



EFFECTO DE LA ALIMENTACIÓN ECOLÓGICA EN LA EFICIENCIA DE RETENCIÓN LIPÍDICA Y DE ÁCIDOS GRASOS DE LA DORADA (*Sparus aurata*)

TRABAJO DE FIN DE MÁSTER

Alumno:

Enrique David Aguilera Salmerón

Directoras Académicas:

Dra. Ana Tomás Vidal

Dra. Silvia Martínez Llorens

VALENCIA, DICIEMBRE 2020

ABSTRACT

The effect of new ingredients of organic origin as substitutes to fish meal on growth and the efficiency of lipid and fatty acid retention in *Sparus aurata* has been studied in this work. Fish with an initial average weight of 60.5 g were fed with 6 types of feeds, of which one was the Control (30% fish meal and the rest conventional ingredients) and five with 100% organic raw materials, with different protein sources: the Control ECO (made with organic ingredients and 30% fishmeal), the LU feed (with organic sea bass meal as the main protein ingredient), the TRU feed (with organic trout meal in this case), the AVE feed (based on organic laying hen meal at the end of its production period) and a MIX diet (with a combination of remaining sea bass, trout and laying hen). After 84 days of experimentation, significant differences were obtained in growth and nutritional parameters, with the Control and Control ECO feeds obtaining better growth, and lower growth in general in those feeds containing laying hen meal, as well as higher mortality. The fatty acid composition of the whole fish reflected the composition of the feed. In general, the production values of fatty acids were higher in the Control diet, followed by ECO Control, which showed a greater efficiency in their use, especially with regard to highly unsaturated fatty acids, with much lower values in the case of 100% organic feeds.

Keywords: fish meal, *Sparus aurata*, fatty acids, ecological diet.

RESUMEN

En el presente trabajo se ha estudiado el efecto de nuevos ingredientes de origen ecológico como sustitutos a la harina de pescado sobre el crecimiento y la eficiencia de retención lipídica y de ácidos grasos en *Sparus aurata*. Se emplearon juveniles con un peso medio inicial de 60,5 g que fueron alimentados con 6 tipos de piensos, de los cuales uno era el Control (30% harina de pescado y el resto de ingredientes convencionales) y cinco con materias primas 100% ecológicas, con diferentes fuentes proteicas: el Control ECO (fabricado con ingredientes ecológicos y un 30% de harina de pescado), el pienso LU (con harina de restos de lubina ecológica como principal ingrediente proteico), el pienso TRU (con harina de trucha ecológica en este caso), el AVE (a base de harina de gallina ponedora ecológica al final de su periodo productivo) y un pienso MIX (con una combinación de resto de lubina, trucha y gallina ponedora). Transcurridos los 84 días de experimentación, se obtuvieron diferencias significativas en el crecimiento y parámetros nutritivos, siendo los piensos Control y Control ECO con los que se obtuvo mejor crecimiento, y un menor crecimiento en general en aquellos piensos que contenía harina de gallinas ponedoras, además de una mayor mortalidad. La composición de ácidos grasos del pez entero reflejó la composición del pienso. En general, los valores productivos de los ácidos grasos fueron superiores en la dieta Control, seguido de Control ECO, lo que mostró una mayor eficiencia de utilización de éstos, especialmente en lo que se refiere a los ácidos grasos altamente insaturados, con valores muy inferiores en el caso de los piensos 100% ecológicos.

Palabras clave: harina de pescado, *Sparus aurata*, ácidos grasos, pienso ecológico

ÍNDICE

Índice general	I
Índice de figuras	II
Índice de tablas	III
Abreviaturas	IV
1. Introducción	1
1.1 Alimentación en acuicultura	4
1.2 Sustitución del aceite de pescado en piensos	5
1.3 La acuicultura ecológica.	6
2. Justificación y Objetivos	9
3. Material y Métodos	10
3.1 Descripción de las instalaciones	10
3.2 Desarrollo experimental	11
3.3 Índices de crecimiento y parámetros nutritivos	12
3.4 Piensos experimentales	13
3.5 Determinación de la materia seca y cenizas.....	15
3.6 Determinación de porcentaje de grasa bruta	15
3.7 Determinación de ácidos grasos	16
3.8 Análisis estadístico	16
4. Resultados	18
4.1 Crecimiento	18
4.2 Parámetros corporales	19
4.3 Composición en ácidos grasos	20
5. Discusión	26
6. Conclusiones	31
7. Bibliografía	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Evolución de la producción mundial (acuicultura + pesca) desde 1950 a 2018 (FAO, 2020)	1
Figura 2: Dorada (<i>Sparus aurata</i>)	3
Figura 3: Distribución de la producción de dorada de acuicultura en el Mediterráneo en 2020)	3
Figura 4: Tanques donde se llevó a cabo el experimento en el LAC	11
Figura 5: Fase de pesaje de las doradas en los muestreos	12
Figura 6: Crisoles utilizados para la estimación de MS y cenizas	15
Figura 7: Extractor de solventes marca ANKOM	16
Figura 8: Evolución del peso medio en doradas alimentadas con los piensos experimentales durante 84 días	18
Figura 9: Composición de AG (g/ 100 g muestra) por tratamiento en el pienso	22
Figura 10: Composición de AG (g/ 100 g en peso húmedo) por tipo de pienso	24
Figura 11: VP (%) de los AGE por cada tipo de pienso	26

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Principales especies de peces producidas en la UE en 2018 (APROMAR, 2020) .	2
Tabla 2: Ingredientes y composición nutricional de los piensos usados	14
Tabla 3: Crecimiento, parámetros nutritivos y mortalidad de la dorada al final del experimento	19
Tabla 4: Composición corporal de las doradas al inicio y final del estudio	20
Tabla 5: Composición de ácidos grasos en los piensos experimentales (g/ 100g muestra)..	21
Tabla 6: Composición de ácidos grasos (g /100 g en peso húmedo) de las doradas antes y después del periodo de alimentación	23
Tabla 7: Valores productivos de los ácidos grasos (% en peso húmedo) en dorada alimentada con los piensos experimentales	25

ABREVIATURAS

AA: Aminoácidos

AG: Ácido graso

AGE: Ácido graso esencial

ANF: Anti-nutritional factors

ANOVA: Analysis of variance

AL: Ácido lineleico (C18:2n-6)

ALN: Ácido linolénico (C18:3n-3)

ARA: Ácido araquidónico (C20:4n-6)

DHA: Ácido docosahexaenoico (C22:6n-3)

ECO: Ecológico

EPA: Ácido eicosapentaenoico (C20:5n-3)

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura).

GB: Grasa bruta

HP: Harina de pescado

HUFA: Ácidos grasos altamente insaturados

IC: Índice de conversión del alimento

LAC: Laboratorio de acuicultura

Ln: Logaritmo neperiano

Log: Logaritmo

LU: Lubina

MS: Materia seca

MUFAs: Ácido graso monoinsaturado

OGM: Organismos genéticamente modificados

PB: Proteína bruta

PUFA: Ácidos grasos polinsaturados

TAD: Tasa de alimentación diaria

TCI: Tasa de crecimiento instantáneo

TRU: Trucha

UE: Unión Europea

VPG: Valor productivo de la grasa

1. INTRODUCCIÓN

Ante la estabilidad de la producción de la pesca de captura desde finales de la década de 1980, la acuicultura ha sido la desencadenante del impresionante crecimiento continuo del suministro de pescado para el consumo humano (FAO, 2018). Por ello, la acuicultura frecuentemente es citada como una alternativa de mercado para incrementar la oferta de productos del mar dado que no se pueden aumentar las pesquerías por los problemas ya existentes de sobrepesca (Buschmann y Fortt, 2005).

La producción pesquera mundial (pesca + acuicultura) alcanzó un máximo de aproximadamente 211,9 millones de toneladas en 2018, de los cuales la acuicultura representó un 47% del total y un 54% si se excluyen los usos no alimentarios (incluida la reducción para la preparación de harina y aceite de pescado), lo que implica que la cría mundial de acuicultura fue en 2018 de 114,5 millones de toneladas, superando a la producción de la pesca en 17,1 millones de toneladas (Figura 1) (APROMAR, 2020).

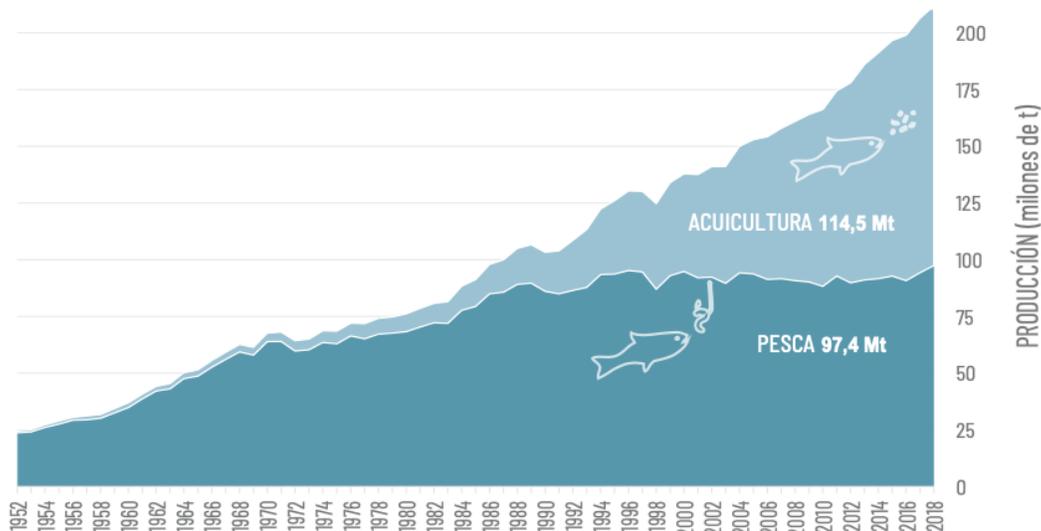


Figura 1: Evolución de la producción mundial (acuicultura + pesca) desde 1952 a 2018 (APROMAR, 2020)

De esta cifra, la Unión Europea tuvo una producción de acuicultura de 1.365.112 toneladas, de las cuales sus principales productos son pescados y moluscos. Y en concreto, la

producción de pescado mediante los modernos sistemas de acuicultura ha sido en Europa un caso de éxito en el desarrollo de una nueva e innovadora actividad económica (APROMAR, 2020).

Como se muestra en la Tabla 1, la principal especie de pescado de crianza producida en la Unión europea es el salmón atlántico (*Salmo salar*), de la que en 2018 se produjeron 179.314 toneladas, un 14,3 % menos que el año anterior, superando a la trucha arcoíris que ocupaba el primer puesto en 2016 y de la que en 2018 se produjeron 174.987 toneladas disminuyendo el volumen de producción del año anterior. Y la tercera es la dorada con 91.964 toneladas, disminuyendo también en un 3,5 % (APROMAR, 2020).

Tabla 1: Principales especies de peces producidas en la UE en 2018 (APROMAR, 2020)

Especie	Nombre científico	Toneladas	% Var. anual
Salmón del Atlántico	(<i>Salmo salar</i>)	179.314	-14,3%
Trucha arco iris	(<i>Onchorynchus mykiss</i>)	174.987	-5,6%
Dorada	(<i>Sparus aurata</i>)	91.964	-3,5%
Lubina	(<i>Dicentrarchus labrax</i>)	84.400	7,0%
Carpa común	(<i>Cyprinus carpio</i>)	75.348	1,7%
Atún rojo del Atlántico	(<i>Thunnus thynnus</i>)	11.181	69,0%
Rodaballo	(<i>Psetta máxima</i>)	8.395	-29,6%
Corvina	(<i>Argyrosomus regius</i>)	7.052	14,1%
Pez-gato	(<i>Clarias gariepinus</i>)	6.687	-24,2%
Carpa cabezona	(<i>Hypophthalmichthys nobilis</i>)	6.018	-6,4%

España es uno de los principales países productores europeos. Atendiendo a las más recientes estadísticas recabadas por APROMAR, la producción de acuicultura en España en 2018 sumó un total de 347.825 toneladas. Donde la principal especie de pescado producida ha sido la lubina (22.460 t), seguido de la trucha arco iris (18.856 t) y la dorada (14.930 t) (APROMAR, 2020).

La dorada (*Sparus aurata*) (Figura 2) es un pez óseo pertenece a la familia Sparidae y es común en el Mar Mediterráneo (FAO, 2005). Es la tercera especie de pez más producida en la Unión Europea con 91.964 toneladas en 2018, y además es la cuarta especie que más ganancias genera en la UE con 434,1 millones de euros (APROMAR, 2020).



Figura 2: Dorada (*Sparus aurata*)

La producción de dorada en Europa y el resto del Mediterráneo en 2019 se estima en 252.406 toneladas, ya que existe producción de dorada de acuicultura en 20 países (Figura 3), siendo España uno de sus principales productores con 13.521 toneladas. Y en concreto, la Comunidad Valenciana ha encabezado la producción española con 6.629 toneladas en 2019 (APORMAR, 2020).

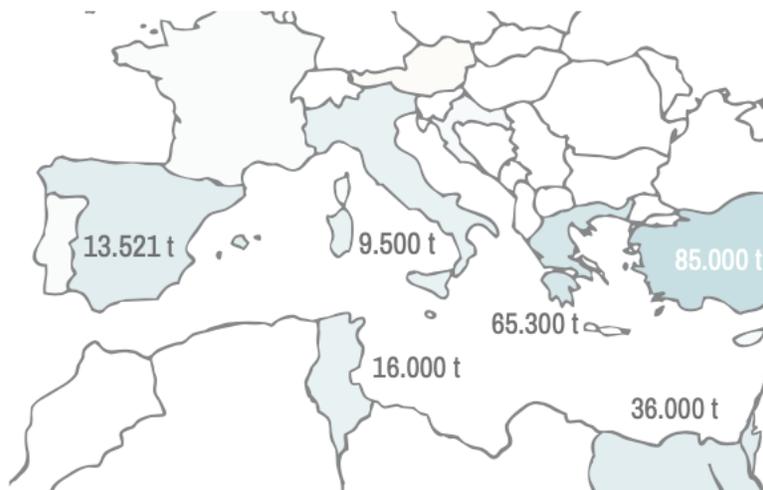


Figura 3: Distribución de la producción de dorada de acuicultura en el Mediterráneo en 2019

Este éxito de la acuicultura es contribuido por la tecnología de la formulación y fabricación de piensos, por ser el factor de mayor coste en la producción (Rayó, 1990). En 2019 se utilizaron en España 146.829 toneladas de pienso de acuicultura, donde el 85,1% fue administrado a especies marinas como la dorada y lubina (APROMAR, 2020).

1.1 Alimentación en acuicultura

Los piensos acuícolas se fabricaban principalmente hasta hace unas décadas a partir de peces salvajes y coproductos del procesamiento de peces y ganado. La harina y el aceite de pescado se producen a partir de reducciones de peces silvestres muy nutritivos. La mayoría de las especies capturadas para la fabricación de harina y aceite de pescado corresponde a pequeños peces pelágicos como la caballa, arenque, sardina y anchoas (FAO, 2020).

Pero la producción de harina y aceite de pescado para la fabricación de piensos ha sido uno de los principales problemas de este sector debido a su todavía dependencia de la pesca extractiva (FAO, 2020). Según la FAO (2020), en 2018 se destinó 22 millones de toneladas de producción pesquera a la preparación de harina y aceite de pescado, debido a que se considera los ingredientes más nutritivos y digeribles para los piensos destinados a la acuicultura.

Sin embargo, el porcentaje de pescado de pesca de captura que se reduce para hacer harina y aceite de pescado ha disminuido en las últimas décadas, y se prevé que una gran proporción de la producción de piensos y aceite de pescado se obtendrá de coproductos del procesamiento de pescado junto a otras materias primas vegetales y animales terrestres (FAO, 2018).

Así, las tasas de inclusión de la harina y el aceite de pescado en los piensos acuícolas han disminuido y estos productos se sustituyen cada vez más por productos vegetales, especialmente semillas oleaginosas (Little et al., 2016), aunque sin comprometer el contenido de nutrientes de los productos acuáticos (FAO, 2018), especialmente el contenido en ácidos grasos polinsaturados de cadena larga (principalmente DHA y EPA) que ofrecen múltiples efectos beneficiosos para la salud en la edad adulta y para el desarrollo infantil (APROMAR, 2019).

Por ello, se utilizan materias primas alternativas para sustituir los ingredientes tradicionales de los piensos por otros no convencionales (Yan et al., 2017). Los ingredientes no

convencionales vegetales están relativamente disponibles a precios bajos, aunque su inclusión en las dietas para peces es limitada debido al alto contenido de fibra y factores antinutricionales (ANF), que disminuyen la digestibilidad de los alimentos (Omnes et al., 2017), y alterando su microbiota intestinal (Estruch et al., 2015) y afectando negativamente al sistema inmune (Estruch et al., 2018;2020) y además pueden modificar la calidad nutricional del filete (Monge-Ortiz et al., 2020).

1.2 Sustitución del aceite de pescado en piensos

La mayoría de las especies de pescado, principalmente las especies grasas, presentan un alto contenido en ácidos grasos n-3 de cadena larga. De hecho, el aceite de pescado representa la fuente más rica disponible en ácidos grasos altamente insaturados de cadena larga, importantes en la alimentación humana. En general, el pescado también presenta minerales como calcio, zinc, hierro, fósforo, selenio o yodo además de vitaminas A, D y B (FAO, 2018).

En cambio, la sobreexplotación de los productos pesqueros, como se ha explicado en el apartado anterior, hace que sea indispensable buscar fuentes alternativas a estos, por ello la sustitución de harina y/o aceite de pescado por otra fuente vegetal ayuda a la conservación de los recursos naturales además de disminuir la descarga de fósforo y abaratar costes en la producción del pienso (De Francesco et al., 2004). Sin embargo, en los alimentos para peces marinos, el uso de aceites vegetales como única fuente de lípidos está limitado por la baja capacidad de estas especies para convertir los ácidos grasos n-6 y n-3 de cadena media, como el ácido linoleico y linolénico, abundantes en muchos aceites vegetales, en ácidos grasos esenciales para los peces marinos y ricos en aceite de pescado, como son el araquidónico (ARA), eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA). Por este motivo, la sustitución de aceite de pescado por aceites vegetales solo sería posible cuando estos ácidos grasos estén presentes en las dietas en cantidades suficientes para cubrir las necesidades de ácidos grasos esenciales en peces.

Una sustitución parcial del aceite de pescado por aceite de origen vegetal puede que no tenga efectos adversos en el crecimiento si se cumplen los mínimos requisitos de ácidos grasos

esenciales, pero una cantidad elevada de aceite vegetal afecta a la composición de ácidos grasos en el filete del pescado sustituyendo los ácidos grasos altamente saturados por otros menos insaturados, lo que tiene una repercusión directa en la calidad de éste (Jover, 2016). Así, en diversos trabajos se ha comprobado que altas sustituciones de aceite de pescado por aceites vegetales, no afectan al crecimiento y parámetros nutritivos de los peces, pero sí a la calidad final del filete, ya que el perfil de ácidos grasos está afectado por la cantidad de harina y el aceite de pescado del pienso con el que son engordados (Puig, 2007).

Esta alteración del perfil de ácidos grasos en el filete de doradas se ha visto afectada en diversos estudios por la sustitución del aceite de pescado por aceites vegetales en su alimentación observando una reducción en los ácidos grasos altamente insaturados n-3 (HUFA), y particularmente en el ácido eicosapentaenoico (EPA) a medida que aumentaba dicha sustitución (Izquierdo et al., 2003; 2005, Piedecausa et al., 2007, Grasso et al., 2008). Esto desde el punto de vista de la calidad del pescado es muy importante pues el consumo de alimentos ricos en HUFA n-3, tiene un efecto positivo en la salud humana (Ackman, 2001), como la prevención de patologías cardiovasculares y enfermedades autoinmunes (Hwang, 1989).

1.3 La acuicultura ecológica

El sector de la acuicultura crece rápidamente, se expande a nivel mundial a una tasa media anual del 8,1% desde 1970 (FAO, 2018). Para mantener el crecimiento y cumplir las expectativas de la acuicultura como fuente sostenible de alimentos nutritivos es necesario abordar los riesgos ambientales, como la degradación del hábitat y la mala calidad del agua (Ahmed et al., 2019).

Por ello en España, según datos de las estadísticas del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (2019), el sector ecológico se consolida creciendo 7,9% más frente al 2017 con 2.246.000 hectáreas. Lo que lo convierte en el primer país en la Unión Europea con superficie eco y el cuarto en el mundo.

La acuicultura ecológica se presenta como un modelo alternativo de la acuicultura tradicional que reúne e incorpora aspectos técnicos de principios ecológicos y de ecosistemas, además de velar por contextos sociales y económicos como el desarrollo de comunidades. Está orientado al diseño, desarrollo y monitoreo de sistemas de producción que preservan y mejoran la forma y función del ambiente natural y social donde están ubicados (Costa-Pierce, 2003).

De esta manera, la creación de productos ecológicos ha sido una posible solución a los problemas relacionados con un consumo más responsable en la sociedad. Estos se definen como aquellos productos que han sido producidos en base a unas normativas que buscan el cuidado y la protección del medio ambiente (Ecoagricultor, 2019).

Durante los últimos años, o quizás también décadas, se ha visto que cada vez aparecen más alarmas alimentarias, donde lo que realmente importa es producir la mayor cantidad en el menor tiempo posible y al más bajo coste económico. Aquí es necesario aclarar que la situación en la acuicultura es, respecto a la calidad del producto, mucho mejor que en otros sectores, posiblemente es el sector más sano de toda la ganadería convencional, pero no por ello deja de ser cierta la tendencia antes descrita (Domezain et al., 2006).

Algunos investigadores y productores, como Domezain et al., (2006), establecieron una serie de requisitos que tenía que poseer la acuicultura ecológica, como:

- No alterar el medio ambiente, haciendo compatible el cultivo ecológico con el entorno e integrando a la empresa en el mismo.
- Utilizar exclusivamente alimentos admitidos, y adaptados al régimen alimentario de las distintas especies, con especial énfasis en la no inclusión de ningún tipo de aditivos, hormonas, promotores de crecimiento, OGMs (organismos genéticamente modificados) y sus derivados, etc.
- Garantizar el bienestar animal.
- No utilizar productos de síntesis, sustituir la utilización de terapéuticos por la profilaxis, utilización de vacunas, preferentemente autobacterinas, etc.

Además, los conceptos relacionados con la acuicultura ecológica poseen un enfoque que no solo incorpora aspectos técnicos y ecológicos para su funcionamiento, sino que además adhiere a los principios de la ecología social y natural, la planificación para el desarrollo comunitario, y la preocupación por el contexto social, económico y ambiental en el que esta actividad se desarrolla (Colautti & García de Souza, 2016).

El desarrollo de la producción acuícola no va a sustituir la pesca, pero sí puede ayudar a aliviar la sobreexplotación de los recursos pesqueros garantizando el suministro de productos acuícolas a una población cada vez mayor y que consume cada vez más estos productos por su demostrado efecto saludable. A pesar de todas estas ventajas, tampoco sería justo obviar los inconvenientes. Como cualquier actividad industrial, la acuicultura contamina y el reto está en minimizar estos efectos. En este aspecto, la industria acuícola está avanzando a pasos agigantados tanto por la presión social como por su propia necesidad ya que no debemos olvidar que toda la producción se realiza en un medio acuático sin barreras a cuyas condiciones son muy sensibles los organismos producidos. Esta es la principal garantía de que las empresas acuícolas sean respetuosas con el medioambiente, ya que en ello va su propia supervivencia. Como resultado de los esfuerzos en hacer los criaderos cada vez más sostenibles ambientalmente, ha surgido en la última década la llamada “acuicultura ecológica” basada en criterios de sostenibilidad ambiental, de calidad del producto y de uso eficiente de los recursos (Rueda, 2011).

A parte de lo comentado anteriormente, el alimento usado en cualquier tipo de producción ecológica está regulado por el Reglamento (UE) 2018/848. Según el Artículo 6, se acepta la alimentación de los organismos acuáticos con piensos procedentes de pesquerías explotadas de manera sostenible de conformidad con el Reglamento (UE) n. o 1380/2013 o con piensos ecológicos compuestos de ingredientes agrarios procedentes de la producción ecológica, incluida la acuicultura ecológica, y de sustancias no agrícolas naturales.

De la misma manera, en el requisito 3.1.3. referente a la alimentación de la Parte III del Anexo II del Artículo 15, los animales deben ser alimentados con piensos que cubran sus necesidades nutritivas en las distintas etapas de su desarrollo. Así mismo, se tendrá en cuenta

la salud y bienestar de los animales, alta calidad del producto (incluyendo la composición nutricional) y un bajo impacto ambiental. Por ello, la fracción vegetal del pienso será ecológica y la fracción del pienso derivada de animales acuáticos procederá de la acuicultura ecológica o de pesquerías cuya sostenibilidad haya sido certificada.

2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

En la actualidad, la necesidad de generar más alimento para las nuevas generaciones junto con el respeto a los ecosistemas obliga a enfocar los modelos productivos en formas sostenibles y responsables con el medio ambiente. La acuicultura genera impactos ambientales que perjudican el correcto desarrollo de los ecosistemas y la necesidad de obtener pescado salvaje para la obtención de harina y aceite de pescado hace que se empeoren los stocks salvajes de peces.

Por lo tanto, la acuicultura tiene la necesidad de corregir estos problemas, una forma sería la utilización de piensos ecológicos, que sean respetuosos con el medio ambiente y que garanticen los estándares de salud y calidad de las especies producidas. Para que un alimento se considere ecológico puede incluir harina de pescado procedentes de pesquerías sostenibles, no obstante, el reto es cerrar el ciclo de la acuicultura ecológica y producir piensos con proteínas y materias primas de origen ecológico y así reducir la dependencia de las harinas y de los aceites de pescado que producen a partir de pesca extractiva. A pesar de ello, la inclusión de nuevas materias primas en sustitución a las harinas y aceites de pescado pueden producir serias alteraciones en la calidad del producto final, aunque hasta la actualidad no se han probado este tipo de materias primas en piensos ecológicos. Además, el abanico de materias primas con certificación ecológica es actualmente muy limitado, y en especial cuando éstas deben de cumplir unos estándares nutricionales, como son elevado contenido proteico y adecuado perfil de aminoácidos y ácidos grasos.

Por otro lado, se ha realizado diversos estudios en dorada debido a que es una de las especies más producidas de la Unión Europea y su comercialización se centra en la acuicultura. Esto

hace que sea una buena especie para producir de forma ecológica, lo que daría lugar a mejorar la rentabilidad y sostenibilidad de la acuicultura.

Por todo ello, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la alimentación con piensos 100% ecológicos, fabricados con diferentes fuentes proteicas de origen animal, como son la harina de gallinas ponedoras, trucha, restos de lubina y una mezcla de las tres sobre el crecimiento y los parámetros nutritivos en doradas, además de comparar la eficiencia de retención del perfil de ácidos grasos que se presenta según el tipo de pienso suministrado.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Descripción de las instalaciones

El experimento se realizó en las instalaciones del LAC (Laboratorio de Acuicultura) del Departamento de Ciencias Animal de la Universitat Politècnica de València (España), entre los meses de septiembre y diciembre de 2019.

La instalación (Figura 4) se encuentra equipada para la realización de diversos trabajos experimentales en peces. Está instalación cuenta con sistema de recirculación de agua marina de 65 m³ de capacidad, sistema de aireación, sistema de oxigenación en casos de emergencia, sistema de bombeo (3 bombas de 5.5 kw c/u), pozas de almacenaje de agua marina y dulce, sistema de depuración de agua a través de un filtro mecánico tipo rotatorio de tambor, biofiltro; así mismo 18 tanques de fibra de vidrio 1750 L, y otros elementos importantes dentro de un sistema de recirculación de agua marina.



Figura 4: Tanques donde se llevó a cabo el experimento en el LAC

3.2 Desarrollo experimental

Los ejemplares de estudio fueron juveniles de dorada ecológica provenientes de la piscifactoría de Burriana (Valencia). Para su transporte se utilizó un camión adaptado y que es específico para transportar peces vivos, que los hizo llegar hasta las instalaciones de la Universidad.

Cuando los peces llegaron a las instalaciones del LAC, estuvieron aproximadamente dos semanas en adaptación a las condiciones nuevas para que no hubiera perturbaciones a la hora de realizar el experimento. A partir de este momento se realizó el muestreo inicial, donde primeramente se pesaron (60,5 g de media) y se distribuyeron 40 peces por tanque, 120 peces por tratamiento, con un total de 720 doradas.

Se realizó un seguimiento de los parámetros del agua de 2 a 3 veces por semana. Durante el transcurso del experimento el fotoperiodo fue natural y se midió el oxígeno disuelto, temperatura, pH y salinidad. Estos datos mostraron una temperatura media de 21,7°C, un pH de 7,4 y una concentración de oxígeno disuelto adecuada (8,75 mg/L).

Cada muestreo se realizó un lunes cada 28 días, coincidiendo en que los peces estaban en ayunas debido a que los domingos no se les alimentaba. A la hora de pesarlos, primero se bajaba el nivel del agua del tanque y posteriormente se trasladaban los peces a una cuba con aceite de clavo para anestesiarlos. Una vez anestesiados, se pesaban en una báscula digital (Figura 5) y seguidamente eran puestos en cubas con agua para posteriormente devolverlos a su tanque de origen.



Figura 5: Fase de pesaje de las doradas en los muestreos

Para obtener los parámetros biométricos, se sacrificaron 3 peces al azar en el primer muestreo y al final del estudio se sacrificaron 3 peces por tanque, siendo un total de 9 por tratamiento. La forma de sacrificarlos fue con un exceso de aceite de clavo.

3.3 Índices de crecimiento y parámetros nutritivos

Tras el sacrificio, se obtuvieron los datos de peso e ingesta totales; así como también con los datos de los índices de crecimiento y parámetros nutritivos. Estos fueron calculados según Guillaume *et al.* (2004), Hardy & Barrows (2002) y Cho & Boureau (1999) mediante las siguientes formulas:

- **Tasa de crecimiento instantáneo (TCI), (%/día):**

$$TCI = \frac{Ln_{Pf(g)} - Ln_{Pi(g)}}{n^{\circ} \text{ dias}} \times 100$$

Dónde:

Pf: Peso final en gramos y Pi: Peso inicial en gramos

- **Tasa de alimentación diaria (TAD), (%/día):**

$$TAD = \left(\frac{Ingesta_{total(g)}}{\left(\frac{Biomasa_{final(g)} + Biomasa_{inicial(g)}}{2} \right) \times n^{\circ} \text{ dias}} \right) \times 100$$

- **Índice de conversión del alimento (ICA):**

$$ICA = \frac{Ingesta_{total(g)}}{(Biomasa_{final(g)} - Biomasa_{inicial(g)})}$$

- **Valor productivo de la grasa (VPG), (%):**

$$VPG = \left(\frac{(Grasa \text{ final pez} * Biomasa \text{ final (g)}) - (Grasa \text{ inicial pez} * Biomasa \text{ inicial (g)})}{Ingesta (g) * Grasa \text{ pienso}} \right) \times 100$$

3.4 Pienso experimentales

La rutina de alimentación consistía en dos tomas diarias de lunes a sábado. Una se realizaba por la mañana y otra por la tarde. Las doradas se alimentaron hasta saciedad aparente, para poder estimar correctamente el pienso ingerido.

La formulación y fabricación de los piensos se llevó a cabo con materias primas ecológicas aprobadas y etiquetadas por el Reglamento (UE) 2018/848. Los piensos fueron preparados en la fábrica de piensos del Departamento de Ciencia Animal de la Universitat Politècnica de València. Para ello se empleó un extruder semiindustrial de la casa Clextral modelo BC45.

Se formularon un total de 5 piensos en un principio isoproteicos e isolipídicos con diferentes fuentes de proteína, de los cuales 4 de ellos fueron los primeros piensos 100% ecológicos sin

harina de pescado (Tabla 2). Una vez fabricados, se almacenaban envasados en una nevera industrial a 4°C.

La materia prima de cada pienso fue la siguiente:

- Control: se utilizó un pienso control utilizado comúnmente en la alimentación que contenía un 30% de harina de pescado junto con otras materias primas convencionales.
- Control ECO: compuesto por un 30% de harina de pescado procedente de pesquerías sostenibles y el resto ingredientes ecológicos.
- LU: fabricado con restos de lubina ecológica como principal ingrediente proteico y otras materias primas vegetales ecológicas.
- TRU: fabricado con truchas ecológicas enteras como principal ingrediente proteico y otras materias primas vegetales ecológicas.
- AVE: realizado a base de harina de gallinas ponedoras tras su fase productiva procedentes de granjas ecológicas como principal ingrediente proteico y otras materias primas vegetales ecológicas. Se utilizaba la gallina entera, la cual era triturada y secada para su fabricación.
- MIX: combinación de 3 partes iguales de harina de lubina, trucha y ave como fuente de proteína.

Tabla 2: Ingredientes y composición nutricional de los piensos experimentales

PIENSOS	Control	Control ECO	LU	TRU	AVE	MIX
Materias primas(g/kg)						
Harina de pescado	300	300				
Harina de trucha				400		140
Harina de lubina			405			140
Harina de ave					435	140
Trigo	180	22	84	216	119	120
Guisante			54	111	102	118
Maíz		8				
Salvado de espelta		10				
Gluten de trigo	120					
Turtó de soja	214	504	433	150	272	270
Aceite de pescado	50	67	50	50	50	50
Aceite de soja	100	59		53		
Fosfato cálcico	23	20				
Metionina	3		14	10	12	12
Vitaminas	10	10	10	10	10	10
Composición nutricional						
%MS	86,9	86,0	86,3	84,8	89,3	86,7
%PB	47,5	47,9	41,3	40,5	42,7	40,9
%GB	17,3	21,3	22,8	22,2	20,6	21,5

Nota: Los ingredientes vegetales del pienso Control eran ingredientes convencionales, en el resto de los piensos eran ingredientes ecológicos.

3.5 Determinación de materia seca (MS) y cenizas

Para la obtención de la MS, se colocaron en los crisoles aproximadamente 2,5 gramos de muestra fresca para introducirlos en una estufa a 105°C para deshidratarlas durante 24h y luego ser pesadas.

La obtención de cenizas se obtuvo mediante la introducción de los crisoles con la MS en una mufla a 550°C durante 6 horas. Una vez transcurrido ese tiempo, se dejaban enfriar las muestras y se pesaban los crisoles (Figura 6).



Figura 6: Crisoles utilizados para la estimación de MS y cenizas

3.6 Determinación de porcentaje de grasa bruta

Las muestras de dorada tienen altos contenidos en grasa, por lo que a la hora de realizar la extracción de la grasa en el ANKOM se tuvo que utilizar un estabilizador (Celite). La determinación del porcentaje de materia grasa se obtenía introduciendo 0,5 g de materia seca liofilizada en filtros bolsillo ANKOM, que eran sellados y llevados al extractor ANKOM para retirar la materia grasa durante aproximadamente 1 hora (Figura 7). Por último, se sacaron los filtros y se colocaron en la estufa durante 4 horas para después pesarlos.



Figura 7: Extractor de solventes marca ANKOM

3.7 Determinación de ácidos grasos

Para el análisis de los ácidos grasos, los peces fueron previamente triturados en una moledora de carne Kenwood pro 1600. Las muestras de los peces iniciales y finales fueron conservadas -80°C , respectivamente.

El análisis químico se realizó en el Laboratorio de la Unidad de Alimentación del Departamento de Ciencia Animal de la Universitat Politècnica de València, mediante síntesis directa de esteres metílicos (FAME), de acuerdo a O'Fallon et al., 2007. Posteriormente, se analizaron por cromatografía de gases en un cromatógrafo FINNIGAN FOCUS 6C (AI 3000).

3.8 Análisis estadístico

Con el fin de comprobar los efectos de los distintos tipos de tratamiento, se llevaron a cabo análisis de la varianza (ANOVA) (Underwood, 1997). La utilización de este tipo de análisis univariante implica una serie de condiciones en la toma de datos y a la hora de utilizarlos:

- Independencia de los datos: Para la obtención de datos independientes, la toma de estos se hizo de la forma más aleatoria posible.

- Homogeneidad de las varianzas: previamente al análisis de datos se comprobó la homogeneidad de varianzas mediante el test Bartlett (Bartlett, 1937). Si el test de Bartlett resultaba significativo, se procedía a la transformación de los datos con el fin de evitar el error de tipo I, en el que se pueden aceptar como ciertos, resultados no significativos (Underwood 1997). La transformación que se realizaba en primer lugar fue la raíz cuadrada, en el caso que la prueba siguiera siendo significativa se utilizaba como segunda transformación $\log(x+1)$; y posteriormente $\ln(x+1)$ y $\sqrt[3]{(x+1)}$, si aun así no se lograba la homogeneidad necesaria, se utilizaban los datos originales, pero asignando un nivel de significación del 0,01, para de esta manera evitar el error de tipo I y respetar la robustez del análisis ANOVA (Underwood, 1997).

- Normalidad: La normalidad fue verificada mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

Para analizar la normalidad de los datos mediante la prueba de Kolmogorov- Smirnov y la homogeneidad mediante la prueba de Bartlett, se utilizó el programa R, el cual es un programa estadístico y un lenguaje de programación de uso libre, de distribución gratuita y de código abierto desarrollado como un gran proyecto colaborativo de estadísticos de diversos países y disciplinas (Salas, 2008).

Dicho esto, se realizó un ANOVA de dos factores (Acido Graso x Tratamiento) para la variante retención y dos ANOVA de un factor (Ac. Graso y Tratamiento) para la variante retención. Los datos de la prueba fueron comprobados con la prueba a posteriori de Tukey para determinar los grupos donde existen diferencias significativas con un índice de confianza del 95%.

Nuestro modelo lineal fue: $X_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + e_k(ij)$, donde A representa el factor fijo ortogonal Ac. Graso; B, el factor fijo ortogonal Tratamiento; y AB la interacción entre los dos factores.

4 RESULTADOS

4.1 Crecimiento

En la Figura 8 se muestra la evolución del crecimiento de la dorada según el tipo de alimentación dependiendo de las distintas materias primas ecológicas. Se puede diferenciar que las doradas alimentadas con pienso Control y Control ECO obtuvieron un mayor peso medio que los demás piensos trascurridos 84 días. En lo que respecta a los piensos ecológicos sin harina de pescado, los ejemplares alimentados con TRU obtuvieron un crecimiento mayor al finalizar el estudio, seguido de LU, MIX y por último AVE, que obtuvo un crecimiento menor.

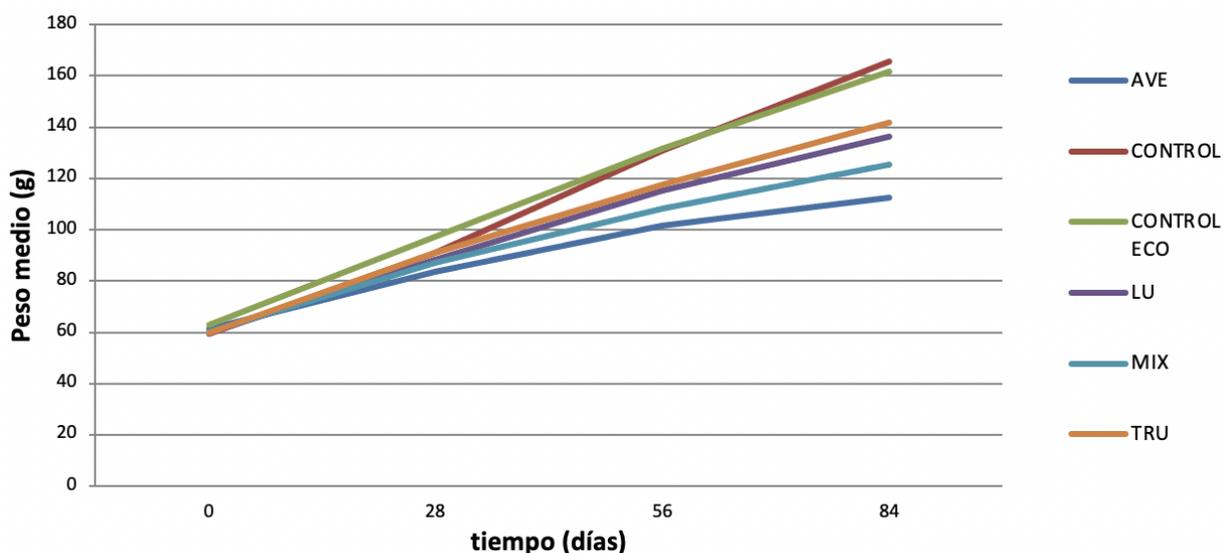


Figura 8: Evolución del peso medio en doradas alimentadas con los piensos experimentales durante 84 días

En la Tabla 3 se muestran los resultados de crecimiento y eficiencia nutritiva de los peces alimentados con los diferentes piensos. Como se puede observar en dicha tabla, el peso final fue significativamente superior en los piensos Control y Control ECO que, en el resto de los tratamientos, seguidos por los alimentados con TRU y LU que alcanzaron un mayor peso que los alimentados con el MIX y el AVE, siendo este último el que mostró un crecimiento significativamente menor.

Tabla 3: Crecimiento, parámetros nutritivos y mortalidad de la dorada al final del experimento

Piensos	Control	Control ECO	LU	TRU	AVE	MIX
Peso inicial (g)	59,5 ±0,7	63 ±2,6	59,7 ±2,5	59,9 ±0,3	61,3 ±1,8	60,1 ±1,3
Peso final (g)	165,8 ^a ±3,3	161,6 ^a ±3,5	136,1 ^b ±5,4	141,8 ^b ±2,3	112,6 ^d ±3,8	125,4 ^c ±2,5
Mortalidad (%)	3,33 ^a ±2,88	4,16 ^a ±1,44	7,5 ^a ±2,5	5 ^a ±2,5	13,33 ^b ±1,44	8,25 ^a ±2,81
TCI (%/día)	1,22 ^a ±0,03	1,12 ^b ±0,04	0,98 ^c ±0,01	1,02 ^c ±0,02	0,72 ^e ±0,01	0,88 ^d ±0,05
TAD (%/día)	1,98 ^a ±0,02	2,03 ^a ±0,18	2,18 ^{ab} ±0,05	2,31 ^b ±0,11	2,21 ^{ab} ±0,06	2,13 ^{ab} ±0,14
ICA	1,72 ^a ±0,04	1,91 ^b ±0,15	2,26 ^c ±0,08	2,33 ^c ±0,15	2,92 ^d ±0,07	2,4 ^c ±0,05

Valores representados como media ± desviación estándar (n=3). Para cada tratamiento, los valores que no comparten la misma letra son significativamente diferentes ($p < 0,05$). TCI, tasa de crecimiento instantáneo; TAD, tasa de alimentación diaria; ICA, índice de conversión del alimento.

De igual manera, el TCI fue mucho menor en AVE que en los otros piensos, reflejando un escaso crecimiento de los peces alimentados con este tipo de pienso debido a que crecen un 0,72% de lo que pesan ese día.

En cuanto a los parámetros nutritivos, los peces alimentados con los piensos Control y Control ECO presentaron una menor TAD que en los alimentados con TRU, indicando un mayor consumo de pienso por parte de las doradas. El ICA de los peces alimentados con el pienso Control fue significativamente menor al resto, así como el tratamiento AVE, que dio significativamente el mayor resultado (2,92), seguido por los piensos TRU, LU y MIX.

4.2 Parámetros corporales

En la Tabla 4 se muestran los resultados de la composición corporal y eficiencia de retención lipídica. Como se puede observar, no se encontraron diferencias significativas para MS entre los distintos tratamientos. En cambio, la GB fue significativamente menor en los peces alimentados con los piensos AVE y MIX con respecto al control, donde este último muestra un contenido mayor en lípidos (14%).

Tabla 4: Composición corporal y eficiencia de retención lipídica de las doradas al inicio y final del estudio

	Iniciales	Control	Control ECO	LU	TRU	AVE	MIX
Materia seca (%)	30,03	31,84 ±1,42	30,43 ±1,67	29,56 ±0,48	29,94 ±0,43	28,12 ±1,85	29 ±2,54
Grasa bruta (%)	9,02	14 ^a ±1,37	12,32 ^{ab} ±0,8	11,79 ^{ab} ±0,42	11,78 ^{ab} ±0,45	9,39 ^b ±1,42	10,55 ^b ±1,89
VPG (%)		65,94 ^a ±6,67	42,52 ^b ±5,09	33,11 ^{bc} ±3,38	31,16 ^{bc} ±1,03	16,26 ^d ±5,8	26,02 ^{cd} ±9,48

Valores representados como media ± desviación estándar (n=3). Para cada tratamiento, los valores que no comparten la misma letra son significativamente diferentes ($p < 0,05$). VPG, valor productivo de grasa.

La eficiencia de retención lipídica (VPG) fue significativamente menor en AVE que en el resto de los tratamientos, siendo el mayor valor el de los peces alimentados con el pienso no ecológico (Control).

4.3 Composición en ácidos grasos

La composición de los ácidos grasos en los piensos reflejó la composición de los tipos de materias primas empleadas en cada uno de ellos (Tabla 5). Como se puede observar, los piensos ecológicos presentaron una mayor cantidad de ácidos grasos saturados, como es el caso del ácido palmítico (C16:0), y monoinsaturados (MUFAs). Los piensos Control ECO y TRU se caracterizaron por tener una mayor cantidad de ácidos linoleico y linolénico, respectivamente.

Tabla 5: Composición de ácidos grasos en los piensos experimentales (g /100 g muestra)

	Control	Control ECO	LU	TRU	AVE	MIX
C13	0,96	1,01	0,98	0,55	1,03	1,04
C14	0,20	0,27	0,29	0,72	0,20	0,34
C15	0,01	0,02	0,02	0,06	0,02	0,03
C16	1,57	2,15	2,35	4,07	2,37	2,28
C17	0,02	0,02	0,02	0,05	0,03	0,02
C18	0,43	0,67	0,53	1,35	0,76	0,63
C20	0,06	0,07	0,05	0,11	0,04	0,02
C22	0,09	0,06	0,03	0,09	0,04	0,04
Σ Saturados	3,36	4,30	4,29	7,01	4,50	4,42
C16:1	0,22	0,29	0,43	1,10	0,29	0,43
C17:1	0,01	0,01	0,03	0,06	0,02	0,02
C18:1n9t	0,004	0,01	0,01	0,04	0,02	0,02
C18:1n9c	2,43	3,64	3,66	9,62	3,82	4,02
C18:1(n-7)	0,38	0,57	0,54	1,38	0,59	0,58
C20:1	0,20	0,25	0,64	1,15	0,20	0,59
C22:1n9	0	0	0	0,25	0	0
C24:1	0,05	0,07	0,08	0,14	0,04	0,08
Σ MUFAs	3,30	4,85	5,4	13,74	5,00	5,75
C18:2n6c	4,40	5,86	3,93	8,66	3,22	3,41
C20:3n6	0,26	0,42	0,67	1,15	0,33	0,65
C20:4n6	0,03	0,04	0,05	0,28	0,03	0,05
C22:4n6	0,02	0,01	0,02	0,08	0,01	0,02
C20:2	0,08	0,14	0,20	0,55	0,22	0,26
Σ n-6 PUFA	4,8	6,49	4,88	10,74	3,81	4,40
C18:3n3	0,57	0,96	0,70	1,34	0,46	0,6
C20:3n3	0	0,01	0,02	0,04	0,008	0,02
C20:5n3	0,38	0,47	0,46	0,73	0,22	0,37
C22:5n3	0,08	0,10	0,12	0,33	0,05	0,13
C22:6n3	0,70	0,84	1,03	2,38	0,34	0,80
Σ n-3 PUFA	1,75	2,39	2,34	4,83	1,08	1,92
EPA/DHA	0,55	0,56	0,44	0,30	0,63	0,45
n-3/n-6	0,36	0,37	0,48	0,45	0,28	0,43

Σ MUFAs: Sumatorio de ácidos grasos monoinsaturados; Σ n-6 PUFA: Sumatorio de ácidos grasos poliinsaturados de cadena n-6; Σ n-3 PUFA: Sumatorio ácidos grasos poliinsaturados de cadena n-3. Σ n-3 HUFA: Sumatorio de ácidos grasos altamente insaturados de cadena n-3.

El análisis de composición de ácidos grasos de los piensos formulados con harinas de animales ecológicas de origen acuícola como fuente lipídica mostró mayores concentraciones de los ácidos grasos esenciales, como lo son el ARA y DHA, que los piensos compuestos con harina de ave (Figura 9). El tratamiento Control mostró mayores concentraciones de EPA.

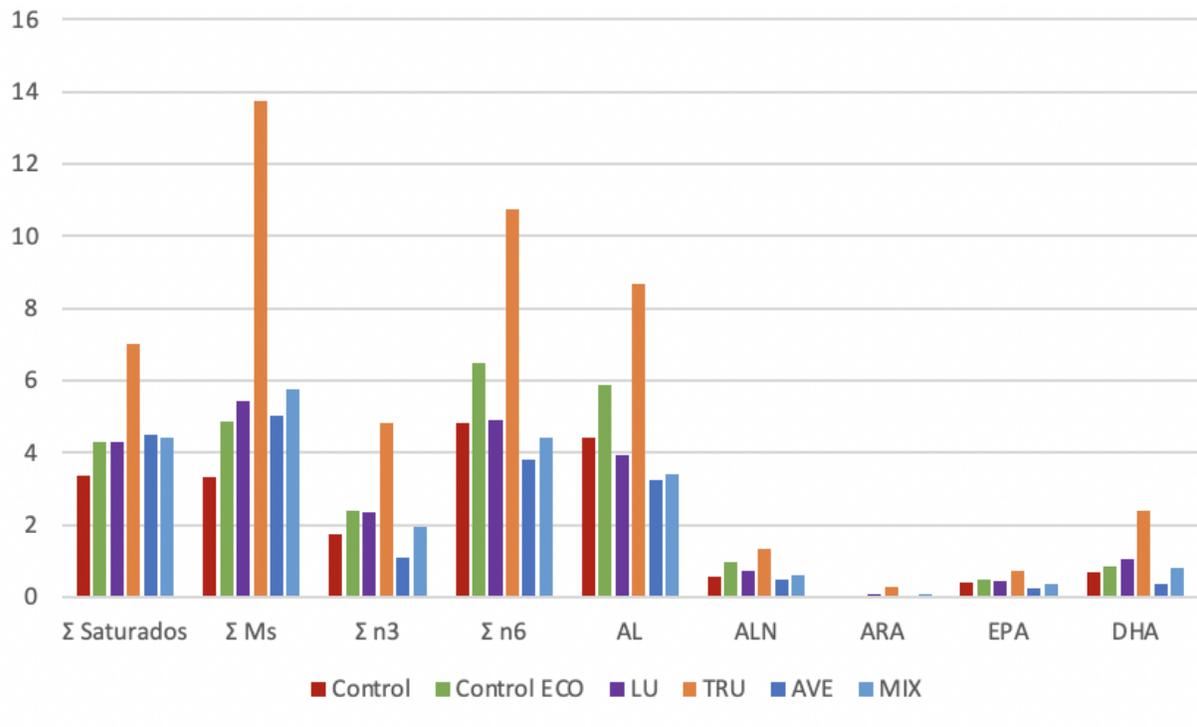


Figura 9: Composición de AG (g/100 g muestra) por tratamiento en el pienso

En la Tabla 6 se muestra la composición de ácidos grasos (g /100 g en peso húmedo) de las doradas alimentadas con los distintos piensos. En general, las doradas alimentadas con el pienso Control presentaron una composición significativamente mayor en ácidos grasos que en los piensos ecológicas, a excepción del 20:1 donde es mayor en LU y en 20:4n-6 que es mayor en TRU. La concentración de EPA (20:5n3) es mayor en el pienso Control, mientras que la concentración de DHA (22:6n3) fue mayor en LU. En cambio, los piensos AVE y MIX presentaron una mayor relación EPA/DHA.

Tabla 6: Composición de ácidos grasos (g /100 g en peso húmedo) de las doradas antes y después del periodo de alimentación

	Inicial	Control	Control ECO	LU	TRU	AVE	MIX
C13	0,17	0,24 ±0,04	0,24 ±0,01	0,21 ±0,025	0,22 ±0,003	0,19 ±0,03	0,20 ±0,04
C14	0,24	0,26 ^b ±0,02	0,21 ^{ab} ±0,02	0,25 ^{ab} ±0,005	0,19 ^a ±0,006	0,19 ^a ±0,02	0,21 ^{ab} ±0,04
C15	0,01	0,02 ±0,001	0,01 ±0,001	0,02 ±0,0002	0,02 ±0,002	0,01 ±0,0005	0,02 ±0,005
C16	1,08	1,84 ^a ±0,15	1,46 ^{ab} ±0,08	1,50 ^{ab} ±0,04	1,25 ^a ±0,03	1,24 ^a ±0,15	1,25 ^a ±0,26
C17	0,01	0,03 ^b ±0,004	0,02 ^{ab} ±0,003	0,021 ^{ab} ±0,002	0,02 ^a ±0,001	0,02 ^{ab} ±0,002	0,02 ^{ab} ±0,004
C18	0,26	0,50 ^b ±0,03	0,39 ^a ±0,02	0,34 ^a ±0,01	0,33 ^a ±0,02	0,32 ^a ±0,04	0,31 ^a ±0,06
C20	0,02	0,04 ±0,003	0,03 ±0,004	0,03 ±0,01	0,03 ±0,001	0,02 ±0,002	0,03 ±0,004
C22	0,01	0,023 ^b ±0,006	0,02 ^b ±0,002	0,008 ^{ab} ±0,008	0,01 ^{ab} ±0,007	0,004 ^a ±0,0006	0,01 ^{ab} ±0,004
Σ Saturados	1,83	2,95^b ±0,25	2,38^{ab} ±0,12	2,38^{ab} ±0,08	2,07^a ±0,05	1,99^a ±0,26	2,05^a ±0,41
C16:1	0,28	0,42 ^b ±0,03	0,34 ^{ab} ±0,04	0,41 ^{ab} ±0,02	0,32 ^{ab} ±0,01	0,30 ^a ±0,05	0,32 ^{ab} ±0,07
C17:1	0,01	0,02 ±0,01	0,02 ±0,001	0,03 ±0,006	0,02 ±0,003	0,02 ±0,002	0,02 ±0,003
C18:1n9t	0,01	0,02 ±0,006	0,01 ±0,006	0,02 ±0,001	0,02 ±0,003	0,01 ±0,003	0,02 ±0,003
C18:1n9c	1,63	3,08 ^b ±0,25	2,54 ^{ab} ±0,20	2,53 ^{ab} ±0,07	2,56 ^{ab} ±0,11	2,26 ^a ±0,34	2,32 ^{ab} ±0,49
C18:1(n-7)	0,30	0,52 ^b ±0,04	0,43 ^{ab} ±0,05	0,44 ^{ab} ±0,01	0,39 ^{ab} ±0,02	0,33 ^a ±0,05	0,38 ^{ab} ±0,10
C20:1	0,31	0,25 ^a ±0,02	0,24 ^a ±0,02	0,34 ^b ±0,01	0,26 ^a ±0,01	0,21 ^a ±0,03	0,28 ^{ab} ±0,04
C22:1n9	0,10	0,10 ±0,006	0,08 ±0,02	0,10 ±0,01	0,09 ±0,01	0,08 ±0,01	0,09 ±0,01
C24:1	0,06	0,07 ^b ±0,007	0,05 ^{ab} ±0,005	0,06 ^{ab} ±0,007	0,05 ^{ab} ±0,004	0,04 ^a ±0,001	0,06 ^{ab} ±0,01
Σ MUFAs	2,71	4,48^b ±0,36	3,72^{ab} ±0,33	3,95^{ab} ±0,12	3,71^{ab} ±0,12	3,26^a ±0,50	3,50^{ab} ±0,73
C18:2n6c	0,93	3,52 ^d ±0,42	2,86 ^{cd} ±0,45	2,32 ^{abc} ±0,03	2,65 ^{bd} ±0,11	1,61 ^a ±0,31	1,86 ^{ab} ±0,31
C20:2	0,07	0,15 ^b ±0,01	0,12 ^b ±0,02	0,12 ^b ±0,01	0,12 ^b ±0,01	0,05 ^a ±0,03	0,10 ^{ab} ±0,01
C20:3n6	0,29	0,24 ±0,03	0,21 ±0,02	0,26 ±0,01	0,23 ±0,005	0,20 ±0,01	0,25 ±0,06
ARA	0,007	0,03 ^{ab} ±0,01	0,02 ^{ab} ±0,01	0,03 ^{ab} ±0,004	0,042 ^b ±0,004	0,02 ^a ±0,01	0,03 ^{ab} ±0,005
C22:4n6	0,006	0,01 ±0,004	0,01 ±0,003	0,01 ±0,01	0,01 ±0,001	0,004 ±0,001	0,01 ±0,002
Σ n-6 PUFA	1,31	3,95^c ±0,50	3,24^{bc} ±0,51	2,76^{ab} ±0,05	3,06^{bc} ±0,13	1,88^a ±0,35	2,25^{ab} ±0,40
C18:3n3	0,09	0,47 ^c ±0,07	0,41 ^{bc} ±0,10	0,34 ^{ac} ±0,01	0,38 ^{ac} ±0,01	0,20 ^a ±0,06	0,27 ^{ab} ±0,05
C20:3n3	0,003	0,02 ^b ±0,005	0,01 ^{ab} ±0,003	0,01 ^{ab} ±0,003	0,01 ^{ab} ±0,003	0,09 ^a ±0,002	0,01 ^{ab} ±0,003
EPA	0,08	0,22 ^b ±0,04	0,19 ^{ab} ±0,06	0,2 ^{ab} ±0,01	0,16 ^{ab} ±0,01	0,11 ^a ±0,03	0,15 ^{ab} ±0,02
C22:5n3	0,01	0,15 ±0,03	0,12 ±0,04	0,13 ±0,01	0,12 ±0,01	0,06 ±0,02	0,07 ±0,06
DHA	0,07	0,66 ±0,17	0,54 ±0,24	0,68 ±0,07	0,62 ±0,04	0,27 ±0,14	0,24 ±0,28
Σ n-3 PUFA	0,26	1,53^b ±0,33	1,28^{ab} ±0,45	1,38^{ab} ±0,11	1,31^{ab} ±0,07	0,65^a ±0,26	0,90^{ab} ±0,40
n-3/n-6	0,20	0,38 ±0,04	0,39 ±0,09	0,50 ±0,03	0,43 ±0,01	0,34 ±0,07	0,39 ±0,16
EPA/DHA	1,12	0,34 ±0,02	0,36 ±0,06	0,29 ±0,004	0,26 ±0,004	0,43 ±0,08	0,86 ±1,0

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas a $p < 0.05$. Test de Tukey. Los valores representan la media \pm error estándar ($n = 3$). Σ MUFAs: Sumatorio de ácidos grasos monoinsaturados; Σ n-6 PUFA: Sumatorio de ácidos grasos poliinsaturados de cadena n-3; Σ n-3 PUFA: Sumatorio ácidos grasos poliinsaturados de cadena n-3.

Estos valores también pueden ser observados gráficamente en la Figura 10, donde se muestra con claridad la mayor concentración de AG en el pienso Control, seguido del pienso Control ECO y TRU.

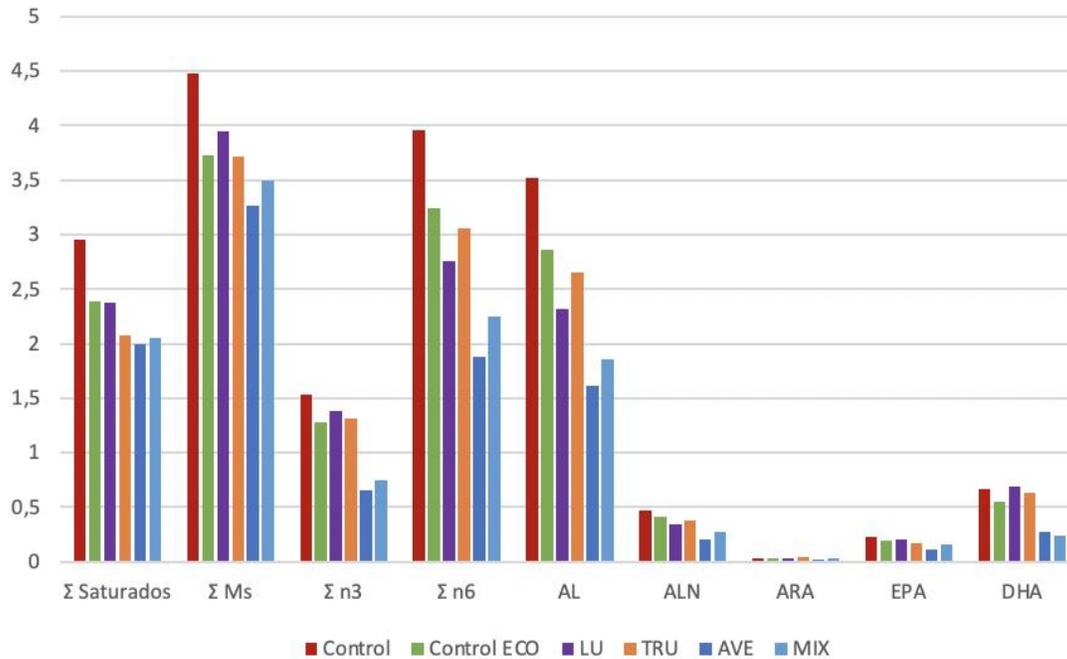


Figura 10: Composición de AG (g /100 g en peso húmedo) por tipo de pienso

Por último, los valores productivos de los ácidos grasos (%), es decir la retención de los ácidos grasos en el pez respecto a los ácidos grasos ingeridos, en doradas alimentadas con los piensos experimentales se muestra en la Tabla 7. A modo general, las mejores eficiencias de retención más elevadas se obtuvieron en el pienso Control, seguido del pienso control ECO de los piensos ecológicos. Sin embargo, se observó una mayor retención significativamente de los ácidos grasos 18:1n-9 y 22: 4n-6 en el pienso LU.

Tabla 7: Valores productivos de los ácidos grasos (% en peso húmedo) en dorada alimentada con los piensos experimentales

	Control	Control ECO	LU	TRU	AVE	MIX
C13	16,38 ^{cd} ±4,12	14,42 ^{bd} ±2,18	10,63 ^{abc} ±1,99	20,55 ^d ±0,88	6,92 ^a ±2,51	8,76 ^{ab} ±2,95
C14	75,27 ^c ±7,13	37,75 ^b ±4,52	38,18 ^b ±2,83	8,83 ^a ±1,25	20,55 ^{ab} ±10,08	21,63 ^{ab} ±9,43
C15	61,38 ^c ±7,83	35,24 ^b ±5,44	33,29 ^b ±0,99	10,14 ^a ±2,60	19,07 ^{ab} ±2,02	27,67 ^{ab} ±14,22
C16	83,09 ^d ±7,77	41,36 ^c ±0,66	34,30 ^{bc} ±2,24	14,44 ^a ±0,87	20,50 ^{ab} ±4,77	25,31 ^{ab} ±9,06
C17	89,92 ^c ±17,44	49,62 ^b ±9,89	38,99 ^{ab} ±7,54	11,61 ^a ±2,23	20,86 ^{ab} ±6,36	28,65 ^{ab} ±13,89
C18	84,81 ^d ±5,17	36,89 ^c ±0,09	34,08 ^{bc} ±3,09	11,94 ^a ±1,13	17,71 ^a ±3,62	23,51 ^{ab} ±8,20
C20	44,84 ^{bc} ±5,45	26,42 ^{ac} ±3,56	21,79 ^{ab} ±16,69	14,02 ^a ±1,97	17,38 ^a ±3,37	48,14 ^c ±12,70
C22	17,44 ^{ab} ±6,51	22,46 ^b ±1,73	8,26 ^{ab} ±14,32	7,00 ^{ab} ±5,84	0 ^a	7,94 ^{ab} ±7,50
Saturados						
C16:1	100 ^d ±0	68,57 ^c ±9,13	52,09 ^{bc} ±5,55	13,96 ^a ±1,94	38,11 ^{ab} ±13,38	35,25 ^{ab} ±13,81
C17:1	66,66 ±57,73	69,32 ±2,99	64,69 ±18,07	18,60 ±4,99	25,31 ±8,14	42,08 ±13,55
C18:1n9t	33,33 ±57,73	57,29 ±28,73	96,67 ±5,75	29,69 ±7,14	29,19 ±10,46	58,21 ±13,30
C18:1n9c	92,67 ^d ±7,91	44,70 ^c ±2,20	39,12 ^{bc} ±2,43	14,51 ^a ±0,99	26,98 ^{ab} ±6,45	30,26 ^{ac} ±9,40
C18:1(n-7)	95,65 ^c ±6,80	46,04 ^b ±4,73	43,86 ^b ±2,24	14,37 ^a ±2,32	20,72 ^a ±6,85	32,36 ^{ab} ±13,32
C20:1	63,06 ^c ±8,23	40,59 ^b ±4,60	25,94 ^{ab} ±1,19	8,23 ^a ±1,56	16,44 ^a ±11,13	17,99 ^a ±6,08
C22:1n9	0	0	0	15,34 ^b ±5,19	0	0
C24:1	86,64 ^c ±12,89	40,70 ^b ±3,78	35,28 ^{ab} ±6,71	16,18 ^a ±2,68	20,99 ^{ab} ±2,85	26,99 ^{ab} ±10,70
MUFASs						
C18:2n6c	65,38 ^c ±7,81	36,49 ^b ±5,15	38,51 ^b ±1,62	19,44 ^a ±1,15	25,86 ^{ab} ±6,88	32,94 ^{ab} ±6,91
C20:2	100 ^d ±0	58,79 ^c ±10,36	37,54 ^b ±6,26	12,69 ^a ±1,66	6,97 ^a ±7,84	21,71 ^{ab} ±4,08
C20:3n6	46,36 ^b ±11,50	20,26 ^a ±4,02	15,65 ^a ±1,49	6,82 ^a ±0,82	8,01 ^a ±3,85	13,11 ^a ±7,60
ARA	71,66 ^b ±23,10	46,10 ^{ab} ±18,33	46,53 ^{ab} ±6,83	10,11 ^a ±1,37	37,90 ^{ab} ±19,70	38,27 ^{ab} ±7,33
C22:4n6	33,36 ±21,08	34,00 ±21,24	46,05 ±32,45	8,92 ±1,38	8,28 ±8,19	18,57 ±11,06
n-6 PUFAs						
C18:3n3	68,60 ^b ±11,15	33,05 ^a ±8,38	37,58 ^a ±2,62	19,22 ^a ±0,95	25,82 ^a ±9,50	30,30 ^a ±6,57
C20:3n3	0 ^a	74,82 ^c ±19,05	51,72 ^{bc} ±14,43	26,86 ^{ab} ±4,86	54,44 ^{bc} ±18,70	35,33 ^{ab} ±12,07
EPA	45,94 ^b ±9,95	28,81 ^{ab} ±10,17	28,44 ^{ab} ±3,91	13,50 ^a ±1,54	22,48 ^a ±12,03	24,74 ^{ab} ±5,28
C22:5n3	100 ^b ±0	85,89 ^b ±24,42	78,37 ^b ±7,80	26,60 ^a ±2,67	69,87 ^{ab} ±30,91	53,52 ^{ab} ±16,10
DHA	82,61 ^b ±21,44	52,59 ^{ab} ±22,32	50,29 ^{ab} ±6,42	18,73 ^a ±1,93	49,90 ^{ab} ±29,60	43,57 ^{ab} ±12,42
n-3 PUFA						

Los valores representan la media ± error estándar (n = 3). Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas a p<0.05. Test de Tukey. MUFAs: ácidos grasos monoinsaturados; n-6 PUFA: ácidos grasos poliinsaturados de cadena n-3; n-3 PUFA: ácidos grasos poliinsaturados de cadena n-3.

Los peces alimentados con el pienso Control presentaron eficiencias de retención de EPA significativamente mayores que los alimentados con AVE y TRU, y en el caso del DHA, significativamente mayores que los alimentados con TRU, sin diferencias con el resto de los tratamientos (Figura 11).

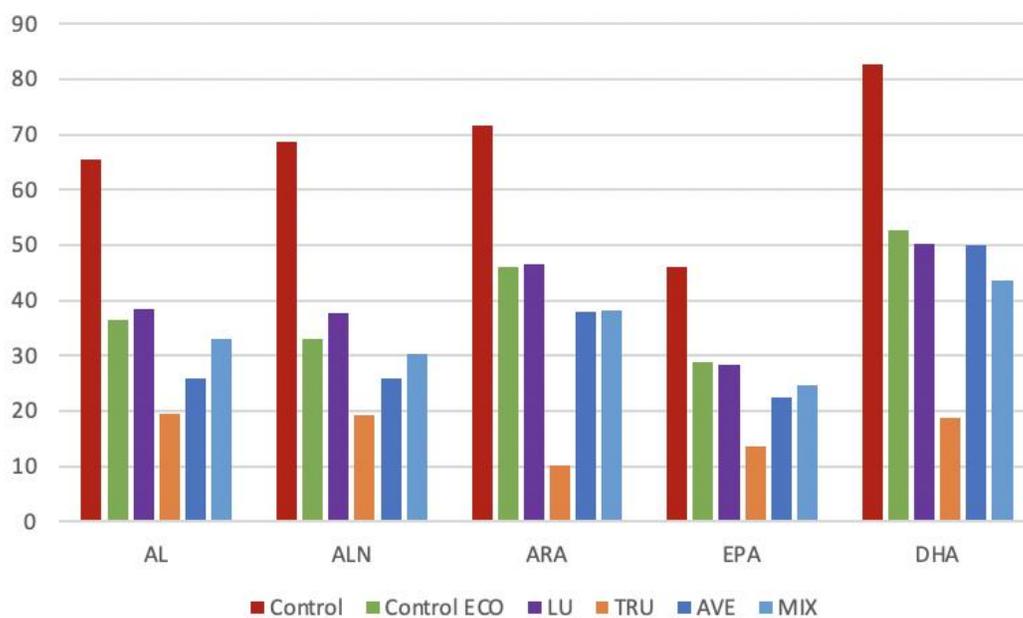


Figura 11: VP (%) de los AG por cada tipo de pienso

5 DISCUSIÓN

Las harinas y aceites de pescado son ingredientes completos para la fabricación de piensos acuícolas, los cuales aportan una gran y equilibrada cantidad de nutrientes. Como consecuencia, su sustitución trae diferentes desafíos. Estas materias primas contienen aminoácidos, grasas poliinsaturadas y minerales los cuales, al sustituirlos, deben de ser cubiertos por las fuentes alternativas utilizadas (Saiz, 2019).

Los crecimientos obtenidos por los peces alimentados con materias primas de origen 100% ecológico son diferentes a los conseguidos por los piensos Control y Control ECO. Se pudo observar que el crecimiento de los peces no fue significativamente diferente entre los piensos Control y Control ECO, donde se usó harina de pescado comercial como materia prima,

gracias a su alta digestibilidad y a que su perfil de ácidos grasos es muy próxima al perfil de necesidades de la mayoría de especies (Ministerio de Medio Ambiente, 2011). También es importante resaltar que además de ello al trabajar con harinas de pescado y no ingredientes frescos secados en el laboratorio de acuicultura, hubo una gran uniformidad de los piensos durante toda la prueba con estos tratamientos. En cambio, el resto debido al secado y triturado de las materias primas animales, la composición variaba de unas tandas de piensos a otros, de ahí que finalmente la cantidad de proteína y lípidos no fue exactamente la misma en todos los tratamientos, otro motivo por el que los peces con la harina de pescado crecieran más (piensos con un 47% de proteína bruta respecto a un 40-43% en los otros).

Los pesos de los peces alimentados con harina de ave fueron muy inferiores al del resto. En estudios recientes se observó que una sustitución entre el 50 y el 100% de proteína de ave resultó con una reducción en el crecimiento de dorada (Karapanagiotidis et al., 2019), aunque en otro estudio realizado por Sabbagh et al. (2019) se observó que no existieron diferencias significativas en el crecimiento de *S. aurata* alimentada con un 100% de proteína de ave. Estas diferencias pueden ser explicadas por la composición de la proteína de ave, métodos de procesado que pueden afectar a su calidad nutricional y a su digestibilidad (Sabbagh et al., 2019). La sustitución completa de harina de pescado por harina de ave pudo afectar el crecimiento negativamente en previos trabajos, lo que se explicó por una insuficiencia en el contenido de ácidos grasos, especialmente n-3 (Nengas et al., 1999), lo que puede explicar los resultados obtenidos en este estudio. Los lípidos de la dieta influyen en el metabolismo, crecimiento y bienestar de los animales (Sargent et al., 1993; Sargent et al., 1999; Steffens, 1997) y se requieren para proveer energía y producir fosfolípidos y lípidos polares fundamentales para la formación de la membrana celular.

Hay que destacar que posiblemente además de las posibles deficiencias nutricionales que explicaban el bajo crecimiento de los peces alimentados con harina de ave, en el presente experimento fue la falta de palatabilidad observada. El comportamiento de los peces ante el pienso de harina de ave era de desprecio, e incluso luego de ser ingerido lo expulsaban, señal de que esta materia prima afectaba a la palatabilidad. La baja ingesta y el bajo crecimiento pudo ser consecuencia de la notable mortalidad que presentaron los peces con dicho pienso, lo que se contradice con otros estudios (Nengas et al., 1999; Karapanagiotidis et al., 2019)

donde no se evidencia una mortalidad entre los tratamientos. La falta de palatabilidad en piensos ecológicos es una desventaja frente a los convencionales, debido a las restricciones en la adición de aditivos atractantes que mejoren su ingesta, por lo que habría que plantearse en futuras pruebas la búsqueda de atractantes naturales de origen ecológico, como por ejemplo materias primas ricas en betaína o AA libres (Mackie, 1987).

Además, la GB de los peces alimentados con harina de ave fue significativamente menor con respecto a los demás tratamientos, como pasó en los estudios realizados por Nengas et al. (1999) y Karapanagiotidis et al. (2019), donde una mayor inclusión de harina de ave repercutía en un descenso de grasa corporal, posiblemente por el menor crecimiento obtenido y la mala digestibilidad que pudo presentar este tipo de pienso.

Pero también hay que prestar especial atención al crecimiento de las doradas alimentadas con el pienso TRU. Los piensos comerciales de trucha disponibles en el mercado suelen ser bajos en n-3 y altos en n-6 de ácidos grasos (Halver, 1980), debido a los altos niveles de aceites vegetales que contienen, por lo que se puede observar como de altos son los valores de n-6 en el pienso TRU en comparación con los demás tratamientos y después en la composición de los peces (Figura 8 y 9). A parte, si comparamos la TAD y el ICA de este pienso, se puede ver que la eficiencia nutritiva de este pienso es limitada, ya que la ingesta ha sido relativamente elevada. Esta mala eficiencia nutritiva del pienso TRU puede ser debida principalmente a la baja digestibilidad de este, lo que debe ser comprobado, o incluso a un desequilibrio aminoacídico, como se ha observado en experimentos similares (Tabla 7).

En el presente trabajo, el porcentaje de GB se redujeron con la sustitución por fuentes ecológicas. Estos valores en los peces alimentados con dichos piensos puede deberse en parte a ciertos factores antinutritivos que limitan la digestión de las grasas, y por lo tanto su absorción. Además, el cambio en la eficiencia de la digestión y absorción de los lípidos de la dieta puede haber contribuido a la reducción de toda la grasa corporal total (Herrera, 2016).

En cuanto a la composición de ácidos grasos en el músculo de dorada está directamente relacionada con el perfil de ácidos grasos en las diferentes dietas, como se ha visto en otras especies como *Salmo salar* (Bell et al., 2001; Nanton et al., 2007) o *Dicentrarchus labrax* (Mourete & Bell, 2006). A pesar de que el perfil dietético de los ácidos grasos difiere por

el tipo de alimentación del pez, los resultados concuerdan con los estudios realizados por otros autores, donde los ácidos grasos saturados quedarían representados mayoritariamente por el C16:0 y el C18:0, y los monoinsaturados por el C:18:1n9 (Rodríguez et al., 2004). Siendo ambos grupos de ácidos grasos particularmente abundantes en sus dietas por ser altamente energéticos a través de la beta oxidación (Rodríguez et al., 1997; Cejas et al., 2003), e importantes a nivel estructural ya que permiten regular el grado de fluidez en la membrana en ambientes cambiantes de temperatura (Sargent et al., 1999).

Con base en estos resultados, los peces alimentados con un pienso aparentemente acumularon ácido linoleico, ya que algunos peces marinos son incapaces de producir ácidos grasos insaturados (HUFAs) a partir de PUFAs a una tasa fisiológicamente significativa debido a deficiencias aparentes en uno o más pasos del proceso (Zheng et al., 2004). La literatura reporta que aquellas especies que incluyen en su alimentación importantes cantidades de ácido linoleico (C18:2n-6) o linolénico (C18:3n-3) presentan menor concentración de los ácidos C18:1n-9t y C18:1n-9 en sus tejidos (Halver, 1980). Es probable que las variaciones de dichos ácidos en las especies analizadas se deban a múltiples factores, entre ellos la alimentación de los peces, elemento determinante para su composición (Steffens, 1997).

Entre la serie de n-6 (n-6 PUFAs), el ácido graso más abundante es el AL seguido del C20:3n-6, los cuales actúan como intermediarios metabólicos en la producción de ARA (Hernández, 2017). En la serie de n-3 (n-3 PUFAs) cabe destacar la abundancia de DHA, ya que las especies carnívoras presentan altos niveles de este ácido graso según estudios realizados por Rodríguez et al., (2004).

Las especies marinas necesitan incorporar en su dieta ARA, EPA y DHA, siendo particularmente abundantes en los tejidos de peces los dos n-3 HUFA. Esta necesidad es debida a su limitada capacidad para producir estos ácidos grasos a partir de sus precursores de 18 carbonos, el ALN para los n-3 o el AL para los n-6 (Watanabe et al., 1989; Støttrup, 1993; Sargent et al., 1999). El ácido graso ARA de los peces en este estudio presenta concentraciones menores (0,02 y 0,04) que los de otras especies de peces marinos como el atún, bagre, besugo, jurel y mero que presentan valores medios en ese orden para los AG saturados (0,11; 0,40; 0,14; 0,09 y 0,11 (g /100 g)); por lo que debe ser incluido en las dietas

para peces, ya que son ácidos grasos esenciales que tienen una gran importancia sobre la salud humana (Castro-Gonzales *et al.*, 2004). Por otro lado, el ácido graso saturado que presenta mayor concentración fue el C16:0, debido a que el ácido palmítico es reconocido como una fuente de energía metabólica durante el crecimiento y formación de huevo en los peces (Huynh *et al.*, 2007).

Al contrario que las especies dulceacuícolas, las especies marinas no son capaces de sintetizar ácidos grasos de 20 y 22 carbonos (EPA y DHA) a partir de su precursor (ALN), ya que obtienen los ácidos grasos HUFA, necesarios para ellos, del alimento (Sargent *et al.*, 1995). En los resultados obtenidos en este experimento, se observa una mayor proporción de AL y ALN como AGE, probablemente por una estimulación de la actividad de desaturación y elongación hepática por parte de los aceites vegetales que puede reflejar un aumento de la disponibilidad de sustrato (AL y/o ALN) junto con una reducción de la concentración del producto final (EPA y/o DHA), con altos niveles de este último inhibiendo la vía (Horrobin, 1991).

El ácido graso DHA fue el que se encontró en mayor cantidad en los AGE n-3, lo que refleja su esencialidad para los peces marinos (Bell *et al.*, 1986). Las especies marinas se caracterizan por bajos niveles de ALN y altas concentraciones de EPA y DHA, aunque en este estudio los niveles de EPA fueron menores. Los estudios de alimentación han demostrado que el DHA es superior al EPA como AGE para la mayoría de los peces marinos (Watanabe, 1993; Lee, 2001). Pero, aun así, en nuestros resultados los valores de EPA y DHA fueron menores que de normal. De hecho, es probable que los peces juveniles, aunque todavía necesiten AGE, requieran niveles más bajos de EPA y DHA en su dieta que los necesarios en la etapa larval. No obstante, la privación de DHA en la dieta de los juveniles de especies marinas pelágicas, como los carángidos y los túnidos, puede ser particularmente perjudicial debido a sus rápidas tasas de crecimiento (Lie *et al.*, 1987), especialmente cuando se les alimenta con piensos que contienen bajos niveles de aceite de pescado. Ambos ácidos grasos (EPA y DHA) no son producidos por los peces, sino por los organismos marinos unicelulares que son consumidos de forma habitual por las especies marinas (Bondia-Pons, 2007; Moyad, 2005), por esta razón es muy importante incluirlos en la dieta.

Es importante no ignorar el efecto de la composición de los lípidos en la composición de los ácidos grasos de los peces alimentados con piensos ecológicos. De los datos de las Tablas 5 y 6 se desprende claramente que la relación n-6/n-3 de los lípidos de los peces se ve muy afectada por la relación n-6/n-3 de los lípidos de la dieta. Cuando la relación dietética es muy alta en los ácidos grasos n-6, los peces tienden a alterar la proporción de PUFA incorporados en favor de los ácidos grasos n-3 (Halver, 1980).

Es común ver cambios en los perfiles de los ácidos grasos con la sustitución de harina de pescado por otras fuentes de lípidos, pero hay poca información sobre estos efectos de los cambios en la eficiencia de retención de los ácidos grasos. Tan solo los trabajos llevados a cabo en *Seriola dumerili* (Sorribes et al., 2020) alimentadas con altos niveles de sustitución de aceites de pescado por una mezcla de aceites vegetales, no obstante, en este caso no se obtuvieron diferencias tan altas en cuanto a eficiencia de retención, pues las diferencias en el crecimiento respecto al pienso Control no fueron tan relevantes. Por otro lado, se puede afirmar que están estrechamente relacionados con los valores productivos obtenidos para la grasa, que resultó significativamente menor en los peces alimentados con AVE, al igual que la baja retención de EPA y DHA, que junto con los menores niveles de estos ácidos grasos en las dietas ha podido ser el desencadenante de la mortalidad observado en este grupo.

6 CONCLUSIONES

- Los peces alimentados con los piensos que contenían un 30% de harina de pescado obtuvieron un mayor crecimiento, lo que demuestra que el crecimiento con un pienso ecológico con harina de pescado es similar al de un pienso convencional con los mismos niveles de este ingrediente.
- La gran variabilidad de la composición de las materias primas ecológicas se reflejó en la composición de los piensos ecológicos, con un menor contenido proteico. Esto pudo ser la causa del menor crecimiento de los peces alimentados con trucha y lubina como ingrediente proteico, en relación con los control. Por ello, parece importante poder estandarizar la composición de estos insumos para que se puedan emplear regularmente en piensos ecológicos.

- La harina de ave empleada en el presente experimento no es un ingrediente proteico recomendable, ya que ha dado bajos resultados de crecimiento y de eficiencia nutritiva, además de una alta mortalidad.
- Los niveles de grasa bruta se redujeron en los piensos ecológicos, lo que puede deberse a ciertos factores antinutricionales que provoquen una deficiencia en la digestión y absorción de las grasas.
- La composición de ácidos grasos en el músculo de dorada estaba directamente relacionada con el perfil de ácidos grasos en las diferentes dietas.
- La inclusión de materias primas animales 100% ecológicos en *Sparus aurata*, trae como consecuencia un aumento de ácido linoleico (serie n-6) y ácido linolénico (serie n-3), y una disminución de los ácidos grasos n-3, especialmente EPA y DHA.
- Para no afectar seriamente la relación de los ácidos grasos n-3/n-6, y la de sus ácidos grasos esenciales, es recomendable el uso de materias primas en combinación con fuentes marinas que contengan en gran cantidad los ácidos grasos esenciales de la serie n-3 (EPA y DHA).
- Las eficiencias de retención de los ácidos grasos son mayores en el pienso no ecológico, al contrario que en los piensos con trucha y lubina ecológica, que registraron los valores más bajos.

7 BIBLIOGRAFÍA

ACKMAN, R. G. (2001). Fish is more than a brain food. IIFET 2000 Proceedings.

APROMAR 2019. La acuicultura marina de peces en España.

APROMAR 2020. La acuicultura en España.

Bartlett, M. S. (1937). Properties of sufficiency and statistical tests. Proceedings of the Royal Society of London. Series A-Mathematical and Physical Sciences, 160(901), 268-282.

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. *The Journal of nutrition*, 131(5), 1535-1543.

Bell, M.V., Henderson, R.J., Sargent, J.R., 1986. The role of polyunsaturated fatty acids in fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 4, 711–719.

Bondia-Pons, I. 2007. Estudio del perfil de Ácidos grasos en la evaluación de la dieta Mediterránea como patrón de dieta saludable en poblaciones europeas. Universitat de Barcelona, Facultat de Farmàcia. Departament de Nutrició i Bromatologia. Tesis de Doctorado. 290 pp.

Buschmann, A., & Fortt, A. (2005). Efectos ambientales de la acuicultura intensiva y alternativas para un desarrollo sustentable. *Revista Ambiente y Desarrollo*, 21(3), 58-64.

Castro-González, M.I., L.Q.A. Anayté, J.L. Silencio, L. Cassis & H. Ledesma. 2004. Perfil lipídico de 25 pescados marinos mexicanos con especial énfasis en sus ácidos grasos n-3 como componentes nutraceuticos.

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 sea bream (*Diplodus sargus*). *Aquaculture*, 216(1-4), 299-313.

Cho, Y. & D. Bureau. 1999. Development of bioenergetic models and the Fish-PrFEQ software to estimate production, feeding, ration and waste output in aquaculture. *Aquatic Living Resources*, 11(4):199-210.

Colautti, D. C., & García de Souza, J. R. (2016). La acuicultura ecológica como alternativa productiva rural.

Costa-Pierce. (2003). Ecological Aquaculture. The Evolution of Blue Revolution. Department of Fisheries, Animal and Veterinary Science.. University of Rhode Island. In *BioScience* (Vol. 24).

DE FRANCESCO, M.; PARISI, G.; MÉDALE, F.; LUPI, P.; KAUSHIK, S.; POLI, B. (2004). Effect of long-term feeding with a plant protein mixture based diet on growth and body/fillet quality traits of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 236: 413-429

Domezain, A., Hernando, J. A., Portela, C., Domezain, J., & García-Gallego, M. (2006). CALIDAD AGROALIMENTARIA Y BIENESTAR ANIMAL EN LA ACUICULTURA ECOLÓGICA. In *VII Congreso SEAZ Zaragoza. España*.

Ecoagricultor. (2019). ¿Qué son los productos ecológicos?.

Estruch, G., Collado, M. C., Monge-Ortiz, R., Tomás-Vidal, A., Jover-Cerdá, M., Peñaranda, D. S., ... & Martínez-Llorens, S. (2018). Long-term feeding with high plant protein based diets in gilthead seabream (*Sparus aurata*, L.) leads to changes in the inflammatory and immune related gene expression at intestinal level. *BMC veterinary research*, 14(1), 302.

Estruch, G., Collado, M. C., Peñaranda, D. S., Vidal, A. T., Cerdá, M. J., Martínez, G. P., & Martínez-Llorens, S. (2015). Impact of fishmeal replacement in diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata*) on the gastrointestinal microbiota determined by pyrosequencing the 16S rRNA gene. *PloS one*, 10(8), e0136389.

Estruch, G., Martínez-Llorens, S., Tomás-Vidal, A., Monge-Ortiz, R., Jover-Cerdá, M., Brown, P. B., & Peñaranda, D. S. (2020). Impact of high dietary plant protein with or without marine ingredients in gut mucosa proteome of gilthead seabream (*Sparus aurata*, L.). *Journal of Proteomics*, 216, 103672.

FAO (2018). Aquaculture topics and activities. Acuicultura. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO.

FAO. (2005). Programa de información de especies acuáticas. *Sparus aurata*. Programa de información de especies acuáticas. Texto de Colloca, F.; Cerasi, S. In: Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO.

FAO. 2020. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action*. Rome.

GRASSO, V.; MONTERO, D.; ACOSTA, F. (2008). La inclusión de aceites vegetales en el pienso: Efecto sobre algunos parámetros del sistema inmune de juveniles de dorada (*Sparus aurata*, L.). *Vector Plus*, 31.

Guillaume, J., S. Kaushik, P. Bergot & R. Metailler. 2004. *Nutrición y alimentación de peces y crustáceos*. Edic. Mundi-Prensa de España, S.A. 475 pp.

Halver, J. E. (1980). Lipids and fatty acids. *Pillay; TVR (Ed.). Fish Feed and Technology, Aquaculture Development and Coordination Programme. ADCP/REP/80/11, FAO/UNDP Training Course in Fish Feed Technology, College of Fisheries, Washington, Seattle, 9*.

Hardy, R., & Barrows. 2002. Diet Formulation and Manufacture. p: 505-600. In, Halver, J & R. Hardy (Ed). *Fish Nutrition*. 3^{era}, Edic. Elsevier. San Diego, California, USA

Hernández García, R. (2017). Estudio del metabolismo de ácidos grasos en peces marinos. Comparación del perfil de ácidos grasos del músculo de tres especies de hábitos alimenticios diferentes.

Herrera Castillo, N. M. (2016). Efecto de la sustitución de la harina de pescado por una mezcla vegetal y animal en piensos, en el crecimiento y composición nutricional de *Seriola dumerili*.

Horrobin, D. F. (1991). Interactions between n-3 and n-6 essential fatty acids (EFAs) in the regulation of cardiovascular disorders and inflammation. *Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids*, 44(2), 127-131.

Huynh, M. D., Kitts, D. D., Hu, C., & Trites, A. W. (2007). Comparison of fatty acid profiles of spawning and non-spawning Pacific herring, *Clupea harengus pallasii*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 146, 504-511. Doi: 10.1016/j.cbpb.2006.11.023.

HWANG, D. (1989). Essential fatty acids and immune response. *The FASEB Journal*, 3(9): 2052-2061

IZQUIERDO, M. S.; MONTERO, D.; ROBAINA, L.; CABALLERO, M. J.; ROSENLUND, 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 acid profiles by fish oil feeding. *Aquaculture*, 250(1-2): 431-444.

IZQUIERDO, M. S.; OBACH, A.; ARANTZAMENDI, L.; MONTERO, D.; ROBAINA, L.; ROSENLUND, G. (2003). Dietary lipid sources for seabream and seabass: growth performance, tissue composition and flesh quality. *Aquaculture Nutrition*, 9(6): 397-407.

Jover, M. (2016). Futuro de la alimentación de los peces en granjas marinas. *AquaTIC*, 37: 78-89.

Karapanagiotidis, I. T., Psoufakis, P., Mente, E., Malandrakis, E., & Golomazou, E. (2019). Effect of fishmeal replacement by poultry by-product meal on growth performance,

proximate composition, digestive enzyme activity, haematological parameters and gene expression of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture Nutrition*, 25(1), 3-14.

Lee, S-M. 2001. Review of the lipid and essential fatty acid requirements of rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Aquaculture*, 32(1):8-17.

Lie, Ø., Lied, E., & Lambertsen, G. (1987). Lipid digestion in cod (*Gadus morhua*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 88(2), 697-700.

Little, D. C., Newton, R. y Beveridge, M. C. M. 2016. Aquaculture: a rapidly growing and significant source of sustainable food? Status, transitions and potential. Conference on 'The future of animal products in the human diet: health and environmental concerns', Symposium 3: Alternatives to meat, Nottingham (Reino Unido), 6-9 de julio de 2015. *Proceedings of the Nutrition Society*, 75(3): 274-286.

Mackie, A. M. (1987). Feeding stimulants for fish: applications in mariculture.

Milián-Sorribes, M. C., Martínez-Llorens, S., Cruz-Castellón, C., Jover-Cerdá, M., & Tomás-Vidal, A. (2020). Effect of fish oil replacement and probiotic addition on growth, body composition and histological parameters of yellowtail (*Seriola dumerili*). *Aquaculture Nutrition*.

Ministerio de Agricultura, P. y A. (2019). Agricultura ecológica estadísticas 2018. *Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación*.

Ministerio de Medio Ambiente, M. R. y M. (2011). *Diversificación en acuicultura : Una herramienta para la sostenibilidad Diversificación en acuicultura : Una herramienta para la sostenibilidad*.

Monge-Ortiz, R., Martínez-Llorens, S., Lemos-Neto, M. J., Falcó-Giaccaglia, S. L., Pagán, M. J., Godoy-Olmos, S., ... & Tomás-Vidal, A. (2020). Growth, sensory and chemical

characterization of Mediterranean yellowtail (*Seriola dumerili*) fed diets with partial replacement of fish meal by other protein sources. *Aquaculture Reports*, 18, 100466.

Mourente, G., & Bell, J. G. (2006). Partial replacement of dietary fish oil with blends of vegetable oils (rapeseed, linseed and palm oils) in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) over a long term growth study: effects on muscle and liver fatty acid composition and effectiveness of a fish oil finishing diet. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 145(3-4), 389-399.

Moyad, M.A. 2005. An introduction to dietary/supplemental omega-3 fatty acids for general health and prevention: Part I Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations; 23:28-35.

N. Ahmed, S. Thompson, M. Glaser Global aquaculture productivity, environmental sustainability, and climate change adaptability *Environ Manag*, 63 (2019), pp. 159-172

Nanton, D. A., Vegusdal, A., Rørå, A. M. B., Ruyter, B., Baeverfjord, G., & Torstensen, B. E. (2007). Muscle lipid storage pattern, composition, and adipocyte distribution in different parts of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed fish oil and vegetable oil. *Aquaculture*, 265(1-4), 230-243.

Nengas, I., Alexis, M. N., & Davies, S. J. (1999). High inclusion levels of poultry meals and related byproducts in diets for gilthead seabream *Sparus aurata* L. *Aquaculture*, 179(1-4), 13-23.

O'Fallon, J.V., J.R. Busboom, M.L. Nelson & C.T. Gaskins. 2007. A direct method for fatty acid methyl ester synthesis: Application to wet meat tissues, oils, and feedstuffs. *J. Anim. Sci.*, 85: 1511-1521.

Omnes, M. H., Le Goasduff, J., Le Delliou, H., Le Bayon, N., Quazuguel, P., & Robin, J. H. (2017). Effects of dietary tannin on growth, feed utilization and digestibility, and carcass

composition in juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture Reports*, 6, 21-27.

PIEDECAUSA, M. A.; MAZÓN, M. J.; GARCÍA, B. G.; HERNÁNDEZ, M. D. (2007). Effects of total replacement of fish oil by vegetable oils in the diets of sharpnose seabream (*Diplodus puntazzo*). *Aquaculture*, 263(1-4): 211-219.

PUIG, J. V. (2007). Métodos físicos y químicos para la evaluación de la calidad y frescura de los recursos y productos marinos. Universidad Central de Venezuela.

Rayó, S. M. (1990). Los piensos en acuicultura. *MG Mundo ganadero*, (10), 58-60.

Rodríguez C, Acosta C, Badía P, Cejas JR, Santamaría FJ, Lorenzo A. 2004. Assessment of lipid and essential fatty acid requirements of black seabream (*Spondyllosoma cantharus*) by comparison of lipid composition in muscle and liver of wild and captive adult fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 139(B): 619–629.

Rodríguez, C., Pérez, J. A., Díaz, M., Izquierdo, M. S., Fernández-Palacios, H., & Lorenzo, A. (1997). Influence of the EPADHA ratio in rotifers on gilthead seabream (*Sparus aurata*) larval development. *Aquaculture*, 150(1-2), 77-89.

Rueda González, F. M. (2011). Breve historia de una gran desconocida: la acuicultura. *Eubacteria*, nº 26 (2011).

Sabbagh, M., Schiavone, R., Brizzi, G., Sicuro, B., Zilli, L., & Vilella, S. (2019). Poultry by-product meal as an alternative to fish meal in the juvenile gilthead seabream (*Sparus aurata*) diet. *Aquaculture*, 511, 734220.

Saiz García, M. (2019). CRECIMIENTO DE LA LUBINA ALIMENTADA CON PIENSOS ECOLÓGICOS CONTENIENDO DIFERENTES NIVELES DE HARINA DE PESCADO.

Salas, C. (2008). ¿ Por qué comprar un programa estadístico si existe R?. *Ecología austral*, 18(2), 223-231.

Sargent, J. R. (1995). Origins and function of eggs lipids: Nutritional implication. *Broodstock management and egg and larval quality*, 353-372.

Sargent, J. R., Bell, J. G., Bell, M. V., Henderson, R. J., & Tocher, D. R. (1993). The metabolism of phospholipids and polyunsaturated fatty acids in fish. *Coastal and estuarine studies*, 103-103.

Sargent, J., Bell, G., McEvoy, L., Tocher, D., & Estevez, A. (1999). Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture*, 177(1-4), 191-199.

Sargent, J.R., Bell, J.G., McEvoy, L.A., Tocher, D., Estevez, A., 1999. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture* 177, 191–199.

Steffens, W. (1997). Effects of variation in essential fatty acids in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humans. *Aquaculture*, 151, 97-119. Doi: 0044-8486/97.

Steffens, W. (1997). Effects of variation in essential fatty acids in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humans. *Aquaculture*, 151, 97-119. Doi: 0044-8486/97.

Støttrup, J. G. 1993. First feeding in marine fish larvae, nutritional and environmental aspects. In: B. T. Walther and H. J. Fyhn (Editors), *Physiological and Biochemical Aspects of Fish Development*. University of Bergen, pp. 123-131.

Underwood, A. J. (1997). *Experiments in ecology: their logical design and interpretation using analysis of variance*. Cambridge University Press.

Watanabe, T., 1993. Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. *J. World Aquac. Soc.* 24, 152 – 161.

Watanabe, T., M. S. Izquierdo, T. Takeuchi, S. Y. Satoh and C. Kitajima. 1989. Comparison between eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in terms of essential fatty acid efficacy in larval red seabream. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 55, 1635-1640.

Yan J, Guo C, Dawood MAO, Gao J (2017) Effects of dietary chitosan on growth, lipid metabolism, immune response and antioxidant-related gene expression in *Misgurnus anguillicaudatus*. *Benefic Microbes* 8(3):439–449. <https://doi.org/10.3920/BM2016.0177>

Zheng X, Seiliez I, Hastings N, Tocher DR, Panserat S, Dickson CA, Bergot P, Teale AJ. 2004. Characterization and comparison of fatty acyl D6 desaturase cDNAs from freshwater and marine teleost fish species. *Comp. Biochem. Physiol.* 139(B): 269–279.