



Composición en ácidos grasos de huevos y larvas de dentón (*Dentex dentex* L.) de hasta 40 días en condiciones de cultivo

Gemma Giménez¹, Alicia Estévez^{1*}, R. James Henderson² y J. Gordon Bell²

¹Unitat de Cultius Experimentals. Centre de Sant Carles de la Ràpita – IRTA. Ctra. Poble Nou Km 6, 43540 Sant Carles de la Ràpita, Tarragona, España.

e-mail: alicia.estevez@irta.es.

²Nutrition Group, Institute of Aquaculture, University of Stirling, Stirling FK9 4LA, Scotland, UK.

ABSTRACT

Total lipid content and fatty acid (FA) composition of common dentex eggs spawned at different times and larvae reared under different culture conditions until 40 days post hatch (dph) were analysed in order to get a general pattern of lipid composition during larval development. Results were grouped according to the developmental stage of the larvae instead of age in dph. Saturated and monounsaturated fatty acids decreased along larval development, while polyunsaturated fatty acid (PUFA) content increased. The ratio of docosahexaenoic acid (DHA) / eicosapentaenoic acid (EPA) shifted from 4 – 5 in early developmental stages to lower than 1 after metamorphosis. Results suggest a subdivision of the larval development into two stages of opposite FA requirements.

INTRODUCCION

Se ha considerado al dentón (*Dentex dentex* L.) como una especie de interés para la diversificación de la acuicultura mediterránea (Abellán y Basurco, 1996), pero la baja supervivencia larvaria ha impedido hasta ahora su transferencia a la industria, además de dificultar el diseño de experimentos y complicar la interpretación y fiabilidad de los resultados. Condiciones de cultivo inadecuadas y alimentación deficiente son consideradas las principales causas de la baja supervivencia larvaria (Rueda y Martínez, 2001). Por otro lado, se sabe que los ácidos grasos de la dieta (FA), especialmente el DHA, el ácido EPA y el ARA, son esenciales para las larvas de peces ya que no son capaces de sintetizarlos *de novo* (Bell y Sargent, 2003; Bell et al., 2003). Aún no se han determinado los requerimientos en ácidos grasos esenciales (EFA) de la larva de dentón pero un primer paso para ello es el estudio de la composición en FA de huevos y larvas en distintos estadios de desarrollo (Izquierdo y Fernández-Palacios, 1997). Los huevos se obtuvieron durante dos estaciones de puesta consecutivas; las larvas eclosionadas de estas puestas se cultivaron con distintas técnicas hasta pasada la metamorfosis (40 dph) y se analizaron con el objetivo de obtener una composición lipídica patrón durante el desarrollo larvario que sirviera como referencia en la formulación de enriquecedores y en el diseño de experimentos para el estudio de los requerimientos en ácidos grasos durante el desarrollo larvario de esta especie.

MATERIAL Y METODOS



	MESOCOSMOS	INTENSIVO	EXPERIMENTAL
Volumen tanques (litros)	1 500	500	35
Densidad inicial (larvas/l)	5	20 a 47	10, 15 o 20
Fitoplancton	<i>T. chuii</i> <i>N. gaditana</i> <i>I. galbana</i>	<i>T. chuii</i> <i>N. gaditana</i> <i>I. galbana</i>	<i>T. chuii</i>
Bloom previo	Aguas previas	Aguas verdes	Aguas verdes
Rotífero	Bloom previo	Suministro diario	Suministro diario
		Enriquecido (Easy Selco)	Enriquecido (Easy Selco)

Se alimentaron con nauplios de *Artemia* enriquecida con Easy Selco entre los 15 y los 31 dph. El destete se inició a los 25 dph con Gemma micro 300 (Skretting). Las condiciones lumínicas fueron 3.7 μmol m⁻² s⁻¹ durante 12h para tres de las puestas, o durante 16h para las restantes. La temperatura (18 ± 1.5°C), salinidad (34 ± 1 g l⁻¹), oxígeno disuelto (9.12 ± 0.18 mg l⁻¹) y pH (8.1 ± 0.2) se controlaron a diario, y los nitritos (max. 0.18 mg l⁻¹) y amonios (max. 0.09 mg l⁻¹) semanalmente.

Recogida de muestras

Estadio (*Santamaría, 2001)	Muestreo
0 - Preeclósion	Huevos
1* - Alimentación endógena (0 a 3 dph)	0, 1 y 3 dph
2* - Inicio alimentación exógena (4 a 9 dph)	5 dph
3* - Premetamorfosis (10 a 22 dph)	15 y 20 dph
4* - Metamorfosis (23 a 36 dph)	26, 30 y 35 dph
5 - Juvenil (>37 dph)	40 dph

Fijación y conservación a -80°C

Extracción lípidos totales (Folch et al., 1957)

Metilación FA (Christie, 1982)

Extracción y purificación FAME (Tocher y Harvie, 1988)

Separación y cuantificación Cromatografía gas-líquido (Fisons GC8600, Carlo Erba, Milan, IT)

Identificación por comparación con estándares conocidos (Ackman, 1980)

ANOVA (P < 0.05) + Test de Tuckey (P < 0.05)
 Statgraphics Plus 4.1, StatPoint Inc.

RESULTADOS

Figura 1. Curvas de crecimiento en peso seco (promedio ± SD) de tres puestas de calidad distinta utilizadas para la obtención de los datos de composición lipídica. Las divisiones numeradas corresponden a los estadios de desarrollo.

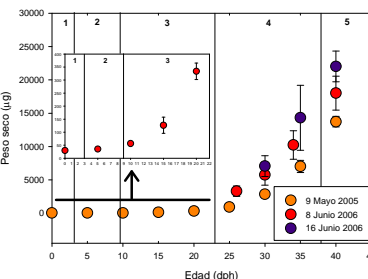
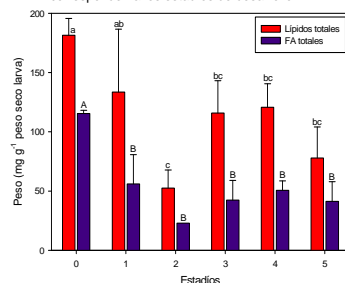


Figura 2. Contenido en lípidos y en FA totales de cada estadio de desarrollo larvario. Los superíndices indican diferencias significativas entre estadios (P < 0.05); las minúsculas respecto al contenido en lípidos, las mayúsculas respecto a los FA.

Ácido graso	0 (n=9)	1 (n=16)	2 (n=5)	3 (n=10)	4 (n=11)	5 (n=3)
16:0	20.2 ± 2.7 ^a	18.7 ± 1.2 ^a	20.4 ± 1.0 ^a	17.2 ±	15.4 ± 0.7 ^c	15.1 ± 0.5 ^c
18:0	5.7 ± 0.8 ^c	5.8 ± 0.4 ^c	8.5 ± 0.8 ^{ab}	9.8 ± 1.5 ^b	8.6 ± 0.5 ^b	7.3 ± 0.4 ^{bc}
Saturados	29.7 ± 3.5 ^a	27.9 ± 1.4 ^{ab}	31.9 ± 1.5 ^a	29.4 ±	25.8 ± 1.0 ^b	24.4 ±
16:1	8.2 ± 0.8 ^a	7.4 ± 0.7 ^{ab}	6.3 ± 0.7 ^{bc}	5.8 ± 1.3 ^c	4.7 ± 1.4 ^c	4.6 ± 0.1 ^c
18:1n-7	21.0 ± 1.9 ^{bc}	19.9 ± 0.4 ^{cd}	17.7 ± 1.6 ^d	20.3 ±	23.9 ± 1.7 ^a	24.2 ±
Monoinsaturados	31.9 ± 2.0 ^a	29.9 ± 1.1 ^{ab}	26.7 ± 2.0 ^b	29.7 ±	31.0 ± 1.8 ^a	31.7 ±
20:4n-6 (ARA)	1.6 ± 0.4 ^b	1.9 ± 0.5 ^b	2.4 ± 0.6 ^{ab}	2.6 ± 0.7 ^a	2.8 ± 0.5 ^a	2.6 ± 0.3 ^{ab}
18:3n-3	0.8 ± 0.2 ^c	0.8 ± 0.2 ^c	1.2 ± 0.5 ^c	3.2 ± 1.9 ^{bc}	8.1 ± 3.2 ^a	6.1 ± 1.8 ^{ab}
20:5n-3 (EPA)	5.7 ± 1.9 ^b	5.5 ± 1.1 ^b	4.6 ± 0.9 ^b	7.0 ± 1.3 ^b	10.4 ± 1.9 ^a	11.5 ±
22:6n-3 (DHA)	20.7 ± 3.9 ^a	24.0 ± 3.9 ^a	24.2 ± 1.8 ^a	13.7 ±	9.7 ± 2.3 ^b	11.4 ±
PUFA	38.4 ± 4.9 ^b	42.2 ± 1.8 ^a	41.3 ± 1.2 ^{ab}	40.9 ±	43.2 ± 1.7 ^a	43.9 ±
DHA/EPA	4.1 ± 1.6 ^a	4.6 ± 1.6 ^a	5.4 ± 1.4 ^a	2.0 ± 0.5 ^b	1.0 ± 0.4 ^b	1.0 ± 0.1 ^b

Tabla 1. Composición relativa (% promedio ± SD) y ratios de los FA de interés a lo largo de los diferentes estadios de desarrollo. Los superíndices indican diferencias significativas entre estadios (P < 0.05). n = número de muestras.

Las puestas utilizadas presentaron un porcentaje de eclosión alto (80.2 a 100%) y una supervivencia muy variable de las larvas de 5 dph mantenidas en ayuno (0 a 97.85%) sin mostrar diferencias en la composición lipídica corroborando así los resultados obtenidos anteriormente (Giménez et al., 2006). El contenido en lípidos y FA totales presenta un claro descenso entre los estadios 0 y 2, mientras que se recuperan ligeramente y se mantienen constantes en los estadios posteriores (Figura 1). La composición relativa de FA (Tabla 1) presenta cambios durante el desarrollo. El descenso en el total de saturados es debido mayoritariamente al consumo de 16:0. El total de monoinsaturados presenta variación entre estadios pero sin marcar una pauta, aunque el 16:1 desciende entre los estadios 0 y 5 y el ácido oleico (18:1n-7) se reduce al inicio de la alimentación exógena, recuperándose cuando las larvas se alimentan eficientemente. De los PUFA, sólo el DHA desciende, mientras que el DHA/EPA, el ARA, el EPA y los PUFA totales aumentan a lo largo del desarrollo. Además, la relación DHA/EPA cambia de valores entre 4 y 5 en los primeros estadios a 1 en los estadios 4 y 5.

DISCUSION

Los FA saturados y monoinsaturados son la principal fuente energética utilizada para el crecimiento en la mayoría de las especies cultivadas (Tocher, 2003), mientras que los PUFA están implicados en la estructura, integridad y función de las membranas celulares (Lauritzen et al., 2001). Los primeros estadios larvarios del dentón, dominados por la formación de órganos y tejidos, presentan reducción de los PUFA, mientras que los estadios más tardíos, en los que prima el crecimiento, son consumidos los FA saturados y monoinsaturados. El descenso en lípidos totales, FA totales y PUFA entre el estadio 0 y el 2 se explica también por el comportamiento alimentario de esta especie y el protocolo de muestreo: en los primeros 10 días de vida conviven larvas que son capaces de alimentarse eficientemente junto con larvas que no son capaces de alimentarse y van gastando las reservas vitelinas. Al muestrear grupos de larvas sin discriminar ambos tipos, éstas se mezclan. La proporción de larvas en o próximas al Punto de No Retorno (PNR) es muy elevada, pudiendo llegar a ser del 100% según la calidad de la puesta y las condiciones de cultivo (Giménez y Estévez, enviado).

CONCLUSIONES

Al plantear experimentos para determinar los requerimientos en ácidos grasos parece más adecuado dividir el desarrollo larvario del dentón en dos grandes subestadios, el primero englobaría larvas premetamórficas con baja tasa de crecimiento y elevada tasa de organogénesis, el segundo larvas en proceso de metamorfosis con alta tasa de crecimiento y baja organogénesis. Ambos subestadios parecen tener requerimientos nutricionales opuestos: mientras que en el primero, el suministro de PUFA en la dieta es necesario a fin de cubrir las necesidades organogénicas de la larva, el segundo precisaría de un aporte de FA saturados y monoinsaturados como energía para el crecimiento.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio ha sido financiado por el MEC (Proyecto INIA ACU02-006 y beca predoctoral INIA), el MAPA (JACUMAR) y la Red de Referencia en Acuicultura de la Generalitat de Catalunya (XRA). Se agradece la ayuda de O. Bellot, M. Monlló y J. Canoura (Centre de Sant Carles de la Ràpita – IRTA) en el cultivo larvario y la toma de muestras. Las analíticas se realizaron en el Fish Nutrition Laboratory, Institute of Aquaculture, University of Stirling.

BIBLIOGRAFIA

*Abellán, E. y B. Basurco. 1999. *Cah. Opt. Méd.* 24, 139 p. *Ackman, R. G. 1980. *Advances in Fish Science and Technology*, pp 86 – 103. *Bell, J.G. et al. 2003. *Aquaculture* 227: 211 – 220. *Bell, J.G. y J.R. Sargent. 2003. *Aquaculture* 218: 491 – 499. *Carbó, R. et al. 2002. *EAS Spec. Publ.* 32: 171 – 172. *Christie, W.W. 1982. *Lipid Analysis*. *Folch, J.M. et al. 1957. *J. Biol. Chem.* 226: 497 – 509. *Giménez, G. et al. 2006. *Aquaculture* 260: 232 – 243. *Giménez, G. y A. Estévez. 2007. *Aquaculture Res.* in press. *Izquierdo, M.S. y H. Fernández-Palacios. 1997. *Cah. Opt. Méd.* 22: 243 – 264. *Lauritzen, L. et al. 2001. *Prog. in Lipid Res.* 40:1 – 94. *Rueda, F.M. y F.J. Martínez. 2001. *Rev. in Fish Biol. Fish.* 11: 57 – 70. *Santamaría, C.A. 2001. Tesis Doctoral. U. A. B., 261 pp. *Tocher, D.R. y D.G. Harvie. 1988. *Fish Physiol. Biochem.* 5: 229 – 239. *Tocher, D.R. 2003. *Rev. Fish. Sci.* 11 (2): 107 – 184.