (figura 6) obtenida por las larvas, no mostraron diferencias significativas durante los días de experimentación.

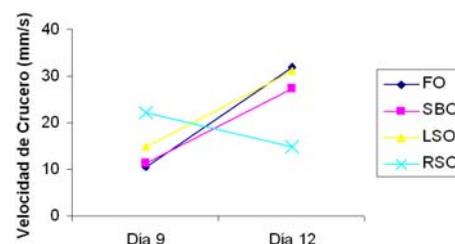


Figura 5. Desarrollo temporal de la velocidad de crucero (mm/s) en condiciones de aislamiento luminoso y previa al estímulo sonoro

grasos de esta especie. Muchos de los requerimientos son apreciados en la literatura cuando el contenido de EPA es 2 o 3 veces superior al de DHA (Rodríguez *et al.*, 1994, 1997), debido a la gran incorporación de EPA en los lípidos polares y el reemplazo de DHA de ciertos lípidos polares (Izquierdo *et al.*, 2000).

La composición de ácidos grasos registrada en las muestras de cerebro y ojo, revela que existe una retención del grupo n-3 HUFA y en especial del DHA, incluso en las larvas que han sido alimentadas con dietas deficientes en estos ácidos grasos de gran interés. Estos resultados demuestran la importancia que tiene este ácido graso para el desarrollo del cerebro y ojo. En ambas muestras, se observan variaciones en los niveles de n-3 HUFA según la cantidad de ácidos grasos monoenoicos presentes. Trabajos como los de Mourente y Tocher, (1993a) y Mourente y Tocher (1993b) revelan que el cerebro de los peces contiene largas cadenas de DHA. Bell *et al.*, 1995 trabajando con larvas de arenque (*Cuplea harengus*) criadas con dietas pobres en DHA, detectaron que las funciones de los bastones no se desarrollaban con normalidad y como consecuencia, aconteció un deterioramiento en el desarrollo visual. Como resultado, estos peces sufrieron una disminución en la eficiencia de captura de presas en condiciones de intensidades de luz baja. Por lo que dietas pobres en DHA impiden el correcto desarrollo de la retina. Como las larvas de los peces son predadores visuales, el comportamiento trófico de las larvas está íntimamente relacionado con el desarrollo de la habilidad visual (Izquierdo, en prensa). En espáridos, como en la dorada y besugo (Roo *et al.*, 1999) los cambios más importantes en la estructura ocular del ojo ocurren a lo largo del estado lecitotrófico así como la preparación para capturar presas. Los fotorreceptores de los bastones necesarios para una correcta visión en intensidades de luz baja

aparecen en dorada sobre el día 18 de vida. Esto concuerda con el marcado incremento en la velocidad de huída ante el estímulo luminoso y en la velocidad de crucero después del día 16 de vida de larvas de dorada en el presente estudio. Dentro de los n-3 HUFA, el DHA juega un papel crítico en las funciones del tejido neural y retinal. Es más, aumentos en el contenido de DHA y EPA, incrementan el diámetro del ojo en dorada (Izquierdo *et al.*, 2000; Roo *et al.*, en prensa) y este hecho, junto con la alta densidad de conos fotorreceptores en estas larvas, implica un alto número de conos y una mejora potencial de la visión (Roo *et al.*, en prensa). Esto explicaría la mayor velocidad de huída frente al estímulo luminoso de las larvas de dorada y bocinero alimentadas con rotíferos ricos en FO, aunque con valores absolutos inferiores para larvas de bocinero. Esta consecuencia también se ha encontrado en otras especies de peces. Masuda *et al.*, 1999 trabajando con seriola (*Seriola quinqueradiara*) alimentada bajo condiciones nutricionales deficientes en DHA, hallaron una incapacidad en el sentido de la visión.

Comparando los resultados de la velocidad de crucero obtenidos por las larvas de dorada alimentadas con aceites vegetales entre el estímulo sonoro y el estímulo visual, se observa que la velocidad de crucero aparece antes en el estímulo sonoro. Sin embargo, los resultados conseguidos en la velocidad de huída revelan que la reacción ante el estímulo aparece en el mismo día, apreciando en este día resultados superiores en el estímulo sonoro, excepto para las larvas alimentadas con rotíferos ricos en aceite de soja.

La velocidad de crucero obtenida en el estímulo sonoro aparece muy temprano en las larvas de dorada alimentadas con rotíferos enriquecidos con aceite de pescado. En estas larvas se observa en el día 16 un cambio en la velocidad de crucero. El

La composición de ácidos grasos registrada en las muestras de cerebro y ojo, revela que existe una retención del grupo n-3 HUFA y en especial del DHA

momento en el que se produce este cambio de la velocidad puede ser debido a un mayor desarrollo del cerebro y de la línea lateral. No obstante, la velocidad de crucero obtenida en el estímulo visual en el día 16 es diferente a la lograda en el estímulo sonoro, ya que las larvas ven lo que hay alrededor. El incremento que se produce en la velocidad es debido al desarrollo de los conos y bastones (Roo, 1999). Sin embargo, en las larvas alimentadas con rotíferos ricos en aceites vegetales, se produce un cambio de la velocidad de crucero conseguida en el estímulo visual a partir del día 16. Esto es debido a que existe un retraso en la formación de los conos y bastones o del diámetro del ojo (Roo, 1999). La aparición de la velocidad de crucero obtenida en el estímulo sonoro por las larvas alimentadas con rotíferos ricos en aceite de pescado presenta similitudes con otra especie, la caballa (*Scomber japonicus*) (Masuda *et al.*, 2002), pero con valores absolutos inferiores. Lo mismo ocurre con la velocidad de huída. El momento en el cual se empieza a detectar respuesta ante el estímulo es muy similar pero los resultados son totalmente opuestos, ya que en caballa van incrementándose a lo largo de todo el experimento.

Comparado los resultados de la velocidad de crucero obtenida por las larvas de dorada y bocinegro en condiciones del estímulo sonoro, se puede observar que ambas parten con velocidades muy similares al inicio del experimento, exceptuando las larvas alimentadas con rotíferos enriquecidos con aceite de colza, que presenta valores absolutos superiores en larvas de bocinegro. Sin embargo, en el día 12 de estudio los resultados son diferentes ya que las larvas de bocinegro presentan una mayor velocidad. Este hecho podría estar relacionado con un temprano desarrollo del cerebro y de la línea lateral, comparado con el de dorada. En el estímulo visual, los resultados obtenidos por las larvas de

bocinegro alimentados con rotíferos ricos en aceite de pescado y lino en el día 10 son muy parecidos a los logrados por la dorada. Sin embargo, las velocidades de crucero del día 13 conseguidas por las larvas de bocinegro son muy inferiores a las conseguidas por la dorada. Esto puede estar relacionado con un retraso en la formación de conos y bastones o del diámetro del ojo (Roo, 1999).

La velocidad de huída lograda por las larvas de dorada alimentadas con rotíferos ricos en aceite de pescado a partir del día 16 en el estímulo visual, indica un desarrollo del cerebro y ojo. Hay que destacar la velocidad de huída obtenida por estas larvas alimentadas con rotíferos enriquecidos con aceite de lino en el día 19 en el estímulo visual. Estos resultados indican que existe una mayor reacción en condiciones estresantes (Montero *et al.*, 2003). Los resultados de velocidad de huída de este estudio señalan que cuando se estudian las larvas bajo las condiciones de preparación del estímulo sonoro, y el vaso de experimentación está cubierto con una funda negra que impide la interferencia con estímulos de tipo visual, la reacción de huída de las larvas es menor que frente a un estímulo visual. Así, en las larvas de dorada y bocinegro alimentadas con rotíferos enriquecidos con aceite de pescado, las velocidades obtenidas en el estímulo visual son superiores a las logradas en el estímulo sonoro. Estos resultados confirman la importancia de la visión durante este periodo del desarrollo no sólo para la prelación sino también para la huída. Este mismo hecho se observa en el experimento de larvas de bocinegro. Se podría suponer que la tendencia sería la misma y corroborar la importancia de la visión.

Sin embargo la reducción en el contenido dietético de ácidos grasos esenciales, por el enriquecimiento con aceites vegetales, retra-

sa la aparición del estímulo visual, lo cual sugiere un retraso en el desarrollo funcional del cerebro y la visión y estaría de acuerdo con el menor contenido de DHA en los ojos y cerebros de estas larvas. Además, las larvas que son alimentadas con rotíferos enriquecidos con aceite de pescado, con niveles de n-3 HUFAs adecuados para cubrir sus requerimientos para el desarrollo del cerebro, presentan una mayor velocidad de crucero que las larvas donde los requerimientos y en especial el DHA, no han sido cubiertos. Estos resultados concuerdan con los cambios anatómicos de los componentes del cerebro de *seriola* encontrados por Ogawa (1967), y en los que el desarrollo notable del cerebelo coincide con la mejora de los cambios de natación, demostrándose una íntima relación entre las modificaciones del comportamiento y los cambios morfológicos de algunos componentes del cerebro. Así, el presente estudio demuestra como al no suministrarse las cantidades idóneas de DHA para que se desarrolle el cerebro con toda normalidad, la natación de esta especie, el movimiento natural de la larva, y su velocidad de crucero se verán afectadas. Esto va a tener consecuencias tróficas, puesto que variaciones en el comportamiento como es la velocidad de natación, van a repercutir en la estrategia de captura de presas. Con lo que larvas "más lentas" van a presentar menores capturas y menores tasas de crecimiento, sin perjuicio de que las muchas otras funciones que los ácidos grasos esenciales realizan para el correcto crecimiento de la larva se vean también afectadas.

En cuanto a la velocidad de huida es interesante resaltar que el mayor movimiento de la velocidad de huida se produce en las cuatro primeras secuencias tras la actuación del estímulo. Este mismo hecho se ha encontrado en otras especies de peces (Masuda *et al.*, 2002). Por otro lado, en larvas de bocinegro es-

te mayor movimiento se produce entre las siete y diez primeras secuencias tras la ejecución del estímulo. Los resultados obtenidos en velocidad de huida para el estímulo visual en larvas de dorada y bocinegro fueron mucho mayores que los obtenidos en el estímulo sonoro. De nuevo estos resultados indican la mayor importancia del estímulo visual y la agudeza del mismo durante este periodo del desarrollo larvario. Hay que resaltar que en su medio natural el estímulo visual se transmite en el agua mucho más rápido que el sonoro, y que posiblemente el estímulo visual sea más vital para la larva a la hora de situarse, encontrar alimento, huir de predadores, etc. Así, mientras con el estímulo sonoro no se encontraron diferencias significativas en la respuesta de las larvas de alimentadas con diferentes dietas ante el estímulo visual, las larvas de dorada presentaron una mayor velocidad de huida cuando habían sido alimentadas con rotíferos enriquecidos con aceite de pescado y lino que las alimentadas con aceite de soja y colza. Comparando el DHA retenido por cada una de las larvas, se observa que las larvas alimentadas con rotíferos ricos en aceite de pescado y lino, presentaron las mayores concentraciones de este ácido graso en ojo. Por lo que se puede relacionar, la velocidad de huida ante un estímulo visual con la cantidad de DHA acumulada en ojo. Es interesante denotar por otra parte, que la inclusión de aceite de lino en los piensos para dorada origina una reacción más rápida y mayor, expresada en niveles de cortisol plasmático, frente a un estrés agudo (Montero *et al.*, 2003). Si este hecho sucediese igualmente en los estadios larvarios de esta especie contribuiría a explicar la mayor velocidad de huida de las larvas alimentadas con lino como una mayor y más rápida respuesta ante el estrés que supone el estímulo visual.

Así, la mayor velocidad de huida y de crucero en las larvas de dorada

La mayor velocidad de huída y de crucero en las larvas de dorada alimentadas con aceite de pescado, está relacionada con los niveles de DHA en el ojo y cerebro de las larvas

alimentadas con aceite de pescado, está relacionada con los niveles de DHA en el ojo y cerebro de las larvas, dadas las importantes funciones que este ácido graso cumple en dichos tejidos. Así por ejemplo, parte de las posibles funciones del DHA en el cerebro implican la mielinación de los neurocistes y la construcción de la sinapsis; ambas funciones consideradas esenciales para la formación de la red neural. Además, ambas funciones son presentadas por ser sensibles a una deficiencia nutritiva u hormonal (Krigman y Hoga, 1976). Una comparación histológica del jurel (*Longirostris delicatissimus*) mantenido con dietas enriquecidas con DHA, EPA y ácido oleico demuestran que los juveniles alimentados con dietas ricas en DHA presentaron un mejor desarrollo superficial de la zona blanca y gris sobre el tectum óptico que con los otros dos grupos (Masuda, 1995). Considerando que la zona superficial blanca y gris está principalmente compuesta de axones neurales y dendrites (Northcutt, 1983), el DHA puede estar involucrado en la composición de la red neural, algunos de los cuales están implicados en muchos comportamientos complejos, como el de formación de escuela (Masuda *et al.*, 1999). Las regiones del cerebro tectum óptico y cerebelo influyen en la habilidad visual y en el funcionamiento de natación en seriola (Ogawa, 1967)

En conclusión, los resultados del presente estudio demuestran que la dieta va a repercutir en la recepción y reacción de estímulos externos tales como luz y sonido, y en la capacidad de natación de las larvas y por ello en la habilidad para la predación y la huída y finalmente en el crecimiento. Deficiencias en DHA van a dar lugar a un inadecuado desarrollo del sistema nervioso central y ojo, con lo que va a inducir a un incorrecto desarrollo del comportamiento, y más concretamente el comportamiento de alimentación.

Esto sugiere que los requerimientos de DHA en la dieta pueden estar relacionados con los cambios fisiológicos y de comportamiento durante el desarrollo larvario de estas especies. Son necesarios futuros experimentos para establecer el efecto del DHA de la dieta con el crecimiento volumétrico de distintas regiones del cerebro de las larvas de dorada y bocinegro, y enlazarlo con el desarrollo del comportamiento en la vida de estas especies.

Estos resultados revelan la importancia de la alimentación en el comportamiento larvario. Este estudio sobre el comportamiento larvario del bocinegro podrá servir a futuros experimentos para mejorar la calidad de la dieta así como optimizar tanto las condiciones de manejo como las técnicas de producción de larvas y alevines de esta especie.

BIOGRAFÍA

TIBIÁBIN BENÍTEZ SANTANA

Licenciada en Ciencias del Mar por la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (ULPGC). Posee el Master Internacional de Acuicultura impartido por la ULPGC, el Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM) y el Centro Internacional de Altos Estudios Agronómicos Mediterráneos (CIHEAM).

Actualmente esta realizando el doctorado *Acuicultura: Producción controlada de Animales Acuáticos* en la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria y ha participado en jornadas internacionales sobre acuicultura.

email: tibiabin@iccm.rcanaria.es

BIBLIOGRAFÍA

- BELL, M.V., BATTY, R.S., DICK, J.R., FRETWELL, K., NAVARRO, J.C. y SARGENT, J.R. 1995. *Dietary deficiency of docosahexaenoic acid impairs vision at low light intensities in juvenile herring (Clupea harengus L.)*. Lipids. 30, 443-449.
- BLAXTER, J.H.S. 1986. *Development of sense organs and behaviour of teleost larvae with special reference to feeding and predator avoidance*. Trans. Am. Fish. Soc. 115: 98-114.
- ISHIZAKI, Y., MASUDA, R., UEMATSU, K., SHIMIZU, K., ARI-MOTO, M. y TAKEUCHI, T. 2001. *The effect of dietary docosahexaenoic acid on schooling behaviour and brain development in larval yellowtail*. Journal of Fish Biology. 58, 1691-1703.
- IZQUIERDO, M.S. 1989. *Estudio de los requerimientos de ácidos grasos esenciales en larvas de peces marinos. Modificación de la composición lipídica de las presas*. Tesis doctoral. Universidad de La Laguna, Tenerife, España.
- IZQUIERDO, M.S. 1996. *Essential fatty acid requirements of cultured marine fish larvae*. Aquaculture Nutrition. 2, 183-191.
- IZQUIERDO, M.S., SOCORRO, J., ARANTZAMENDI, L., HERNÁNDEZ CRUZ, C.M. 2000. *Recent advances in lipid nutrition in fish larvae*. Fish Physiol. Biochem. 22, 2, 97-107.
- KRIGMAN, M.R. y HOGAN, E.L. 1976. *Undernutrition in the developing rat: effect upon myelination*. Brain Res. 107, 239-255.
- MASUDA, R. y TSUKAMOTO, K. 1998. *The ontogeny of schooling behaviour in the striped jack*. J. Fish. Biol. 52: 485-493.
- MASUDA, R. y TSUKAMOTO, K. 1999. *School formation and concurrent development changes in carangid fish with reference to dietary conditions*. Envir. Biology of Fishes. 56, 243-252.
- MASUDA, R., TAKEUCHI, T., TSUKAMOTO, K., SATO, H., SHIMIZU, K., IMAIZUMI, K. 1999. *Incorporation of dietary docosahexaenoic acid into the central nervous system of the yellowtail Seriola quinqueradiata*. Brain Behav. Evol. 53: 173-179.
- MASUDA, R., SHOJI, J., AOYAMA, M. y TANAKA, M. 2002. *Chub mackerel larvae fed fish larvae can swim faster than those fed rotifers and Artemia nauplii*. Fisheries Science. 68, 320-324.
- MONTERO, D., KALINOWSKI, T., OBACH, ROBAINA, L., TORT, L., CABALLERO, M.J., e IZQUIERDO, M.S. 2003. *Vegetable lipid sources for gilthead seabream (Sparus aurata): effects on fish health*. Aquaculture 225: 353 - 370.
- MOURENTE, G. y TOCHER, D.R. 1993a. *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. 1993b. *The effects of weaning on to a dry pellet diet on brain lipid and fatty acid compositions in post-larval gilthead sea bream (Sparus aurata L.)*. Comparative Biochemistry and Physiology. 104A, 605-611.
- NAVARRO, J.C., BATTY, R.S., BELL, M.V., SARGENT, J.R. 1993. *Effects of dietary fatty acids on the fatty acid composition of neural and visual tissues of fish larvae*. En: World Aquaculture '93 Int. Conf. Torremolinos. España.
- NORTHCUTT, R.G. 1983. *Evolution of the optic tectum in ray-finned fishes*. En: Fish Neurobiology, vol. 2 (ed. by R.E.

Davis and R.G. Northcutt). The University of Michigan Press, Ann Arbor. 1-42.

OGAWA, Y. 1967. *Morphological transition of the brain components of yellowtail with their body growth*. Nippon Suisan Gakkaishi. 33, 628-635 (in Japanese with English abstract).

RODRÍGUEZ, C., PÉREZ, J.A., IZQUIERDO, M.S., LORENZO, A. y FERNÁNDEZ PALACIOS, H. 1994a. *The effect of n-3 HUFA proportions in diet for gilthead sea bream (Sparus aurata) larval culture*. Aquaculture. 124:284.

RODRÍGUEZ, C., PÉREZ, J.A., LORENZO, A., IZQUIERDO M.S. y CEJAS, J.R. 1994b. *N-3 HUFA requirement of larval gilthead sea bream (Sparus aurata) when using high levels of eicosapentaenoic acid*. Comp. Biochem. Physiol. 107, 693-698.

RODRÍGUEZ, C., PÉREZ, J.A., DÍAZ, M., IZQUIERDO, M.S., FERNÁNDEZ-PALACIOS, H. y LORENZO, A. 1997. *Influence of the EPA/DHA ratio in rotifers on gilthead sea bream (Sparus aurata) larval development*. Aquaculture. 150, 77-89.

RODRÍGUEZ, C., PÉREZ, J.A., BADIA, P., IZQUIERDO, M.S., FERNÁNDEZ PALACIOS, H., HERNÁNDEZ, A.L. 1998. *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.

ROO, F. 1999. *Efecto combinado de la alimentación con la calidad e intensidad de la luz sobre el crecimiento y desarrollo del sistema*

visual de las larvas de dorada Sparus aurata en condiciones de cultivo intensivo. Tesina. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. España.

ROO, F., SOCORRO, J., IZQUIERDO, M.S., CABALLERO, M.J., HERNÁNDEZ CRUZ, C.M., FERNÁNDEZ, A y FERNÁNDEZ PALACIOS, H. 1999. *Development of the red porgy Pagrus pagrus visual system in relation with changes in the digestive tract and larval feeding habits*. Aquaculture. 179, 499-512.

SALHI, M. 1997. *Estudio de los requerimientos lipídicos de larvas de dorada (Sparus aurata) alimentadas con microdietas*. Tesis doctoral. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, España.

SALHI, M., IZQUIERDO, M.S., HERNÁNDEZ CRUZ, C.M., GONZÁLEZ, M. y FERNÁNDEZ PALACIOS, H. 1994. *Effect of lipid and n-3 HUFA levels in microdiets on growth, survival and fatty acid composition of larval gilthead sea bream (Sparus aurata)*. Aquaculture, 124, no. 1-4, 275-282.

SALHI, M., HERNÁNDEZ CRUZ, C.M., BESSONART, M., IZQUIERDO, M.S. y FERNÁNDEZ PALACIOS, H. 1999. *Effect of different dietary polar lipid levels and different n-3 HUFA content in lipid on gut and liver histological structure of gilthead seabream (Sparus aurata) larvae*. Aquaculture. 179, 253-263.

SARGENT, J., McEVOY, L., ESTEVEZ, A., BELL, G., BELL, M., HENDERSON, J., TOCHER, D. 1999. *Lipid nutrition of marine fish during early development. Current status and future directions*. Aquaculture. 179, 217-229.

Patrocinador de esta investigación:

**LITOGRAFÍA GONZÁLEZ Y CÁMARA
 OFICIAL DE COMERCIO DE LAS PALMAS**