

**IV MASTER UNIVERSITARIO INTERNACIONAL EN ACUICULTURA**

**Las Palmas de Gran Canaria, España**

**2006**

**HARINAS DE KRILL Y DE CARCASA DE LANGOSTINO EN DIETAS PARA**

**BESUGO (*PAGELLUS BOGARAVEO*)**

**ANA MERCEDES FERNÁNDEZ CABALLERO**

**HARINAS DE KRILL Y DE CARCASA DE LANGOSTINO EN DIETAS PARA  
BESUGO (PAGELLUS BOGARAVEO)**

**ANA MERCEDES FERNÁNDEZ CABALLERO**

Trabajo realizado en el Centro de Investigaciones Mariñas (CIMA) de la Xunta de Galicia situado en la localidad de Villanova de Arousa, Pontevedra, España, bajo la dirección de D<sup>a</sup> Fátima Linares, D<sup>a</sup> Mercedes Olmedo y D<sup>a</sup> Lidia Robaina.

Y presentando como requisito parcial para la obtención de Título de Master Universitario Internacional de Acuicultura, otorgado por la Universidad de Las Palmas de Gan Canaria (ULPGC), el Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM), y el Centro Internacional de Altos Estudios Agronómicos del Mediterráneo de Zaragoza (CIEHAM).

Directoras

Autora

Fdo: D<sup>a</sup> Fátima Linares,

Fdo: Ana M. Fernández.

D<sup>a</sup> Mercedes Olmedo y D<sup>a</sup> Lidia Robaina.

Las Palmas de Gran Canaria, a 31 de Enero de 2006.

**A mi madre, mi marido y mi hija  
Aurora, Karim y Salma.**

## **Agradecimientos**

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a mis directoras de tesina en Galicia: Dña. Fátima Linares y a la Dra. Mercedes Olmedo, por su dedicación y su constante apoyo, pues han sido dos verdaderas amigas.

A mi directora de tesina en Canarias, la Dra. Lidia Robaina, del ICCM por su ayuda para conseguir esta tesina y por sus consejos durante estos meses, tan especiales para ella y a su hija Sara por amenizarnos las largas horas de trabajo con sus sonrisas y juegos.

A Don Agustín Fernández, responsable del departamento de I+D de Proaqua, por su interés y ayuda.

A mis compañeros y amigos de departamento en el CIMA (M<sup>a</sup> José, Pablo y Nerea), por su ayuda y apoyo en todo momento, tanto en los muestreos y en el laboratorio como en mi vida personal, a los técnicos del CO de Vigo (Blanca, Juan Carlos, Javier y Cristina), a los buzos (Antonio y Luis) y a los bateiros de la asociación Illa do Santos, por su ayuda en los muestreos y en especial a Gema Pazos que además de ser un ejemplo a seguir en el laboratorio, es una gran amiga y confidente.

A Tatiana y en especial a Fefi, doctorandas del ICCM, por su ayuda durante la tesina, por sus explicaciones y por animarme cuando pensaba que nunca terminaría este trabajo.

A los profesores del master y en especial a la Dra. Carmen Hernández-Cruz y a Jezabel, por habernos sabido escuchar y dirigirnos cuando estábamos perdidos.

A los profesores de prácticas, Domi, Valencia, Javi, Rhachid, David, Gloria etc... por sus consejos y paciencia en el laboratorio y en la planta de cultivo.

---

A los compañeros del master Patri, Gonzalo, Juan, Arancha, Mohammed, Enaitz, Dee, etc... y muy especialmente a Susi, Salma y M<sup>a</sup> José por animarme cuando pensaba que no conseguiría acabar este master tan duro.

Y por último a mi familia, mi madre Aurora, mi marido Karim y mi hija Salma, por el gran esfuerzo personal que han hecho durante este último año, para que yo pudiera conseguir una de mis metas, a mis abuelos (Agustín y Lola) por estar siempre en mi corazón animándome, a mi prima Cygni, a mis ahijados Verenita y Docherty y a mis amigas (Pili, M<sup>a</sup> Eugenia, Yoli, Maje, Natalia, Laura, Rosana, Vero y Belén) por apoyarme incondicionalmente durante este último año.

---

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. La acuicultura en el mundo y particularmente en España.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2. Diversificación de las especies de cría.....</b>	<b>5</b>
<b>1.3. El Besugo (<i>Pagellus Bogaraveo</i>, Brünnich, 1768).....</b>	<b>9</b>
<b>1.3.1. Taxonomía .....</b>	<b>9</b>
<b>1.3.2. Características morfológicas y biológicas. ....</b>	<b>10</b>
<b>1.3.3. Capturas en el medio natural .....</b>	<b>13</b>
<b>1.3.4. Evolución de su cultivo.....</b>	<b>13</b>
<b>1.4. Problemas de coloración en la piel.....</b>	<b>14</b>
<b>1.5. Pigmentos .....</b>	<b>17</b>
<b>1.5.1. Los Pigmentos Carotenoides.....</b>	<b>17</b>
<b>1.5.2. Metabolismo de los carotenoides: Digestibilidad, absorción y distribución. ....</b>	<b>20</b>
<b>1.5.3. Utilización de los carotenoides en acuicultura.....</b>	<b>25</b>
<b>1.6. Importancia de las Proteínas.....</b>	<b>28</b>
<b>1.7. Importancia de los Lípidos.....</b>	<b>30</b>
<b>1.8. Objetivos.....</b>	<b>34</b>
<b>2. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>36</b>
<b>2.1. Animales experimentales.....</b>	<b>36</b>
<b>2.2. Instalaciones.....</b>	<b>36</b>
<b>2.3. Dietas.....</b>	<b>38</b>
<b>2.4. Alimentación.....</b>	<b>39</b>
<b>2.5. Parámetros ambientales.....</b>	<b>40</b>

---

2.6.	Muestras.	41
2.6.1.	<i>Peso y talla.</i>	41
2.6.2.	<i>Determinación del color.</i>	41
2.7.	Parámetros biológicos determinados.	44
2.8.	Métodos analíticos de composición.	45
2.8.1.	<i>Peso seco (Humedad).</i>	45
2.8.2.	<i>Cenizas.</i>	46
2.8.3.	<i>Proteínas totales (método Bradford).</i>	46
2.8.4.	<i>Extracción de Lípidos.</i>	48
2.8.5.	<i>Determinación de lípidos por gravimetría.</i>	48
2.8.6.	<i>Ácidos grasos. (Cromatografía de gases).</i>	49
2.8.7.	<i>Extracción de Carotenoides.</i>	51
2.9.	Análisis estadístico.	52
3.	RESULTADOS	53
3.1.	Los Piensos.	53
3.1.1.	<i>Análisis bioquímico de los piensos.</i>	53
3.1.1.1.	<i>Análisis de Proteínas, Lípidos, Humedad y Cenizas.</i>	53
3.1.1.2.	<i>Análisis de ácidos grasos.</i>	54
3.2.	Crecimiento.	56
3.2.1.	<i>Experimento 1.</i>	56
3.2.2.	<i>Experimento 2.</i>	58
3.4.	Análisis bioquímico de los peces.	61
3.3.1.	<i>Experimento 1.</i>	61
3.3.1.1.	<i>Análisis de Proteínas, Lípidos, Humedad y Cenizas.</i>	61

---

3.3.1.2.	<i>Análisis de ácidos grasos.</i>	63
3.3.1.3.	<i>Concentración de carotenoides.</i>	70
3.3.2.	<i>Experimento 2.</i>	71
3.3.2.1.	<i>Análisis de Proteína, Lípidos, Humedad y Cenizas.</i>	71
3.3.2.2.	<i>Análisis de ácidos grasos.</i>	73
3.3.2.3.	<i>Concentración de carotenoides.</i>	81
3.4.	<i>Análisis de color.</i>	82
3.4.1.	<i>Experimento 1.</i>	82
3.4.2.	<i>Experimento 2.</i>	87
4	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>95</b>
5	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>111</b>
6	<b>REFERENCIAS.</b>	<b>112</b>

**Lista de Figuras**

**Figura 1:** Datos de producción y precio de dorada en España en los últimos años (1997-2005). 4

**Figura 2:** Evolución de las capturas de *Pagellus bogaraveo* (1998-2005)..... 7

**Figura 3:** *Pagellus bogaraveo*..... 9

**Figura 4:** Besugos del medio natural y besugos de acuicultura..... 15

**Figura 5:** La astaxantina (sus 3 esteroisómeros) y la cantaxantina..... 18

**Figura 6:** Rutas metabólicas de la astaxantina y la cantaxantina en la piel de la trucha arcoiris..... 23

**Figura 7:** Jaula Illa dos Santos..... 37

**Figura 8:** Situación de los módulos de los experimentos en la jaula Illa dos Santos..... 38

**Figura 9:** Datos de temperatura y salinidad en el polígono de Bueu (BII1) en el año 2005..... 40

**Figura 10:** Representación del modelo de color espacial usado en este estudio (CIEab)..... 42

**Figura 11:** Zonas donde se midió el color al *Pagellus bogaraveo*..... 43

**Figura 12:** Composición bioquímica (% proteína y % lípidos expresados en % de peso seco) de los piensos..... 53

**Figura 13:** Porcentaje de a.g. PUFA, a.g.saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma n-3$ ,  $\Sigma n-6$ , n-3/n-6 y DHA/EPA del pienso control y el pienso pigmentado..... 54

**Figura 14:** Crecimiento en peso de los ejemplares de besugo durante el periodo experimental (Exp.1)..... 57

**Figura 15:** Crecimiento en talla de los ejemplares de besugo durante el periodo experimental (Exp.1)..... 57

**Figura 16:** Crecimiento en peso de los ejemplares de de besugo durante el periodo experimental (Exp.2)..... 59

**Figura 17:** Crecimiento en talla de los ejemplares de besugo durante el periodo experimental (Exp.2)..... 59

**Figura 18:** Contenido en proteína (% de peso seco) en las muestras de músculo a lo largo del periodo experimental (Exp1)..... 62

**Figura 19:** Contenido en lípidos (% de peso seco) en las muestras de músculo a lo largo del periodo experimental (Exp 1)..... 62

**Figura 20:** Contenido en proteína (% de peso seco) en las muestras de hígado a lo largo del periodo experimental (Exp1)..... 62

**Figura 21:** Contenido en lípidos (% de peso seco) en las muestras de hígado a lo largo del periodo experimental (Exp 1)..... 62

**Figura 22:** Valores iniciales de a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma n-3$ ,  $\Sigma n-6$ , n-3/n-6 y DHA/EPA expresados en % total de a.g. en músculo e hígado de los peces analizados (Exp 1)..... 69

**Figura 23:** Valores del muestreo medio de a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma n-3$ ,  $\Sigma n-6$ , n-3/n-6 y DHA/EPA expresados en % total de a.g. en músculo de los peces alimentados con el pienso control y el pienso pigmentado (Exp1)..... 69

**Figura 24:** Valores del muestreo medio de a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma n-3$ ,  $\Sigma n-6$ , n-3/n-6 y DHA/EPA expresados en % total de a.g. en hígado de los peces alimentados con el pienso control y el pienso pigmentado (Exp1)..... 69

**Figura 25:** Valores finales de a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma n-3$ ,  $\Sigma n-6$ , n-3/n-6 y DHA/EPA expresados en % total de a.g. en músculo de los peces alimentados con el pienso control y el pienso pigmentado (Exp1)..... 69

**Figura 26:** Valores finales de a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma n-3$ ,  $\Sigma n-6$ , n-3/n-6 y DHA/EPA expresados en % total de a.g. en hígado de los peces alimentados con el pienso control y el pienso pigmentado (Exp 1).....69

**Figura 27:** Contenido en proteína (% de peso seco) en las muestras de músculo a lo largo del periodo experimental (Exp2).....72

**Figura 28:** Contenido en lípidos (% de peso seco) en las muestras de músculo a lo largo del periodo experimental (Exp 2).....72

**Figura 29:** Contenido en proteína (% de peso seco) en las muestras de hígado a lo largo del periodo experimental (Exp2).....73

<b>Figura 30:</b> Contenido en lípidos (% de peso seco) en las muestras de hígado a lo largo del periodo experimental (Exp 2).....	73
<b>Figura 31:</b> Contenido en proteína (% de peso seco) en las gónadas de los peces analizados a lo largo del periodo experimental (Exp2).....	73
<b>Figura 32:</b> Contenido en lípidos (% de peso seco) en las muestras de gónadas a lo largo del periodo experimental (Exp 2).....	73
<b>Figura 33:</b> Valores iniciales de a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados, $\Sigma n-3$ , $\Sigma n-6$ , n-3/n-6 y DHA/EPA expresados en % total de a.g. en músculo e hígado de los peces analizados (Exp 2).....	80
<b>Figura 34:</b> Valores del muestreo medio de a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados, $\Sigma n-3$ , $\Sigma n-6$ , n-3/n-6 y DHA/EPA expresados en % total de a.g. en el músculo de los peces alimentados con el pienso control y el pienso pigmentado (Exp 2).....	80
<b>Figura 35:</b> Valores del muestreo medio de a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados, $\Sigma n-3$ , $\Sigma n-6$ , n-3/n-6 y DHA/EPA expresados en % total de a.g. en el hígado de los peces alimentados con el pienso control y el pienso pigmentado (Exp 2).....	80
<b>Figura 36:</b> Valores finales de a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados, $\Sigma n-3$ , $\Sigma n-6$ , n-3/n-6 y DHA/EPA expresados en % total de a.g. en el músculo de los peces alimentados con el pienso control y el pienso pigmentado (Exp 2).....	80
<b>Figura 37:</b> Valores finales de a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados, $\Sigma n-3$ , $\Sigma n-6$ , n-3/n-6 y DHA/EPA expresados en % total de a.g. en el hígado de los peces alimentados con el pienso control y el pienso pigmentado (Exp 2).....	80
<b>Figura 38:</b> Variación de L (claridad) en la piel a las 0 y 18 horas posteriores al sacrificio en hielo (Exp 1).....	85
<b>Figura 39:</b> Variación de hue (color) en la piel a las 0 y 18 horas posteriores al sacrificio en hielo (Exp1).....	86
<b>Figura 40:</b> Variación de croma (intensidad) en la piel a las 0 y 18 horas posteriores al sacrificio en hielo (Exp1).....	86

**Figura 41:** Besugos alimentados con la dieta control y con la dieta pigmentada al final del periodo experimental..... 87

**Figura 42:** Variación de L (claridad) en la piel a las 0 y 18 horas posteriores al sacrificio en hielo (Exp 2)..... 92

**Figura 43:** Variación de hue (color) en la piel a las 0 y 18 horas posteriores al sacrificio en hielo (Exp 2)..... 93

**Figura 44:** Variación de croma (intensidad) en la piel a las 0 y 18 horas posteriores al sacrificio en hielo (Exp 2)..... 93

**Figura 45:** Besugos alimentado con el pienso control y el pienso pigmentado..... 94

**Figura 46:** Besugo alimentado con el pienso pigmentado, besugo proveniente del medio natural y besugo alimentado con el pienso control..... 94

**Figura 47:** Degradación de la astaxantina en la piel..... 104

---

**Lista de Tablas**

<b>Tabla I:</b> Principales países productores de dorada y lubina en la zona Mediterránea....	3
<b>Tabla II:</b> Precios de venta de dorada y lubina en el año 2002 en la zona Mediterránea (Euro/Kg).....	3
<b>Tabla III:</b> Producción de Acuicultura en España (2003-2005).....	6
<b>Tabla IV:</b> Estados de madurez gonadal en <i>Pagellus bogaraveo</i> .....	12
<b>Tabla V:</b> Formulación y composición teórica de los piensos utilizados.....	39
<b>Tabla VI:</b> nº individuos, peso medio, biomasa total, % de alimentación diaria y densidad por módulo.....	40
<b>Tabla VII:</b> Composición analítica de los piensos control y pigmentado (% de peso seco $\pm$ SD).....	53
<b>Tabla VIII:</b> Composición de ácidos grasos, PUFA, saturados, monoinsaturados, $\Sigma$ n-3, $\Sigma$ n-6, relación n-3/n-6 y DHA/EPA, expresado en ng/ug P.seco y % total de a.g. de los piensos.....	55
<b>Tabla IX:</b> Evolución del peso y la longitud de los peces a lo largo del periodo experimental (Exp 1).....	56
<b>Tabla X:</b> Parámetros de crecimiento y utilización del alimento para los dos piensos experimentales (Exp 1).....	58
<b>Tabla XI:</b> Evolución del peso y la longitud de los peces a lo largo del periodo experimental (Exp 2).....	59
<b>Tabla XII:</b> Parámetros de crecimiento y utilización del alimento para los dos piensos experimentales (Exp 2).....	60
<b>Tabla XIII:</b> Valores iniciales, medios y finales de los porcentajes de proteína, lípidos, humedad y cenizas expresados en % de peso seco en el músculo e hígado de los peces alimentados con el pienso pigmentado y el pienso control (Exp 1).....	62
<b>Tabla XIV:</b> Valores iniciales de ácidos grasos, a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados, $\Sigma$ n-3, $\Sigma$ n-6, n-3/n-6 y DHA/EPA en músculo e hígado de los dos grupos de peces expresados en ng/ug P.seco y % total de a.g (Exp 1).....	64

**Tabla XV:** Valores del muestreo medio del análisis de ácidos grasos, a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma n-3$ ,  $\Sigma n-6$ , n-3/n-6 y DHA/EPA en músculo e hígado de los peces del experimento alimentados con el pienso control, expresados en ng/ug P.seco y % total de ácidos grasos (Exp 1)..... 65

**Tabla XVI:** Valores del muestreo medio del análisis de ácidos grasos, a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma n-3$ ,  $\Sigma n-6$ , n-3/n-6 y DHA/EPA en músculo e hígado de los peces del experimento alimentados con el pienso pigmentado, expresados en ng/ug P.seco y % total de ácidos grasos (Exp 1)..... 66

**Tabla XVII:** Valores finales de ácidos grasos, a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma n-3$ ,  $\Sigma n-6$ , n-3/n-6 y DHA/EPA en músculo e hígado de los peces del experimento alimentados con el pienso control, expresados en ng/ug P.seco y % total de ácidos grasos (Exp 1)..... 67

**Tabla XVIII:** Valores finales de ácidos grasos, a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma n-3$ ,  $\Sigma n-6$ , n-3/n-6 y DHA/EPA en músculo e hígado de los peces del experimento alimentados con el pienso pigmentado, expresados en ng/ug P.seco y % total de ácidos grasos (Exp 1)..... 68

**Tabla XIX:** Análisis de los ácidos grasos de las gónadas durante el último muestreo..... 70

**Tabla XX:** Evolución de la concentración de carotenoides totales en la piel de los besugos a lo largo del periodo experimental (Exp 1)..... 70

**Tabla XXI :** Valores iniciales, medios y finales de los porcentajes de proteína, lípidos, humedad y cenizas expresados en % de peso seco en el músculo, hígado y gónadas de los peces alimentados con el pienso pigmentado y el pienso control (Exp 2)..... 72

**Tabla XXII:** Valores iniciales de ácidos grasos, a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma n-3$ ,  $\Sigma n-6$ , n-3/n-6 y DHA/EPA en músculo, hígado y gónadas de los dos grupos de peces expresados en ng/ug P.seco y % total de a.g (Exp 2)..... 75

**Tabla XXIII:** Valores del muestreo medio del análisis de ácidos grasos, a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma n-3$ ,  $\Sigma n-6$ , n-3/n-6 y DHA/EPA en músculo, hígado y gónadas de los peces del experimento alimentados con el pienso control, expresados en ng/ug P.seco y % total de ácidos grasos (Exp 2)..... 76

<b>Tabla XXIV:</b> Valores del muestreo medio del análisis de ácidos grasos, a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados, $\Sigma n-3$ , $\Sigma n-6$ , $n-3/n-6$ y DHA/EPA en músculo, hígado y gónadas de los peces del experimento alimentados con el pienso pigmentado, expresados en ng/ug P.seco y % total de ácidos grasos (Exp 2).....	77
<b>Tabla XXV:</b> Valores finales de ácidos grasos, a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados, $\Sigma n-3$ , $\Sigma n-6$ , $n-3/n-6$ y DHA/EPA en músculo, hígado y gónadas de los peces del experimento alimentados con el pienso control, expresados en ng/ug P.seco y % total de ácidos grasos (Exp 2).....	78
<b>Tabla XXVI:</b> Valores finales de ácidos grasos, a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados, $\Sigma n-3$ , $\Sigma n-6$ , $n-3/n-6$ y DHA/EPA en músculo, hígado y gónadas de los peces del experimento alimentados con el pienso pigmentado, expresados en ng/ug P.seco y % total de ácidos grasos (Exp 2).....	79
<b>Tabla XXVII:</b> Evolución de la concentración de carotenoides totales en la piel de los besugos a lo largo del periodo experimental.....	81
<b>Tabla XXVIII:</b> Evolución de la concentración de carotenoides totales en el hígado de los besugos a lo largo del periodo experimental.....	82
<b>Tabla XXIX:</b> Concentración de carotenoides totales en la piel e hígado de los besugos procedentes del medio natural.....	82
<b>Tabla XXX:</b> Valores de los parámetros de color: L (claridad), hue (color) y croma (intensidad) en la piel (0 horas) en el muestreo inicial, medio y final (Exp 1).....	84
<b>Tabla XXXI:</b> Valores de los parámetros de color: L (claridad), hue (color) y croma (intensidad) en la piel (18 horas) en el muestreo inicial, medio y final (Exp 1).....	84
<b>Tabla XXXII:</b> Valores de los parámetros de color: L (claridad), hue (color) y croma (intensidad) en el músculo en el muestreo inicial y final (Exp 1).....	85
<b>Tabla XXXIII:</b> Valores de los parámetros de color: L (claridad), hue (color) y croma (intensidad) en la piel (0 horas) en el muestreo inicial, medio y final (Exp 2).....	90
<b>Tabla XXXIV:</b> Valores de los parámetros de color: L (claridad), hue (color) y croma (intensidad) en la piel (18 horas) en el muestreo inicial, medio y final (Exp 2).....	90

**Tabla XXXV:** Valores de los parámetros de color: L (claridad), hue (color) y croma (intensidad) en la cola (0 horas) en el muestreo medio y final (Exp 2)..... 91

**Tabla XXXVI:** Valores de los parámetros de color: L (claridad), hue (color) y croma (intensidad) en la cola (18 horas) en el muestreo medio y final (Exp 2)..... 91

**Tabla XXXVII:** Valores de los parámetros de color: L (claridad), hue (color) y croma (intensidad) en el músculo en el muestreo inicial y final (Exp 2)..... 92

**Resumen**

El besugo, se presenta como una especie idónea para su cultivo, debido a su alto valor económico y a su aceptación en el mercado. Sin embargo, el cultivo del besugo presenta dos problemas fundamentales: el aumento de la grasa perivisceral de los ejemplares cultivados y la variación de color de los mismos en comparación a los ejemplares del medio natural.

El presente trabajo evalúa el crecimiento, composición bioquímica y color en dos grupos de peso de ejemplares de cultivo (250g y 650g) situados en una jaula en Bueu (ría de Pontevedra), al enriquecer su dieta con una fuente de carotenoides (40 mg/Kg dieta) proveniente de una mezcla de harinas de carcasa de langostino y krill. Se realizaron 3 muestreos, uno al comienzo del experimento y después de 2 y 4 meses aproximadamente de alimentación con la dieta pigmentada.

Se tomaron muestras de músculo, hígado y gónadas de los ejemplares y se analizaron los porcentajes de proteína, lípidos, humedad y ceniza; la composición en ácidos grasos, y la concentración de carotenoides en piel y en hígado. El color fue evaluado en tres zonas del cuerpo: piel, cola y músculo de cada uno de los ejemplares muestreados.

Atendiendo a los resultados obtenidos, la suplementación de carotenoides en la dieta del besugo no produjo diferencias significativas en el crecimiento de ninguno de los dos grupos de peces (250 y 650g), ni en la composición lipídica de las muestras de músculo e hígado, aunque los valores para el contenido de lípidos y carotenoides resultó mayor para los peces alimentados con la dieta pigmentada. Donde sí se encontraron diferencias significativas fue en la composición proteica de los hígados.

En cuanto al color, existió diferencia significativa en el hue (color) de la piel en el momento del sacrificio y en el croma (intensidad) del músculo de los peces de 250 g. Y en la L

(claridad) de la piel en el momento del sacrificio y en el croma (intensidad) del músculo de los peces de 650 g. Comparando los resultados de los grupos de mayor tamaño con los ejemplares del medio natural podemos concluir que la suplementación de pigmentos carotenoides (40 mg/Kg dieta) durante 4 meses produce peces más oscuros, más rojizos y con mayor intensidad de color que los besugos salvajes. Esto se reafirma al observar que la concentración de carotenoides en piel de los besugos cultivados es hasta tres veces mayor que la concentración de pigmentos en la piel de los besugos procedentes del medio natural.

Estudiando la variación temporal de la concentración de astaxantina en la piel (0-18 horas) se deduce que el animal parece tener la capacidad de convertir unos pigmentos en otros en su piel, tal y como ha sido observado en algunas otras especies de peces, así la astaxantina de la dieta pigmentada puede ser degradada hacia otros pigmentos más amarillos/naranjas.

Se observa a lo largo del experimento un incremento en el valor de los lípidos en las gónadas para los peces alimentados con el pienso pigmentado, así como una disminución de la concentración de pigmentos en la piel. Probablemente se esté produciendo una movilización de lípidos de los distintos tejidos del pez hacia las gónadas. Como los carotenoides y los lípidos se movilizan a la vez, se sugiere que se esté produciendo una movilización de pigmentos carotenoides de la piel del animal hacia las gónadas, mejorando así la fecundidad de los animales y la calidad de las puestas.

## **Introducción**

## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.1. La acuicultura en el mundo y particularmente en España.**

El término acuicultura engloba todas las actividades que tienen como objeto la producción, engorde y comercialización de organismos acuáticos, animales o vegetales, de aguas dulces, salobres o marinas.

La distinción entre cultivo y cría no establece, como ocurre en el medio terrestre, una separación entre los reinos vegetal y animal, sino un nivel diferente de problemas y exigencias engendradas por la especificidad de los sujetos de cría: si bien es cierto que el engorde de peces a elevada densidad reviste todas las características de una cría, no lo es menos que la producción de mejillones se parece más a un cultivo, por el ritmo y la naturaleza de las labores que conlleva. (Barnabé, 1991).

La acuicultura es uno de los sectores productores de alimento con mayor potencial de crecimiento y, tal como prevé FAO dentro de su estrategia para asegurar el suministro adecuado de alimentos, supone la única posibilidad de mantener la proporción de pescado en la dieta mundial dado el estancamiento de la actividad extractiva. (Dirección General de recursos pesqueros: Nota sobre el plan estratégico de la Acuicultura, 1998). Debido a que la productividad total del océano es limitada, considerándose un máximo de captura de no más de 100 millones de toneladas por año, y si bien, esa producción se ha mantenido en un nivel estable de 85-90 millones de toneladas en los últimos años, esa cantidad sería sólo suficiente para suministrar el 10% de la proteína necesaria para el sostenimiento de la población mundial (FAO 2002, 2004).

No se debe olvidar que la demanda mundial de productos pesqueros se ha duplicado en las últimas tres décadas por el incremento de la población (de los 6229,63 millones de habitantes con una tasa de crecimiento anual de 1,16% evaluados en 2002, se estima alcanzar los 8039,1 millones para el 2025 (FAO 2004)) y por un aumento en el consumo per capita de pescado, que ha pasado de 11 Kg/persona/año en 1970 a estar entre 14 y 16 Kg/persona/año en 2000; la FAO estima que en el año 2030 el consumo estará entre 19 y 21 Kg per capita y año, lo cual supondría más del 15,9% del suministro total de proteínas de origen animal (FAO 2002,2004). Esto supone una utilización de pescado para la alimentación humana de entre 150-160 millones de toneladas/año (FAO, 2002).

Los productos pesqueros son la más importante fuente de proteína animal del mundo, representando el 25% de la proteína ingerida en los países en vías de desarrollo y el 10% en Europa y Norteamérica. (Aproimar: Informe: La Acuicultura en el mundo, 2004). Si se considera únicamente el pescado para el consumo humano, la acuicultura adquiere una mayor importancia ya que para el año 2030 el suministro procedente de la acuicultura será superior al de los productos pesqueros, y probablemente menos de la mitad del pescado consumido provendrá de las capturas de pesca (FAO 2002, 2004).

La acuicultura representa hoy en día el 29,9% de la producción total de pescado, crustáceos y moluscos, manteniendo un ritmo de crecimiento durante los últimos 30 años del 9,2% anual, y se espera que para el 2010 la acuicultura representará un 30% de los cuales 50 millones de toneladas o aún más provendrán de la acuicultura y 92,3 millones de toneladas de la pesca (Basurco y Abellán, 1999; FAO 2002; FAO 2004)

Por lo que la acuicultura aparece como la principal opción para asegurar en un futuro, el suministro de pescado para el consumo humano.

En Europa, las principales granjas de acuicultura, se hayan situadas en la vertiente mediterránea, cultivándose unas 97000 toneladas de dorada (*Sparus aurata*) y unas 61500 toneladas de lubina (*Dicentrarchus labrax*) (FEAP, 2004).

**Tabla I:** Principales países productores de dorada y lubina en la zona Mediterránea (FEAP, 2005)

País	Producción de dorada (t)	Producción de lubina (t)
Chipre	1600	800
España	15560	6130
Francia	1900	4300
Grecia	50000	35000
Italia	7800	9800
Turquia	15500	20900

Respecto a los precios de venta existen grandes variaciones entre zonas y mercados para las diferentes especies. El movimiento de las mismas especies de pescado entre mercados diferentes ocasiona la reducción de los precios de los mismos. Esto resulta problemático si se considera que los márgenes de beneficios no son muy grandes y que los costes de producción pueden llegar a ser bastante diferentes entre países. Ello trae como resultado el que en ocasiones se tengan crisis de mercado de los productos, lo que origina el fracaso de las empresas más pequeñas frente a las grandes que pueden tener más beneficios por volumen de ventas.

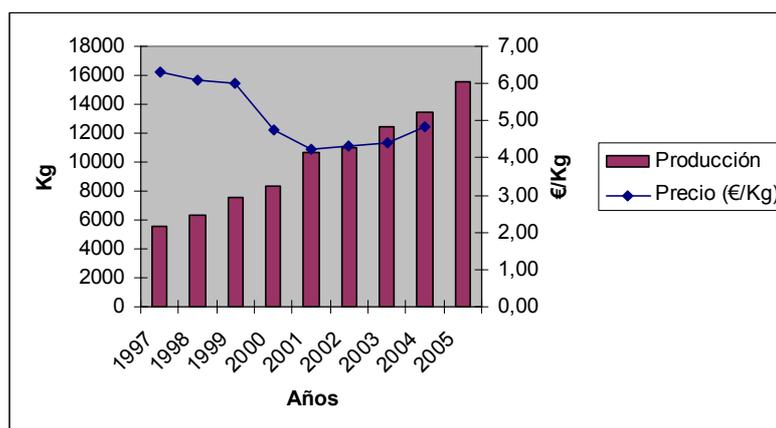
**Tabla II:** Precios de venta de dorada y lubina en el año 2002 en la zona Mediterránea (Euro/Kg) (FEAP, 2004).

País	Precio de la dorada	Precio de la lubina
España	4,27	4,88
Francia	6,78	6,63
Grecia	4,20	4,88
Italia	6,20	6,66
Turquia	4,00	4,74

La diversificación de la producción de la acuicultura hacia especies marinas alternativas en el Mediterráneo está considerada como una de las mejores medidas a tomar para solventar el problema de dichos mercados, con lo que según opiniones se solventaría la sostenibilidad de la acuicultura Mediterránea (Valls y Akrou, 1995).

Los mercados para productos frescos relacionados con el pescado siempre han sido altos en España, con un consumo per capita de 32,8 Kg por año (comparados con el intervalo entre 14 y 16 Kg por año en el mundo) (Bostock, 1998). La disminución de la pesca tradicional y los problemas de la restricción de 1 Km. alrededor de las costas primero y de los caladeros después están ayudando a un aumento de la demanda de productos de piscifactoría (Coll, 2001).

La acuicultura en España ha estado prácticamente centrada en el cultivo de tres especies: rodaballo (*Psetta máxima*) en el noroeste de España y, dorada y lubina en el Mediterráneo (Doménech y León, 1997). Para estas especies existe ya una tecnología de cultivo totalmente consolidada, de tal modo que en los últimos años se han conseguido niveles de producción muy altos (Figura 1).



**Figura 1:** Datos de producción y precio de la dorada en España en los últimos años (FEAP, 2005).

En el caso de la dorada, se preveía un descenso en la producción, debido a una saturación del mercado. En los años 1999-2000 el precio de venta de la dorada se aproximó a su precio de coste (González-Laxe, 2000). Sin embargo, la situación en los años 2003-2004 está en recuperación, con una ralentización del incremento de producción y una paulatina subida de precios. Se puede decir que el mercado de la dorada ha pasado de estar saturado a estar en expansión si se tiene en cuenta que se ha empezado a transformar el producto (Luna *et al.*, 2004).

La producción de nuevas especies está considerada una de las principales estrategias para el futuro desarrollo comercial de la acuicultura. Por lo que, el número de estudios referentes a la diversificación de especies ha aumentado en los últimos años. En la zona Mediterránea, se han centrado en aquellas especies que son similares a las que ya cultivan, principalmente la familia Esparidae. (Basurco y Abellán, 1999).

Se denomina nuevas especies de cultivo a aquellas especies para las cuales las técnicas de producción se encuentran lo suficientemente desarrolladas, pudiéndose garantizar la viabilidad económica de los proyectos industriales (Polanco, 2000).

En la zona norte de España (Galicia, Cantabria, etc...) el cultivo del besugo, puede presentar grandes posibilidades, debido a su alto valor comercial, su escasez en el mercado y sus características favorables desde el punto de vista biológico, por lo que se considera como una alternativa a los cultivos marinos usuales. (Peleteiro *et al.*, 2000a; Peleteiro *et al.*, 2000c)

### **1.2. Diversificación de las especies de cría.**

La diversificación nos permite reducir el riesgo de las instalaciones, una mayor expansión del mercado, la introducción en nuevos mercados y aumentar la eficiencia de las instalaciones.

Las desventajas es que se pueden dar casos de competencia entre especies, ocasionando desestabilidades en los precios de las especies ya cultivadas.

En los últimos años, se ha intentado desarrollar el cultivo de nuevas especies, principalmente de espáridos, como el dentón (*Dentex dentex*), la breca (*Pagellus erythrinus*), el sargo picudo (*Diplodus puntazzo*), el besugo (*Pagellus bogaraveo*) (Cejas *et al.*, 1993; Abellán *et al.*, 1994) y en las Islas Canarias el bocinegro (*Pagrus pagrus*).

Actualmente en España se está produciendo: dorada, lubina, rodaballo, anguila – *Anguila anguila*- (desde 2000), besugo (desde 2002), corvina – *Argyrosomus regius*- (desde 2003), lenguado – *Solea senegalensis*- (desde 2000) y tilapia sp. (desde 2000) de manera comercial (Apromar: Informe de producción de 2003: Situación de la piscicultura marina en España.).

**Tabla III:** Producción de Acuicultura en España (2003-2005).

Fuente: Apromar: La acuicultura marina de peces en España 2004.

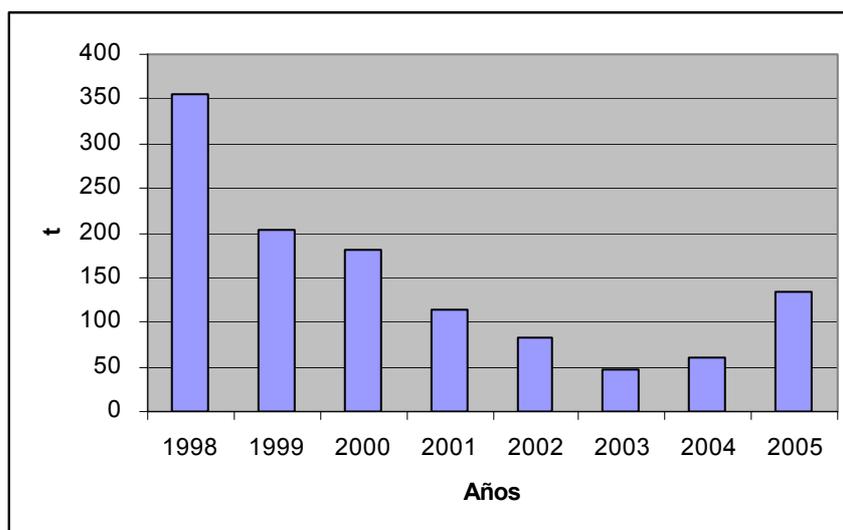
P: previsiones para 2005.

<b>Año</b>	<b>2003</b>	<b>2004</b>	<b>2005<sup>P</sup></b>
<b>Especie</b>	<b>Toneladas</b>	<b>Toneladas</b>	<b>Toneladas</b>
Dorada	12442	13034	15560
Lubina	4529	4700	6130
Dor+Lub	16971	17734	21690
Rodaballo	3440	4256	4905
Anguila	345	390	400
Besugo	60	49	130
Corvina	10	11	390
Lenguado	52	75	68
Langostino	20	30	55
<b>Total</b>	<b>20898</b>	<b>22545</b>	<b>27638</b>

El besugo es una especie, de aguas profundas y debido a sus características biológicas favorables al tipo de aguas del Mar Cantábrico, presenta una gran calidad y por ello, una buena aceptación en el mercado (Doménech y León, 1997).

Teniendo en cuenta el gran descenso de las capturas producidas en los caladeros del norte, sur y noroeste de la península ibérica (área Cantábrica, bahía de Cádiz y costas Gallegas), el besugo se presenta como una idónea candidata para su cultivo (Peleteiro *et al.*, 2000a).

En la figura 2 se pueden observar el descenso de las capturas de besugo, en las costas gallegas, mostrando cierto aumento en este último año.



**Figura 2:** Evolución de las capturas de *Pagellus bogaraveo* (1998-2005) (Xunta de Galicia)

Por otro lado, debido a esto, esta especie ha adquirido una cierta importancia económica. Tiene un precio medio de 13,05 €/kg (Datos de Mercamadrid para el año 2004), pero en ciertos periodos, como Navidad o verano, puede aumentar hasta 30-40 €/kg (Peleteiro *et al.*, 2000c.)

Actualmente la tecnología de cultivo de esta especie, está bastante desarrollada y se ha podido transferir a la industria, comenzando en el año 2002 la comercialización de ejemplares de cultivo. Sólo existe una empresa en Europa (situada en Galicia), que cultiva besugo de manera comercial.

Las previsiones que se tenían para besugo para el año 2004 eran de 300 toneladas, no se consiguieron; en el año 2005 se comercializaron en torno a las 130-180 toneladas y el objetivo de la empresa es llegar a las 200-300 toneladas en dos o tres años. Esta cantidad la han calculado y consideran óptima, ya que el mercado es limitado y tiene una determinada capacidad para absorber el producto.

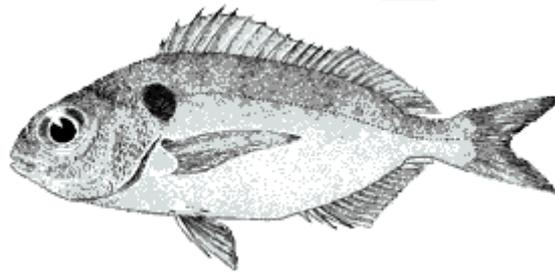
El besugo de piscifactoría se ha introducido como una especie más en los mostradores de las pescaderías, y la aceptación ha sido buena (revista: ipac.acuicultura, nº 2).

Se ha podido observar que el crecimiento del besugo, en la etapa de preengorde es más lento que el de la dorada (García *et al.*, 1987), pero si comparamos los datos de la etapa de engorde con otros espáridos como la breca, el dentón o el sargo, el crecimiento puede ser semejante. (Cejas *et al.*, 1993; Abellán *et al.*, 1994).

Desde el punto de vista biológico, analizando los distintos estadios del proceso de cría, tales como adaptación a la cautividad, reproducción, cultivo larvario, pre-engorde y engorde, resistencia a manejo y susceptibilidad a enfermedades, parece aceptable para su introducción en acuicultura. Además, debido al descenso de sus capturas, su valor comercial ha aumentado considerablemente (Linares *et al.*, 1999; Peleteiro *et al.*, 1999).

Posteriormente, esto ha sido confirmado en estudios de pre-engorde y engorde, con ejemplares nacidos en cautividad (Olmedo *et al.*, 1997; Olmedo *et al.*, 2000). Las condiciones de la reproducción en cautividad y del desarrollo embrionario han sido descritas por Peleteiro *et al.*, 1997 y Peleteiro *et al.*, 2002.

**1.3. El Besugo** (*Pagellus Bogaraveo*, Brünnich, 1768).



**Figura 3:** *Pagellus bogaraveo*.

**1.3.1. Taxonomía**

El *Pagellus bogaraveo* comúnmente conocido como besugo voraz o besugo del cantábrico, pertenece a la clase osteictios, orden perciformes, familia sparidae, género *Pagellus*, especie *Pagellus bogaraveo* (Brünnich, 1768).

Los ejemplares jóvenes del besugo se llaman panchos o panchines, coincidiendo con la denominación de los aligotes jóvenes (*Pagellus acarne*), en casi todo el litoral cantábrico. En cambio los adultos reciben distintas denominaciones locales, así en Galicia los conocen por ollomol, guraz, buraz o burás, en Asturias por ñaña o llaña, en Cantabria se conocen en algunas localices por ollomel o burs y en el País Vasco por bixigu, arrosella, errosela, bixi o alikota. (García-Castrillo, 2000).

### 1.3.2. *Características morfológicas y biológicas.*

**Características distintivas:** Cuerpo oblongo. Piel cubierta de escamas (cicloideas y ctenoideas). La cabeza tiene el perfil superior redondeado, con ojos grandes y el rostro u hocico más bien corto. Dado que el diámetro del ojo es mayor que la longitud del rostro, esta característica ayuda a diferenciarlos perfectamente de los aligotes. La boca alcanza la vertical del borde anterior del ojo. Las mandíbulas son ligeramente protractiles y ambas tienen unos incisivos pequeños y curvados, situados en cardas, siendo los frontales relativamente más fuertes. A continuación, de dichas piezas, se asientan dos o tres series de dientes molariformes.

Las escamas de la nuca no se extienden hacia el rostro más allá de la vertical de la mitad del ojo. En cambio las mejillas, el preopérculo y el opérculo están cubiertos de escamas.

Sobre el perfil superior del cuerpo tiene una sola aleta dorsal constituida por dos porciones bien diferenciadas (D XII-XIII+11-13), por tener la primera radios espinosos francamente robustos y la posterior radios blandos. La aleta anal (A III+11-12) está situada en el perfil ventral debajo de la porción blanda de la dorsal. Las aletas ventrales tienen un radio duro y cinco blandos (V I+5), están situadas en la vertical de las aletas pectorales, las cuales son grandes y ligeramente puntiagudas (García-Castrillo, 2000).

**Coloración:** Color grisáceo con el dorso anaranjado y las aletas de ese mismo color. En los flancos, un poco por detrás de la cabeza tiene una mancha redondeada de color oscuro, ausente en los jóvenes (Sánchez, 1983). El vientre se torna blanco plateado (García-Castrillo, 2000) y la boca tiene una tonalidad roja- anaranjada (Whitehead et al., 1986).

**Talla máxima:** 70 cm, aunque comúnmente se encuentran de 15 a 50 cm.

**Hábitat y biología:** Son peces demersales sobre fondos variables (rocas, arena, fango), hasta 800 m. Los jóvenes viven en las zonas costeras, hasta unos 40 m y los adultos sobre la pendiente del talud continental, hasta 400 m en el Mediterráneo y hasta 700 m en el Atlántico. Son gregarios (TECAM, 1999; Fernández-Souto y Rodríguez Villanueva., 2002).

**Alimentación en el medio natural:** Son omnívoros. Se alimenta de crustáceos, gusanos (*Nereis diversicolor*), moluscos bivalvos (*Mytillus galoprovincialis*), cefalópodos tunicados, algas y equinodermos (García-Castrillo, 2000).

**Maduración sexual:** Hermafroditas proterándricos (la mayoría de los ejemplares son primero machos y luego se transforman en hembras, aunque se ha demostrado que no todos los individuos cambian de sexo (Krug, 1990). Tanto en el medio natural como en cautividad los individuos presentan seis estados de madurez (Tabla IV) (Krug, 1986).

Las puestas de besugo tienen lugar de enero a abril en las aguas cerca de las Azores, con picos de actividad de puesta en febrero y marzo (Krug, 1990), en el cantábrico es en las mismas fechas (Sánchez, 1983). En Inglaterra comienza en septiembre y finaliza en Octubre (Olivier, 1928).

El besugo adquiere su madurez reproductora en el medio natural a los 5 años (Sánchez, 1983), con unos 650 g de peso y 35 cm de longitud. Sin embargo, en cautividad la primera puesta tiene lugar al tercer año (cuarto año de vida), con unos 800 g de peso y 30 cm de longitud (Fernández Pato *et al.*, 1990).

**Tabla IV:** Estados de madurez gonadal en *Pagellus bogaraveo*.

Estado	Aspecto de la gónada
Inmaduro	Gónadas muy pequeñas. No es posible determinar el sexo por examen macroscópico
I Inmaduro	Gónadas muy pequeñas. Se puede discernir el sexo por examen macroscópico; ovarios rosas y translúcidos; testículos blancos y translúcidos.
II Inicio de la maduración	Gónadas ligeramente alargadas; óvulos no visibles a simple vista; testículos blancos.
III Maduración avanzada	Gónadas alargadas; óvulos individuales visibles a simple vista; testículos blanquecinos.
IV Pre-desove	Gónadas muy alargadas; muchos óvulos translúcidos y el esperma sale fácilmente con una ligera presión.
V Desove	Se emiten los productos sexuales.
VI Post-desove	Se han emitido huevos y esperma. Gónadas postflácidas; ovarios púrpura y testículos grises.

La fecundidad media en el besugo es de aproximadamente 600000 huevos/Kg de hembra de entre 29-41 cm de longitud (Krug, 1990). Las hembras experimentan ciclos ovulatorios con aproximadamente períodos de 48 horas. En cada ovulación salen de 20 a 30 cc de huevos por individuo pesando cada individuo entre 1-1,5 kg (Peleteiro *et al.*, 1997).

Los huevos miden  $1,19 \pm 0,0215$  mm de diámetro y son translúcidos con una gota de aceite. Forman parte del plancton igual que sus larvas, las cuales eclosionan a los pocos días con una talla media aproximada de 3,7 mm. (Peleteiro *et al.*, 1997).

El **área de distribución** del besugo se extiende desde Noruega a Cabo Blanco, Madeira y las Islas Canarias. También es común en el Mediterráneo desde el estrecho de Gibraltar hasta el Adriático, siendo prácticamente inexistente en el Mar Negro (Hureau y Monod, 1973; Whitehead *et al.*, 1986).

### **1.3.3. Capturas en el medio natural**

El besugo es capturado a distintas profundidades, dependiendo de su tamaño. Los ejemplares pequeños de hasta 150 g se encuentran en la plataforma continental, hasta 50 m de profundidad. Y son capturados mediante anzuelo con cebo -mejillón (*Mytillus galoprovincialis*) o gusanos (*Nereis diversicolor*) -. Los ejemplares que se hallan entre los 50 y 300 m de profundidad son capturados con artes de arrastre y los adultos con palangre de 300 a 500 m (Sánchez, 1993).

### **1.3.4. Evolución de su cultivo.**

Los primeros estudios del cultivo de besugo a nivel experimental, se realizaron en el Instituto Español de Oceanografía (CO Santander y CO Vigo) y en el Centro de Investigaciones Mariñas (CIMA) de la Xunta de Galicia en Villanova de Arousa (Fernández-Pato *et al.*, 1990; Martínez- Tapias *et al.*, 1990; Peleteiro *et al.*, 1994).

Los primeros experimentos de engorde se realizaron con ejemplares capturados del medio natural (Genovese *et al.*, 1998; Chereguini *et al.*, 1990; Peleteiro *et al.*, 1994), y a partir de los individuos adultos obtenidos, se consiguieron los primeros stocks de reproductores.

Tras la consecución de las primeras puestas en cautividad en 1997, y un considerable avance en las fases de pre-engorde y engorde (Linares *et al.*, 2000b y 2001b; Olmedo *et al.*,

1997, 1998, 2000; Peleteiro *et al.*, 1994, 1997, 2000a y b), el besugo se presenta como una especie idónea para su cultivo.

Uno de los principales problemas encontrados en la fase de engorde de besugo, es su excesivo engrasamiento. Los ejemplares provenientes de cultivo intensivo presentan un contenido graso perivisceral y en hígado y músculo mucho más alto que los del medio natural (Linares *et al.*, 2000a). Este engrasamiento puede ser corregido mediante una dieta adecuada a sus necesidades.

Existen ensayos, en los que utilizando piensos con diferente composición proteína-grasa, se demuestra la influencia de la dieta en el crecimiento y la composición de los alevines (Linares *et al.*, 2001a), lo que apoya el hecho, anteriormente mencionado, de que el exceso de grasa perivisceral puede ser corregido utilizando una dieta adecuada a los requerimientos de esta especie.

En cuanto a patologías, cuando se cultivan en tanques en la fase de engorde, pueden aparecer casos de exoftalmia y de inflamación de la vejiga natatoria.

Es conocida la buena adaptación de los espáridos, especialmente de la dorada, al cultivo en jaulas. Esto, ocurre también con el besugo en todo su periodo de engorde (Linares *et al.*, 2001b; Olmedo *et al.*, 2002). Su aspecto externo y su tasa de crecimiento mejora considerablemente.

#### **1.4. Problemas de coloración en la piel.**

En la mayoría de las especies de espáridos se produce un cambio de color, tanto en jaulas como en tanques (principalmente). Este problema, es importante en especies como el bocinegro (*Pagrus pagrus*) (Kentouri *et al.*, 1995; Stephanou *et al.*, 1995; TECAM, 1999; Cejas *et al.*, 2003). Y tiene consecuencias negativas a nivel comercial, por lo que fue necesaria la

formulación de una dieta enriquecida con carotenoides, para que con ella se pudieran conseguir bocinegros con un color atractivo para los compradores. (Shahidi *et al.*, 1998).

Anteriormente, ya se habían utilizado estas sustancias en salmón keta (*Oncorhynchus keta*), salmón atlántico (*Salmo salar*), trucha arcoiris (*Salmo gairdneri*), (*Oncorhynchus mykiss*), seriola (*Seriola quinqueradiata*), etc...

Como el besugo es una nueva especie de cría en acuicultura, aún no existen muchos casos en la bibliografía donde el problema de la coloración este documentado, pero es un problema que adquiere cada día más importancia (Fernández-Souto y Rodríguez Villanueva, 2002).



**Figura 4:** Besugos del medio natural (en la parte izquierda de la foto) y besugos de acuicultura (en la derecha).

El color es la sensación que resulta de la estimulación de la retina por la luz de ciertas longitudes de onda (Fujii, 1993). La coloración de la piel es generada por la absorción, dispersión y reflexión de la luz en ciertas longitudes de onda.

La piel forma la cubierta externa del cuerpo del pez y mantiene una continuidad con las membranas mucosas de la boca y otros orificios de la superficie del cuerpo, por lo que su

función principal es la protección natural del pez. Presenta dos capas principales, la externa, epidermis y la interna, dermis.

Los cambios de la coloración y de la intensidad del color en la piel resultan tanto de la actividad o movimiento de los cromatóforos y del incremento o disminución del número de estas células, como de los diferentes materiales pigmentarios depositados en la piel (Fujii y Oshima, 1986).

Los cromatóforos son células dendríticas y están situadas paralelas al plano de la piel, de manera que los cambios pigmentarios pueden ser observados a simple vista. Los cromatóforos se presentan mayoritariamente en la dermis, aunque se pueden encontrar esporádicamente en la epidermis. La actividad de los cromatóforos es regulada por el sistema endocrino y el sistema nervioso y en su interior, los cromatosomas (orgánulos pigmentarios) se agregan o dispersan en respuesta de señales recibidas por la célula.

Los cromatóforos se clasifican en melanóforos (marrón o negro), eritróforos (rojo) y xantóforos (amarillos) (que absorben la luz) y en leucóforos (blanco) e iridóforos (que reflejan la luz), que contienen pigmentos sin color. Los iridóforos son los únicos cromatóforos no dendríticos, presentan una forma redondeada u oval, aunque en algunos casos tienen procesos dendríticos.

El proceso fundamental en la formación de pigmentos es la migración de los cromatoblastos desde la cresta neural hasta los integumentos (Bagnara y Fernández, 1993). Los principales pigmentos formados son: melanina, carotenoides, pteridinas y purinas.

Se debe tener en cuenta que en muchas especies, se producen cambios de color durante el crecimiento, la época de puesta, los cambios ambientales, el estrés, los cambios nutricionales, etc....Así, el colorido de muchos peces, se debe a la deposición de los carotenoides en los

eritróforos o xantóforos influyendo en ello, las características de las dietas, pues los peces no pueden sintetizar carotenoides a partir de nutrientes precursores (Fujita *et al.*, 1983; Putnam, 1992; Fujii, 1993).

## **1.5. Pigmentos**

### **1.5.1. Los Pigmentos Carotenoides.**

Los carotenoides (Fujii, 1969) son hidrocarburos altamente insaturados, formados por una cadena de átomos de carbono con una estructura en forma de anillo en uno o en ambos extremos.

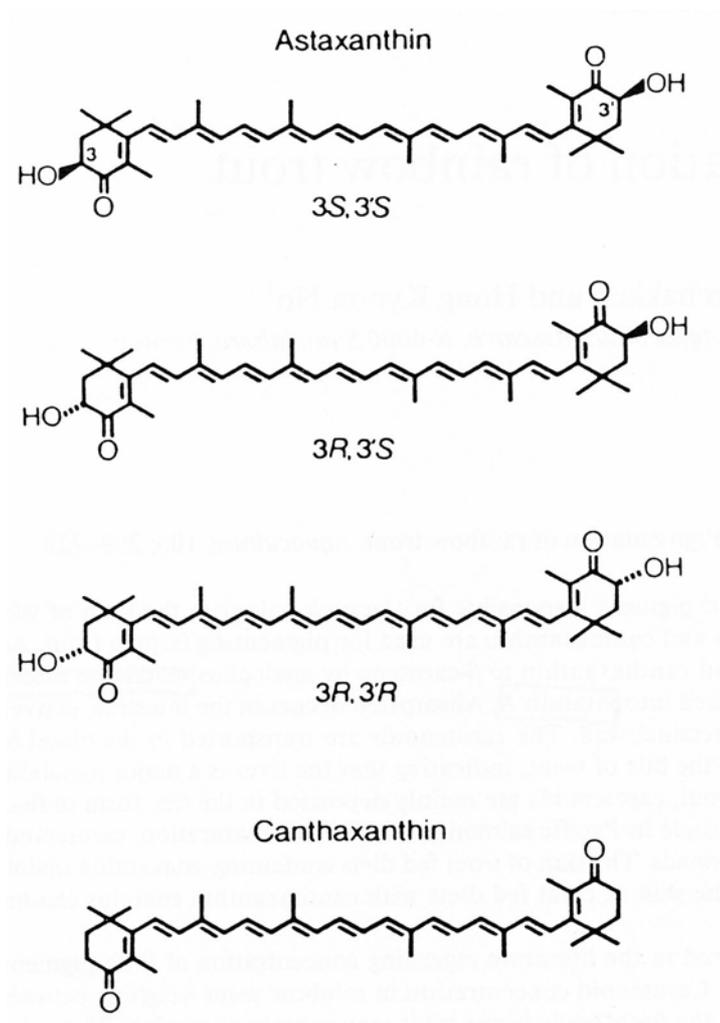
Los carotenoides fueron aislados por primera vez en 1831 por Wackenroder. Se dividen en carotenos (no polares) y en xantofilas (polares). Se clasifican principalmente en  $\alpha$ -caroteno y  $\beta$ -caroteno y las xantofilas en criptoxantina, Luteína y Zeaxantina.

Son insolubles en agua, pero solubles en disolventes orgánicos, como acetona, alcohol, éter etílico y tetrahidrofurano. Así los carotenos son fácilmente solubles en hexano y en éter de petróleo y las xantofilas en metanol y etanol.

Son sustancias muy extendidas en los reinos vegetales y animal y actualmente el número de carotenoides naturales conocidos es de aproximadamente seiscientos (Choubert, 2002).

Las fuentes naturales de carotenoides tienen siempre una mezcla de diferentes pigmentos, cuya concentración no es constante. El color depende entonces de la proporción relativa de los distintos carotenoides en el pez (Choubert, 2002) y se debe a un cromóforo constituido por al menos 7 dobles enlaces conjugados y suelen ser de color amarillo a rojo, así el  $\beta$ -caroteno, por ejemplo es naranja, la cantaxantina y la astaxantina son de color rosado (tienen un cromóforo más largo y por consiguiente absorben luz a una longitud de onda más elevada).

Muchos de ellos, presentan tanto isómeros ópticos como geométricos (E-, Z-) ó (Cis-, Trans-), los cuales tienen distintas propiedades y funciones biológicas. Las formas E- antiguamente llamadas Cis-, son las más estables, y es por ello, que son las que más aparecen en la naturaleza. La astaxantina tiene 3 isómeros: 3S, 3'S, el 3R, 3'S y el 3R, 3'R (Fig. 5) y sin embargo en la cantaxantina no se conoce ninguno.



**Figura 5:** La Astaxantina (sus 3 esteroisómeros) y la Cantaxantina.

Los carotenoides pueden ser sintetizados solamente por los organismos autótrofos (fitoplancton y microalgas) y ocasionalmente por algunas levaduras, hongos y líquenes (Storebakken y No, 1992).

Los animales no pueden sintetizar los carotenoides de novo, por lo que la mejora de su coloración en cautividad depende del suplemento de esta sustancia en la dieta (Storebakken y No, 1992). Sin embargo existen peces de agua dulce y algunos animales marinos, que tienen la capacidad metabólica de modificar la estructura de los carotenoides ingeridos, como es el caso de los ciprínidos que pueden convertir la luteína o la zeaxantina (pero no el  $\beta$ -caroteno) en astaxantina y también la mayor parte de los crustáceos, que pueden sintetizar la astaxantina a partir del  $\beta$ -caroteno (Choubert, 2002).

En el medio marino, el plancton es la primera fuente de carotenoides, tanto si es ingerido como primer eslabón de la cadena alimentaria, como si sus depredadores son consumidos por otros animales marinos, situados por encima en la cadena alimentaria. La naturaleza y concentración de carotenoides en los peces salvajes varía según sus condiciones ambientales y geográficas (Gilchrist y Lee, 1972). En el fitoplancton del medio acuático los carotenoides principales son: La astaxantina en el medio marino y la cantaxantina y la astaxantina en el agua dulce.

La eficacia pigmentaria de los carotenoides viene determinada por su estructura, su color específico, su digestibilidad, su conversión metabólica y su afinidad específica a un tejido concreto. Se ha encontrado que en el músculo de los salmónidos, la estructura de la astaxantina no es igual si el pez es salvaje o si proviene de una explotación de cultivo (Choubert, 2002).

Se ha establecido la influencia de la cantidad de pigmentos carotenoides ingeridos por los peces sobre su coloración. La eficacia de los carotenoides en el músculo es tanto mayor cuanto mayor sea la cantidad de pigmentos ingeridos. Sin embargo, a partir de cierto nivel, todo aumento en la ingestión de pigmentos no produce mayor efecto, (Torrissen, 1985, 1986; Choubert, 2002).

Además de la fuente de pigmentos, existen otros factores que influyen en la absorción, retención y metabolismo de los carotenoides, tales como: composición de la dieta, tamaño del pez, estado de maduración sexual, nivel de ingesta de la dieta y factores genéticos (Torrissen *et al.*, 1989).

También, se debe resaltar, que la eficacia en la coloración del músculo depende más de la duración de la suplementación de carotenoides que de sus concentraciones en la dieta (Blaziak *et al.*, 1989; Choubert y Storebakken, 1990). Sin embargo, para Blaziak *et al.* (1989), se pueden utilizar las dietas con alto contenido en carotenoides cuando es necesario mejorar el color en un corto periodo de tiempo.

**El rol de los carotenoides en peces**, no sólo ha sido asociado a la pigmentación, sino también a funciones biológicas, tales como antioxidante (Tacon, 1981), para prevenir los efectos dañinos de la peroxidación de los lípidos (Liebler, 1993), o como precursores de la vitamina A. Según Christiansen *et al.* (1995) ciertos carotenoides también pueden intervenir en la regulación de las defensas inmunitarias, por su acción de defensa contra los radicales libres.

Algunos autores observan que los carotenoides también intervienen sobre el crecimiento (Torrissen, 1984 y 1989; Storebakken y Goswami, 1996), y mejoran el proceso de reproducción (Verakunpiriya *et al.*, 1997a; Watanabe y Vallaso-Agius, 2003).

### **1.5.2. *Metabolismo de los carotenoides: Digestibilidad, absorción y distribución.***

La mayor parte de los estudios llevados a cabo con carotenoides han tenido lugar en trucha y salmón. Se han realizado investigaciones para estudiar la disponibilidad de los carotenoides en peces, tanto midiendo su digestibilidad como la cantidad de pigmentos contenida en sangre o su concentración en distintas partes del cuerpo del pez: piel, músculo, hígado, bazo, etc....

Varios autores han demostrado que en truchas de un peso menor de 150 g, la fijación de la cantaxantina en su músculo es baja, y es independiente de su aporte en la alimentación. En salmónidos, la capacidad de fijar carotenoides está más ligada a la edad y al estado fisiológico que al peso corporal o al contenido de carotenoides en el alimento (Storebakken *et al.*, 1986; Ropke, 1988; Blaziak *et al.*, 1989; Choubert, 2002).

Ambas especies utilizan la astaxantina libre con más eficiencia que la cantaxantina para la pigmentación del filete (Foss *et al.*, 1984; Torrissen, 1989). Según Choubert y Storebakken (1989), el coeficiente medio de retención para la astaxantina es 1,3 veces mayor que para la cantaxantina, debido a una mejor absorción a través del tracto digestivo y a una mejor deposición de la astaxantina en el filete. Sin embargo, una combinación de ambos carotenoides proporciona un nivel mayor de carotenoides totales en la carne de la trucha arcoiris (Torrissen, 1989).

También se ha observado que la digestibilidad de la astaxantina es mayor cuando se encuentra en la molécula en su forma esterificada, que cuando está en su forma libre. Aún así, esta afirmación es un poco controvertida, puesto que se obtuvo por una estimación de la digestibilidad y puede no haberse considerado la degradación de los carotenoides en el tracto digestivo (Choubert, 2002).

La disponibilidad de los carotenoides se puede también estudiar como la medida de la cantidad de pigmentos contenida en la sangre de los peces. La cantaxantina se encuentra en el plasma 3 horas después de haber ingerido la comida testada y la concentración máxima se alcanza a las 24 horas después de la ingestión. En el caso de la astaxantina estos periodos son menores, siendo su contenido en el plasma de 2 a 3 veces mayor al de la cantaxantina. La concentración de carotenoides en la sangre disminuye en menos de 3 días tras cesar completamente su ingestión, siendo este descenso similar en ambos tipos de carotenoides. No

obstante, se ha observado en salmónidos una gran variabilidad individual en la capacidad de absorción de los carotenoides, por motivos desconocidos (Choubert, 2002).

Posteriormente a la ingestión, los pigmentos carotenoides pueden ser eliminados directamente por las heces, o bien ser absorbidos o transformados. Los productos de transformación pueden, a su vez, ser eliminados o reabsorbidos por la mucosa intestinal (Choubert, 2002).

Los carotenoides son absorbidos en el intestino medio y posterior (Schiedt *et al.*, 1985; Torrissen *et al.*, 1990; Choubert *et al.*, 1991), por difusión pasiva (Deming y Erdman, 1999) y son transportados en el organismo por lipoproteínas de alto peso molecular (HDL) (Nakamura y Hata, 1985) y en menor proporción (5-7%) por lipoproteínas de bajo peso molecular (LDL). Choubert *et al.* (1991) encontró la cantaxantina distribuida en varias fracciones de lipoproteínas en trucha arcoiris inmadura: HDL 61,0%, LDL 28,3% y VHDL (lipoproteínas de muy bajo peso molecular) 10,6%.

La absorción de los carotenoides se haya estrechamente relacionada con la absorción de los lípidos (Choubert, 2002). No se han llevado a cabo estudios específicos concernientes al estudio de la absorción de carotenoides desde el lumen del intestino. Sin embargo, como los carotenoides son pigmentos liposolubles, lo más probable sea que se emulsifiquen, formando micelas junto con la bilis, otros componentes lipídicos, prolipasas y lipasas (Leger, 1985).

Las rutas metabólicas de la astaxantina y la cantaxantina llevan a la formación de xantofilas amarillas y carotenos (Figura 6). La astaxantina es reducida a zeaxantina y la cantaxantina en  $\beta$ -caroteno (Schiedt *et al.*, 1985).

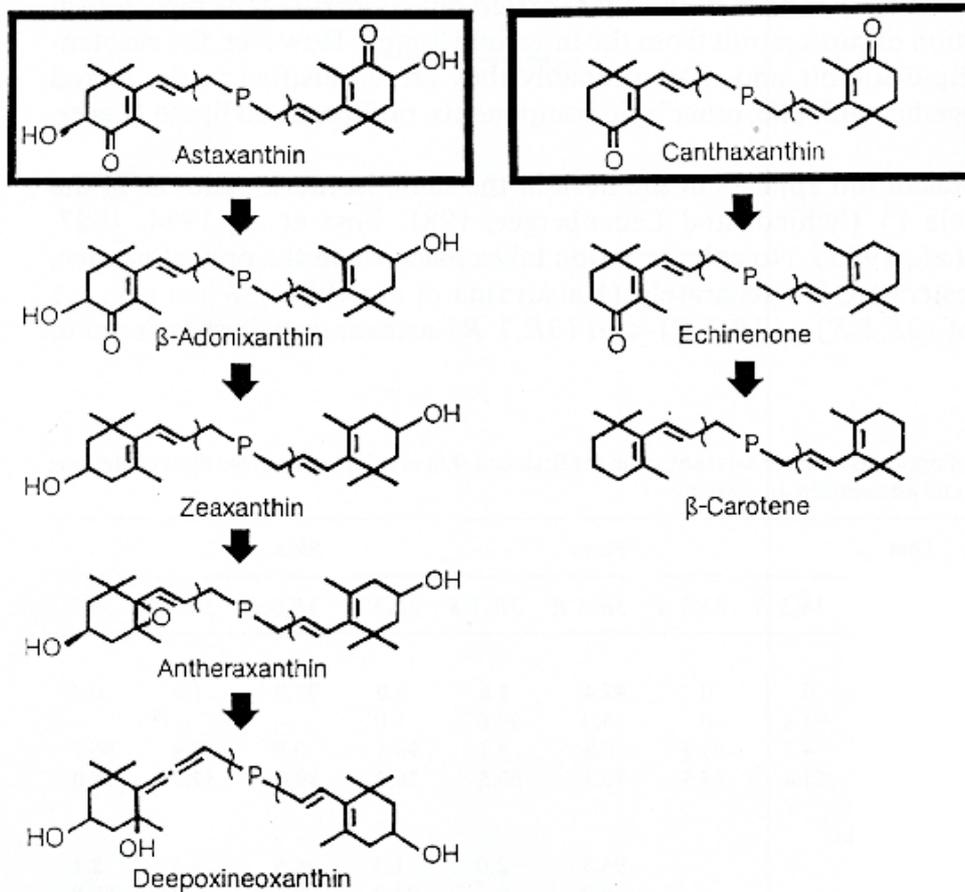


Fig. 2. Metabolic pathways of astaxanthin and canthaxanthin in the skin of rainbow trout (Schiedt et al., 1985).

**Figura 6:** Rutas metabólicas de la astaxantina y la cantaxantina en la piel de la trucha arcoiris.

En la pared del intestino se produce la mayor conversión de carotenoides en Vitamina A (Al- Khalifa y Simpson, 1988). Pero si se suple la alimentación con suficiente Vitamina A, esta transformación no tiene lugar (Schiedt *et al.*, 1985).

Hardy *et al.* (1990) encontraron que en la trucha la cantaxantina era absorbida y metabolizada en el hígado y que los carotenoides también se acumulaban en el riñón, tanto es su forma libre como esterificada. En los ejemplares inmaduros la astaxantina y la cantaxantina se podían encontrar en la carne en su forma libre (Foss *et al.*, 1984).

La acumulación de zeaxantina o de otros metabolitos parece ser poco frecuente en la carne de los ejemplares sexualmente maduros de trucha (Bjerkeng *et al.*, 1990), en contraste con lo encontrado por Ando y Hatano (1987) en salmón.

Durante la maduración sexual, se han encontrado, considerables cantidades de carotenoides transferidas a los huevos de trucha (más del 18% del contenido total del cuerpo) y tienen la misma composición que los carotenoides encontrados en la carne (Sivtseva, 1982).

Se han encontrado carotenoides tanto en los ovarios de la hembra del salmón, como en los huevos, asociados con la membrana lipoproteica del saco vitelino, (Ando y Hatano, 1986) y en el esperma de la trucha (Czeczuga, 1975).

En las gónadas de las truchas maduras sexualmente se produce la transformación de la astaxantina en vitamina A<sub>2</sub> sin una previa transformación a Vitamina A<sub>1</sub> (Guillou *et al.*, 1989).

El análisis de pigmentos de alevines de trucha muestra que el suplemento de cantaxantina en la dieta de las hembras reproductoras, es transferido a los huevos e incluso a las larvas, aunque la cantaxantina se metaboliza unas pocas semanas posteriormente a la eclosión (Choubert *et al.*, 1998). Watanabe *et al.* (2003) sugirieron que en una dieta suplementada con unos 30 mg/kg de astaxantina proveniente de esteres de pimentón, mejoraba la calidad de los huevos, la producción de los mismos y la supervivencia larvaria en seriola.

Un estudio de Pozo *et al.* (1988) muestra, que la cantaxantina es depositada en el músculo blanco de la trucha, mientras que el músculo rojo no contenía ningún carotenoide. Esto puede ser debido a diferencias fisiológicas entre estos dos tipos de músculo (Love, 1980; Kiessling *et al.*, 1991 a, b, c).

En la piel se encuentra una gran proporción de los carotenoides localizados en el cuerpo de los peces. Se cree que el 10% de los carotenoides ingeridos se acumula en la piel y en salmón atlántico, especialmente en la banda rosa a lo largo de la línea lateral (No y Storebakken, 1991).

Czeczuga (1977), encontró carotenoides en el cerebro de peces que habitaban en zonas menos oxigenadas (Ex. Peces que viven en profundidad). Estos peces tienen el músculo de color más intenso, lo que sugiere que la concentración de carotenoides en su organismo es mayor (Eckman *et al.*, 1988).

Se ha demostrado que la retención de carotenoides no se ve afectada por variaciones en la temperatura, salinidad o el índice de alimentación (No y Storebakken, 1991 y 1992).

### **1.5.3. Utilización de los carotenoides en acuicultura.**

#### ***Principales fuentes.***

Para los consumidores, la pigmentación de la carne de ciertos peces (como los Salmónidos de granja), es uno de los factores más importantes de compra después de la frescura del producto (Koteng, 1992). Tradicionalmente se creía que el sabor venía asociado a la coloración y esta opinión aún persiste (Clydesdale, 1993; Sylvia *et al.*, 1995 y 1996).

Los carotenoides representan entre un 10 y un 25% del coste de las dietas, por lo que el esfuerzo de la investigación está dirigido a identificar nuevas fuentes alternativas de pigmentos que permitan aumentar su disponibilidad y las tasas de retención de la astaxantina y/o la cantaxantina (Spinelli *et al.*, 1974; Torrissen *et al.*, 1989; Johnson y An, 1991; Storebakken y Goswami, 1996).

Como ha sido demostrado por diversos autores anteriormente mencionados, la pigmentación de músculo y piel se consigue frecuentemente, incluyendo carotenoides en las

dietas de los peces. Para preservar la coloración natural del músculo del salmón cultivado, se utilizan diferentes fuentes de carotenoides tales como, formas sintéticas de astaxantina y cantaxantina (Torrinsen, 1989; Bjerkeng *et al.*, 1992; Storebakken y No, 1992), harina de carcasa de crustáceos (langostino, cangrejo, Krill, etc..) (Lambertsen y Braekkan., 1971; Saito y Regier, 1971; Kotic *et al.*, 1979; Chebakki, 2001; Cejas *et al.*, 2003; Watanabe *et al.*, 2003; Kalinowski *et al.*, 2005), ciertas algas o levaduras rojas (Johnson *et al.*, 1980; Storebakken *et al.*, 2004), bacterias (Saperstein y Starr, 1954) y en los últimos tiempos harina de pimentón (Agius *et al.*, 2001; Watanabe *et al.*, 2003).

La mayor parte de los estudios se han hecho utilizando pigmentos sintéticos (astaxantina y cantaxantina), pero ambos pigmentos son muy costosos, por lo que se buscan nuevas fuentes de carotenoides más baratas, tales como: las materias primas brutas (levaduras, algas, krill) y los derivados industriales (desechos de cangrejos o langostinos) que si bien tienen el problema de presentar un alto contenido de humedad, cenizas y quitina, y una baja y variable concentración de pigmento (de 0 a 200 ppm de astaxantina) (Torrissen *et al.*, 1989), tienen la ventaja de existir en gran cantidad, por lo que su coste es asequible, son altamente disponibles y además pueden constituir un aporte proteico y de ácidos grasos importante (Choubert y Luquet, 1983). En las harinas de langostino, se han encontrado una alta proporción de ácidos grasos, destacado el ácido graso linoleico, cuyo efecto positivo en la alimentación de peces, ha sido demostrado en salmónidos por Castell *et al.*, 1972 y Yu y Sinhuber, 1975.

La mayor parte de los piensos con carotenoides que se utilizan en acuicultura (ya sean peletizados o extruidos), soportan procesos de alta presión y temperatura en su producción y estos ocasionan la destrucción de una parte de los carotenoides. Otras veces, la degradación de los carotenoides se produce en el periodo de almacenamiento.

Los carotenoides sintetizados químicamente son especialmente sensibles a los procesos de oxidación (Bartov y Bornstein, 1966), por esta razón, en la fabricación de los piensos se utilizan

antioxidantes tales como la etoxiquina (Seemann, 1999; Nys, 2000). Otra ventaja de utilizar fuentes naturales de carotenoides en la fabricación de piensos es que no son tan sensibles a la oxidación, pues la astaxantina en su forma libre, esterificada o formando complejos con proteínas, es el carotenoide más abundante en los crustáceos, siendo estos la fuente natural de pigmentos para muchos tipos de peces en el medio natural.

La comisión europea, en 2002, realizó un estudio sobre la utilización de la cantaxantina como colorante alimentario en la alimentación de animales y particularmente, su uso en peces (salmónidos y trucha) y en pollos. Se permite el uso de hasta 25 mg por kg de alimento para la cantaxantina pura (Directiva 2003/7/CE de la comisión de 24 de Enero de 2003 donde se modifica la directiva 70/524/CEE del Consejo) y hasta 100 mg por kg de alimento para la cantaxantina mezclada con la astaxantina (Directivas 88/228/CEE y 87/552/CEE).

Tal y como se dijo anteriormente, las fuentes naturales de pigmentos, además de ser más baratas, abundantes y constituyen una fuente proteica y de ácidos grasos importantes, con los consecuentes beneficios que esto supone para el pez. Por tanto, cuando se formula con este tipo de ingredientes se debe considerar la idoneidad de la composición de los mismos para las necesidades concretas de la especie con la que está trabajando.

En el caso del contenido proteico, ingredientes como el krill se caracterizan por presentar una proporción elevada de proteínas (mín. 58% la de alta calidad) y similar de aminoácidos a la de la harina de pescado, siendo algo más elevada para algunos aminoácidos esenciales en concreto, como la lisina, arginina y metionina. En el caso del contenido en lípidos para esta harina (máx. 18%), sus componentes han sido identificados entre otros como fosfatidilcolina (22-28%) y fosfolípidos 35-45% en la fracción polar y astaxantina en la fracción no polar (Watanabe *et al.*, 1991b).

### **1.6. Importancia de las Proteínas.**

Las proteínas representan el grupo químico más abundante en el cuerpo de todos los animales exceptuando el agua. Son componentes esenciales tanto del núcleo como del protoplasma celular, y en consecuencia suponen un elevado porcentaje en los tejidos.

Son compuestos orgánicos muy complejos, de elevado peso molecular y al igual que los hidratos de carbono y los lípidos contienen carbono (C), hidrógeno (H) y oxígeno (O), pero además contienen también alrededor de un 16% de N (12-19%) y algunas veces, fósforo (P) y azufre (S). Al contrario que los hidratos de carbono y los lípidos, donde su estructura se compone de repeticiones de unidades idénticas, las proteínas pueden llegar a tener hasta 100 unidades básicas diferentes: los aminoácidos.

De estos 100 aminoácidos, existen 20 que son esenciales, es decir, no pueden sintetizarse a partir de otro y por ello, deben ingerirse en la dieta. De entre estos, hay 10 que son estrictamente necesarios para la mayoría de los animales: arginina, fenilalanina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptófano y valina.

La determinación cuantitativa completa de los requerimientos en aminoácidos se ha llevado a cabo sólo con 6 especies: salmón, anguila japonesa, carpa, trucha arcoiris, tilapia y el pez gato.

La calidad de las proteínas, depende por tanto, de su composición en aminoácidos y en su biodisponibilidad. Cuanto más aproximada sea la composición de aminoácidos a los requerimientos dietarios de aminoácidos esenciales de una especie concreta, mayor será su valor nutricional y su utilización por esta especie.

Las principales funciones de las proteínas son:

1. Reparación y mantenimiento de tejidos, así como producción de tejidos nuevos: crecimiento.
2. Fuente de energía, por catabolismo, o como fuente para síntesis de lípidos y carbohidratos.
3. Formación de hormonas, enzimas y una gran variedad de sustancias biológicamente importantes, como anticuerpos o hemoglobina.

Como acuicultores, el principal objetivo es que el pez utilice la proteína para crecer (fuente estructural) y no como fuente de energía.

El mínimo nivel de proteína que produce un mejor crecimiento se considera como el nivel requerido por esa especie y ese rango de tallas. Por ello los niveles óptimos de proteína se calculan para unas condiciones y con peces de un determinado tamaño, puesto que los requerimientos de proteína disminuyen con el aumento del tamaño del pez (Page y Andrews 1973; Kaushik y Luquet, 1984; Masser *et al.*, 1991).

En general, el requerimiento proteico de los peces parece extremadamente elevado, en comparación a los vertebrados superiores (Guillaume *et al.*, 2002).

Cuando se diseña un pienso para una especie nueva, se establece en primer lugar un nivel óptimo de proteínas para un nivel fijo de lípidos. Pero al estudiar el nivel óptimo de lípidos se observa normalmente que aumentando el porcentaje de lípidos de la primera dieta y disminuyendo el porcentaje de proteínas la tasa de crecimiento de los animales se mantiene constante o incluso es mejor. A este efecto se le denomina “efecto sparing” o “efecto ahorrador de proteína”.

Es por ello, que la mayor parte de las empresas de pienso han seguido la tendencia de aumentar el contenido de sus dietas, disminuyendo así el contenido proteico de la misma y consiguiendo así un crecimiento máximo con una disminución del coste del pienso, ya que las fuentes de proteína son las que aumentan el precio del mismo.

De todos modos, este aumento de lípidos en las dietas debe estar muy controlado, pues una dieta excesiva en grasas, produce engrasamiento de los animales y posibles necrosis en los hígados.

Así, la calidad proteica de la dieta tiene una gran influencia en el crecimiento de los alevines de besugo, aunque debe ir acompañada de un adecuado contenido graso, pues una misma calidad proteica con un contenido excesivo de grasa da pobres resultados en el crecimiento (Linares *et al.*, 2001a).

### **1.7. Importancia de los Lípidos.**

Los lípidos son un grupo de sustancias insolubles en agua pero solubles en solventes orgánicos como éter, benceno o cloroformo entre otros. Pueden ser clasificados en tres grupos: lípidos simples (triglicéridos, ceras, ester de ceras, colesterol, vitaminas, etc...), lípidos compuestos (fosfogliceridos o fosfolípidos y cerebrósidos) y lípidos derivados (aquellos que provienen de la hidrólisis de los anteriores). Los lípidos también se clasifican en saponificables y no saponificables (vitaminas y carotenoides) dependiendo de la presencia de ácidos grasos y por ello de su capacidad de formar jabones, y en polares o neutros dependiendo de sus propiedades químicas.

Las principales funciones de los lípidos son:

1. Principal fuente de energética.
2. Regulación del funcionamiento y la estructura de las biomembranas.

3. Regulación de la fluidez de membrana.
4. Síntesis de eicosanoides.
5. Vehículos de compuestos liposolubles.
6. Funciones hormonales.
7. Calidad del filete.

En la actualidad los lípidos acuáticos han sido ampliamente estudiados por su efecto beneficioso en la salud humana, particularmente por presentar un elevado contenido de ácidos poliinsaturados n-3, ya que constituyen la principal fuente de este tipo de grasas en la alimentación humana.

En el caso de los peces, existen ácidos grasos esenciales que no pueden sintetizar de novo. Existen diferencias entre los peces de agua dulce, cuyos ácidos grasos esenciales son el ácido graso linolénico (18:3n-3) y el linoleico (18:2n-6), pues a partir de estos pueden sintetizar los ácidos grasos docosahexanoico, eicosapentanoico y araquidónico y los peces marinos cuyos ácidos grasos esenciales son el docosahexanoico (22:6n-3), el eicosapentanoico (20:5n-3) y en menor medida el araquidónico (20:4n-6), pues no pueden sintetizarlo a partir de sus precursores.

La importancia del 22:6n-3 radica en su capacidad para regular la fluidez, integridad y función de las membranas celulares. Es un ácido graso con un porcentaje elevado de fosfolípidos, ya que las enzimas que sintetizan este compuesto, particularmente las que sintetizan fosfatidil etanolamina tienen gran afinidad por este ácido graso. Se acumula en los ojos y el cerebro principalmente y juega un papel esencial en la reproducción, crecimiento y supervivencia de los peces, teniendo además un efecto positivo en la resistencia a enfermedades. Por su parte el 20:5n-3 contribuye también a mantener el equilibrio de ácidos grasos poliinsaturados en las membranas y de esta forma interviene en la regulación de su fluidez y funcionamiento. Además sus niveles en los tejidos permite regular la síntesis de eicosanoides por su competencia con el ácido 20:4n-6. Se acumula en la vejiga natatoria, en el hígado y en

los ciegos pilóricos y ejerce una función primordial en la fertilización de los huevos, el crecimiento y la supervivencia. Sin embargo, su exceso cuando las concentraciones de 22:6n-3 son pequeñas puede tener efectos adversos en el organismo acuático. El 20:4n-6, es el componente principal del fosfatidil inositol y parece ser necesario pero en cantidades menores a los anteriores para la mejora del crecimiento y fertilización de los huevos. Su exceso puede ocasionar mortalidades y problemas de estrés y malpigmentación en peces planos.

Los tipos y cantidades de lípidos que se incluyen en las dietas de peces deben cumplir una serie de requerimientos que incluyan:

1. Cubrir las necesidades de ácidos grasos esenciales de la especie cultivada.
2. Contribuir a satisfacer las necesidades de energía del organismo, optimizando la relación proteína-energía y permitiendo en la medida de lo posible ejercer el efecto ahorrador de la proteína de la dieta.
3. Ser adecuados a las tasas de alimentación de los peces, ya que estos regulan la ingesta por el contenido energético de la misma.
4. Estar adaptados a los requerimientos en cada momento del ciclo vital, ya que los requerimientos de las larvas, alevines y reproductores son diferentes.
5. Estar adaptados a las condiciones ambientales del cultivo.

Diversos autores han determinado los requerimientos cualitativos y cuantitativos de los ácidos grasos esenciales para distintas especies. Se ha observado que los requerimientos cualitativos son diferentes para las distintas especies. A su vez, los requerimientos cuantitativos de ácidos grasos dependen de varios factores:

1. La edad del pez, pues la tasa metabólica y de crecimiento va reduciéndose con la edad de los peces y así se reduce su necesidad para la formación de membranas celulares.
2. El momento en el ciclo de vida.

3. El contenido de lípidos en la dieta. Pues cuanto mayor es el contenido de lípidos en la dieta mayor es el requerimiento de ácidos grasos.
4. El contenido de vitamina E y otros antioxidantes liposolubles en la dieta.
5. Los niveles de biotina, especialmente en las especies de agua dulce.
6. Las relaciones entre los distintos ácidos grasos: n-3/n-6, EPA/DHA, ARA/EPA. Pues los ácidos grasos de las distintas familias compiten entre sí por las distintas enzimas desde las implicadas en la digestión hasta las de reaclación, síntesis de eicosanoides, etc...
7. Forma molecular en que se administran los ácidos grasos. Si se administran en su forma libre o esteres metílicos su utilización es menor que si se administran en forma de triglicéridos, que a su vez son peor utilizados que los fosfolípidos, sobre todo en las fases jóvenes.
8. Contenido en fosfolípidos.
9. Condiciones ambientales.

Se debe tener en cuenta, que los ácidos grasos poliinsaturados que componen los aceites utilizados en acuicultura, pueden ser fácilmente oxidados, incluso a pesar de incluir compuestos antioxidantes. La oxidación de estos ácidos grasos origina compuestos perjudiciales para los organismos, disminuyendo el crecimiento, la supervivencia, etc...

Uno de los principales problemas que se presentan en cultivo, especialmente en la fase de engorde es la gran cantidad de grasa que acumulan los ejemplares alrededor de las vísceras y en el músculo e hígado. Este problema tiene una relación directa con la alimentación y su solución iría ligada a la obtención de una dieta adecuada a los requerimientos nutritivos de esta especie.

En alevines de besugo, se ha observado que un contenido alto en la dieta retrasa el crecimiento y no parece haber relación entre el contenido de grasa perivisceral y el peso del hígado de los alevines con el contenido graso de la dieta suministrada (Linares *et al.*, 2001a).

El porcentaje de lípidos en la dieta favorece sin embargo la absorción de carotenoides (Torrissen *et al.*, 1990), pues al ser los carotenoides pigmentos liposolubles, los lípidos aumentan su digestibilidad.

### **1.8. Objetivos.**

El objetivo principal del presente trabajo consiste en contribuir de forma práctica, al desarrollo del cultivo comercial del besugo (*Pagellus bogaraveo*), como especie considerada de interés para la diversificación de la acuicultura.

Este objetivo general se sustenta en una serie de hipótesis de partida y unos objetivos concretos a evaluar.

#### ***Hipótesis de partida***

- 1) El besugo (*Pagellus bogaraveo*) es una especie de alto interés comercial.
- 2) Se ha conseguido cerrar el ciclo completo de cultivo para esta especie, demostrándose la potencialidad de su producción a escala comercial.
- 3) Hasta el momento se vienen utilizando piensos formulados para otras especies.
- 4) El futuro desarrollo comercial del cultivo de esta especie pasa por solventar dos problemas principales: una mayor acumulación de grasa perivisceral y la alteración del color de los animales de cultivo en comparación con los especímenes salvajes.
- 5) La adición de pigmentos carotenoides en la dieta se hace necesaria para la adecuada coloración de la piel y músculo en diferentes especies de peces. No hay constancia de trabajos realizados en este sentido para esta especie.
- 6) Las harinas de crustáceos se muestran como una buena alternativa para su inclusión como fuentes de carotenoides en piensos para peces.

- 7) Se ha demostrado la idoneidad de la inclusión de mezclas de pigmentos en las dietas, habiéndose reportado buenos resultados en el caso de las harinas de krill y de langostino.

**Objetivos concretos**

- 1) Estudio del efecto de la inclusión de carotenoides (40 mg/Kg de dieta) provenientes de harinas de krill y de langostinos en la dieta sobre el crecimiento y la utilización del alimento en el besugo, *P.bogaraveo*
- 2) Evaluación del efecto de dicha dieta sobre la composición de diferentes tejidos en especímenes de diferente tamaño.
- 3) Efecto de la inclusión de una fuente de carotenoides en la dieta sobre la coloración de la piel y músculo del *P.bogaraveo*, en ejemplares de 250 g y 650 g de peso medio.
- 4) Estudio de los cambios en la coloración de la piel, cola y músculo del *P. bogaraveo* tras su sacrificio en hielo, a las 0 horas y 18 horas posteriores a su muerte.
- 5) Comparación del color existente entre besugos capturados del medio natural y besugos cultivados en jaulas, alimentados con dietas con y sin pigmentos carotenoides.
- 6) Determinación de la concentración de carotenoides en hígado y piel de los besugos alimentados con y sin carotenoides dietéticos y comparación con aquellos de animales salvajes.

## **Material y métodos**

## **2. MATERIAL Y MÉTODOS.**

### **2.1. Animales experimentales.**

Los ejemplares utilizados en los experimentos de este trabajo, proceden de las puestas de los años 2001 y 2003 del stock de reproductores que comparten el CIMA y el CO de Vigo. El cultivo de los mismos se realizó en el CO de Vigo hasta los 90 g (puesta 2001, que fue trasladada en Junio de 2002) y los 26 g (puesta 2003, que fue trasladada a en Abril de 2004), momento en que fueron llevados a una batea de mejillón restaurada para su uso como jaula experimental de peces, propiedad de la Xunta de Galicia (Figura 7).

### **2.2. Instalaciones.**

La batea utilizada está situada en el polígono de Bueu (B II 1), en la ría de Pontevedra. Se halla expuesta a una gran producción de semilla de mejillón que origina una reducción de la luz de malla, tupiendo las redes, por lo que es necesario realizar, sobre todo en verano, cambios y limpieza de redes, para mejorar el intercambio de agua. Para evitar la depredación de las aves, la parte superior de los módulos se tapa con una red.

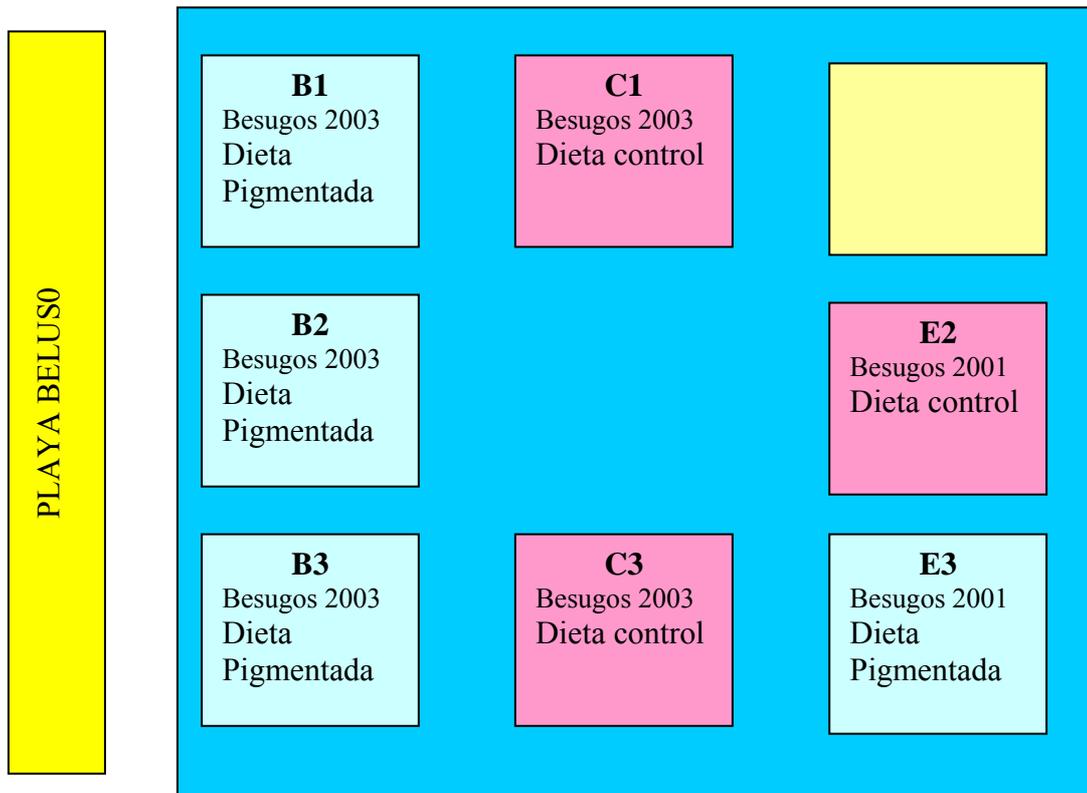


**Figura 7:** Jaula Illa dos Santos, donde se hallaban los módulos del experimento.

La Ría de Pontevedra pertenece a las Rías bajas gallegas y se caracteriza por ser embudos anchos y profundos, muy sinuosos, originadas por fracturas paralelas entre sí, producidas por fallas únicas (Vigo y Arousa) o por fosas de hundimiento limitadas por fallas (Noya, Pontevedra) (Polanco *et al*, 2000).

Según la disponibilidad de peces, se realizaron dos experimentos, el primero en los módulos B1, B2, B3, C1 y C3 (peces nacidos en 2003, con un peso medio de 250g, al inicio del experimento) y el segundo en los módulos E2 y E3 (peces nacidos en 2001, con un peso medio de 650g al inicio del experimento) (Figura 8). Se hizo un recuento y un reparto de los peces en los módulos, para que el nº de ejemplares fuera lo más homogéneo posible. Cada módulo tiene un volumen de 120 m<sup>3</sup> (4 m x 4 m x 8 m).

## ILLA DOS SANTOS



**Figura 8:** Situación de los módulos de los experimentos en la jaula Illa do Santos.

(B- Babor y E- estribor).

### 2.3. Dietas.

Los peces fueron alimentados con dos tipos de pienso: Uno pigmentado 50/15 y otro de la marca Sorgal 50/12, que se utilizó como control. Los piensos fueron suministrados por las casas comerciales PROAQUA y SORGAL, respectivamente. El tamaño del granulo fue de 5 mm y fue suministrado a los peces de forma manual de lunes a viernes una vez al día. La cantidad suministrada fue de un 2% de la biomasa de cada módulo.

**Tabla V:** Formulación y composición de los piensos utilizados.

<b>INGREDIENTES</b>	<b>CONTROL</b>	<b>PIGMENTADA</b>
Harina de pescado	67,15	49,15
Aceite de pescado	5,14	8,92
Trigo	26,48	11,07
Mix de Vitaminas	0,20	0,3
Mix de Minerales	0,50	0,56
<b>COMPOSICIÓN PROXIMAL</b>		
Proteínas	54,39	50
Lípidos	13,03	15
Cenizas	10,12	18
Humedad	7,92	8,0

La dieta pigmentada incluye como fuente de pigmentos una mezcla de harinas de krill y de carcasa de langostino (30%, repartida en un 10% de harina de krill y un 20% de harina de carcasa de langostino) para que contenga 40 mg/kg de carotenoides. El resto hasta completar el 100% son aglutinantes, antioxidantes y antifúngicos

#### **2.4. Alimentación.**

Se alimentó a los peces de ambos experimentos de manera manual, de lunes a viernes exceptuando los días festivos. La cantidad administrada para ambas dietas, fue un 2% de la biomasa de cada módulo (Tabla VI). Los peces se mantuvieron en inanición durante 48 horas antes de cada uno de los muestreos realizados.

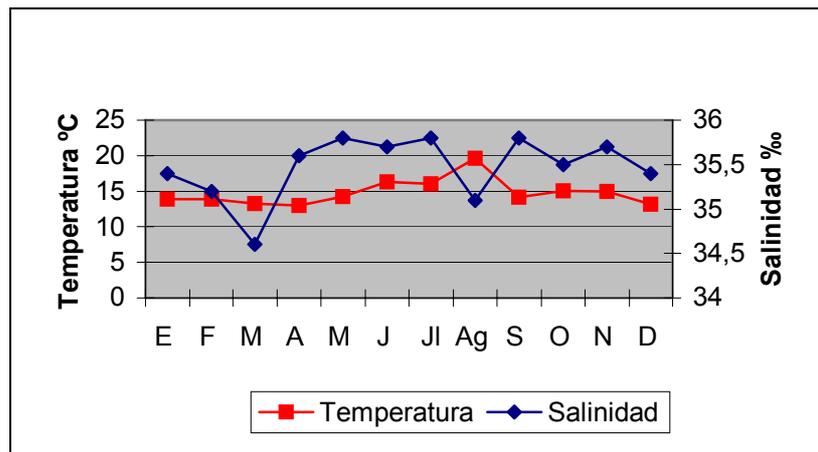
**Tabla VI:** N° individuos, peso medio, biomasa total, % de alimentación diaria y densidad por módulo.

	B1	B2	B3	C1	C3	E2	E3
N° ind	887,00	1031,00	1032,00	835,00	828,00	497,00	497,00
Peso medio (g)	258,28	258,22	246,38	255,63	247,37	655,65	673,44
Desviación típica (Kg)	37,57	45,31	43,97	26,48	30,55	114,50	107,75
Biomasa total (Kg)	229,00	266,00	254,00	214,00	205,00	326,00	335,00
2% aliment (Kg/día)	4,60	5,30	5,10	4,30	4,10	6,50	6,70
Densidad (Kg/m3)	1,90	2,20	2,10	1,80	1,70	2,70	2,80

No se observó durante la experiencia, diferencias en la adaptación de los peces a la dieta pigmentada experimental.

### 2.5. Parámetros ambientales.

Los experimentos se realizaron del 30 de Junio de 2005 hasta el 26 de Octubre de ese mismo año. Lo que corresponde a la época del año con temperaturas más elevadas en el agua (14,9°C-20°C), lo que favorece el crecimiento. Las salinidades exceptuando la medida en el mes de agosto son también mayores que durante los meses invernales (Figura 9).



**Figura 9:** Datos de temperatura y salinidad en el polígono de Bueu (B II 1) en el año 2005.

## **2.6. Muestreos.**

Se realizaron muestreos cada dos meses (30/06/05, 30/08/05, 26/10/05) de talla, peso y color en el barco y a las 18 horas se realizó la disección de los ejemplares sacrificados el día anterior tomándose muestras por triplicado de músculo, hígado y gónadas (cuando la cantidad de las mismas lo permitía), las cuales fueron homogenizadas y conservadas a -80°C, hasta el momento de ser liofilizadas. Tras este proceso las muestras se guardaron en un frigorífico a -4°C hasta el momento de su análisis. También se tomaron muestras de piel, las cuales fueron conservadas a -80°C hasta el momento de su análisis.

### **2.6.1. *Peso y talla.***

El peso se determinó mediante una balanza tipo de la marca Pols modelo S-182 (Peso máximo 10 kg y 5 decimales), en el barco propiedad de la Asociación Illa dos Santos, utilizada para tales fines. Se midió la longitud hasta el pedúnculo caudal al 0,5 cm inferior y el peso al g.

El muestreo realizado en el laboratorio consistió en medir la longitud furcal y caudal de los peces, así como pesar el peso total y el eviscerado. También se determinó tras la disección el peso del hígado, el perivisceral, de las gónadas y se determinó el sexo y estado de las gónadas de los ejemplares.

### **2.6.2. *Determinación del color.***

Las medidas fueron tomadas mediante un colorímetro portátil marca HUNTERLAB (Mod. Miniscan xe plus 54/0 LAV N°Serie 5849). Los parámetros de color determinados fueron:

**L**, lightness (claridad), cuyo rango oscila entre el 0 (negro) y el 100 (blanco) y es una medida del índice de reflexión de la luz.

**a\*** para la cromaticidad roja/verde.

**b\***, para la cromaticidad amarillo y azul.

Comisión internacional de la iluminación, CIE (1976).

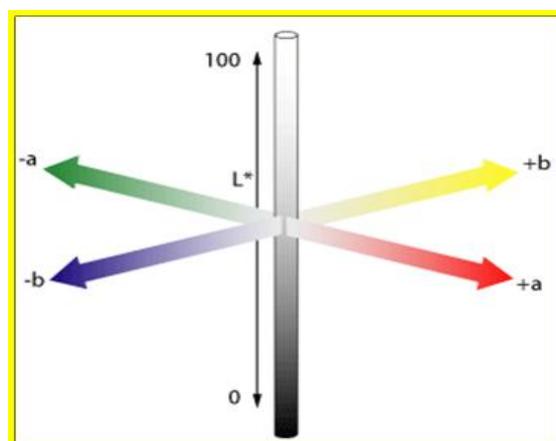
A partir de los valores medidos de  $a^*$  y  $b^*$ , se calcularon los valores de hue (tono o color) y croma (cromaticidad o intensidad). El hue representa el color observable Ex. Rojo, azul, amarillo, etc... Es una medida angular donde  $0^\circ$  indica un color rojo y  $90^\circ$  color amarillo,  $180^\circ$  verde y  $270^\circ$  azul y es calculado a partir de la ecuación:

$$H_{ab} = \arctan(b/a) \text{ (Hunt, 1977).}$$

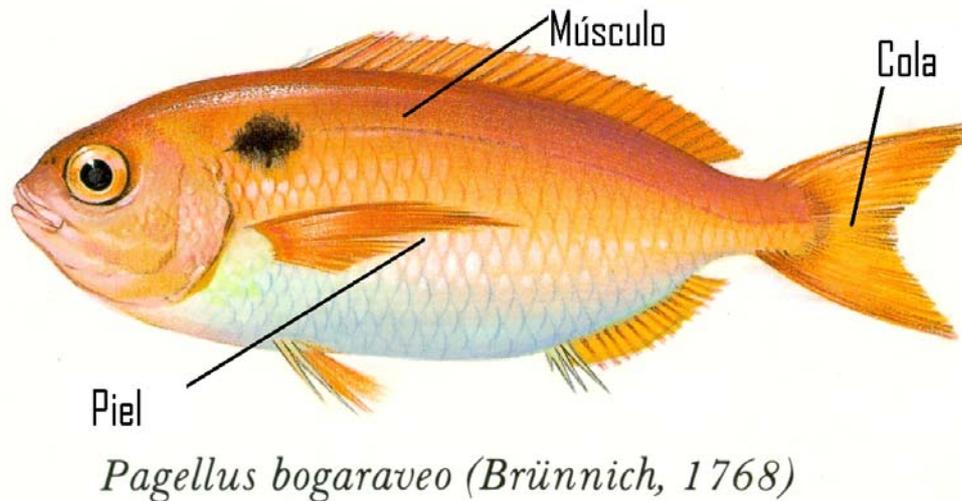
El croma nos indica la expresión de la intensidad o saturación del color y viene expresado por la ecuación:

$$C_{ab} = (a^2 + b^2)^{1/2} \text{ (Hunt, 1977).}$$

El color viene definido por los valores de L, Hue y Croma.



**Figura 10:** Representación del modelo de color espacial usado en este estudio (CIE ab).

**Experimento 1:**

**Figura 11:** Zonas donde se midió el color en *Pagellus bogaraveo*.

En el **muestreo inicial**, en el barco, se midió el color (L, a\* y b\*) a 4 peces de cada módulo (4 peces x 5 módulos), es decir 20 peces en la piel, en el lado izquierdo del pez, bajo la aleta pectoral.

Se sacrificaron 3 peces por módulo, en hielo y agua salada y se conservaron en cámara frigorífica a -4°C hasta el día siguiente. A las 18 horas aproximadamente, posteriores a su muerte, se midió a estos peces de nuevo el color en la piel y en el músculo.

En el **muestreo medio y en el muestreo final**, en el barco, se midió el color (L, a\* y b\*) a 10 peces de cada módulo, en la piel. Se sacrificaron 3 peces por módulo, es decir 9 peces para la dieta pigmentada y 6 peces para la dieta control y al día siguiente (aproximadamente a las 18 horas tras la muerte y conservados a -4°C), se les midió el color en la piel y en el músculo.

**Experimento 2:**

En el **muestreo inicial**, se siguió el mismo proceso que en el experimento 1. Se midió el color en la piel y se sacrificaron 3 peces por módulo (3 peces x 2 módulos), es decir 6 peces. En

el laboratorio, aproximadamente a las 18 horas tras la muerte y habiendo sido conservados a -4°C en cámara frigorífica, se midió el color en la piel y el músculo.

En el **muestreo medio y en el muestreo final**, en el barco, se midió el color (L, a\* y b\*) a 10 peces por módulo, pero en este caso en la piel y en la cola. Se sacrificaron 3 peces por módulo y en el laboratorio se midió el color en las 3 zonas (piel, cola y músculo).

### **Besugos procedentes del medio natural:**

Se midió el color a 6 peces procedentes de pesca extractiva de la lonja de Aguiño (pescados en la boca de la ría de Arousa), a las 18 h de su muerte, en la piel, en la cola y en el músculo.

## **2.7. Parámetros biológicos determinados.**

### **1. Tasa de crecimiento específico (SGR):**

$$\text{SGR} = (\text{LN Peso final} - \text{LN Peso inicial} / \text{n}^\circ \text{ días}) * 100$$

**2. Índice hepatosomático (HSI):** Relación existente entre el peso del hígado y el peso del pez.

$$\text{HSI} = (\text{Peso hígado} / \text{Peso total}) * 100$$

**3. Factor de condición (K):** Relación existente entre el peso y la longitud del pez.

$$\text{K} = (\text{Peso (g)} / \text{Longitud (cm)}^3) * 100$$

**4. Índice de conversión (FCR):** Aumento de biomasa por alimento ingerido.

$$\text{FCR} = \text{Alimento ingerido} / \text{Biomasa generada (Bf-Bi)}$$

Este índice es una estimación ya que en las jaulas no se puede saber exactamente el pienso ingerido.

**5. Grasa perivisceral:** Nos indica el porcentaje de grasa que tiene el pez con respecto su peso total.

$$\text{Grasa perivisceral} = (\text{Peso de la grasa} / \text{Peso total}) * 100$$

**6. Índice gonadosomático (GSI):** Nos indica el porcentaje en peso de las gónadas con respecto a su peso total.

$$\text{GSI} = (\text{Peso de las gónadas} / \text{Peso total}) * 100$$

**7. Índice viscerosomático (VSI):** Nos indica el porcentaje en peso de las vísceras con respecto al peso total del pez.

$$\text{VSI} = ((\text{Peso total} - \text{Peso eviscerado}) / \text{Peso total}) * 100$$

## **2.8. Métodos analíticos de composición.**

Se realizaron los análisis bioquímicos siguientes de las muestras del pienso utilizado, del músculo, de las gónadas y del hígado. Todos los análisis se realizaron por triplicado:

### **2.8.1. *Peso seco (Humedad).***

Se determinó mediante la desecación en estufa a 110°C, hasta peso constante según el método AOAC (1995).

Los viales de aluminio deben estar activados (al menos durante una hora a 110°C, en la estufa). Se sacan de la estufa y se introducen en un desecador a vacío durante una hora aproximadamente, se tara la balanza y se pesan aproximadamente 5 mg de muestra. Se meten en la estufa durante 24 horas a 110°C. Se meten en el desecador hasta que enfríen y se pesan. De este modo determinamos el peso seco y la humedad.

$$\text{Humedad} = \text{Pmg (0 h)} - \text{Pmg (24 h)}$$

$$\% \text{Humedad} = 100 \times \text{Humedad} / \text{Pmg (0 h)}$$

### **2.8.2. Cenizas.**

Se determinó mediante la incineración en horno mufla a 450°C hasta peso constante según el método AOAC (1995).

Tras pesar el peso seco, se introducen las muestras en un horno mufla a 450°C, donde permanecen 24 horas. Al día siguiente se introducen en el desecador, hasta que enfrían y se pesan de nuevo. Así obtenemos las cenizas de las muestra.

$$\% \text{ Cenizas} = 100 \times \text{cenizas} / \text{Pmg (0 horas)}$$

### **2.8.3. Proteínas totales (método Bradford).**

El método Bradford (1976) es un método colorimétrico de determinación de proteínas solubles que elimina los problemas de interferencias existentes en otros métodos.

Es fácilmente utilizable, permite el procesado de gran número de muestras y se adapta sin dificultades a la automatización.

Está basado en la observación de que el reactivo Coomasie brilliant Blue G-250 existe en dos colores diferentes: rojo y azul. La forma roja se convierte en la forma azul en la unión del

colorante a la proteína. El complejo “proteína-colorante” tiene un alto coeficiente de extinción dando una gran sensibilidad en la medida de las proteínas.

Se prepara un patrón de proteínas, como estándar de BSA, utilizando albúmina de serum bovino. Se hacen sucesivas diluciones, según el método, para preparar el patrón.

Se pesan 5 mg de muestra, se añade 500µl de NaOH y se deja actuar durante al menos 30 min. Se añaden 2,5 ml de agua destilada y se sonicán las muestras.

Se añaden 2 ml de agua destilada (de manera que tenemos aproximadamente 5 mg de muestra en 5 ml de agua destilada).

Se toman 50 µl de cada dilución patrón y se añade a los tubos que vamos a medir la absorbancia. Se hace lo mismo, con el blanco de agua destilada y con las muestras que se van a analizar. Las muestras se analizan por triplicado. Se añaden 1,5 ml de coomasie, previamente atemperizado y homogenizado a cada una de las muestras (blanco, patrón y muestras en sí) y se procede a su lectura en un espectrofotómetro (marca Beckman modelo Du-70) a 596 nanómetros.

A cada muestra se le resta el valor del blanco y se aplican los resultados a una curva estándar, para determinar el coeficiente, la constante y la  $R^2$  (debe tener un valor  $>0,98$ ) de la recta de regresión calculada con el patrón.

$$\text{mg P.S./ml} = (\text{mg PS} / 5 \text{ ml}) \times 1000$$

$$\text{mg proteína determinada} = (\text{absorbancia} - \text{constante}) / \text{coeficiente}$$

$$\% \text{ proteína} = 100 \times \mu \text{ g proteína determinada} / (\mu \text{ g PS/ml})$$

$$\% \text{ proteína corregida} = 100 \times \% \text{ proteína} / (100 - \text{Humedad})$$

#### 2.8.4. *Extracción de Lípidos.*

Para la extracción de lípidos se utilizó cloroformo y metanol (2:1) (Blight & Dyer, 1959, modificado por Fernández Reiriz et al. (1989)). Se realizan dos extracciones y una purificación del sobrenadante.

Se pesan entre 25 y 30 mg de peso seco, se homogeniza en 2 ml de agua destilada y se sonica. La muestra debe estar en hielo para no oxidarse.

1ª extracción: Se añaden 2,5 ml de cloroformo+BHT y 5 ml de metanol. Se centrifuga durante 30 min a 3000 rpm. Se separa el sedimento y el sobrenadante.

2ª extracción: Al sedimento se le añaden 2 ml de cloroformo+BHT y 1 ml de metanol. Se centrifuga 30 min a 3000 rpm. Se separan las dos fases. El sedimento se desecha y el sobrenadante se introduce en el tubo donde está el sobrenadante de la primera extracción.

Purificación del sobrenadante: Se añaden 7,5 ml de cloroformo+BHT y 2,5 ml de agua destilada (para conseguir una proporción de cloroformo:metanol:agua de 8:4:3). Se centrifuga 30 min a 3000 rpm. La fase superior se tira y la inferior se pasa a un tubo graduado redondo, con un poco de la fase superior para evitar que se evapore la inferior. Se deja así hasta el día siguiente en la nevera, sellado con teflón, para que se estabilice y así poder medir el volumen de la fase inferior. Se pasa el extracto a un tubo de cristal de 20 ml y se guarda en el congelador, para su conservación hasta la realización de los análisis pertinentes.

A partir de los mg de muestra y el volumen de la fase inferior se calculan los  $\mu\text{g P.seco}$  de la muestra:

$$\text{mg/vol (ml)} \times 0,3 \times 1000$$

#### 2.8.5. *Determinación de lípidos por gravimetría.*

Mediante la diferencia de pesadas se calculan los mg de lípidos por ml que tenemos en el extracto. Posteriormente se corrige este valor al restarle la humedad.

Los viales que se utilizan en la determinación deben estar activados (al menos durante una hora en la estufa a 110°C) y el proceso se realiza por triplicado. Se sacan de la estufa y se meten en un desecador a vacío durante una hora aproximadamente. Se pesan en la balanza y se añaden 0,3 ml de extracto lipídico por vial, mediante la jeringa de 0,5 ml. Los viales se colocan en la placa calefactora hasta que se evaporen totalmente y de ahí en un desecador a vacío durante otra hora y se pesan de nuevo. La diferencia existente entre las dos pesadas son los lípidos.

$$\% \text{ lípidos} = 100000 \times \text{lípidos} / \mu \text{ g P.seco}$$

$$\mu \text{ g/ml} = 1000 \times \text{lípidos (a+b+c)} / 0,9$$

$$\% \text{ lípidos corregidos} = 100 \times \% \text{ lípidos} / (100 - \text{Humedad})$$

#### 2.8.6. *Ácidos grasos. (Cromatografía de gases).*

Los ácidos grasos previa transesterificación y metilación a sus esteres metílicos (Lepage y Roy, 1986) se analizan por cromatografía de gases (GC) realizándose la determinación cuantitativa mediante la adición a las muestras de un patrón interno y utilizando un patrón cuantitativo comercial (Larodan).

Conocida la concentración ( $\mu$  g/ml) existente en el extracto lipídico a analizar se calcula el volumen de muestra necesaria para obtener aproximadamente 400  $\mu$  g de lípidos.

Se agitan los extractos y se coloca la muestra a analizar en un tubo de 18 ml previamente marcado con la identificación correspondiente, se añade la cantidad de muestra calculada y 100  $\mu$  l de patrón interno 19:0, que testará la muestra al tener un área conocida. Se agitan para mezclar la muestra con el patrón, tras lo cual, se procede a la evaporación de la muestra por sequedad.

Para la obtención de los ésteres metílicos de los ácidos grasos se añade 0,4 ml de tolueno y 1,5 ml de sulfúrico metanol al 1,5%. Se agita y se coloca en una estufa a 50°C durante 12 horas o bien 48 horas a temperatura ambiente. Se produce una reacción en un solo paso para la obtención de los metilésteres de los ácidos grasos conocida como “transesterificación-metilación” que sustituye a los procesos clásicamente utilizados de saponificación, acidificación (hidrólisis) y metilación. El tolueno es el disolvente orgánico en el que irán disueltos los ésteres metílicos de los ácidos grasos, se elige en función de la idoneidad de dicho disolvente con la columna utilizada y con la muestra a analizar.

Se pone la muestra a temperatura ambiente y se procede a detener la reacción de la transesterificación y a neutralizarla añadiéndole 5 ml de  $K_2CO_3$  al 6 % y se agita para homogenizarla. Después de esto, las muestras se centrifugan a 3000 rpm durante 12 minutos. En la fase superior estarán los ésteres metílicos de los ácidos grasos. Estos compuestos son volátiles, requisito indispensable para el análisis por cromatografía de gases. La fase inferior se desecha.

En un tubo cónico con tapón de vidrio se añade sulfato sódico, pues al ser un compuesto hidrófilo retendrá impurezas presentes en la muestra. Se marca el tubo y se añade el sobrenadante obtenido en la centrifugación de la muestra.

Se inyecta en el cromatógrafo 1  $\mu$  l de la disolución de ésteres metílicos (aproximadamente 1  $\mu$  g/ $\mu$  l), cantidad calculada en función de la tasa de saturación de la columna empleada y el análisis que buscamos. El método que utilizamos se llama split-splitless. El flujo del split es de 62`0 L/min y el tiempo de análisis es de 64 min.

Condiciones operativas de la cromatografía de gases:

1. Aparato: Autosystem XL (aguja 7,5 cm).
2. Integrador: Totalchrom Navigator.

3. Columna: 30 m de largo, 250  $\mu$  m de diámetro, 0,2  $\mu$  m de fino. Supelco SP<sup>TM</sup> 2330 fused silica.
4. Gas portador: Helio.
5. Presión de los gases (ml/ min): He (12 ), H<sub>2</sub> (12) y aire (20).
6. Temperatura: Del detector- FID 250°C
7. Temperatura: De la columna: Existen tres rampas de temperatura. El proceso comienza a 145°C y aumenta la temperatura 1°C/min hasta alcanzar los 190°C, tras lo cual la temperatura aumenta 5°C/min hasta alcanzar los 210°C y se mantiene a esa temperatura durante 20 min.

$$\mu \text{ g lípidos} = \mu \text{ g lípidos de la muestra} / 400 \mu \text{ l de tolueno.}$$

$$\mu \text{ g de P. seco} = 100 \times \mu \text{ g lípidos} / \% \text{ lípidos corregidos.}$$

$$\% \text{ total} = \text{área a.g.} \times 100 / (\Sigma \text{ áreas a. grasos} - \text{área a.g. 19:0})$$

$$\text{ng (ácido graso)} = \text{área a.g.} \times 0,0239(\text{ng a.g.19:0}) / \text{área a.g. 19:0} \times 1000$$

$$\text{ng} / \mu \text{ g P. seco} = \text{ng (ácido graso)} \times R_f (\text{aparato}) / \mu \text{ g P. seco}$$

#### 2.8.7. *Extracción de Carotenoides.*

Se realizó a partir del método Britton, 1995 modificado con recomendaciones de este mismo autor, extrayendo los carotenoides mediante acetona.

Se pesa aproximadamente un gramos de muestra en un tubo (1) y se anota el peso, se añaden 10 ml de acetona y se homogeniza la muestra en el ultraturrax durante un minuto. Después se centrifuga la muestra durante 5 minutos a 2000 r.p.m. El sobrenadante se pasa a un nuevo tubo (2) y se va evaporando con N<sub>2</sub> hasta que el volumen disminuye.

En el tubo original (1), se añaden otros 5 ml de acetona y se vuelve a pasar la muestra por el ultraturrax, la centrifuga y la evaporación con N<sub>2</sub> (la evaporación no es a sequedad). En el caso,

que la muestra del tubo original (1) tuviera aún color, habría que volver a añadir acetona y repetir los pasos vistos, hasta su total extracción.

En el tubo (2) donde se ha disminuido el volumen de la muestra, se añaden 5 ml de hexano (y se agita el tubo) y 2 ml de H<sub>2</sub>O para que se formen dos fases. El agua debe caer despacio por las paredes del tubo para evitar la formación de emulsiones. Se pasa la fase superior a un tercer tubo (3). Se evapora en N<sub>2</sub> sin dejar que se seque.

Los carotenoides se diluyen con hexano. Dependiendo de la cantidad de color que se obtenga, se aplicará un volumen de hexano con BHT 0,05%. Este solvente se añade de ml en ml hasta conseguir el color deseado (que será lo más claro posible). Se pasa la dilución a una cubeta y se lee la absorbancia en el espectrofotómetro a 470 nm.

Se debe conocer el rango de lectura de la absorbancia de las muestras, que suele estar entre 0,2 y 0,9. **E:** Coeficiente de extinción (2500).

$$\text{ug carotenoides/muestra} = (\text{abs max} \times V \text{ (ml)} \times 10000) / (\text{E} \times \text{g (muestra)})$$

## 2.9. Análisis estadístico.

Los datos fueron tratados estadísticamente utilizando el análisis de la varianza (ANOVA) o la prueba no paramétrica de rangos múltiples (Kruskal-Wallis) en el caso de que los datos presentaran varianzas heterogéneas o no se distribuyeran normalmente. Para comparar sólo dos replicas se utilizó la t-student (Sokal y Rohlf, 1979). Las diferencias estadísticamente significativas entre medias fueron puestas de manifiesto mediante el test de comparaciones múltiples de Tukey y para las detectadas con Kruskal-Wallis se utilizó un procedimiento de cajas y bigotes, tomándose como criterio general el 95% de nivel de confianza.

Los datos estadísticos fueron analizados con el programa estadístico SPSS, versión 11.5 para Windows (Chicago IL.USA).

## **Resultados**

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Los Piensos.

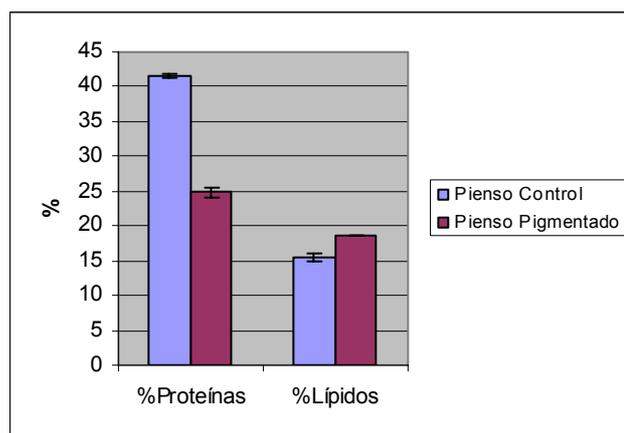
##### 3.1.1. Análisis bioquímico de los piensos.

##### 3.1.1.1. Análisis de Proteínas, Lípidos, Humedad y Cenizas.

En los análisis de los datos obtenidos se observó que el pienso control presenta un porcentaje en proteínas solubles mayor que el pienso pigmentado, siendo sin embargo, el porcentaje de lípidos similar para ambas dietas teniendo valores de 15,58% para el pienso control y de 18,66% para el pienso pigmentado (Figura 12). El porcentaje de humedad es mayor en el pienso control, pero sin embargo presenta un nivel menor de cenizas que el pienso pigmentado (Tabla VII).

**Tabla VII:** Composición analítica de los piensos control y pigmentado. (% peso seco $\pm$ SD).

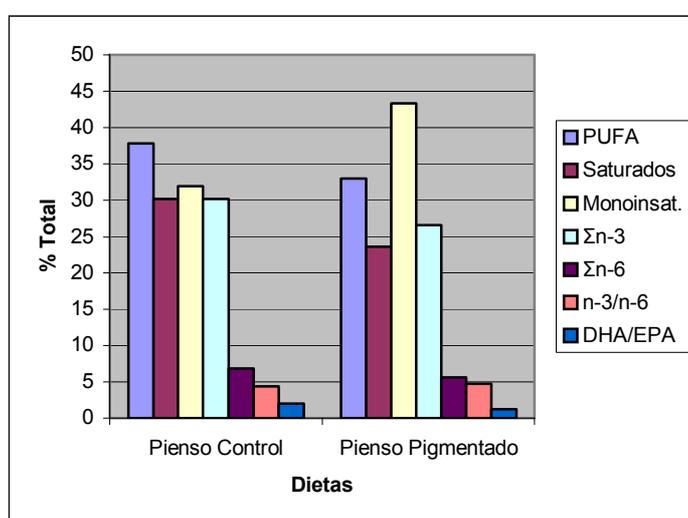
Dietas	Proteínas	Lípidos	Humedad	Cenizas
Pienso Control	41,51 $\pm$ 0,37	15,58 $\pm$ 0,54	2,05 $\pm$ 0,27	12,47 $\pm$ 0,85
Pienso Pigmentado	24,84 $\pm$ 0,78	18,66 $\pm$ 0,08	1,41 $\pm$ 0,24	18,03 $\pm$ 0,62



**Figura 12:** Composición bioquímica (% de proteína y lípidos expresados en % de peso seco) de los piensos.

### 3.1.1.2. Análisis de ácidos grasos.

Respecto al contenido en ácidos grasos, en la tabla VIII se puede observar que el pienso control posee un mayor porcentaje de PUFA, de ácidos grasos saturados, de a.g. de las familias n-3 y n-6, así como un porcentaje mayor de la relación DHA (22:6n-3)/EPA (20:5n-3). El pienso pigmentado presenta mayor proporción de ácidos grasos monoinsaturados y un porcentaje ligeramente mayor de la relación n-3/n-6 (Figura 13).



**Figura 13:** Porcentaje de a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma$ n-3,  $\Sigma$ n-6, n-3/n-6 y DHA/EPA del pienso control y el pienso pigmentado.

**Tabla VIII:** Composición en ácidos grasos, PUFA, saturados, monoinsaturados,  $\Sigma$  n-3,  $\Sigma$  n-6, relación n-3/n-6 y DHA/EPA, expresado en ng/ug p.seco y % total de a.g. de los piensos.

a.graso	Pienso Control		Pienso Pigmentado	
	ng/ug P.seco	% Total	ng/ug P.seco	% Total
14:0	6,16	4,11	7,42	3,02
14:1	0,23	0,16	0,26	0,12
15:0	0,13	0,09	0,21	0,11
16:0	25,02	20,13	15,83	16,22
16:1n-11	0,58	0,42	0,42	0,37
16:1n-9	0,38	0,28	0,24	0,21
16:1n-7	7,61	5,52	5,82	5,19
16:1n-5	0,53	0,38	0,35	0,32
17:0	1,50	1,09	0,67	0,67
16:2n-4	0,71	0,52	0,50	0,53
17:1	0,64	0,48	0,34	0,37
18:0	6,28	4,79	3,20	3,64
18:1n-9	17,27	13,61	15,44	17,57
18:1n-7	3,39	2,67	3,25	3,70
16.4	0,28	0,22	0,25	0,28
18:2n-6	7,61	5,58	4,31	4,60
18:3n-3	1,62	1,16	1,28	1,35
20:1n-11	0,60	0,45	0,66	0,70
20:1n-9	4,85	3,63	6,26	6,61
20:1n-7	0,37	0,27	0,37	0,39
18:4n-3	2,42	1,81	1,73	1,83
20:4n-6	1,96	1,30	1,01	1,00
22:1n-11	5,34	3,50	6,99	6,82
22.1n-9	0,92	0,60	0,84	0,80
22.1n-7	0,00	0,00	0,14	0,13
20:4n-3	1,09	0,69	1,24	1,13
20:5n-3	13,23	8,37	10,11	9,00
22:5n-3	2,26	1,39	2,39	1,99
22:6n-3	28,76	16,77	15,51	11,35
<b>Total</b>	<b>141,73</b>	<b>100,00</b>	<b>107,04</b>	<b>100,00</b>
<b>PUFA</b>	<b>59,93</b>	<b>37,81</b>	<b>38,33</b>	<b>33,05</b>
<b>Saturados</b>	<b>39,09</b>	<b>30,22</b>	<b>27,32</b>	<b>23,65</b>
<b>Monoinsat.</b>	<b>42,72</b>	<b>31,97</b>	<b>41,39</b>	<b>43,30</b>
<b><math>\Sigma</math>n-3</b>	<b>49,38</b>	<b>30,20</b>	<b>32,26</b>	<b>26,64</b>
<b><math>\Sigma</math>n-6</b>	<b>9,57</b>	<b>6,87</b>	<b>5,32</b>	<b>5,60</b>
<b>n-3/n-6</b>	<b>5,16</b>	<b>4,39</b>	<b>6,07</b>	<b>4,76</b>
<b>DHA/EPA</b>	<b>2,17</b>	<b>2,00</b>	<b>1,53</b>	<b>1,26</b>

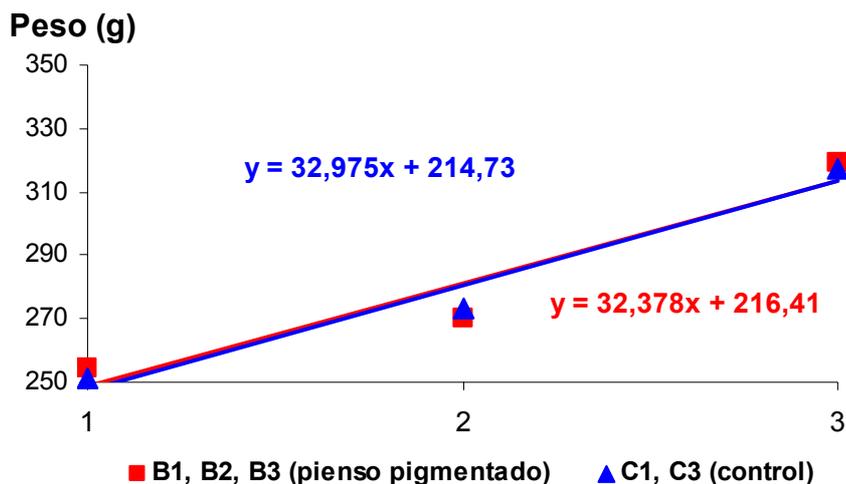
### 3.2. Crecimiento.

#### 3.2.1. Experimento 1.

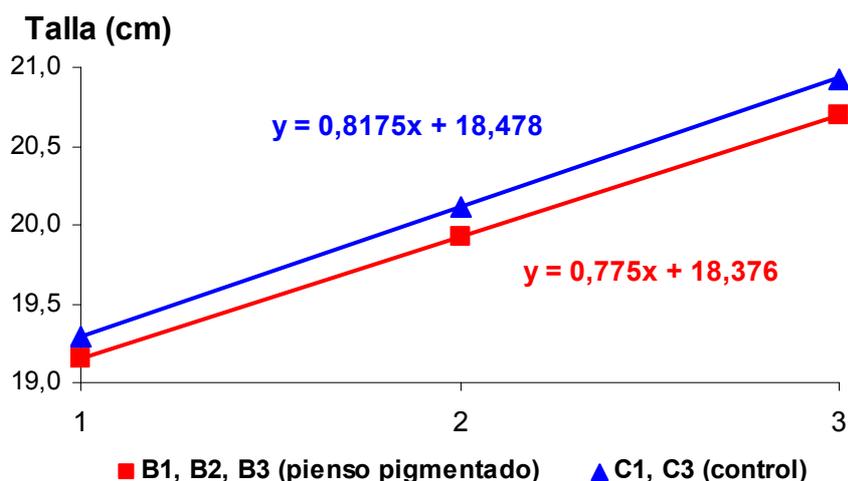
Los pesos medios obtenidos tras 4 meses de engorde fueron de  $319,05 \pm 50,62$  y  $317,45 \pm 39,43$  g con el pienso pigmentado y control respectivamente (Tabla IX). Las tallas medias obtenidas al final de la experiencia fueron de  $20,75 \pm 1,38$  cm con el pienso pigmentado y  $20,93 \pm 1,15$  cm con el pienso control (Tabla IX). El crecimiento en peso y en talla durante los 4 meses se ajustó a una regresión lineal (Figuras 14 y 15). Se compararon las pendientes de las rectas de crecimiento de los peces alimentados con las dos variedades de pienso y el análisis mostró que no existen diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre el crecimiento en peso y talla de los ejemplares de ambos grupos.

**Tabla IX:** Evolución del peso y la longitud de los peces a lo largo del periodo experimental (media $\pm$ SD) (Exp 1).

Muestreos	Pienso Control		Pienso Pigmentado	
	Peso	Longitud	Peso	Longitud
<b>Muestreo inicial</b>	251,50 $\pm$ 28,75	19,30 $\pm$ 0,97	254,29 $\pm$ 42,50	19,15 $\pm$ 1,61
<b>Muestreo medio</b>	273,08 $\pm$ 42,04	20,12 $\pm$ 1,02	270,16 $\pm$ 42,89	19,93 $\pm$ 1,45
<b>Muestreo final</b>	317,45 $\pm$ 39,43	20,93 $\pm$ 1,15	319,05 $\pm$ 50,62	20,75 $\pm$ 1,38



**Figura 14:** Crecimiento en peso de los ejemplares de besugo durante el periodo experimental.



**Figura 15:** Crecimiento en talla de los ejemplares de besugo durante el periodo experimental.

En la tabla X se puede observar los diferentes índices de crecimiento de los grupos alimentados con ambos piensos. Todos los parámetros medidos resultaron similares para ambas dietas. Las mayores diferencias se observaron para los índices hepatosomáticos y para el % de grasa perivisceral, con incrementos del 23% y 49% respectivamente para los peces de la dieta control y del 35% y 29% respectivamente para la dieta pigmentada.

**Tabla X:** Parámetros de crecimiento y utilización del alimento para los dos piensos experimentales (medias $\pm$ SD).

	Dietas	
	Control	Pigmentada
<b>Peso inicial (g)</b>	251,50 $\pm$ 28,75	254,29 $\pm$ 42,50
<b>Peso final (g)</b>	317,45 $\pm$ 39,43	319,05 $\pm$ 50,62
<b>Peso ganado (g)</b>	65,95	64,76
<b>Longitud inicial (cm)</b>	19,3 $\pm$ 0,97	19,15 $\pm$ 1,61
<b>Longitud final (cm)</b>	20,93 $\pm$ 1,15	20,75 $\pm$ 1,38
<b>SGR</b>	0,20	0,19
<b>FCR</b>	6,42	6,68
<b>K inicial</b>	3,50	3,62
<b>K final</b>	3,46	3,60
<b>HSI inicial</b>	1,42 $\pm$ 0,22	1,42 $\pm$ 0,22
<b>HSI final</b>	1,74 $\pm$ 0,11	1,91 $\pm$ 0,33
<b>Grasa perivisceral inicial</b>	3,25 $\pm$ 1,21	3,25 $\pm$ 1,21
<b>Grasa perivisceral final</b>	4,84 $\pm$ 0,56	4,19 $\pm$ 1,39
<b>VSI inicial</b>	12,07 $\pm$ 2,60	12,07 $\pm$ 2,60
<b>VSI final</b>	11,13 $\pm$ 1,13	12,20 $\pm$ 1,98

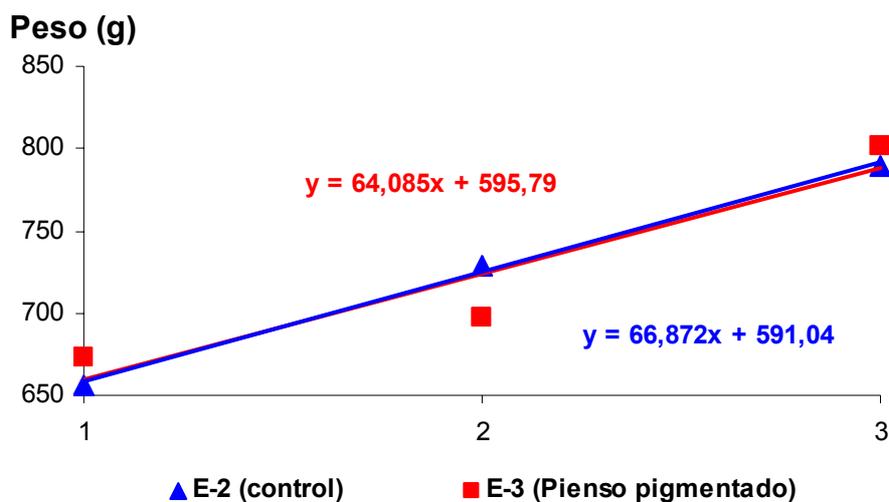
La ausencia de superíndices indica la no existencia de diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ).

### 3.2.2. Experimento 2.

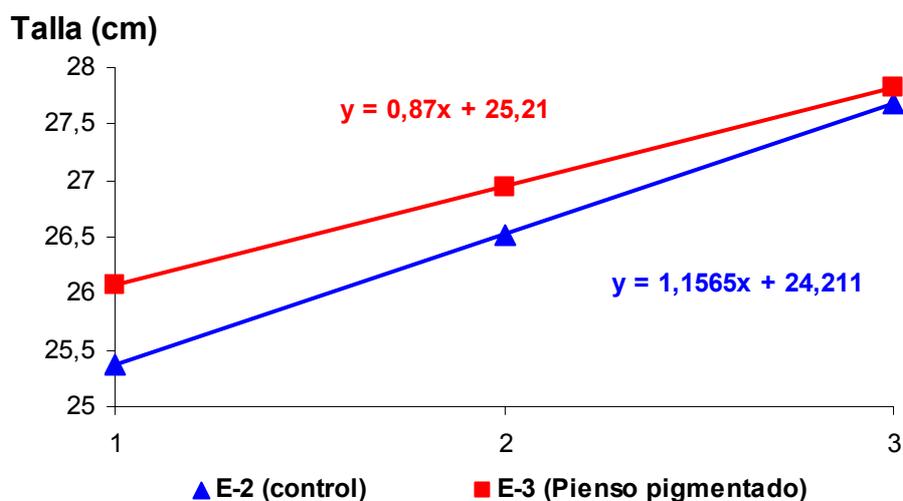
Los pesos medios obtenidos tras 4 meses de engorde fueron de 801,62 $\pm$ 142,01 y 789,39 $\pm$ 125,50 g con el pienso pigmentado y control respectivamente. Las tallas medias obtenidas al final de la experiencia fueron de 27,82 $\pm$ 1,78 cm con el pienso pigmentado y 27,68 $\pm$ 1,85 cm con el pienso control (Tabla XI). Tanto el crecimiento en talla como en peso durante este periodo se ajustaron a una regresión lineal (Figura 16 y 17). Se compararon las pendientes de las rectas de crecimiento de los peces alimentados con las dos variedades de pienso y el análisis mostró que no existen diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre el crecimiento en peso y talla de los ejemplares de ambos grupos.

**Tabla XI:** Evolución del peso y la longitud de los peces a lo largo del periodo experimental (media±SD) (Exp 2).

Muestreos	Pienso Control		Pienso Pigmentado	
	Peso	Longitud	Peso	Longitud
Muestreo inicial	655,65 ±114,50	25,40 ±1,69	673,44 ±107,75	26,08 ±2,65
Muestreo medio	729,31 ±117,05	26,52 ±1,74	696,82 ±150,12	26,95 ±2,20
Muestreo final	789,39 ±125,50	27,68 ±1,85	801,62 ±142,01	27,82 ±1,78



**Figura 16:** Crecimiento en peso de los ejemplares de besugo durante el periodo experimental.



**Figura 17:** Crecimiento en talla de los ejemplares de besugo durante el periodo experimental.

En la tabla XII se puede observar los distintos índices de crecimiento calculados para los grupos de peces alimentados con el pienso control y el pienso pigmentado. Si bien los resultados encontrados fueron similares para todos los parámetros determinados, se encontraron algunas pequeñas diferencias entre dietas, pero sin diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ).

El índice hepatosomático incremento un 8% para la dieta pigmentada frente a una pequeña reducción del 5% para los peces controles. Hubo un incremento de la grasa perivisceral, del 27% para la dieta control y 37% para la dieta pigmentada; Y un fuerte incremento de los índices gonadosomáticos, del 105% para los controles y alrededor del 80% para los peces alimentados con la dieta pigmentada.

**Tabla XII:** Parámetros de crecimiento y utilización del alimento par los piensos experimentales (media $\pm$ SD).

	Dietas	
	Control	Pigmentada
<b>Peso inicial (g)</b>	655,65 $\pm$ 114,50	673,44 $\pm$ 107,75
<b>Peso final (g)</b>	789,39 $\pm$ 125,50	801,62 $\pm$ 142,01
<b>Peso ganado (g)</b>	133,74	128,18
<b>Longitud inicial (cm)</b>	25,40 $\pm$ 1,69	26,08 $\pm$ 2,65
<b>Longitud final (cm)</b>	27,68 $\pm$ 1,85	27,82 $\pm$ 1,78
<b>SGR</b>	0,16	0,15
<b>FCR</b>	8,66	8,99
<b>K inicial</b>	4,00	3,80
<b>K final</b>	3,72	3,72
<b>HSI inicial</b>	2,30 $\pm$ 0,34	2,30 $\pm$ 0,34
<b>HSI final</b>	2,18 $\pm$ 0,52	2,49 $\pm$ 0,75
<b>Grasa perivisceral inicial</b>	3,15 $\pm$ 0,70	3,15 $\pm$ 0,7
<b>Grasa perivisceral final</b>	4,02 $\pm$ 1,28	4,34 $\pm$ 0,93
<b>VSI inicial</b>	10,13 $\pm$ 0,46	10,13 $\pm$ 0,46
<b>VSI final</b>	11,21 $\pm$ 2,39	11,40 $\pm$ 1,01
<b>GSI inicial</b>	0,23 $\pm$ 0,22	0,23 $\pm$ 0,22
<b>GSI final</b>	0,47 $\pm$ 0,27	0,42 $\pm$ 0,42

La ausencia de superíndices indica la no existencia de diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ).

### **3.4. Análisis bioquímico de los peces.**

#### **3.3.1. Experimento I.**

##### **3.3.1.1. Análisis de Proteínas, Lípidos, Humedad y Cenizas.**

Los resultados de los análisis de la composición en el músculo y en el hígado de los peces analizados al final del experimento muestran que no hay diferencia significativa en el contenido de lípidos encontrados en los peces alimentados con ambos tipos de pienso (Tabla XIII).

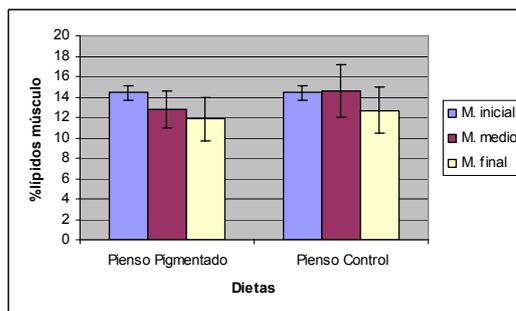
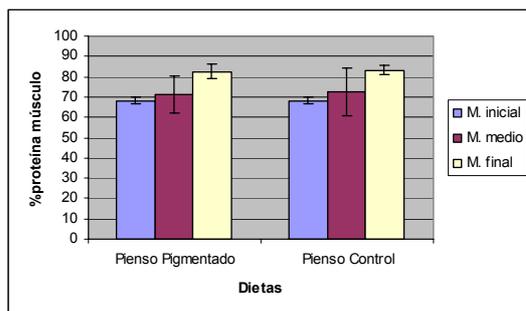
Respecto al porcentaje de proteínas, en el caso del músculo no hay diferencias significativas, pero en el hígado si existen diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) siendo mayor su valor en los peces alimentados con el pienso control (Tabla XIII).

Si se comparan los porcentajes de proteína y lípidos a lo largo del experimento se observa que los niveles de proteína aumentaron en el músculo y disminuyeron en el hígado y los porcentajes de lípidos variaron a la inversa, aumentando los valores en hígado y disminuyendo en músculo (Figuras 18, 19, 20 y 21).

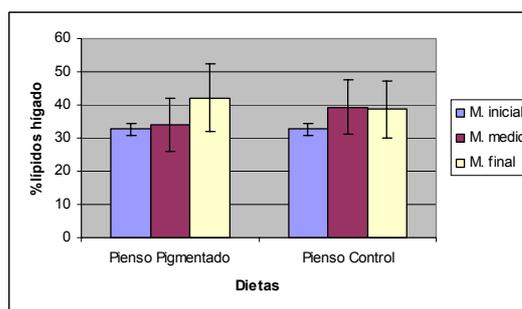
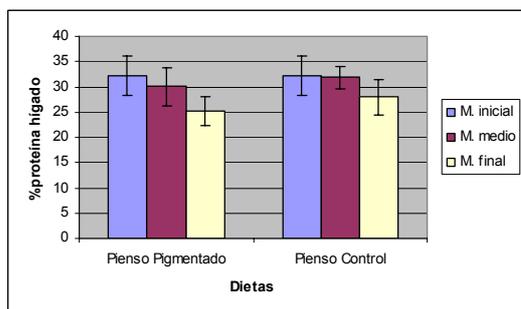
En el último muestreo, se encontró en los peces observados de uno de los módulos (C1) alimentados con el pienso control un inicio de desarrollo gonadal, estado i. Se analizaron las gónadas y se encontró un  $32,35 \pm 0,98$  % de proteínas,  $46,03 \pm 0,49$  de lípidos,  $1,95 \pm 0,50$  % de humedad y  $6,09 \pm 0,19$  % de cenizas.

**Tabla XIII:** Valores iniciales, medios y finales de los porcentajes de proteína, lípidos, humedad y ceniza expresados en % de peso seco en el músculo e hígado de los peces alimentados con la dieta pigmentada y la dieta control. (Los subíndices en la misma columna expresan diferencias significativas  $p \leq 0,05$ , la ausencia de los mismos que no existen diferencias).

Muestras	Dieta	%Proteínas	±Std	% Lípidos	±Std	%Humedad	±Std	%Ceniza	±Std	
<b>M.inicial</b>										
Músculo	control	68,22	1,47	14,41	0,70	1,32	0,67	6,00	0,18	
Hígado	control	32,21	3,96	32,60	1,75	6,65	0,61	3,47	0,55	
<b>M. medio</b>										
Músculo	control	72,62	11,55	14,60 <sup>a</sup>	2,62	3,78	0,88	5,51 <sup>a</sup>	0,48	
	pigmentada	71,14	9,03	12,79 <sup>b</sup>	1,78	3,37	0,62	5,84 <sup>b</sup>	0,42	
Hígado	control	31,85	2,12	39,37 <sup>a</sup>	8,30	5,79	1,82	3,32 <sup>a</sup>	0,36	
	pigmentada	30,11	3,77	34,05 <sup>b</sup>	8,07	6,58	1,38	2,69 <sup>b</sup>	0,47	
<b>M. final</b>										
Músculo	control	83,19	2,30	12,69	2,27	1,98	0,89	6,63 <sup>a</sup>	0,82	
	pigmentada	82,66	3,49	11,84	2,10	2,27	0,68	5,94 <sup>b</sup>	0,48	
Hígado	control	28,01 <sup>a</sup>	3,53	38,62	8,46	3,26 <sup>a</sup>	1,24	2,91	1,34	
	pigmentada	25,22 <sup>b</sup>	2,91	42,20	10,12	4,19 <sup>b</sup>	0,88	2,51	0,59	



**Figuras 18 y 19:** Contenido en proteína y lípidos (%peso seco) en las muestras de músculo a lo largo del periodo experimental.



**Figuras 20 y 21:** Contenido en proteína y lípidos (% peso seco) en las muestras de hígado a lo largo del periodo experimental.

### **3.3.1.2. Análisis de ácidos grasos.**

En el muestreo final los valores de ácidos grasos expresados en ng/ug P.seco son, al igual que en el muestreo medio, ligeramente mayores en los músculos de los peces alimentados con el pienso pigmentado, exceptuando los a.g. del  $\Sigma n-6$ .

En los hígados, los ácidos grasos de los peces alimentados con el pienso pigmentado son ligeramente superiores exceptuando los a.g. saturados y los a.g. del  $\Sigma n-6$  (Tablas XVII y XVIII). Se encuentran diferencias significativas estadísticamente entre la relación n-3/n-6 de los músculos y entre los a.g. saturados,  $\Sigma n-6$  y las relaciones n-3/n-6 y DHA/EPA de los hígados (%Total).

La estadística se realizó comparando las medias finales de los ácidos grasos por muestreo y entre dietas. Los valores con superíndices distintos difieren significativamente ( $p \leq 0,05$ ). La ausencia de ellos es que no existe diferencia significativa.

**Tabla XIV:** Valores iniciales de ácidos grasos, a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma n-3$ ,  $\Sigma n-6$ , n-3/n-6 y DHA/EPA en músculo e hígado de los dos grupos de peces, expresados en ng/ug P.seco y %Total de ácidos grasos.

a.graso	Piense Control							
	Músculo				Hígado			
	ng/ug P.seco	$\pm$ Std	%Total	$\pm$ Std	ng/ug P.seco	$\pm$ Std	% Total	$\pm$ Sdt
14:0	5,33	0,33	2,76	0,22	12,86	1,01	2,49	0,20
14:1	0,18	0,02	0,10	0,01	0,27	0,03	0,06	0,01
15:0	0,15	0,00	0,10	0,01	0,29	0,04	0,07	0,00
16:0	14,97	0,62	19,56	0,28	46,06	6,52	22,33	0,33
16:1n-11	0,36	0,00	0,41	0,02	0,81	0,08	0,34	0,04
16:1n-9	0,35	0,06	0,39	0,07	1,11	0,19	0,47	0,02
16:1n-7	4,20	0,18	4,77	0,12	10,90	1,13	4,62	0,41
16:1n-5	0,22	0,01	0,25	0,01	0,48	0,05	0,20	0,02
17:0	0,53	0,05	0,68	0,03	1,62	0,16	0,77	0,06
16:2n-4	0,30	0,01	0,40	0,02	0,41	0,06	0,20	0,04
17:1	0,25	0,02	0,34	0,01	0,54	0,42	0,27	0,21
18:0	4,31	0,36	6,24	0,23	18,51	3,10	9,95	0,58
18:1n-9	12,95	1,34	18,77	1,30	53,99	9,89	28,99	1,96
18:1n-7	2,41	0,10	3,51	0,10	8,15	0,61	4,42	0,32
16.4	0,12	0,00	0,17	0,00	0,42	0,05	0,22	0,01
18:2n-6	2,72	0,16	3,70	0,10	3,99	0,68	2,02	0,28
18:3n-3	0,63	0,03	0,85	0,01	0,86	0,19	0,43	0,07
20:1n-11	0,42	0,05	0,56	0,05	1,29	0,11	0,65	0,11
20:1n-9	2,44	0,20	3,28	0,14	7,43	0,80	3,73	0,30
20:1n-7	0,18	0,01	0,24	0,00	0,55	0,06	0,28	0,03
18:4n-3	1,02	0,06	1,37	0,05	0,82	0,31	0,41	0,14
20:4n-6	0,88	0,02	1,12	0,04	1,85	0,34	0,87	0,03
22.1n-9	0,49	0,04	0,59	0,03	1,94	0,18	0,87	0,05
22.1n-7	0,06	0,01	0,07	0,01	0,12	0,03	0,05	0,01
20:4n-3	0,95	0,07	1,10	0,04	1,97	0,24	0,85	0,04
20:5n-3	7,11	0,49	8,07	0,18	9,17	2,03	3,84	0,31
22:5n-3	2,86	0,23	3,03	0,08	5,84	0,86	2,30	0,21
22:6n-3	16,22	1,00	15,13	0,69	18,28	4,03	6,29	0,48
<b>Total</b>	<b>84,54</b>	<b>4,41</b>	<b>100,00</b>	<b>0,00</b>	<b>214,78</b>	<b>31,02</b>	<b>100,00</b>	<b>0,00</b>
<b>PUFA</b>	<b>32,81</b>	<b>1,92</b>	<b>34,94</b>	<b>0,83</b>	<b>43,59</b>	<b>8,47</b>	<b>17,42</b>	<b>1,29</b>
<b>Saturados</b>	<b>25,29</b>	<b>1,01</b>	<b>29,35</b>	<b>0,28</b>	<b>79,34</b>	<b>10,61</b>	<b>35,62</b>	<b>0,76</b>
<b>Monoinsat.</b>	<b>26,45</b>	<b>1,75</b>	<b>35,71</b>	<b>0,86</b>	<b>91,86</b>	<b>12,40</b>	<b>46,96</b>	<b>0,56</b>
<b><math>\Sigma n-3</math></b>	<b>28,78</b>	<b>1,81</b>	<b>29,55</b>	<b>0,92</b>	<b>36,92</b>	<b>7,48</b>	<b>14,11</b>	<b>1,06</b>
<b><math>\Sigma n-6</math></b>	<b>3,60</b>	<b>0,18</b>	<b>4,82</b>	<b>0,12</b>	<b>5,84</b>	<b>0,94</b>	<b>2,89</b>	<b>0,27</b>
<b>n-3/n-6</b>	<b>7,99</b>	<b>0,45</b>	<b>6,14</b>	<b>0,34</b>	<b>6,30</b>	<b>0,37</b>	<b>4,90</b>	<b>0,28</b>
<b>DHA/EPA</b>	<b>2,28</b>	<b>0,08</b>	<b>1,88</b>	<b>0,07</b>	<b>1,99</b>	<b>0,02</b>	<b>1,64</b>	<b>0,02</b>

**Tabla XV:** Valores del muestreo medio del análisis de ácidos grasos, a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma$ n-3,  $\Sigma$ n-6, n-3/n-6 y DHA/EPA en músculo e hígado de los peces del experimento, alimentados con el pienso control, expresados en ng/ug P.seco y % Total de ácidos grasos.

a.graso	Pienso Control							
	Músculo				Hígado			
	ng/ug P.seco	$\pm$ Std	%Total	$\pm$ Sdt	ng/ug P.seco	$\pm$ Std	%Total	$\pm$ Sdt
14:0	4,84	1,68	8,55	0,75	16,22	5,46	7,86	1,08
14:1	0,17	0,08	0,28	0,11	0,42	0,21	0,20	0,09
15:0	0,13	0,04	0,22	0,02	0,41	0,14	0,19	0,03
16:0	17,73	4,72	27,47	1,01	60,89	17,03	26,05	0,66
16:1n-11	0,42	0,10	0,66	0,07	1,24	0,32	0,54	0,07
16:1n-9	0,28	0,20	0,43	0,31	1,10	1,22	0,41	0,42
16:1n-7	4,77	1,46	7,43	0,42	17,40	4,85	7,54	0,58
16:1n-5	0,20	0,05	0,32	0,03	0,55	0,14	0,24	0,03
17:0	0,77	0,21	0,85	0,04	2,56	0,65	0,79	0,04
16:2n-4	0,65	0,19	0,67	0,02	1,23	0,44	0,35	0,07
17:1	0,46	0,13	0,44	0,02	1,77	0,52	0,47	0,03
18:0	5,23	1,34	5,44	0,10	23,75	6,29	6,86	0,61
18:1n-9	15,34	4,83	17,02	1,08	90,97	31,47	27,58	3,36
18:1n-7	2,81	0,80	3,13	0,09	13,25	3,57	4,12	0,24
16.4	0,15	0,04	0,17	0,01	0,50	0,26	0,15	0,06
18:2n-6	3,42	0,88	3,81	0,11	11,95	3,17	3,68	0,20
18:3n-3	0,75	0,19	0,81	0,04	1,93	0,29	0,60	0,13
20:1n-11	0,67	0,20	0,47	0,03	2,35	0,64	0,46	0,04
20:1n-9	2,97	0,87	2,10	0,11	10,86	2,90	2,14	0,15
20:1n-7	0,22	0,05	0,15	0,01	0,82	0,19	0,16	0,02
18:4n-3	1,64	0,43	1,17	0,07	2,02	0,89	0,41	0,19
20:4n-6	1,11	0,19	0,85	0,11	2,87	0,39	0,66	0,32
22:1n-11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
22.1n-9	1,84	0,52	1,27	0,12	3,93	1,20	0,75	0,15
22.1n-7	0,49	0,15	0,32	0,03	2,17	0,53	0,40	0,03
20:4n-3	1,24	0,37	0,79	0,05	3,82	0,42	0,72	0,20
20:5n-3	8,66	2,05	5,39	0,26	12,89	2,93	2,37	0,86
22:5n-3	2,95	0,90	1,64	0,15	7,78	1,33	1,28	0,37
22:6n-3	17,44	3,58	8,17	1,07	21,67	4,65	2,99	1,16
<b>Total</b>	<b>97,33</b>	<b>25,09</b>	<b>100,00</b>	<b>0,00</b>	<b>317,32</b>	<b>78,41</b>	<b>100,00</b>	<b>0,00</b>
<b>PUFA</b>	<b>38,01</b>	<b>8,58</b>	<b>23,45</b>	<b>1,44</b>	<b>66,66</b>	<b>10,52</b>	<b>13,21</b>	<b>3,14</b>
<b>Saturados</b>	<b>28,70</b>	<b>7,97</b>	<b>42,52</b>	<b>1,48</b>	<b>103,83</b>	<b>29,17</b>	<b>41,75</b>	<b>0,88</b>
<b>Monoinsat.</b>	<b>30,62</b>	<b>9,26</b>	<b>34,03</b>	<b>1,58</b>	<b>146,83</b>	<b>46,10</b>	<b>45,04</b>	<b>3,00</b>
<b>Sum.W3</b>	<b>32,68</b>	<b>7,35</b>	<b>17,96</b>	<b>1,37</b>	<b>50,11</b>	<b>9,32</b>	<b>8,37</b>	<b>2,75</b>
<b>Sum.W6</b>	<b>4,53</b>	<b>1,05</b>	<b>4,65</b>	<b>0,18</b>	<b>14,82</b>	<b>2,99</b>	<b>4,34<sup>a</sup></b>	<b>0,46</b>
<b>W3/W6</b>	<b>7,24</b>	<b>0,53</b>	<b>3,86</b>	<b>0,27</b>	<b>3,48</b>	<b>0,81</b>	<b>1,90</b>	<b>0,46</b>
<b>DHA/EPA</b>	<b>2,03</b>	<b>0,20</b>	<b>1,51</b>	<b>0,15</b>	<b>1,69</b>	<b>0,09</b>	<b>1,25<sup>a</sup></b>	<b>0,07</b>

**Tabla XVI:** Valores del muestreo medio del análisis de ácidos grasos, a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma$ n-3,  $\Sigma$ n-6, n-3/n-6 y DHA/EPA en músculo e hígado de los peces del experimento, alimentados con el pienso pigmentado, expresados en ng/ug P.seco y %Total de ácidos grasos.

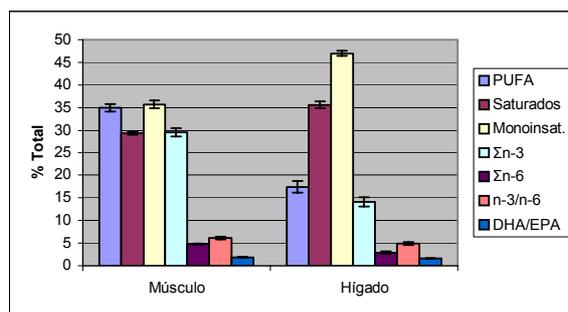
a.graso	Pienso Pigmentado							
	Músculo				Hígado			
	ng/ug P.seco	$\pm$ Sdt	%Total	Sdt	ng/ug P.seco	$\pm$ Std	%Total	$\pm$ Sdt
14:0	5,04	1,21	8,62	0,58	13,21	3,65	7,58	0,65
14:1	0,15	0,06	0,24	0,08	0,37	0,15	0,21	0,10
15:0	0,14	0,04	0,22	0,02	0,37	0,11	0,20	0,05
16:0	18,85	3,68	28,00	0,71	55,22	15,10	27,36	1,38
16:1n-11	0,41	0,09	0,62	0,03	0,92	0,20	0,47	0,08
16:1n-9	0,35	0,17	0,54	0,25	0,73	0,58	0,43	0,40
16:1n-7	4,84	1,25	7,20	0,52	15,27	4,79	7,59	0,59
16:1n-5	0,20	0,04	0,30	0,02	0,51	0,13	0,26	0,04
17:0	0,82	0,17	0,88	0,03	2,21	0,43	0,80	0,10
16:2n-4	0,67	0,11	0,67	0,06	0,94	0,20	0,32	0,09
17:1	0,46	0,08	0,43	0,03	1,47	0,38	0,46	0,06
18:0	5,79	1,07	5,78	0,40	20,39	4,60	6,85	0,65
18:1n-9	16,23	4,52	17,19	1,55	77,07	24,94	27,27	2,56
18:1n-7	2,97	0,64	3,18	0,19	12,02	3,44	4,30	0,27
16.4	0,15	0,03	0,16	0,01	0,64	0,20	0,23	0,03
18:2n-6	3,44	0,67	3,68	0,35	7,77	2,28	2,78	0,58
18:3n-3	0,76	0,15	0,78	0,05	1,36	0,48	0,47	0,11
20:1n-11	0,67	0,15	0,46	0,03	2,66	0,70	0,61	0,07
20:1n-9	3,03	0,72	2,05	0,16	11,56	3,06	2,65	0,23
20:1n-7	0,23	0,06	0,15	0,01	0,78	0,20	0,18	0,02
18:4n-3	1,61	0,38	1,09	0,10	1,28	0,63	0,29	0,12
20:4n-6	1,18	0,17	0,86	0,10	2,53	0,70	0,62	0,15
22:1n-11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
22.1n-9	1,82	0,40	1,20	0,11	4,63	1,26	1,03	0,13
22.1n-7	0,49	0,14	0,31	0,03	2,24	0,65	0,48	0,04
20:4n-3	1,18	0,26	0,72	0,05	3,04	1,20	0,62	0,17
20:5n-3	8,67	1,61	5,16	0,42	10,14	3,69	2,01	0,67
22:5n-3	2,89	0,58	1,55	0,09	6,46	2,84	1,14	0,38
22:6n-3	17,76	2,15	7,96	0,96	19,04	7,09	2,82	0,99
<b>Total</b>	<b>100,81</b>	<b>19,45</b>	<b>100,00</b>	<b>0,00</b>	<b>274,80</b>	<b>74,47</b>	<b>100,00</b>	<b>0,00</b>
<b>PUFA</b>	<b>38,32</b>	<b>5,75</b>	<b>22,64</b>	<b>1,54</b>	<b>53,18</b>	<b>18,31</b>	<b>11,28</b>	<b>2,89</b>
<b>Saturados</b>	<b>30,65</b>	<b>6,06</b>	<b>43,49</b>	<b>0,75</b>	<b>91,40</b>	<b>23,30</b>	<b>42,79</b>	<b>1,37</b>
<b>Monoinsat.</b>	<b>31,84</b>	<b>7,96</b>	<b>33,87</b>	<b>1,85</b>	<b>130,22</b>	<b>38,47</b>	<b>45,93</b>	<b>2,28</b>
<b>Sum.W3</b>	<b>32,87</b>	<b>4,89</b>	<b>17,27</b>	<b>1,27</b>	<b>41,31</b>	<b>15,50</b>	<b>7,34</b>	<b>2,33</b>
<b>Sum.W6</b>	<b>4,62</b>	<b>0,80</b>	<b>4,54</b>	<b>0,40</b>	<b>10,29</b>	<b>2,84</b>	<b>3,39<sup>b</sup></b>	<b>0,66</b>
<b>W3/W6</b>	<b>7,15</b>	<b>0,56</b>	<b>3,82</b>	<b>0,32</b>	<b>3,93</b>	<b>0,91</b>	<b>2,15</b>	<b>0,50</b>
<b>DHA/EPA</b>	<b>2,08</b>	<b>0,21</b>	<b>1,54</b>	<b>0,15</b>	<b>1,88</b>	<b>0,13</b>	<b>1,40<sup>D</sup></b>	<b>0,10</b>

**Tabla XVII:** Valores finales del análisis de ácidos grasos, a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma$ n-3,  $\Sigma$ n-6, n-3/n-6 y DHA/EPA en músculo e hígado de los peces del experimento, alimentados con el pienso control, expresados en ng/ug P.seco y %Total de ácidos grasos.

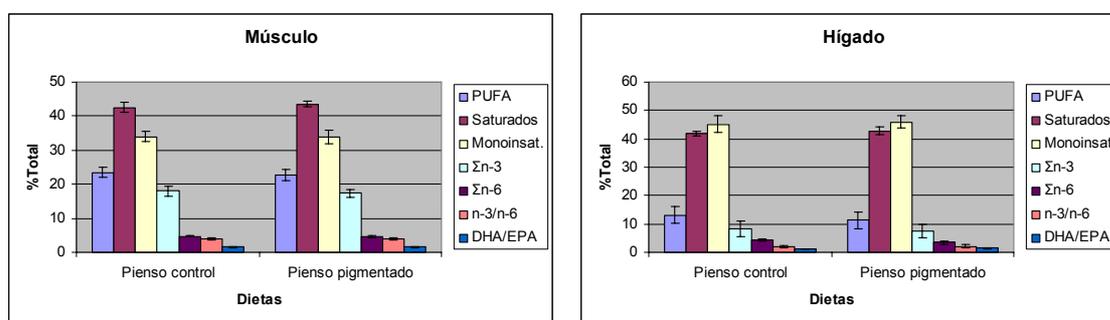
a.graso	Pienso Control									
	Músculo					Hígado				
	ng/ug P.seco	$\pm$ Std	%Total	$\pm$ Std	ng/ug P.seco	$\pm$ Std	%Total	$\pm$ Std		
14:0	4,30	1,48	8,05	0,86	20,02	5,60	8,35	1,37		
14:1	0,13	0,08	0,24	0,14	0,42	0,19	0,19	0,14		
15:0	0,11	0,05	0,19	0,03	0,52	0,31	0,20	0,11		
16:0	16,92	4,27	27,89	0,50	72,70	20,41	25,92	3,69		
16:1n-11	0,38	0,13	0,61	0,09	1,27	0,51	0,48	0,19		
16:1n-9	0,36	0,08	0,61	0,05	1,72	1,17	0,65	0,41		
16:1n-7	4,12	1,45	6,73	0,80	19,98	5,11	7,25	0,51		
16:1n-5	0,18	0,06	0,29	0,02	0,60	0,14	0,22	0,05		
17:0	0,75	0,31	0,85	0,16	2,84	1,43	0,74	0,31		
16:2n-4	0,62	0,16	0,67	0,02	1,32	0,57	0,33	0,16		
17:1	0,40	0,11	0,41	0,02	1,84	0,76	0,41	0,13		
18:0	5,25	1,27	5,82	0,27	30,24	8,45	7,26	0,90		
18:1n-9	13,67	3,40	16,36	1,48	108,57	37,57	27,27	5,08		
18:1n-7	2,65	0,84	3,11	0,26	15,45	6,33	3,98	1,07		
16:4	0,14	0,03	0,16	0,01	0,69	0,24	0,18	0,03		
18:2n-6	4,24	1,40	5,26	2,55	18,12	7,48	4,62	1,37		
18:3n-3	0,73	0,19	0,84	0,04	2,17	1,19	0,56	0,28		
20:1n-11	0,59	0,20	0,44	0,04	2,98	0,72	0,49	0,05		
20:1n-9	2,57	0,94	1,90	0,22	13,63	4,17	2,22	0,24		
20:1n-7	0,21	0,07	0,15	0,01	0,88	0,33	0,15	0,05		
18:4n-3	1,40	0,52	1,03	0,17	2,02	1,35	0,36	0,26		
20:4n-6	1,12	0,28	0,90	0,06	2,67	1,50	0,49	0,28		
22:1n-9	1,62	0,69	1,14	0,21	5,14	1,20	0,84	0,18		
22:1n-7	0,42	0,16	0,29	0,05	2,89	0,86	0,44	0,05		
20:4n-3	1,13	0,40	0,75	0,12	4,32	3,82	0,66	0,50		
20:5n-3	8,24	2,35	5,38	0,45	12,50	8,92	1,92	1,43		
22:5n-3	2,83	1,05	1,64	0,25	9,49	9,78	1,25	1,10		
22:6n-3	17,08	5,05	8,29	0,76	22,87	17,82	2,56	1,90		
<b>Total</b>	<b>92,13</b>	<b>25,00</b>	<b>100,00</b>	<b>0,00</b>	<b>377,85</b>	<b>98,41</b>	<b>100,00</b>	<b>0,00</b>		
<b>PUFA</b>	<b>37,53</b>	<b>10,08</b>	<b>24,93</b>	<b>1,40</b>	<b>76,16</b>	<b>48,02</b>	<b>12,92</b>	<b>6,47</b>		
<b>Saturados</b>	<b>27,33</b>	<b>7,34</b>	<b>42,79</b>	<b>0,73</b>	<b>126,32</b>	<b>31,45</b>	<b>42,49<sup>a</sup></b>	<b>4,23</b>		
<b>Monoinsat.</b>	<b>27,28</b>	<b>7,98</b>	<b>32,28</b>	<b>1,13</b>	<b>175,36</b>	<b>51,55</b>	<b>44,59</b>	<b>3,60</b>		
<b><math>\Sigma</math>n-3</b>	<b>31,41</b>	<b>9,47</b>	<b>17,93</b>	<b>1,48</b>	<b>53,37</b>	<b>42,58</b>	<b>7,31</b>	<b>5,39</b>		
<b><math>\Sigma</math>n-6</b>	<b>5,36</b>	<b>1,44</b>	<b>6,16</b>	<b>2,52</b>	<b>20,78</b>	<b>8,23</b>	<b>5,10<sup>a</sup></b>	<b>1,50</b>		
<b>n-3/n-6</b>	<b>6,10</b>	<b>1,70</b>	<b>3,23<sup>a</sup></b>	<b>0,93</b>	<b>2,48</b>	<b>1,70</b>	<b>1,34<sup>a</sup></b>	<b>0,91</b>		
<b>DHA/EPA</b>	<b>2,08</b>	<b>0,17</b>	<b>1,55</b>	<b>0,13</b>	<b>1,73</b>	<b>0,22</b>	<b>1,28<sup>a</sup></b>	<b>0,17</b>		

**Tabla XVIII:** Valores finales del análisis de ácidos grasos, a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma n-3$ ,  $\Sigma n-6$ , n-3/n-6 y DHA/EPA en músculo e hígado de los peces del experimento, alimentados con el pienso pigmentado, expresados en ng/ug P.seco y %Total de ácidos grasos.

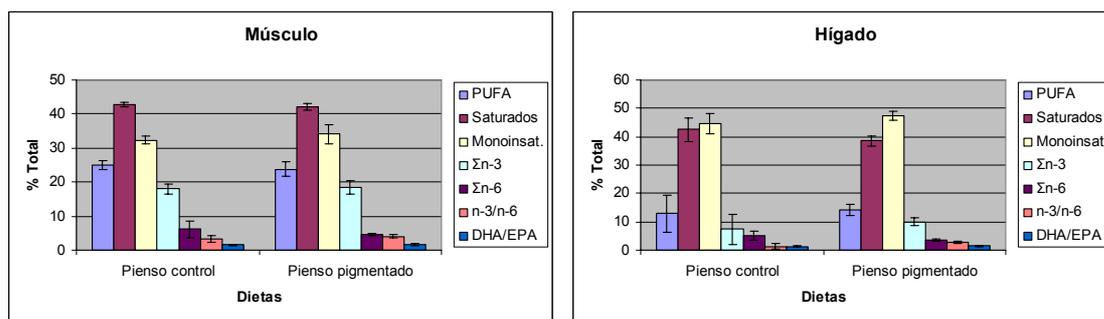
a.graso	Pienso Pigmentado							
	Músculo				Hígado			
	ng/ug P.seco	$\pm$ Std	%Total	$\pm$ Std	ng/ug P.seco	$\pm$ Std	%Total	$\pm$ Std
14:0	5,09	1,86	7,89	0,65	18,48	7,72	7,17	0,79
14:1	0,22	0,11	0,32	0,08	0,67	0,43	0,24	0,07
15:0	0,13	0,06	0,19	0,04	0,56	0,30	0,20	0,05
16:0	20,06	5,87	27,54	1,23	68,39	21,43	23,53	1,58
16:1n-11	0,43	0,14	0,59	0,02	1,49	0,53	0,52	0,04
16:1n-9	0,30	0,18	0,43	0,23	1,10	0,96	0,40	0,30
16:1n-7	5,18	2,01	6,96	0,73	22,89	9,95	7,73	0,85
16:1n-5	0,23	0,08	0,32	0,03	0,87	0,40	0,29	0,04
17:0	0,87	0,30	0,85	0,10	3,69	0,95	0,93	0,10
16:2n-4	0,71	0,21	0,64	0,03	1,51	0,64	0,34	0,07
17:1	0,50	0,17	0,42	0,01	2,55	0,88	0,54	0,04
18:0	6,11	1,80	5,63	0,30	28,49	7,13	6,69	0,67
18:1n-9	18,01	7,19	17,21	1,92	107,71	37,25	26,58	1,33
18:1n-7	3,37	1,09	3,31	0,06	20,39	7,25	5,04	0,29
16:4	0,19	0,06	0,19	0,00	1,16	0,45	0,29	0,02
18:2n-6	3,70	1,15	3,61	0,25	11,75	4,37	2,88	0,38
18:3n-3	0,83	0,29	0,77	0,05	2,62	1,12	0,62	0,10
20:1n-11	0,80	0,27	0,49	0,03	4,74	1,43	0,75	0,06
20:1n-9	3,63	1,25	2,24	0,13	19,61	6,94	3,07	0,17
20:1n-7	0,26	0,08	0,16	0,01	1,38	0,46	0,22	0,02
18:4n-3	1,65	0,60	1,02	0,07	2,20	1,02	0,34	0,07
20:4n-6	1,33	0,31	0,90	0,12	4,00	0,90	0,69	0,09
22:1n-9	2,18	0,77	1,31	0,10	8,18	2,65	1,25	0,11
22:1n-7	0,57	0,21	0,33	0,03	3,96	1,26	0,59	0,06
20:4n-3	1,36	0,44	0,76	0,03	6,75	2,90	0,95	0,17
20:5n-3	9,64	2,91	5,27	0,31	18,33	5,20	2,57	0,38
22:5n-3	3,34	0,85	1,68	0,19	14,77	6,76	1,82	0,34
22:6n-3	21,16	3,92	8,97	1,70	36,21	11,89	3,77	0,64
<b>Total</b>	<b>111,87</b>	<b>33,57</b>	<b>100,00</b>	<b>0,00</b>	<b>414,46</b>	<b>136,85</b>	<b>100,00</b>	<b>0,00</b>
<b>PUFA</b>	<b>43,91</b>	<b>10,54</b>	<b>23,80</b>	<b>2,03</b>	<b>99,31</b>	<b>34,57</b>	<b>14,26</b>	<b>1,90</b>
<b>Saturados</b>	<b>32,28</b>	<b>9,84</b>	<b>42,10</b>	<b>1,08</b>	<b>119,60</b>	<b>36,89</b>	<b>38,51<sup>b</sup></b>	<b>1,64</b>
<b>Monoinsat.</b>	<b>35,68</b>	<b>13,38</b>	<b>34,10</b>	<b>2,75</b>	<b>195,55</b>	<b>68,73</b>	<b>47,23</b>	<b>1,61</b>
<b><math>\Sigma n-3</math></b>	<b>37,99</b>	<b>8,87</b>	<b>18,46</b>	<b>1,88</b>	<b>80,88</b>	<b>28,50</b>	<b>10,06</b>	<b>1,50</b>
<b><math>\Sigma n-6</math></b>	<b>5,02</b>	<b>1,44</b>	<b>4,51</b>	<b>0,26</b>	<b>15,75</b>	<b>5,23</b>	<b>3,57<sup>b</sup></b>	<b>0,42</b>
<b>n-3/n-6</b>	<b>7,71</b>	<b>0,72</b>	<b>4,10<sup>b</sup></b>	<b>0,37</b>	<b>5,16</b>	<b>0,48</b>	<b>2,82<sup>b</sup></b>	<b>0,26</b>
<b>DHA/EPA</b>	<b>2,29</b>	<b>0,42</b>	<b>1,70</b>	<b>0,31</b>	<b>1,97</b>	<b>0,16</b>	<b>1,46<sup>b</sup></b>	<b>0,12</b>



**Figura 22:** Valores iniciales de a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma$ n-3,  $\Sigma$ n-6, n-3/n-6 y DHA/EPA expresados en %total de a.g. en músculo e hígado de los peces analizados.



**Figura 23 y 24:** Valores del muestreo medio de a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma$ n-3,  $\Sigma$ n-6, n-3/n-6 y DHA/EPA expresados en %total de a.g. en el músculo e hígado de los peces analizados alimentados con los piensos control y pigmentado.



**Figura 25 y 26:** Valores finales de a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma$ n-3,  $\Sigma$ n-6, n-3/n-6 y DHA/EPA expresados en % total de a.g. en músculo e hígado de los peces analizados alimentados con los piensos control y pigmentado.

En el muestreo final, las gónadas los peces del módulo C1 (alimentados con el pienso control), presentaban un inicio gonadal, estado i. Se analizaron en conjunto.

**Tabla XIX:** Análisis de ácidos grasos de las gónadas durante el último muestreo.

<b>Gónadas (módulo C1)</b>		
	<b>ng/ug P.seco</b>	<b>% Total</b>
<b>PUFA</b>	144,46	20,10
<b>Saturados</b>	134,97	43,00
<b>Monoinsat.</b>	153,93	36,90
<b>Σn-3</b>	118,64	14,36
<b>Σn-6</b>	21,87	4,86
<b>n-3/n-6</b>	5,42	2,95
<b>DHA/EPA</b>	1,44	1,07

### 3.3.1.3. Concentración de carotenoides.

La concentración total de carotenoides en la piel del *Pagellus bogaraveo* a lo largo del periodo experimental sufrió una disminución para ambas dietas (control -22,35% y pigmentada -12%), aunque no existió diferencia significativa entre el valor inicial y los valores finales para cada dieta, ni entre ambas dietas (Tabla XX).

**Tabla XX:** Evolución de la concentración de carotenoides totales en la piel del besugo a lo largo del periodo experimental (ug/g muestra).

<b>Muestreo</b>	<b>Piel</b>	
	<b>Dieta</b>	
	<b>Control</b>	<b>Pigmentada</b>
<b>Inicial</b>	26,04±3,31	26,04±3,31
<b>Final</b>	20,22±1,85	22,82±4,28

Los subíndices en mayúscula indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) en la concentración de carotenoides a lo largo del periodo experimental. Los subíndices en minúscula indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre la concentración de carotenoides en la piel de los peces alimentados con las dos dietas.

### 3.3.2. *Experimento 2.*

#### 3.3.2.1. *Análisis de Proteína, Lípidos, Humedad y Cenizas.*

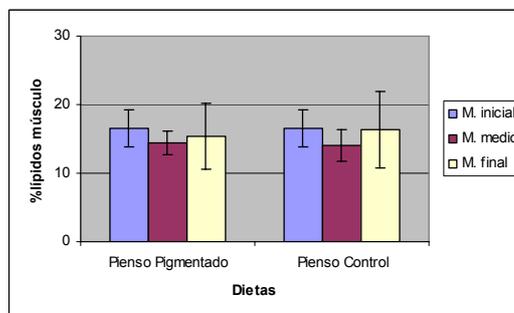
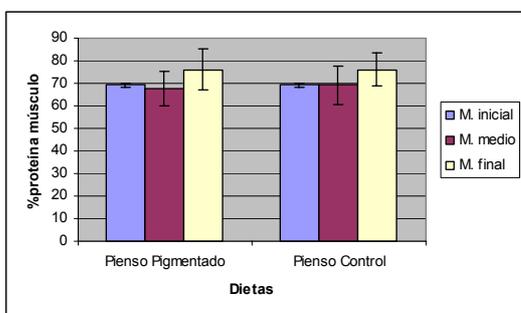
La composición final proteica del músculo de los peces analizados es similar en los dos grupos alimentados con ambos tipos de pienso (Figura 27). Sin embargo, la composición proteica del hígado aumentó en el muestreo medio y disminuyó en el muestreo final en el caso de los peces alimentados con el pienso pigmentado, permaneciendo más o menos constante en los peces alimentados con el control (Tabla XXI; Figura 29).

Respecto a la composición de lípidos del músculo, su porcentaje disminuyó ligeramente a lo largo del experimento, siendo su valor ligeramente superior en los peces alimentados con el pienso control (Figura 28). Sin embargo, en el hígado el porcentaje de lípidos aumentó a lo largo del experimento siendo su valor ligeramente superior en los peces alimentados con el pienso pigmentado (Tabla XXI; Figura 30).

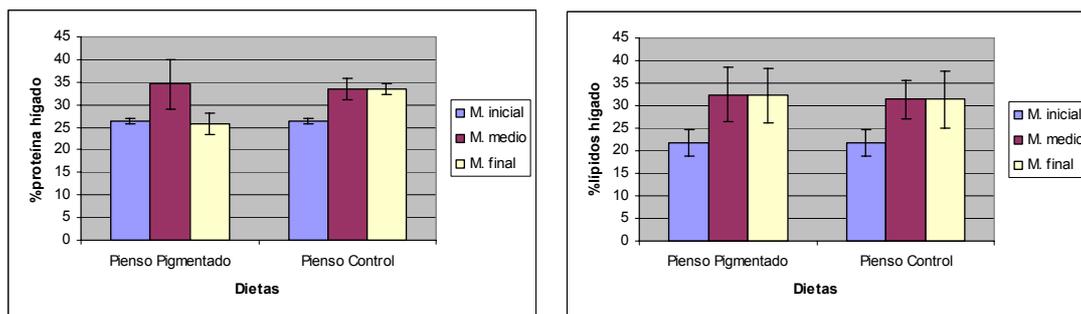
En cuanto la composición en proteínas y lípidos de las gónadas se debe tener en cuenta el estado de madurez de los peces. En el muestreo inicial se encontraban en el estado I, hembras inmaduras, en el muestreo medio y final, las gónadas de los peces alimentados con el pienso control se hallaban en el estado II y eran femeninas y los alimentados con el pienso pigmentado en estado II y eran hermafroditas. El porcentaje de proteínas en las gónadas de los peces alimentados con el pienso control aumentó ligeramente de 62,68% en el muestreo inicial a 63,79% en el final, sin embargo el porcentaje de lípidos disminuyó de 13,94% a 10,27%. En el caso de las gónadas de los peces alimentados con el pienso pigmentado, el porcentaje de proteína también aumentó de 49,88% a 57,73% y el de lípidos disminuyó de 38,60% a 14,65% (Tabla XXI; Figuras 31 y 32).

**Tabla XXI:** Valores iniciales, medios y finales de los porcentajes de proteína, lípidos, humedad y ceniza expresados en %peso seco en el músculo, hígado y gónadas de los peces alimentados con la dieta pigmentada y la dieta control. (Los subíndices en la misma columna en músculo e hígado expresan diferencias significativas  $p \leq 0,05$ , la ausencia de los mismos que no existen diferencias entre los valores comparados).

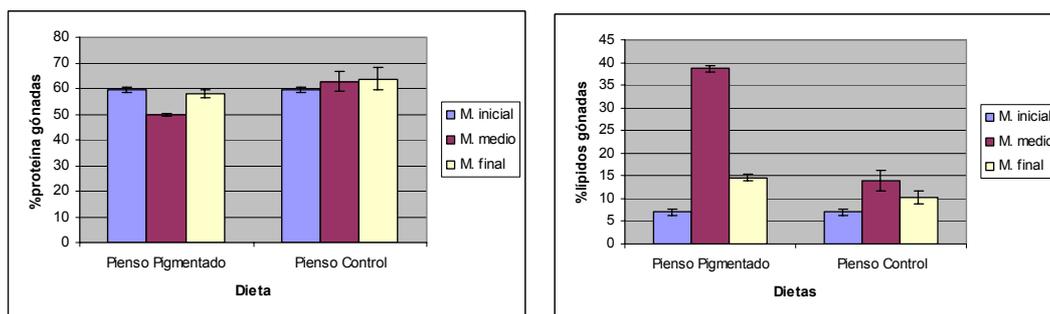
Muestras	Dieta	%Proteínas $\pm$ Std	%Lípidos $\pm$ Std	%Humedad $\pm$ Std	%Ceniza $\pm$ Std
<b>M.inicial</b>					
Músculo	control	69,34 0,90	16,59 2,73	1,65 0,91	5,58 0,43
Hígado	control	26,32 0,61	21,72 2,98	3,35 0,89	3,58 0,22
Gónada	control	59,60 0,99	7,04 0,74	5,11 0,07	9,56 0,91
<b>M. medio</b>					
Músculo	control	69,21 8,45	13,95 2,31	3,53 1,15	5,94 <sup>a</sup> 0,42
	pigmentada	67,76 7,53	14,45 1,76	2,87 0,57	5,55 <sup>b</sup> 0,23
Hígado	control	33,54 2,35	31,45 4,25	5,16 0,66	3,55 <sup>a</sup> 0,46
	pigmentada	34,53 5,39	32,44 6,06	4,85 0,44	3,12 <sup>b</sup> 0,33
Gónada	control	62,68 3,93	13,94 2,34	4,77 0,83	9,03 0,44
	pigmentada	49,88 0,61	38,60 0,76	2,84 0,49	6,42 0,18
<b>M. final</b>					
Músculo	control	76,00 7,39	16,31 5,56	2,23 0,55	5,46 0,52
	pigmentada	76,06 9,04	15,40 4,76	2,23 1,21	5,29 1,15
Hígado	control	33,48 <sup>a</sup> 1,15	31,35 6,24	5,93 <sup>a</sup> 0,92	2,60 <sup>a</sup> 0,74
	pigmentada	25,84 <sup>b</sup> 2,38	32,48 5,72	4,22 <sup>b</sup> 0,71	3,26 <sup>b</sup> 0,35
Gónada	control	63,79 4,25	10,27 1,38	4,35 1,24	9,76 0,41
	pigmentada	57,73 1,56	14,65 0,77	2,77 1,94	8,70 0,51



**Figura 27 y 28:** Contenido en proteína y lípidos (% peso seco) en las muestras de músculo a lo largo del periodo experimental.



**Figura 29 y 30:** Contenido en proteína y lípidos (% peso seco) en las muestras de hígado a lo largo del periodo experimental.



**Figura 31 y 32:** Contenido en proteína y lípidos (% peso seco) en las muestras de gónadas a lo largo del periodo experimental.

### 3.3.2.2. Análisis de ácidos grasos.

Se analizaron los a.g. de los músculos, hígados y gónadas de los peces alimentados con ambas dietas a lo largo del experimento (Tablas de la XVII a la XVI).

Si se comparan los valores iniciales y finales de a.g. expresados en ng/ug P.seco, en el músculo, se observa que el valor de los a.g. PUFA aumentó considerablemente de 42,48 ng/ug P.seco en el muestreo inicial a 60,24 y 58,14 ng/ug P.seco en los piensos pigmentado y control respectivamente, en el muestreo final. Sin embargo si se compara el %total de ácidos grasos, el porcentaje de a.g. PUFA disminuyó de 38,92% a 23,57% y 24,32% en los peces alimentados con el pienso pigmentado y el control respectivamente (Figuras 33, 36 y 37).

Comparando los valores finales en el músculo de ácidos grasos, expresado en %total se observan valores superiores de porcentaje de a.g.saturados, a.g. monoinsaturados y de las relaciones n-3/n-6 y DHA/EPA en los peces alimentados con el pienso pigmentado (Figura 36). Sin embargo la única diferencia significativa, nos la encontramos en los valores de  $\Sigma$ n-6. En el hígado (Figura 37) y en las gónadas los valores de a.g. monoinsaturados, y las relaciones n-3/n-6 y DHA/EPA son menores en los peces alimentados con el pienso control. Existiendo diferencias significativas en el caso del hígado en las relaciones n-3/n-6 y DHA/EPA.

La estadística se realizó comparando las medias finales de los ácidos grasos (PUFA, monoinsaturados, saturados, etc..) del músculo y del hígado expresados en % total de ácidos grasos por muestreo y entre dietas. Las gónadas no se comparan estadísticamente porque sus valores varían considerablemente dependiendo del estado de madurez del ejemplar. Los valores del resumen de ácidos grasos con superíndices distintos difieren significativamente ( $p \leq 0,05$ ). La ausencia de ellos es que no existe diferencia significativa.

**Tabla XXII:** Valores iniciales del análisis de ácidos grasos, a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma n-3$ ,  $\Sigma n-6$ , n-3/n-6 y DHA/EPA en músculo, hígado y gónada de los peces del experimento, expresado en ng/ug P.seco y %Total de ácidos grasos.

a.graso	Pienso Control									
	Músculo				Hígado				Gónada fem 1	
	ng/ug P.seco	$\pm$ Sdt	% Total	$\pm$ Sdt	ng/ug P.seco	$\pm$ Sdt	% Total	$\pm$ Sdt	ng/ug P.seco	% Total
14:0	5,10	1,40	2,25	0,13	5,31	2,16	2,07	0,53	1,15	1,51
14:1	0,16	0,05	0,08	0,01	0,11	0,11	0,05	0,04	0,04	0,05
15:0	0,15	0,02	0,09	0,02	0,20	0,15	0,10	0,06	0,05	0,08
16:0	17,33	3,82	19,38	0,56	23,81	4,59	23,83	0,57	6,79	22,48
16:1n-11	0,37	0,09	0,36	0,02	0,26	0,06	0,22	0,02	0,13	0,37
16:1n-9	0,30	0,06	0,29	0,01	0,55	0,14	0,48	0,04	0,14	0,41
16:1n-7	4,81	1,39	4,61	0,25	5,57	1,90	4,77	0,89	0,70	2,03
16:1n-5	0,22	0,04	0,21	0,03	0,19	0,05	0,16	0,02	0,08	0,22
17:0	0,74	0,21	0,80	0,04	0,63	0,14	0,61	0,05	0,20	0,65
16:2n-4	0,34	0,11	0,38	0,04	0,14	0,04	0,14	0,03	0,06	0,22
17:1	0,29	0,09	0,34	0,02	0,26	0,08	0,28	0,05	0,08	0,27
18:0	5,01	1,13	6,22	0,25	8,30	1,05	9,31	0,62	2,42	8,89
18:1n-9	14,11	4,04	17,31	1,26	26,11	5,76	28,94	1,99	3,53	12,99
18:1n-7	2,67	0,77	3,28	0,17	3,43	0,82	3,79	0,28	0,86	3,17
16.4	0,13	0,04	0,15	0,01	0,14	0,03	0,15	0,01	0,02	0,08
18:2n-6	4,88	1,44	5,60	0,38	1,62	0,39	1,69	0,22	0,77	2,67
18:3n-3	0,83	0,26	0,94	0,08	0,31	0,07	0,32	0,04	0,08	0,28
20:1n-11	0,42	0,14	0,47	0,06	0,51	0,14	0,52	0,06	0,08	0,29
20:1n-9	2,40	0,77	2,71	0,25	2,67	0,56	2,76	0,33	0,37	1,25
20:1n-7	0,20	0,06	0,22	0,02	0,18	0,04	0,19	0,01	0,04	0,14
18:4n-3	1,10	0,39	1,24	0,16	0,27	0,04	0,28	0,04	0,10	0,35
20:4n-6	1,09	0,18	1,20	0,15	0,95	0,02	0,95	0,19	1,71	5,51
22.1n-9	0,52	0,16	0,53	0,05	0,82	0,16	0,76	0,08	0,07	0,21
22.1n-7	0,06	0,02	0,06	0,01	0,04	0,01	0,04	0,00	0,01	0,03
20:4n-3	1,09	0,32	1,06	0,06	0,87	0,12	0,78	0,04	0,23	0,67
20:5n-3	8,07	2,05	7,80	0,19	5,34	0,27	4,76	0,94	3,85	11,08
22:5n-3	3,81	1,01	3,44	0,18	2,72	0,32	2,24	0,21	1,17	3,16
22:6n-3	21,15	3,26	17,11	1,80	11,57	0,66	8,53	2,08	8,53	20,17
Total	99,13	23,73	100,00	0,00	104,25	17,72	100,00	0,00	33,53	100,00
PUFA	42,48	9,02	38,92	1,27	23,92	0,80	19,83	3,44	16,55	44,19
Saturados	28,34	6,53	28,74	0,62	38,24	7,82	35,91	0,58	10,61	33,62
Monoinsat.	28,31	8,20	32,35	1,85	42,09	9,74	44,27	3,04	6,37	22,19
$\Sigma n-3$	36,06	7,27	31,59	1,52	21,08	0,50	16,91	3,23	13,97	35,72
$\Sigma n-6$	5,96	1,61	6,79	0,23	2,56	0,39	2,63	0,29	2,49	8,18
n-3/n-6	6,14	0,54	4,66	0,39	8,34	1,13	6,42	0,87	5,62	4,37
DHA/EPA	2,67	0,30	2,19	0,24	2,17	0,12	1,78	0,10	2,22	1,82

**Tabla XXIII:** Valores del muestreo medio del análisis de ácidos grasos, a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma n-3$ ,  $\Sigma n-6$ , n-3/n-6 y DHA/EPA en músculo, hígado y gónada de los peces del experimento, alimentados con el pienso control, expresados en ng/ug P.seco y % Total de ácidos grasos.

a.graso	Pienso Control													
	Músculo				Hígado				Gónadas					
	ng/ug	P.sec	$\pm$ Sdt	%Total	$\pm$ Sdt	ng/ug	P.sec	$\pm$ Sdt	%Total	$\pm$ Sdt	ng/ug	P.sec	$\pm$ Std	%Total
14:0	6,28	2,05	9,00	0,62	12,95	1,16	8,59	0,87	4,84	2,58	8,50	1,85		
14:1	0,21	0,02	0,30	0,05	0,37	0,12	0,24	0,07	0,14	0,09	0,23	0,11		
15:0	0,14	0,03	0,19	0,01	0,29	0,07	0,18	0,02	0,11	0,06	0,18	0,04		
16:0	22,43	5,43	28,12	0,50	48,18	8,02	27,29	0,69	17,06	6,28	27,44	0,65		
16:1n-11	0,45	0,15	0,57	0,04	0,91	0,18	0,53	0,06	0,36	0,16	0,58	0,04		
16:1n-9	0,38	0,10	0,48	0,00	0,57	0,44	0,36	0,34	0,34	0,14	0,55	0,04		
16:1n-7	5,97	1,78	7,51	0,34	13,65	2,76	7,81	0,34	4,28	2,19	6,64	1,17		
16:1n-5	0,21	0,06	0,26	0,01	0,42	0,06	0,24	0,02	0,16	0,07	0,25	0,02		
17:0	1,06	0,31	0,94	0,04	2,20	0,44	0,89	0,08	0,84	0,38	0,95	0,09		
16:2n-4	0,82	0,24	0,67	0,03	1,10	0,23	0,42	0,08	0,87	0,24	0,96	0,14		
17:1	0,52	0,13	0,41	0,01	1,19	0,18	0,42	0,01	0,41	0,19	0,40	0,04		
18:0	6,65	1,67	5,58	0,10	18,54	3,08	7,03	0,10	5,88	2,01	6,40	0,42		
18:1n-9	17,56	4,97	15,80	0,79	57,86	15,67	23,47	3,03	14,08	5,86	16,10	0,68		
18:1n-7	3,31	0,91	2,98	0,06	10,15	2,09	4,13	0,21	2,70	1,10	3,10	0,10		
16:4	0,17	0,04	0,15	0,00	0,38	0,06	0,16	0,01	0,13	0,06	0,15	0,02		
18:2n-6	5,81	1,47	5,20	0,02	9,79	1,79	3,99	0,54	4,15	1,88	4,64	0,45		
18:3n-3	0,98	0,28	0,85	0,03	1,59	0,30	0,63	0,13	0,66	0,34	0,70	0,13		
20:1n-11	0,69	0,22	0,39	0,03	2,06	0,44	0,53	0,06	0,60	0,28	0,43	0,06		
20:1n-9	2,99	0,98	1,70	0,14	7,42	1,60	1,92	0,17	2,50	1,19	1,77	0,27		
20:1n-7	0,27	0,10	0,15	0,02	0,62	0,14	0,16	0,01	0,22	0,09	0,16	0,01		
18:4n-3	1,93	0,65	1,09	0,09	1,63	0,42	0,43	0,12	1,42	0,73	0,99	0,19		
20:4n-6	1,33	0,25	0,81	0,06	2,50	0,21	0,69	0,08	1,99	0,05	1,73	0,76		
22:1n-9	1,74	0,64	0,95	0,12	2,37	0,55	0,60	0,08	1,57	0,79	1,07	0,19		
22:1n-7	0,53	0,15	0,28	0,02	1,57	0,36	0,38	0,04	0,47	0,20	0,32	0,02		
20:4n-3	1,35	0,39	0,69	0,03	3,24	0,62	0,76	0,14	1,06	0,44	0,69	0,05		
20:5n-3	9,76	2,27	4,89	0,15	13,03	1,98	2,98	0,54	8,87	2,39	5,88	0,88		
22:5n-3	3,47	0,78	1,58	0,05	7,46	1,50	1,53	0,19	2,93	0,90	1,74	0,18		
22:6n-3	22,20	2,51	8,44	1,17	21,38	4,72	3,64	0,83	14,41	1,77	7,47	2,46		
Total	119,19	28,45	100,00	0,00	243,45	38,77	100,00	0,00	93,05	32,27	100,00	0,00		
PUFA	47,80	8,84	24,38	1,26	62,10	11,40	15,23	2,59	36,49	8,70	24,95	3,58		
Saturados	36,57	9,49	43,84	0,47	82,17	12,41	43,98	0,87	28,73	11,30	43,46	0,94		
Monoinsat.	34,82	10,13	31,78	1,21	99,18	22,42	40,79	2,96	27,84	12,34	31,59	2,67		
$\Sigma n-3$	39,69	6,84	17,54	1,21	48,33	9,25	9,98	1,90	29,34	6,50	17,46	3,15		
$\Sigma n-6$	7,14	1,72	6,01	0,07	12,29	2,00	4,68 <sup>a</sup>	0,60	6,14	1,92	6,37	0,31		
n-3/n-6	5,62	0,37	2,91	0,17	3,93	0,30	2,12 <sup>a</sup>	0,15	4,89	0,54	2,73	0,35		
DHA/EPA	2,31	0,26	1,72	0,20	1,63	0,11	1,21 <sup>a</sup>	0,08	1,68	0,30	1,25	0,22		

**Tabla XXIV** : Valores del muestreo medio del análisis de ácidos grasos, a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma$ n-3,  $\Sigma$ n-6, n-3/n-6 y DHA/EPA en músculo, hígado y gónada de los peces del experimento, alimentados con el pienso pigmentado, expresado en ng/ug de P.seco y % Total de ácidos grasos.

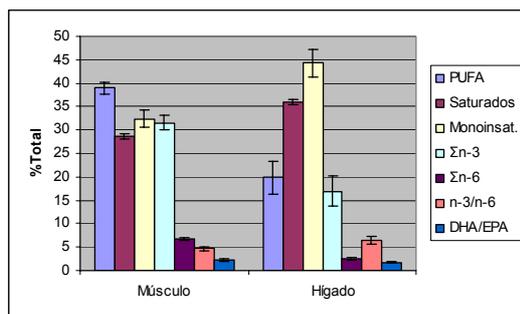
a.graso	Pienso Pigmentado											
	Músculo				Hígado				Gónada			
	ng/ug P.seco	$\pm$ Std	%total	$\pm$ Std	ng/ug P.seco	$\pm$ Std	%Total	$\pm$ Std	ng/ug P.seco	$\pm$ Std	% Total	
<b>14:0</b>	6,54	1,42	9,23	0,40	12,26	2,44	7,86	0,10	18,76	10,47		
<b>14:1</b>	0,13	0,11	0,17	0,11	0,21	0,09	0,14	0,07	0,80	0,43		
<b>15:0</b>	0,19	0,05	0,25	0,04	0,34	0,02	0,21	0,04	0,44	0,23		
<b>16:0</b>	22,68	3,79	27,81	0,87	48,33	6,53	26,99	1,86	54,45	26,22		
<b>16:1n-11</b>	0,48	0,11	0,59	0,04	0,92	0,13	0,52	0,05	1,23	0,60		
<b>16:1n-9</b>	0,29	0,13	0,37	0,14	1,12	0,60	0,68	0,41	0,37	0,18		
<b>16:1n-7</b>	6,36	1,35	7,85	0,30	13,07	2,25	7,37	0,24	17,52	8,56		
<b>16:1n-5</b>	0,23	0,06	0,28	0,03	0,45	0,09	0,25	0,00	0,57	0,28		
<b>17:0</b>	1,00	0,16	0,88	0,03	2,26	0,34	0,90	0,07	2,82	0,97		
<b>16:2n-4</b>	0,83	0,16	0,67	0,01	0,84	0,16	0,31	0,02	2,43	0,78		
<b>17:1</b>	0,56	0,11	0,43	0,01	1,29	0,25	0,45	0,02	1,32	0,40		
<b>18:0</b>	6,54	1,04	5,37	0,12	17,74	4,53	6,53	0,30	17,43	5,62		
<b>18:1n-9</b>	18,30	3,77	16,13	0,51	64,81	18,05	25,67	1,79	49,61	17,26		
<b>18:1n-7</b>	3,47	0,64	3,07	0,03	11,67	2,15	4,68	0,13	9,72	3,38		
<b>16.4</b>	0,17	0,03	0,15	0,00	0,51	0,15	0,20	0,02	0,49	0,17		
<b>18:2n-6</b>	5,64	0,96	4,95	0,19	7,07	1,14	2,81	0,12	12,58	4,34		
<b>18:3n-3</b>	0,98	0,22	0,83	0,05	1,26	0,30	0,48	0,02	2,45	0,82		
<b>20:1n-11</b>	0,71	0,16	0,39	0,02	2,24	0,66	0,56	0,05	2,24	0,49		
<b>20:1n-9</b>	3,26	0,70	1,82	0,09	10,28	3,32	2,57	0,29	10,58	2,34		
<b>20:1n-7</b>	0,26	0,05	0,15	0,01	0,76	0,19	0,19	0,01	0,80	0,18		
<b>18:4n-3</b>	1,89	0,49	1,05	0,10	1,27	0,27	0,32	0,02	5,26	1,16		
<b>20:4n-6</b>	1,36	0,24	0,81	0,05	2,64	0,53	0,71	0,01	3,58	0,83		
<b>22.1n-9</b>	1,82	0,42	0,99	0,08	3,46	0,94	0,84	0,05	6,67	1,43		
<b>22.1n-7</b>	0,56	0,13	0,29	0,02	2,17	0,74	0,51	0,07	1,74	0,36		
<b>20:4n-3</b>	1,42	0,26	0,72	0,01	3,11	0,88	0,70	0,05	3,82	0,76		
<b>20:5n-3</b>	9,84	2,09	4,79	0,21	10,96	2,39	2,42	0,09	24,22	4,65		
<b>22:5n-3</b>	3,93	0,58	1,75	0,07	7,54	2,41	1,49	0,16	10,05	1,75		
<b>22:6n-3</b>	22,32	1,88	8,21	0,92	22,12	5,44	3,62	0,19	37,52	5,36		
<b>Total</b>	121,77	20,57	100,00	0,00	250,70	55,51	100,00	0,00	299,44	100,00		
<b>PUFA</b>	48,39	6,91	23,92	1,03	57,33	13,61	13,07	0,35	102,40	20,62		
<b>Saturados</b>	36,95	6,38	43,54	0,76	80,92	13,81	42,50	1,68	93,89	43,50		
<b>Monoinsat.</b>	36,43	7,50	32,54	1,01	112,45	28,17	44,43	1,49	103,15	35,88		
<b><math>\Sigma</math>n-3</b>	40,39	5,53	17,35	0,81	46,27	11,67	9,03	0,46	83,32	14,51		
<b><math>\Sigma</math>n-6</b>	7,00	1,20	5,76	0,24	9,71	1,67	3,52 <sup>b</sup>	0,13	16,16	5,17		
<b>n-3/n-6</b>	5,79	0,21	3,01	0,07	4,73	0,39	2,57 <sup>b</sup>	0,22	5,16	2,81		
<b>DHA/EPA</b>	2,31	0,33	1,72	0,24	2,01	0,05	1,50 <sup>b</sup>	0,04	1,55	1,15		

**Tabla XXV:** Valores finales del análisis de ácidos grasos, a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma$ n-3,  $\Sigma$ n-6, n-3/n-6 y DHA/EPA en músculo, hígado y gónada de los peces del experimento, alimentados con el pienso control, expresado en ng/ug P.seco y %Total de ácidos grasos.

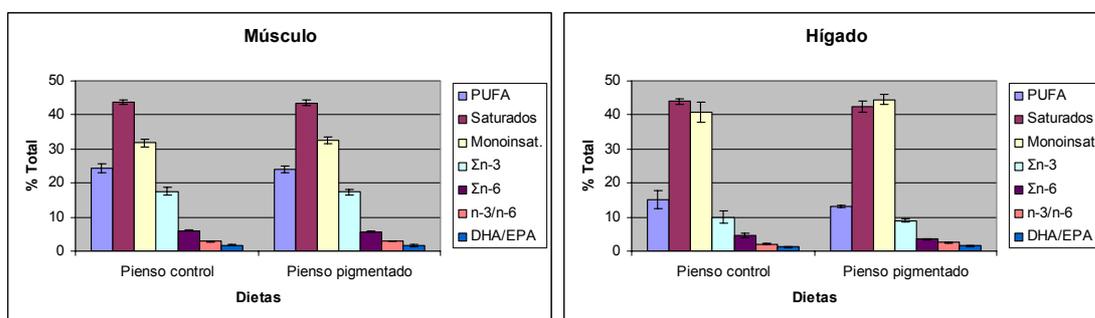
a.graso	Músculo				Pienso Control Hígado				Gónada					
	ng/ug	P.sec	±Std	%Total	±Std	ng/ug	P.sec	±Std	%Total	±Std	ng/ug	P.sec	±Std	%Total
14:0	7,82	4,36	8,96	0,60	12,97	3,57	7,76	0,69	1,85	0,49	4,79	0,54		
14:1	0,30	0,18	0,32	0,04	0,37	0,08	0,22	0,04	0,06	0,05	0,15	0,12		
15:0	0,19	0,13	0,19	0,04	0,28	0,13	0,15	0,04	0,06	0,03	0,13	0,06		
16:0	27,19	11,86	27,83	1,44	47,43	13,14	24,44	0,43	13,28	1,67	30,12	1,21		
16:1n-11	0,59	0,35	0,59	0,06	1,07	0,29	0,56	0,02	0,24	0,05	0,54	0,04		
16:1n-9	0,53	0,28	0,54	0,04	0,71	0,80	0,34	0,37	0,29	0,08	0,66	0,08		
16:1n-7	7,39	4,28	7,33	0,63	14,12	4,17	7,34	0,11	1,77	0,46	4,00	0,44		
16:1n-5	0,29	0,15	0,29	0,01	0,44	0,11	0,23	0,02	0,11	0,02	0,24	0,01		
17:0	1,14	0,55	0,82	0,01	2,41	0,55	0,90	0,12	0,63	0,05	1,02	0,09		
16:2n-4	0,97	0,42	0,66	0,04	1,05	0,18	0,37	0,08	0,90	0,18	1,35	0,21		
17:1	0,66	0,36	0,41	0,02	1,61	0,51	0,51	0,03	0,27	0,06	0,37	0,04		
18:0	7,90	3,27	5,45	0,38	20,66	5,28	7,16	0,36	4,88	1,01	7,39	1,01		
18:1n-9	23,58	14,77	16,45	2,14	71,51	28,27	25,95	3,56	8,97	2,16	14,51	1,29		
18:1n-7	4,18	2,23	3,00	0,19	11,93	3,45	4,44	0,20	1,98	0,34	3,22	0,08		
16.4	0,21	0,11	0,15	0,01	0,49	0,15	0,18	0,01	0,09	0,02	0,14	0,01		
18:2n-6	6,99	3,76	4,96	0,24	11,50	2,82	4,29	0,50	2,71	0,42	4,39	0,13		
18:3n-3	1,23	0,72	0,83	0,08	1,76	0,42	0,64	0,05	0,29	0,08	0,46	0,06		
20:1n-11	0,89	0,46	0,41	0,01	2,36	0,80	0,55	0,04	0,27	0,05	0,28	0,02		
20:1n-9	3,70	1,86	1,70	0,05	8,44	2,30	2,00	0,05	1,10	0,24	1,13	0,08		
20:1n-7	0,30	0,17	0,14	0,01	0,65	0,21	0,15	0,01	0,11	0,03	0,12	0,01		
18:4n-3	2,46	1,38	1,11	0,08	1,77	0,38	0,44	0,15	0,46	0,12	0,47	0,05		
20:4n-6	1,56	0,52	0,80	0,11	2,70	0,44	0,69	0,10	2,12	0,34	2,33	0,35		
22.1n-9	2,10	0,88	0,96	0,07	2,59	0,75	0,61	0,18	0,51	0,10	0,51	0,02		
22.1n-7	0,66	0,33	0,28	0,00	1,83	0,53	0,41	0,04	0,18	0,02	0,18	0,02		
20:4n-3	1,77	0,93	0,73	0,03	3,99	1,00	0,85	0,04	0,65	0,15	0,60	0,05		
20:5n-3	12,63	5,44	5,16	0,29	14,49	2,14	3,07	0,51	8,30	1,45	7,48	0,53		
22:5n-3	4,46	1,97	1,65	0,13	8,51	1,09	1,64	0,31	2,41	0,26	1,99	0,15		
22:6n-3	25,86	6,69	8,27	1,68	25,29	1,03	4,09	1,24	16,89	2,06	11,41	1,22		
Total	147,55	68,23	100,00	0,00	272,96	71,60	100,00	0,00	71,36	10,75	100,00	0,00		
PUFA	58,14	21,88	24,32	1,80	71,57	8,67	16,27	2,72	34,82	4,26	30,63	1,30		
Saturados	44,23	20,16	43,26	1,42	83,77	22,33	40,42	0,99	20,69	3,01	43,45	1,13		
Monoinsat.	45,17	26,27	32,43	3,02	117,63	40,98	43,31	3,55	15,85	3,63	25,92	2,04		
$\Sigma$ n-3	48,41	17,08	17,75	1,88	55,82	5,43	10,74	2,26	29,00	3,58	22,41	1,01		
$\Sigma$ n-6	8,56	4,29	5,76 <sup>a</sup>	0,13	14,20	3,21	4,98	0,56	4,83	0,62	6,73	0,31		
n-3/n-6	5,92	0,78	3,09	0,38	4,03	0,65	2,15 <sup>a</sup>	0,33	6,01	0,42	3,33	0,16		
DHA/EPA	2,14	0,33	1,59	0,25	1,77	0,23	1,31 <sup>a</sup>	0,17	2,06	0,32	1,54	0,24		

**Tabla XXVI:** Valores finales del análisis de ácidos grasos, a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados,  $\Sigma$ n-3,  $\Sigma$ n-6, n-3/n-6 y DHA/EPA en músculo, hígado y gónada de los peces del experimento, alimentados con el pienso pigmentado expresado en ng/ug P.seco y % Total de ácidos grasos.

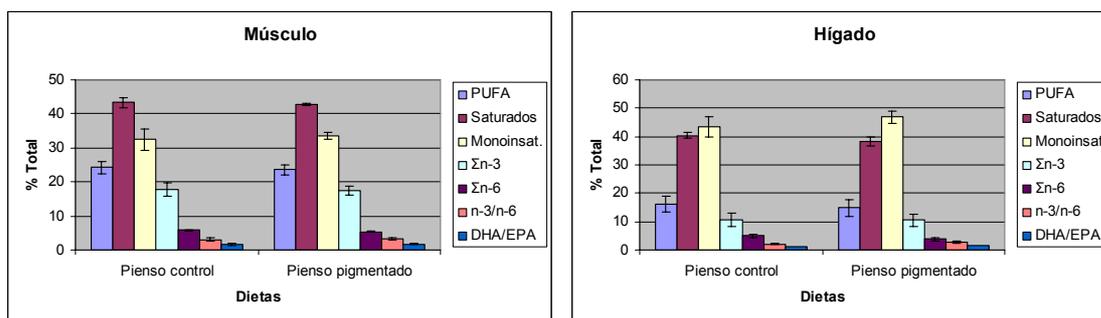
a.graso	Pienso Pigmentado											
	Músculo				Hígado				Gónada			
	ng/ug P.sec	$\pm$ Sdt	% total	$\pm$ Sdt	ng/ug P.sec	$\pm$ Std	% Total	$\pm$ Std	ng/ug P.sec	$\pm$ Std	% Total	$\pm$ Std
14:0	8,25	3,94	9,03	0,89	10,89	4,12	6,55	1,03	3,64	1,10	5,89	1,46
14:1	0,36	0,17	0,37	0,04	0,29	0,08	0,17	0,01	0,14	0,08	0,22	0,11
15:0	0,21	0,10	0,21	0,02	0,29	0,13	0,16	0,03	0,09	0,04	0,13	0,06
16:0	28,31	10,10	27,48	0,34	44,40	12,72	23,27	0,73	20,55	0,13	28,93	1,47
16:1n-11	0,59	0,24	0,57	0,03	0,97	0,19	0,52	0,05	0,43	0,03	0,61	0,00
16:1n-9	0,19	0,07	0,19	0,05	0,98	0,71	0,51	0,32	0,48	0,01	0,68	0,03
16:1n-7	8,05	3,63	7,76	0,58	13,04	4,14	6,89	0,64	3,68	0,70	5,22	0,70
16:1n-5	0,30	0,12	0,30	0,01	0,53	0,10	0,29	0,03	0,21	0,00	0,30	0,02
17:0	1,21	0,50	0,83	0,04	2,31	0,44	0,88	0,06	1,01	0,13	1,01	0,07
16:2n-4	1,00	0,34	0,65	0,02	0,90	0,13	0,32	0,04	1,09	0,10	1,02	0,15
17:1	0,67	0,25	0,40	0,00	1,64	0,37	0,54	0,03	0,60	0,07	0,53	0,09
18:0	8,10	2,48	5,32	0,33	20,88	4,32	7,42	0,40	6,36	1,81	5,94	1,36
18:1n-9	24,32	9,22	16,98	0,75	71,38	23,99	26,80	2,13	15,84	1,72	16,07	0,83
18:1n-7	4,46	1,70	3,11	0,06	14,61	2,53	5,64	0,63	3,58	0,07	3,65	0,28
16.4	0,22	0,10	0,15	0,03	0,78	0,15	0,30	0,03	0,19	0,01	0,19	0,00
18:2n-6	6,63	2,86	4,53	0,29	7,76	1,24	2,99	0,53	3,65	0,25	3,67	0,04
18:3n-3	1,23	0,53	0,82	0,06	1,58	0,28	0,59	0,11	0,71	0,12	0,70	0,16
20:1n-11	0,96	0,32	0,43	0,04	3,34	0,73	0,81	0,09	0,59	0,09	0,38	0,04
20:1n-9	4,34	1,67	1,92	0,05	12,74	4,28	3,06	0,49	2,56	0,71	1,64	0,36
20:1n-7	0,33	0,13	0,15	0,01	0,90	0,19	0,22	0,04	0,19	0,05	0,12	0,02
18:4n-3	2,30	1,07	1,00	0,09	1,02	0,09	0,25	0,04	0,90	0,27	0,57	0,14
20:4n-6	1,68	0,29	0,82	0,14	2,92	0,27	0,77	0,17	2,71	0,33	1,84	0,12
22.1n-9	2,43	1,02	1,04	0,04	3,58	1,88	0,82	0,29	1,09	0,51	0,68	0,28
22.1n-7	0,79	0,41	0,32	0,04	2,39	0,88	0,54	0,12	0,39	0,08	0,24	0,03
20:4n-3	1,89	0,74	0,75	0,06	4,45	0,69	1,00	0,23	1,33	0,18	0,78	0,15
20:5n-3	12,15	3,64	4,76	0,33	11,39	1,28	2,47	0,49	11,25	0,77	6,31	0,07
22:5n-3	4,98	1,60	1,76	0,13	10,25	0,49	2,02	0,40	4,11	0,19	2,09	0,21
22:6n-3	28,17	6,65	8,33	1,02	25,65	1,75	4,19	1,06	25,12	6,09	10,57	3,14
Total	154,12	53,71	100,00	0,00	271,89	61,85	100,00	0,00	112,51	2,00	100,00	0,00
PUFA	60,24	17,80	23,57	1,42	66,70	5,64	14,90	3,01	51,06	5,05	27,75	3,45
Saturados	46,08	17,12	42,88	0,38	78,78	21,59	38,29	1,66	31,65	3,22	41,91	1,48
Monoinsat.	47,79	18,90	33,55	1,05	126,40	38,50	46,82	2,17	29,80	3,84	30,34	1,97
$\Sigma$ n-3	50,72	14,22	17,43	1,40	54,35	4,06	10,52	2,28	43,42	5,54	21,02	3,45
$\Sigma$ n-6	8,31	3,14	5,35 <sup>b</sup>	0,20	10,68	1,48	3,76	0,69	6,36	0,58	5,51	0,16
n-3/n-6	6,24	0,54	3,26	0,29	5,13	0,43	2,79 <sup>b</sup>	0,23	6,89	1,50	3,82	0,74
DHA/EPA	2,34	0,13	1,74	0,10	2,26	0,20	1,68 <sup>b</sup>	0,15	2,26	0,69	1,68	0,52



**Figura 33:** Valores iniciales de a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados, Σn-3, Σn-6, n-3/n-6 y DHA/EPA en músculo e hígado de los peces analizados.



**Figura 34 y 35:** Valores del muestreo medio de a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados, Σn-3, Σn-6, n-3/n-6 y DHA/EPA en músculo e hígado de los peces analizados, alimentados con los piensos control y pigmentado.



**Figura 36 y 37:** Valores finales de a.g. PUFA, a.g. saturados, a.g. monoinsaturados, Σn-3, Σn-6, n-3/n-6 y DHA/EPA en músculo e hígado de los peces analizados, alimentados con los piensos control y pigmentado.

### 3.3.2.3. Concentración de carotenoides.

Se observa que la cantidad inicial de pigmentos en la piel de los besugos cultivados es muy superior a la obtenida en los besugos procedentes del medio natural. Estos últimos tienen hasta tres veces menos de pigmentos en la piel que los cultivados, independientemente de la dieta utilizada (Tablas XXVII y XXIX).

En la piel se produce a lo largo del experimento una disminución en la concentración de pigmentos, de un 52% en la dieta control y de un 45%, en la dieta pigmentada. En el hígado se produce una disminución de la concentración de carotenoides en los peces alimentados con la dieta control en un 10,59% y un aumento en la concentración de carotenoides en el hígado de los peces alimentados con la dieta pigmentada de un 31,45% (Tabla XXVII).

**Tabla XXVII:** Evolución de la concentración de carotenoides en la piel a lo largo del periodo experimental. Datos expresados como valor $\pm$ SD (ug/g muestra)

Piel		
Muestreo	Dieta	
	Control	Pigmentada
<b>Inicial</b>	32,11 $\pm$ 4,88 <sup>a</sup>	32,11 $\pm$ 4,88 <sup>a</sup>
<b>Final</b>	15,38 $\pm$ 0,90 <sup>b</sup>	17,58 $\pm$ 0,46 <sup>b</sup>

Los subíndices en mayúscula indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) en la concentración de carotenoides a lo largo del periodo experimental. Los subíndices en minúscula indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre la concentración de carotenoides en la piel de los peces alimentados con las dos dietas.

**Tabla XXVIII:** Evolución de la concentración de carotenoides en el hígado a lo largo del periodo experimental. Datos expresados como valor $\pm$ SD (ug/g muestra)

<b>Hígado</b>		
<b>Muestreo</b>	<b>Dieta</b>	
	<b>Control</b>	<b>Pigmentada</b>
<b>Inicial</b>	0,85 $\pm$ 0,07	0,85 $\pm$ 0,07
<b>Final</b>	0,76 $\pm$ 0,25	1,24 $\pm$ 0,37

Los subíndices en mayúscula indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) en la concentración de carotenoides a lo largo del periodo experimental. Los subíndices en minúscula indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre la concentración de carotenoides en la piel de los peces alimentados con las dos dietas.

**Tabla XXIX:** Concentración de carotenoides en la piel y el hígado de los besugos procedentes del medio natural. Datos expresados como valor $\pm$ SD (ug/g muestra).

<b>Medio Natural</b>	
<b>Zona</b>	<b>Carotenoides</b>
<b>Piel</b>	6,58 $\pm$ 0,94
<b>Hígado</b>	1,03 $\pm$ 0,45

### 3.4. Análisis de color.

#### 3.4.1. Experimento I.

En los peces de 250 g se midió el color en la piel a las 0 h y a las 18 h posteriores al sacrificio y en el músculo durante la disección (aproximadamente a las 18 h). Los análisis estadísticos se realizaron dentro de cada muestreo por dietas y dentro de cada dieta a lo largo del experimento. Se necesitan al menos 90 días para que los cromatoblastos de los peces

puedan absorber los carotenoides (Robaina *et al.*, 2005) y mostrar el color, por lo que se comentan con mayor atención los resultados del muestreo final.

En el momento del sacrificio de los peces en hielo y agua salada no se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) en la claridad (L) y en el croma de la piel tras la alimentación con las dos dietas. Si que se encontraron diferencias entre los valores de hue para ambas dietas, observándose valores menores (peces más rojos) para la dieta pigmentada ( $55,12 \pm 6,38$ ;  $a^* = 4,95$  y  $b^* = 7,07$ ) que para la dieta control ( $60,07 \pm 8,36$ ;  $a^* = 4,16$  y  $b^* = 7,11$ ) (Tabla XXX).

En la piel a las 18 horas, los valores de los tres parámetros se homogenizan para las dos dietas, con resultados que reflejan una claridad algo mayor de los peces (aumenta la claridad (L) con valores de  $79,56 \pm 4,49$  para la dieta control y de  $77,51 \pm 3,76$  para la dieta pigmentada y baja el croma a valores de  $7,21 \pm 2,45$ ; con  $a^* = 1,06$  y  $b^* = 7,11$  para la dieta control y  $7,28 \pm 1,95$ ; con  $a^* = 1,27$  y  $b^* = 7,14$  para la dieta pigmentada). Se observó para ambas dietas por igual un cambio en la coloración que tiende bastante más hacia el amarillo, con valores que se mueven de los  $55-60^\circ$  a las 0 h a valores en torno a un ángulo de  $80^\circ$  a las 18 h. (Tabla XXXI).

Los resultados de coloración en el músculo únicamente mostraron diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) en el croma siendo el valor de la dieta pigmentada de ( $10,76 \pm 1,26$ ; con  $a^* = 1,44$  y  $b^* = 10,62$ ) menor que para la dieta control ( $12,20 \pm 1,24$ ; con  $a^* = 2,38$  y  $b^* = 11,92$ ) (Tabla XXXII).

La evolución de los parámetros L, hue y croma en la piel (0 horas) a lo largo del periodo experimental, se observa que el valor de L aumenta a lo largo del tiempo en ambos grupos, alcanzando los peces alimentados con la dieta control un valor máximo de  $73,54 \pm 5,74$ . El hue y el croma aumentaron su valor en el muestreo medio, pero en el final disminuyeron

adquiriendo valores similares al muestreo inicial en ambos grupos de peces (Figuras 38, 39 y 40).

**Tabla XXX:** Evolución de los parámetros de color: L, hue y croma en la piel (0 horas) a lo largo del periodo experimental (muestreo inicial, medio y final) (Valor $\pm$ SD).

Color Piel (0 horas)			
Muestréos		Dieta	
		Control	Pigmentada
L	Inicial	64,80 $\pm$ 5,73 <sup>A</sup>	64,80 $\pm$ 5,73 <sup>A</sup>
	Medio	68,04 $\pm$ 4,16 <sup>A</sup>	66,85 $\pm$ 5,79 <sup>A</sup>
	Final	73,53 $\pm$ 5,74 <sup>B</sup>	70,59 $\pm$ 6,40 <sup>B</sup>
Hue	Inicial	58,20 $\pm$ 5,83 <sup>A</sup>	58,20 $\pm$ 5,83 <sup>AB</sup>
	Medio	64,26 $\pm$ 6,46 <sup>aB</sup>	61,15 $\pm$ 4,30 <sup>bB</sup>
	Final	60,07 $\pm$ 8,36 <sup>aAB</sup>	55,12 $\pm$ 6,38 <sup>bA</sup>
Croma	Inicial	8,81 $\pm$ 1,37	8,81 $\pm$ 1,37
	Medio	9,27 $\pm$ 1,36	9,65 $\pm$ 1,87
	Final	8,31 $\pm$ 1,74	8,68 $\pm$ 1,98

**Tabla XXXI:** Evolución de los parámetros de color: L, hue y croma en la piel (18 horas) a lo largo del periodo experimental (muestreo inicial, medio y final) (Valor $\pm$ SD).

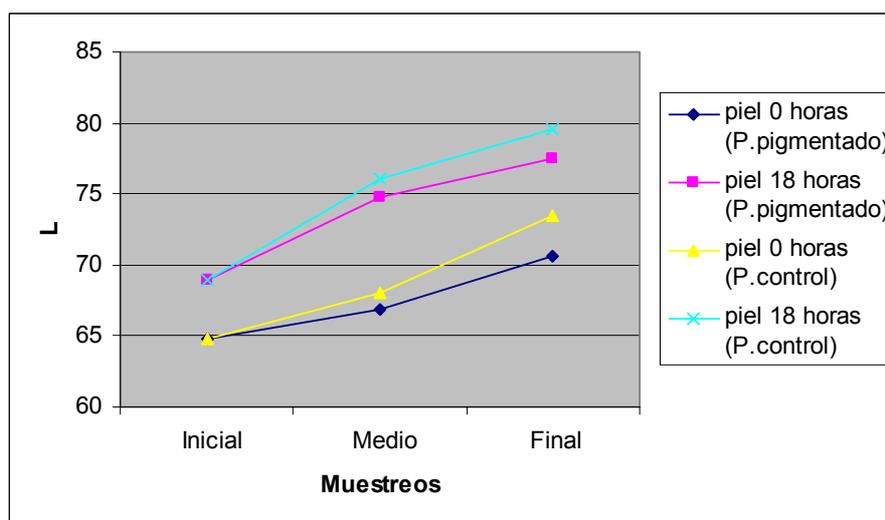
Color Piel (18 horas)			
Muestréos		Dieta	
		Control	Pigmentada
L	Inicial	68,97 $\pm$ 4,20 <sup>A</sup>	68,97 $\pm$ 4,20 <sup>A</sup>
	Medio	76,05 $\pm$ 3,32 <sup>B</sup>	74,77 $\pm$ 5,65 <sup>B</sup>
	Final	79,56 $\pm$ 4,49 <sup>B</sup>	77,51 $\pm$ 3,76 <sup>B</sup>
Hue	Inicial	79,15 $\pm$ 5,81	79,15 $\pm$ 5,81
	Medio	82,00 $\pm$ 7,84	81,47 $\pm$ 4,72
	Final	82,26 $\pm$ 5,82	80,20 $\pm$ 4,87
Croma	Inicial	9,24 $\pm$ 2,34	9,24 $\pm$ 2,34
	Medio	7,81 $\pm$ 2,41	9,03 $\pm$ 1,97
	Final	7,21 $\pm$ 2,45	7,28 $\pm$ 1,95

Para ambas tablas (XXX y XXXI) subíndices en minúscula en distintas filas expresan diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre dietas. Subíndices en mayúscula en distintas columnas para cada parámetro (L, hue o croma) expresan diferencias significativas a lo largo del periodo experimental ( $p \leq 0,05$ ).

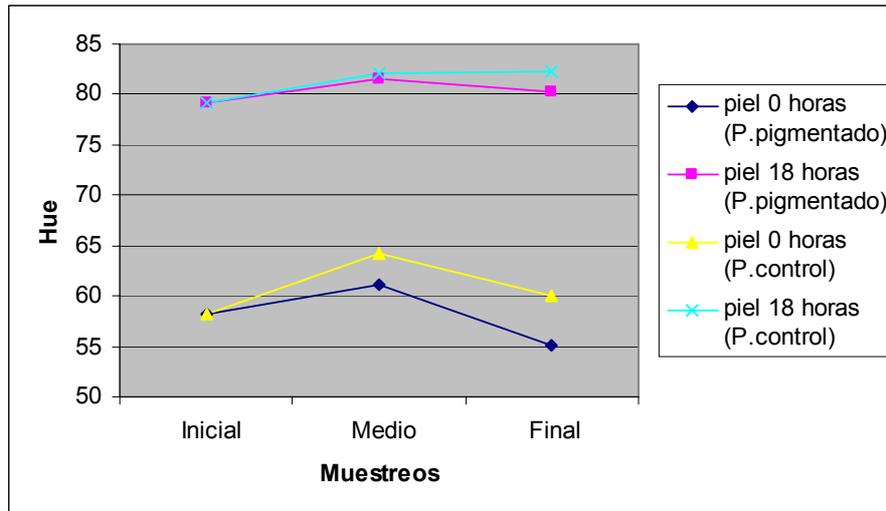
**Tabla XXXII:** Evolución de los parámetros de color: L (claridad), hue (color) y croma (intensidad) en el músculo a lo largo del periodo experimental (muestreo inicial y final) (Valor $\pm$ SD).

Color Músculo			
	Muestreos	Dieta	
		Control	Pigmentada
<b>L</b>	Inicial	58,72 $\pm$ 4,37	58,72 $\pm$ 4,37
	Final	57,69 $\pm$ 1,78	58,08 $\pm$ 2,07
<b>Hue</b>	Inicial	75,00 $\pm$ 12,79	75,00 $\pm$ 12,79
	Final	78,81 $\pm$ 5,65	82,25 $\pm$ 5,33
<b>Croma</b>	Inicial	12,69 $\pm$ 1,94	12,69 $\pm$ 1,94 <sup>A</sup>
	Final	12,20 $\pm$ 1,24 <sup>a</sup>	10,76 $\pm$ 1,26 <sup>bB</sup>

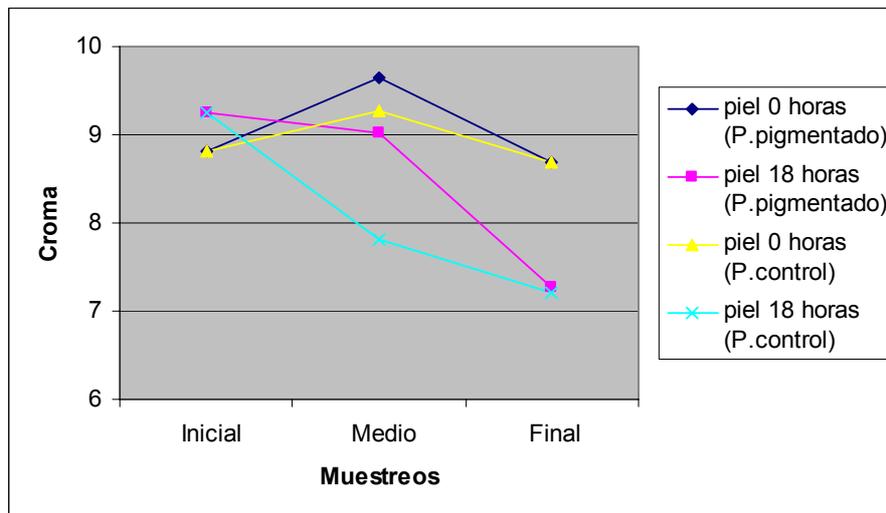
Subíndices en minúscula en distintas filas expresan diferencias significativas ( $p\leq 0,05$ ) entre dietas. Subíndices en mayúscula en distintas columnas para cada parámetro (L, hue o croma) expresan diferencias significativas a lo largo del periodo experimental ( $p\leq 0,05$ ).



**Figura 38:** Variación de L (claridad) en la piel a las 0 y 18 horas posteriores al sacrificio en hielo.



**Figura 39:** Variación de hue (color) en la piel a las 0 y 18 horas posteriores al sacrificio en hielo.



**Figura 40:** Variación de croma (intensidad) en la piel a las 0 y 18 horas posteriores al sacrificio en hielo.

En las figuras se observa que los valores de L y hue en la piel aumentan a las 18 horas con respecto al momento de la muerte, sin embargo los valores de croma disminuyen.



**Figura 41:** Besugos alimentados con la dieta control (columna de la derecha) y con la dieta pigmentada (columna de la izquierda) al final del periodo experimental.

### 3.4.2. *Experimento 2.*

En los peces de 650 g se midió el color en la piel a las 0 y 18 horas posteriores al sacrificio, en el músculo en los muestreos inicial y final durante la disección y en la cola a las 0 y 18 horas posteriores al sacrificio en el muestreo medio y final. Los datos obtenidos de claridad (L), color (hue) e intensidad (croma) con los peces alimentados con la dieta pigmentada y con la dieta control se compararon con datos obtenidos de la medición de estos mismos parámetros en ejemplares silvestres del mismo peso procedentes del medio natural.

En el momento del sacrificio de los peces en hielo no se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) en la L, croma y hue de la piel de los peces alimentados con ambas dietas (Tabla XXXIII). Si evaluamos estos valores a lo largo del periodo experimental se observa un aumento de su valor en el muestreo medio, pero en el muestreo final volvieron a disminuir, existiendo únicamente diferencias significativas en el hue (Figuras 42 ,43 y 44).

En la piel a las 18 horas se observó para ambas dietas por igual un cambio en la coloración que tiende bastante más hacia el amarillo, con valores que se mueven de 47-51° a las 0 horas a valores en torno a un ángulo de 70-75° a las 18 horas (Figura 43).

Estos resultados obtenidos a las 18 horas presentan valores similares a los de los animales silvestres en cuanto a la claridad de los mismos, incluso el hue. La mayor diferencia se encontró en el croma con valores de casi el doble frente a los ejemplares del medio natural (Figura 46). El valor de la claridad (L) de la dieta control ( $77,29 \pm 2,63$ ) y de los besugos del medio natural ( $78,32 \pm 2,10$ ) no presentaban diferencia significativa entre sí, pero sí lo hacían con la dieta pigmentada ( $69,97 \pm 3,18$ ). La dieta pigmentada ( $9,19 \pm 2,92$ ; con  $a^*=2,73$  y  $b^*=8,67$ ) y la dieta control ( $9,19 \pm 3,32$ ; con  $a^*=2,24$  y  $b^*=8,84$ ), no presentaban diferencias significativas en sus valores de croma pero sí lo hacían con los besugos silvestres procedentes del medio natural ( $4,24 \pm 1,37$ ; con  $a^*=0,04$  y  $b^*=4,23$ ). En el caso del hue, la dieta control ( $74,32 \pm 8,12$ ; con  $a^*=2,24$  y  $b^*=8,84$ ) no presenta diferencias ni con los besugos del medio natural ( $89,71 \pm 4,40$ ; con  $a^*=0,04$  y  $b^*=4,23$ ) ni con los alimentados con la dieta pigmentada ( $72,08 \pm 10,12$ ; con  $a^*=2,73$  y  $b^*=8,67$ ), pero estas dos últimas sí presentan diferencia significativa entre ellas (Tabla XXXIV).

La L, el hue y el croma medidos en la cola de los besugos a las 0 y 18 horas posteriores al sacrificio, no presentan diferencias significativas entre los peces alimentados con las dos dietas (Tablas XXXV y XXXVI). Sin embargo sí presentan diferencias significativas las colas medidas a las 18 h de los ejemplares alimentados con la dieta control y la dieta pigmentada comparados con los valores del besugo silvestre ( $56,31 \pm 5,00$ ;  $31,69 \pm 5,70$ ; con  $a^*=19,86$  y  $b^*=24,67$ ) procedente del medio natural en los parámetros de L y croma, pues presentan mayor claridad e intensidad que los peces cultivados con las dietas experimentales. Siendo los valores de claridad e intensidad para los peces alimentados con la dieta pigmentada ligeramente más oscuros y menos intensos ( $29,78 \pm 4,47$ ;  $7,48 \pm 2,21$ ; con  $a^*=4,75$  y  $b^*=5,74$ )

que para la dieta control ( $30,57 \pm 6,40$ ;  $8,34 \pm 1,65$ ; con  $a^*=4,45$  y  $b^*=7,01$ ). En el hue no existen diferencias significativas entre los tres grupos de peces (Tabla XXXVI).

En el músculo, los dos grupos de peces no mostraban diferencias significativas en los parámetros de claridad y el hue entre ellos, pero si lo hacían con estos mismos parámetros medidos en los besugos silvestres procedentes del medio natural (Tabla XXXVII). El croma de la dieta control ( $8,66 \pm 0,21$ ; con  $a^*=1,05$  y  $b^*=8,49$ ) y de los besugos del medio natural ( $6,47 \pm 1,25$ ; con  $a^*=-2,18$  y  $b^*=6,07$ ) no presentaban diferencias significativas entre ellas pero sí con la dieta pigmentada ( $12,45 \pm 1,37$ ; con  $a^*=4,07$  y  $b^*=11,47$ ).

Si se analiza la variación de L, de hue y de croma en la piel a las 0 y 18 horas posteriores al sacrificio se observa que su evolución es similar a la sufrida por los ejemplares de 250g. El valor de L y de hue aumentan con el paso de las horas y el valor del croma disminuye (Figuras 42, 43 y 44) para los ejemplares de ambas dietas.

**Tabla XXXIII:** Evolución de los parámetros de color: L, hue y croma en la piel (0 horas) a lo largo del periodo experimental (muestreo inicial, medio y final) (Valor $\pm$ SD).

Color Piel (0 horas)			
	Muestréos	Dieta	
		Control	Pigmentada
<b>L</b>	<b>Inicial</b>	61,02 $\pm$ 13,60	61,02 $\pm$ 13,60
	<b>Medio</b>	62,86 $\pm$ 3,80	63,95 $\pm$ 4,58
	<b>Final</b>	66,26 $\pm$ 6,84	69,96 $\pm$ 4,66
<b>Hue</b>	<b>Inicial</b>	52,40 $\pm$ 4,48	52,48 $\pm$ 4,48 <sup>AB</sup>
	<b>Medio</b>	56,21 $\pm$ 2,90	54,80 $\pm$ 7,19 <sup>B</sup>
	<b>Final</b>	50,45 $\pm$ 8,21	48,52 $\pm$ 4,81 <sup>A</sup>
<b>Croma</b>	<b>Inicial</b>	9,30 $\pm$ 1,33	9,30 $\pm$ 1,33
	<b>Medio</b>	10,12 $\pm$ 1,13	10,46 $\pm$ 1,88
	<b>Final</b>	9,39 $\pm$ 0,76	9,42 $\pm$ 1,29

Subíndices en minúscula en distintas filas expresan diferencias significativas ( $p\leq 0,05$ ) entre dietas. Subíndices en mayúscula en distintas columnas para cada parámetro (L, hue o croma) expresan diferencias significativas a lo largo del periodo experimental ( $p\leq 0,05$ ).

**Tabla XXXIV:** Evolución de los parámetros de color: L, hue y croma en la piel (18 horas) a lo largo del periodo experimental (muestreo inicial, medio y final).

Color Piel (18 horas)				
	Muestréos	Dieta		Medio natural
		Control	Pigmentada	
<b>L</b>	<b>Inicial</b>	70,14 $\pm$ 4,81	70,14 $\pm$ 4,81	
	<b>Medio</b>	76,45 $\pm$ 4,86	69,15 $\pm$ 17,46	
	<b>Final</b>	77,29 $\pm$ 2,63 <sup>a</sup>	69,97 $\pm$ 3,18 <sup>b</sup>	78,32 $\pm$ 2,10 <sup>a</sup>
<b>Hue</b>	<b>Inicial</b>	74,44 $\pm$ 7,47	74,44 $\pm$ 7,47	
	<b>Medio</b>	75,72 $\pm$ 11,54	83,80 $\pm$ 3,48	
	<b>Final</b>	74,32 $\pm$ 8,12 <sup>ab</sup>	72,08 $\pm$ 10,12 <sup>b</sup>	89,71 $\pm$ 4,40 <sup>a</sup>
<b>Croma</b>	<b>Inicial</b>	7,73 $\pm$ 3,42	7,73 $\pm$ 3,42	
	<b>Medio</b>	9,90 $\pm$ 1,69	10,13 $\pm$ 2,36	
	<b>Final</b>	9,19 $\pm$ 3,32 <sup>a</sup>	9,19 $\pm$ 2,92 <sup>a</sup>	4,24 $\pm$ 1,37 <sup>d</sup>

Subíndices en minúscula en distintas filas expresan diferencias significativas ( $p\leq 0,05$ ) entre dietas. Subíndices en mayúscula en distintas columnas para cada parámetro (L, hue o croma) expresan diferencias significativas a lo largo del periodo experimental ( $p\leq 0,05$ ).

**Tabla XXXV:** Evolución de los parámetros de color: L, hue y croma en la cola (0 horas) a lo largo del periodo experimental (muestreo medio y final) (Valor $\pm$ SD).

Color cola (0 horas)			
Muestras		Dieta	
		Control	Pigmentada
L	Medio	40,78 $\pm$ 4,10 <sup>aA</sup>	36,68 $\pm$ 4,35 <sup>b</sup>
	Final	30,10 $\pm$ 4,82 <sup>B</sup>	30,66 $\pm$ 2,37
Hue	Medio	51,91 $\pm$ 7,16	49,67 $\pm$ 5,90
	Final	31,11 $\pm$ 13,56	32,02 $\pm$ 11,24
Croma	Medio	11,67 $\pm$ 3,42	9,77 $\pm$ 1,97
	Final	8,17 $\pm$ 2,11	9,96 $\pm$ 2,26

Subíndices en minúscula en distintas filas expresan diferencias significativas ( $p\leq 0,05$ ) entre dietas. Subíndices en mayúscula en distintas columnas para cada parámetro (L, hue o croma) expresan diferencias significativas a lo largo del periodo experimental ( $p\leq 0,05$ ).

**Tabla XXXVI:** Evolución de los parámetros de color: L, hue y croma en la cola (18 horas) a lo largo del periodo experimental (muestreo medio y final) (Valor $\pm$ SD).

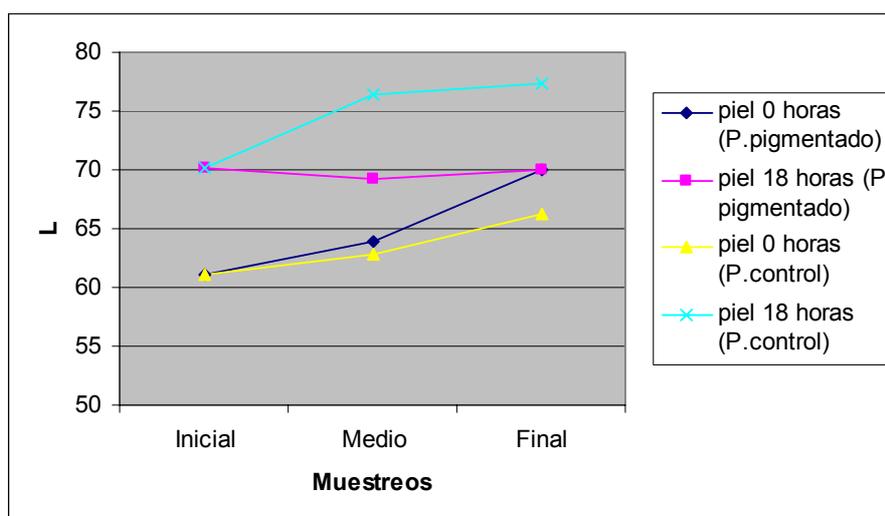
Color cola (18 horas)				
Muestras		Dieta		Medio natural
		Control	Pigmentada	
L	Medio	41,00 $\pm$ 8,92	46,91 $\pm$ 6,62 <sup>A</sup>	
	Final	30,57 $\pm$ 6,40 <sup>a</sup>	29,78 $\pm$ 4,47 <sup>aB</sup>	56,31 $\pm$ 5,00 <sup>b</sup>
Hue	Medio	59,98 $\pm$ 2,38	61,09 $\pm$ 4,41	
	Final	56,80 $\pm$ 6,11	49,80 $\pm$ 6,52	51,49 $\pm$ 2,70
Croma	Medio	11,56 $\pm$ 0,60 <sup>A</sup>	12,76 $\pm$ 1,65 <sup>A</sup>	
	Final	8,34 $\pm$ 1,65 <sup>ab</sup>	7,48 $\pm$ 2,21 <sup>ab</sup>	31,69 $\pm$ 5,70 <sup>D</sup>

Subíndices en minúscula en distintas filas expresan diferencias significativas ( $p\leq 0,05$ ) entre dietas. Subíndices en mayúscula en distintas columnas para cada parámetro (L, hue o croma) expresan diferencias significativas a lo largo del periodo experimental ( $p\leq 0,05$ ).

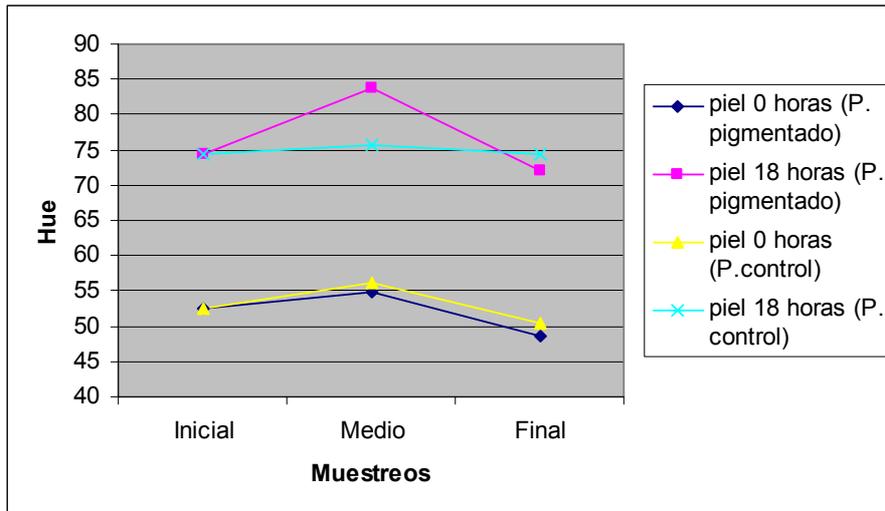
**Tabla XXXVII:** Evolución de los parámetros de color: L, hue y croma en el músculo a lo largo del periodo experimental (muestreo inicial y final) (Valor $\pm$ SD).

		Color Músculo		
Muestreos		Dieta		Medio natural
		Control	Pigmentada	
L	Inicial	57,45 $\pm$ 1,49	57,45 $\pm$ 1,49	
	Final	56,23 $\pm$ 2,55 <sup>a</sup>	55,00 $\pm$ 2,74 <sup>a</sup>	60,43 $\pm$ 2,09 <sup>b</sup>
Hue	Inicial	79,78 $\pm$ 5,29	79,78 $\pm$ 5,29	
	Final	83,09 $\pm$ 10,88 <sup>a</sup>	71,41 $\pm$ 15,29 <sup>a</sup>	110,10 $\pm$ 5,17 <sup>b</sup>
Croma	Inicial	8,16 $\pm$ 1,41	8,16 $\pm$ 1,41 <sup>A</sup>	
	Final	8,66 $\pm$ 0,21 <sup>a</sup>	12,45 $\pm$ 1,37 <sup>bB</sup>	6,47 $\pm$ 1,25 <sup>a</sup>

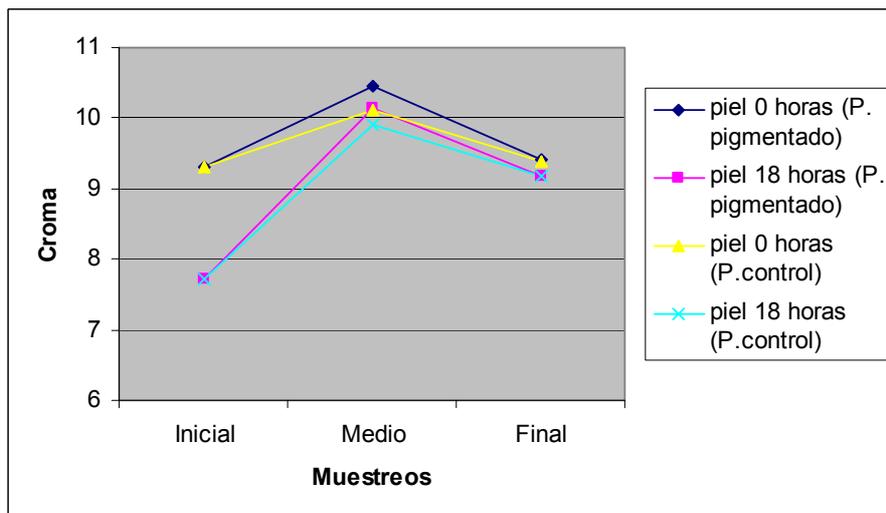
Subíndices en minúscula en distintas filas expresan diferencias significativas ( $p\leq 0,05$ ) entre dietas. Subíndices en mayúscula en distintas columnas para cada parámetro (L, hue o croma) expresan diferencias significativas a lo largo del periodo experimental ( $p\leq 0,05$ ).



**Figura 42:** Variación de L (claridad) en la piel (zona I) a las 0 y 18 horas posteriores a su sacrificio en hielo.



**Figura 43:** Variación de hue (color) en la piel a las 0 y 18 horas posteriores a su sacrificio en hielo.



**Figura 44:** Variación de croma (intensidad) en la piel a las 0 y 18 horas posteriores a su sacrificio en hielo.



**Figura 45:** Besugos alimentados con el pienso control (parte superior) y con el pienso pigmentado (parte inferior) al final del periodo experimental.



**Figura 46:** Besugo alimentado con el pienso pigmentado (en la parte superior), besugo salvaje proveniente del medio natural (en el centro) y un besugo alimentado con el pienso control (en la parte inferior).

**Discusión**

## 4 DISCUSIÓN

El aporte nutritivo de los peces, así como su contenido en proteínas y de ácidos grasos poliinsaturados hacen que cada año, aumente el consumo de pescado en los mercados mundiales, pues son atractivos para el consumidor y constituyen un factor determinante para su explotación tanto a nivel artesanal como en condiciones de cultivo intensivo en acuicultura.

El consumo por parte del hombre de alimentos ricos en ácidos grasos n-3 HUFA, como son los peces, tiene efectos positivos en la salud humana, tales como la prevención de patologías cardiovasculares (Herold y Kinsela, 1986) y de enfermedades autoinmunes (Hwang, 1989).

El besugo es una especie muy solicitada en el mercado español y de alto valor económico, sin embargo, la disminución en el número de capturas de ejemplares de esta especie y la consecución de manera experimental primero de su ciclo reproductor en cautividad y posteriormente en una planta de cultivo, así como su venta comercial, hacen de esta una especie idónea para su cultivo, especialmente en la costa norte de España, por las características de estas aguas (Olmedo *et al.*, 1997; Olmedo *et al.*, 2000; Peleteiro *et al.*, 2000a y c).

Uno de los principales problemas encontrados en el cultivo del besugo, es la gran cantidad de grasa que acumula, tanto en el músculo e hígado como alrededor de las vísceras (porcentaje de grasa perivisceral) en comparación a los ejemplares salvajes. Este problema, parece tener una relación directa con la alimentación, ya que se utilizan dietas formuladas específicamente para las características de otros espáridos como es el caso de la dorada, que soporta mayores niveles de lípidos en la dieta y presenta un contenido de lípidos más alto en el músculo. La solución, por tanto, a los problemas encontrados en besugo va ligada a la obtención de una dieta que cubra los requerimientos nutritivos de esta especie (Linares *et al.*, 2001a). Actualmente la

creación de un pienso específico para el besugo es uno de los objetivos de las principales empresas dedicadas a la fabricación de piensos para peces.

Otro problema que se está presentando en el cultivo del besugo, es la coloración de su piel, sobre todo en los ejemplares cultivados en tanques, cuya coloración naranja no es tan intensa. Este problema, ha aparecido con anterioridad en otras especies de peces cultivadas en cautividad: salmón, trucha, seriola y más recientemente el bocinegro en las Islas Canarias y en Grecia. Para esta última especie se encontró que la suplementación de la dieta con carotenoides hacía que estos tuvieran un color más parecido al de los ejemplares salvajes, presentando así un aspecto más atractivo a los ojos de los consumidores. Según Shahidi et al. (1998) el color de los productos marinos es el primer carácter notado por el consumidor y está relacionado con la aceptación o rechazo del producto.

El presente experimento se plantea con la finalidad de evaluar el efecto de la adición de pigmentos en la dieta (40 mg/kg de carotenoides procedentes de harinas de krill y de carcasa de langostinos) sobre diferentes parámetros biológicos y de utilización del alimento en ejemplares de besugo procedentes de cultivo: se estudiaron así mismo los posibles efectos de la dieta sobre la composición de los animales y la coloración de los mismos en diferentes zonas (piel, cola y músculo). Para ello se comparan los resultados bioquímicos del análisis de ejemplares de besugo alimentados con dos dietas, una pigmentada y una dieta tipo utilizada hasta el momento para la alimentación de esta especie (control) con valores de ejemplares del medio natural, obtenidos en la bibliografía y se calculan las cantidades de pigmentos carotenoides que concentran los besugos en su piel e hígado.

Se analizaron ambos tipos de pienso y se observó que aunque el porcentaje de proteína total era similar entre ambos tipos de pienso (45% el pienso control y 47,05% el pienso pigmentado (% peso húmedo)), el porcentaje de proteínas solubles era mayor en el pienso control (41,51%), frente al pigmentado (24,84%), pero los peces alimentados con ambos

piensos poseían un porcentaje similar de proteínas en músculo e hígado, lo que nos puede sugerir una mejor utilización de la proteína del pienso por parte de los peces alimentados con el pienso pigmentado, aunque para poder verificar estos datos, se debería continuar el experimento durante más tiempo. Sin embargo este último poseía un porcentaje de lípidos (18,65%) algo mayor al del pienso control (15,58%). En muchas especies de peces, el incremento del porcentaje de lípidos en las dietas viene asociado a un incremento en peso del pez (en el caso de las doradas y las lubinas el porcentaje de lípidos ha aumentado a niveles del 25% en comparación al 12% de las primeras dietas utilizados para estas especies (Izquierdo *et al.*, 2003)). En el caso de los alevines de besugo, sin embargo, un contenido graso alto en la dieta retrasa el crecimiento de los mismos (Linares *et al.*, 2001a). Para esta misma especie, se han realizado diversos experimentos donde se analizan piensos con la misma cantidad de proteína total (50%) y distinto contenido en lípidos (16% y 10%). No hubo diferencias significativas entre el crecimiento de los alevines con ambos tipos de pienso (Linares *et al.*, 2004), en concordancia con lo encontrado en este caso (pienso pigmentado-50/15; pienso control-50/12).

El besugo es una especie de crecimiento lento en comparación a otros espáridos como la dorada (Cejas *et al.*, 1993) o el sargo picudo (Olmedo *et al.*, 2002). Por lo que el incremento en peso de los besugos en 4 meses no resultó muy elevado, comparado a estos espáridos (Si el experimento se hubiera realizado con doradas de 250g y a la misma temperatura, estos ejemplares hubieran aumentado su peso de 30-50g/mes y hubieran duplicado su peso), pero si fue el esperado en comparación a otros estudios anteriores de engorde en Besugo (Linares, 2004). Para la duplicación de los pesos de los animales sería necesario por tanto continuar el experimento durante algunos meses más, si bien desde el punto de vista de la coloración de los animales, se considera que a partir de los 90 días se pueden observar los efectos de la dieta (Robaina *et al.*, 2005). Los resultados del presente experimento mostraron crecimientos en peso y talla muy similares para ambas dietas. Esto sugiere que en el caso del besugo la administración a través de la dieta de carotenoides provenientes de la harina de krill y carcasa de langostino en una proporción de 40 mg/kg de dieta no produce un efecto positivo en el

crecimiento, al contrario de lo observado por otros autores en otras especies de peces (Deufel, 1970; Torrissen, 1986; Storebakken y Choubert 1991; Christiansen *et al.*, 1994) y en concordancia con otros estudios como los llevados a cabo en bocinegro alimentados con un pienso cuya fuente de pigmentos era igualmente la harina de carcasa de langostino (Kalinowski *et al.*, 2005), o la harina de krill (Chebakki, 2001), si bien en ambos casos la dieta que incluyeron estos ingredientes produjeron los mejores resultados en crecimiento. Tampoco se encontraron diferencias en un estudio realizado en dorada (Gomes *et al.*, 2002) ni en un estudio realizado con trucha (Nickell y Bromage, 1998). Sin embargo, sería conveniente la administración de la dieta pigmentada por largos periodos de tiempo para poder corroborar en toda su capacidad el rol de los carotenoides contenidos en la dieta y el crecimiento de los peces (Nickell y Bromage, 1998; Kalinowski *et al.*, 2005). Los resultados del presente experimento no muestran ni siquiera tendencias por lo que es de esperar que incluso en estudios de más larga duración tampoco se consiga este tipo de efecto. Ello podría estar relacionado con una menor tasa de crecimiento de esta especie en relación a otras similares como el bocinegro, con la que se consiguen pesos de unos 500g de media en unos 15 meses de engorde a partir de animales de 10g (GIA, datos no publicados).

No se encontraron diferencias significativas en los distintos parámetros de crecimiento y asimilación del alimento para los peces alimentados con ambas dietas en ninguno de los experimentos.

En cuanto al índice hepatosomático destacamos un incremento, en los peces de 250g, del 22,5% en los peces alimentados con el pienso control frente a un 35,5% de los peces alimentados con el pienso pigmentado. En trabajos con bocinegro (Chebakki, 2001) se encontró que la inclusión de krill en dietas ocasionaba un incremento de la concentración de lípidos en los hígados, esto junto a una disminución del tamaño de los hepatocitos indica una actividad mayor de estas células, lo que nos expresa una utilización más activa de los lípidos. Así pues, la

deposición o incremento de grasa perivisceral fue menor en el caso de los peces alimentados con el pienso pigmentado.

El índice de grasa perivisceral aumentó un 48,9% con el pienso control y un 28,90% con el pigmentado. Ambos valores son muy elevados comparados a los índices encontrados en el medio natural. Este menor aumento de grasa en los peces alimentados con la dieta pigmentada puede deberse a una menor energía disponible total de la dieta como consecuencia de una menor cantidad de proteína soluble por parte del pienso pigmentado.

En el caso de los peces de 650g, los índices hepatosomáticos disminuyeron un 5,22% en el caso de los peces alimentados con la dieta control y aumentaron un 8,26% con los peces alimentados con la dieta pigmentada, pues como dijimos anteriormente la adición de harina de krill hace que se derive grasa hacia los hígados. Además ambos grupos de peces parecen estar utilizando la energía que ingieren para desarrollo gonadal. No se debe olvidar que el índice hepatosomático sufre variaciones según el estado gonadal de los peces y son siempre menores en el caso de los machos frente a las hembras.

El índice de grasa perivisceral, varió de manera contraria al experimento con peces de 250g, aunque aumentó para ambas dietas, este aumento fue superior en la dieta pigmentada con un 37,7% frente a un incremento del 27,62% para la dieta control. Tanto la disminución de grasa perivisceral como del índice hepatosomático en el caso de los peces alimentados con la dieta control se debe a que los peces se hallaban en un estado gonadal más avanzado.

Los índices gonadosomáticos de los ejemplares adultos de cultivo alimentados con el pienso control (0,47%, con un incremento del 105%) y con el pienso pigmentado (0,42%, con un incremento del 80%) son también un poco más elevados que los del medio natural (0,38%), pero se debe tener en cuenta que el estado gonadal era distinto. Los ejemplares de cultivo se hallaban en estado I (inmaduro) ó II (inicio maduración) y los del medio natural en estado V (Desove) ó VI (Postdesove). Cabe destacar que los valores encontrados en los ejemplares analizados del medio natural, eran bastante bajos en comparación a los encontrados en otros estudios. Así para las hembras en estado V, (Linares, 2004), encontró índices gonadosomáticos

de  $9,75\pm 3,80\%$  y para los machos  $4,12\pm 3,36\%$  y en el estado VI, para las hembras de  $1,05\pm 0,56\%$  y para los machos  $0,35\pm 0,40\%$ . En estado inmaduro e inicio de maduración como los ejemplares del medio de cultivo las hembras salvajes tenían valores de  $1,16\%$  y los machos de  $0,66\%$ .

Los resultados de los análisis de composición en el músculo e hígado de los peces analizados al final del experimento, tanto en ejemplares de 250g como de 650g, muestran que no hay diferencia significativa en el contenido de lípidos encontrados en los peces alimentados con ambos tipos de pienso.

Revisando la bibliografía se encontró un trabajo donde se realizó un experimento de engorde utilizando el mismo tipo de pienso que en nuestro caso y ejemplares del mismo tamaño. El porcentaje de lípidos en músculo e hígado en alevines alimentados con este mismo pienso control fue de  $11,2\%$  y  $30\%$  (Linares *et al.*, 2004), que son ligeramente inferiores a los de nuestro experimento ( $12,69\%$  y  $38,62\%$ ). Esta variación puede ser debida a diferencias en las condiciones ambientales: Tª, salinidad, corrientes, etc... En ese mismo experimento se comparaba los porcentajes de lípidos del hígado y el músculo con los porcentajes obtenidos con un pienso de la casa Trouw, con el mismo porcentaje de grasa/proteína que el pienso control (50/12), obteniéndose valores de  $37,5\%$  para el hígado y  $14\%$  para el músculo de los peces analizados (Linares *et al.*, 2004).

Por lo que podemos decir que con el pienso pigmentado, en ejemplares de 250g ( $11,84\%$  y  $42,20\%$ ) se obtienen valores menores de % de lípidos en el músculo y superiores en el hígado que en los otros dos tipos de pienso.

La comparación de los porcentajes de lípidos a lo largo del experimento, en ejemplares de 250g muestra en el músculo una disminución de los mismos y en el hígado un aumento. La disminución del % de lípidos en el músculo se observó también en un experimento realizado con bocinegros y alimentados con una dieta que poseía su fuente de carotenoides a partir de

harina de krill (Chebakki, 2001). Esto ocurre probablemente debido a la disminución de la actividad lipásica en el digestivo (Arantzamendi, 2004).

Para ejemplares adultos de besugo se han encontrado valores en % de lípidos de  $7,59 \pm 3,40$  % en músculo y  $21,41 \pm 6,99$  % en hígado, siendo los intervalos más normales (2,5-17%) en el músculo de los ejemplares del medio natural y de (13,3-40%) en el hígado (Linares *et al.*, 2000a). Para el músculo y el hígado en este experimento (ejemplares de 650g) se consiguen valores parecidos al de los ejemplares del medio natural (17% para el músculo y 40% para el hígado) con ambos tipos de pienso.

Si se compara el porcentaje lípidos en ambos grupos de peces (250 y 650g) se observa que el contenido de lípidos en el hígado es mucho menor en los ejemplares de 650g para ambas dietas (con una disminución del 40-50%). Esto nos sugiere una transferencia de lípidos en el animal, probablemente hacia las gónadas, o, un aumento de la actividad de los hepatocitos en comparación a los ejemplares de 250g.

Los porcentajes de proteína encontrados en el músculo de los dos grupos de peces fueron muy parecidos, no así su porcentaje en el hígado, donde hubo diferencias significativas para ambos grupos de peces, siendo su valor superior para los peces alimentados con la dieta control (28,01 y 33,48%) frente al pienso pigmentado (25,22 y 25,84%) tanto para los peces de 250g como los de 650g respectivamente. Esto debe estar relacionado con una mayor actividad lipogénica en los hígados de los peces alimentados con las harinas de krill y de caparzones de langostinos, que hace que se reduzca su porcentaje de proteína.

En cuanto a los porcentajes de lípidos y proteínas de las gónadas de los ejemplares de 650g, se observó que los lípidos se acumularon más en las gónadas de los peces alimentados con carotenoides que en los alimentados con el pienso control. Con respecto a las proteínas no hubo una tendencia clara, se mantiene sobre el 60% para ambas dietas.

Se realizaron los perfiles de los ácidos grasos de ambos tipos de pienso. El pienso control tiene un contenido ligeramente más alto expresado en %total de ácidos grasos: poliinsaturados (PUFA) debido probablemente a su mayor porcentaje de harinas de pescado, saturados, a.g. de las familias n-3 y n-6 y de la relación DHA/EPA que el pienso pigmentado, que presenta un valor ligeramente superior en ácidos grasos monoinsaturados, debido probablemente a su mayor porcentaje de aceites de pescado y en la relación de las familias n-3/n-6, pues el pienso control tiene mayor proporción de a.g. de la familia n-6, debido a su mayor porcentaje de trigo disminuyendo el valor de esta relación.

Al realizar el perfil de los a.g. del músculo de los ejemplares de 250g, en el muestreo inicial se observa que se corresponde con el perfil de a.g. de la dieta control, pero en el muestreo final el porcentaje de a.g. varía debido probablemente a que el pez moviliza los lípidos en relación a su incipiente desarrollo gonadal. Si se comparan los perfiles de a.g. en el músculo entre muestreo inicial y final se observa que el porcentaje de a.g. PUFA ha disminuido para ambas dietas. El porcentaje de a.g. saturados ha aumentado y el porcentaje de a.g. monoinsaturados ha disminuido sobre todo en el músculo de los peces alimentados con la dieta pigmentada. Esto nos sugiere que los peces que se alimentan de la dieta pigmentada están utilizando los a.g. monoinsaturados para obtener energía.

Comparando los perfiles de a.g. en el músculo en el muestreo final para ambas dietas, se observa que han evolucionado de igual manera, sólo se encuentran diferencias significativas para la relación de las familias de a.g. n-3/n-6 que es mayor en el pienso pigmentado, debido probablemente a que la harina de krill tiene grandes cantidades de a.g. de la familia n-3 y que el pienso control como hemos dicho anteriormente tiene mayor proporción de a.g. n-6 debido a su mayor proporción de trigo que es rico en el a.g. linoleico.

En cuanto al perfil de a.g. del hígado, si se compara su evolución entre el muestreo inicial y final se observa que no ha sufrido grandes variaciones, sin embargo donde si nos encontramos diferencias significativas es entre los perfiles de a.g. para ambas dietas en el muestreo final. Los

peces alimentados con el pienso control poseen mayor proporción de a.g. saturados, lo que se corresponde a la mayor proporción de estos a.g. en la dieta. Los peces alimentados con el pienso pigmentado tienen menor proporción de a.g. de la familia n-6 y una cantidad ligeramente mayor de n-3, por lo que la relación existente entre ambos es mayor para los peces alimentados con el pienso pigmentado.

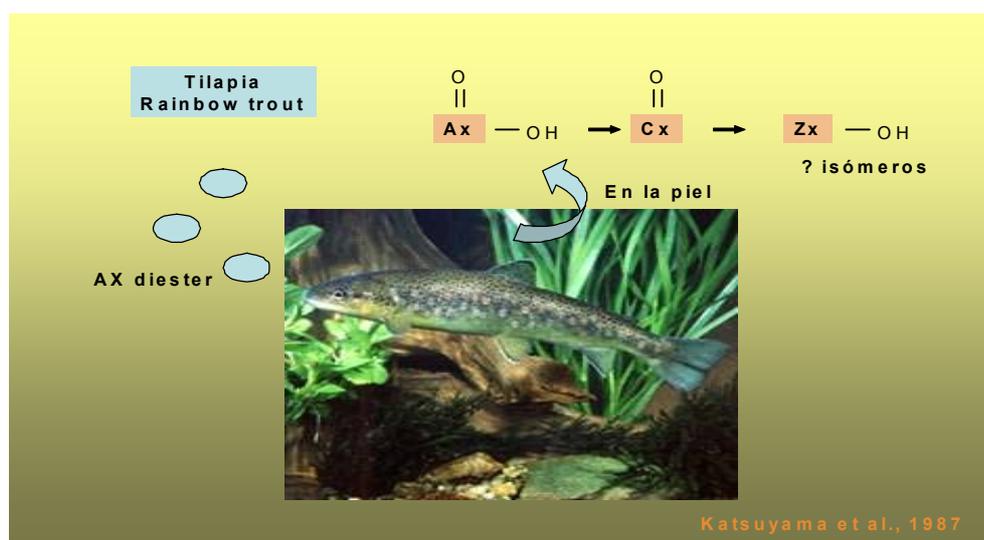
La evolución de los perfiles de a.g. en el músculo e hígado de los ejemplares de 650g alimentados con ambas dietas fue similar al observado en el caso de 250g. En el perfil de a.g. de los músculos en el muestreo final sólo se encontraron diferencias significativas en la familia de a.g. n-6 y en los hígados únicamente en las relaciones entre familias n-3/n-6 y entre los a.g. DHA/EPA.

El perfil de a.g. de las gónadas de los ejemplares de 650g nos indica una evolución similar para ambas dietas. Encontramos en el muestro final con respecto al inicial mayor proporción de a.g. saturados y monoinsaturados y una reducción de los a.g. PUFA y de la familia n-3.

Como se dijo anteriormente existen otros espáridos con problemas de coloración, por lo que basándose en las semejanzas existentes entre el besugo y el bocinegro, se probó la administración al besugo de una dieta enriquecida con harina de carcasa de langostino y krill, pues en bocinegro se habían obtenido resultados satisfactorios. En salmónidos, también se observó un aumento de su pigmentación al enriquecer las dietas con harina de langostino, depositándose en la piel y el músculo del pez (Saito y Regier, 1971; Steel, 1971; Torrissen *et al.*, 1981). La astaxantina en su forma libre, esterificada o formando complejos con proteínas, es el carotenoide más abundante en los crustáceos, siendo estos la fuente natural de pigmentos para muchos peces. La coloración de muchos peces se debe a la deposición de los esteres de astaxantina en la piel. Los esteres de astaxantina han resultado ser más eficientemente utilizados que la astaxantina libre para la coloración de la piel, lo que puede explicar la eficiencia de la adición de estos crustáceos en la dieta para bocinegro (Cejas *et al.*, 2003) o la adición de harinas

provenientes de los mismos como una fuente natural de carotenoides para colorear el bocinegro (Kalinowski *et al.*, 2005).

Al medir los parámetros de color de los peces alimentados con la dieta pigmentada y la dieta control en el momento del sacrificio se observaron diferencias significativas en el hue de la piel de los ejemplares de 250g. Los peces alimentados con el pienso pigmentado eran más rojizos que los alimentados con el pienso control, sin embargo a las 18 horas del sacrificio de estos peces en hielo, no se encontró diferencias significativas en los parámetros (L, hue y croma) entre los ejemplares de ambos grupos. Se encontraron valores de claridad (L) más altos para ambas dietas entre los muestreos inicial y final, tanto a las 0 horas como a las 18 horas, es decir, los peces al final del experimento eran más claros. Con el paso de las horas, incrementaron los valores de claridad y hue adquiriendo una coloración más amarillenta y disminuyó ligeramente el croma. Este aumento de la claridad y del hue de la piel, nos puede sugerir una degradación de la astaxantina (pigmento de color rojo) en la piel hacia otros pigmentos más amarillos/naranjas, tal y como se ha observado en otras especies, como la trucha arcoiris (Figura 47) o la tilapia (Katsuyama *et al.*, 1987).



**Figura 47:** Degradación de la astaxantina en le piel.

Otra hipótesis puede ser que esta variación de color se intensifique debido al estrés producido por la captura y manipulación en el momento del sacrificio y que con el paso del tiempo vuelvan a su color original, pues la coloración de la piel está bajo el control de otros parámetros, tanto externos como internos (físicos, neuro-hormonales, etc...). El pez altera su coloración frente a las condiciones ambientales, cambios físicos y condiciones de estrés. En estos casos el cambio de color se debe en mayor medida a la actividad o movimiento de los cromatóforos que al incremento o disminución de estas células (Fujii y Oshima, 1986).

El músculo tiene una claridad (L) similar al inicio del experimento que al final, no ha sufrido variación al incorporar carotenoides en su dieta. El color (hue) del músculo de la dieta control ( $78,81 \pm 5,65$ ) es más rojizo que el músculo de la dieta pigmentada ( $82,25 \pm 5,33$ ), que tiende más hacia el amarillo. Aunque estos ejemplares son de 250g su claridad (L) y su color (hue) es muy similar al de los ejemplares de 650g provenientes del medio natural.

En el caso de los ejemplares de 650g, se observaba visualmente la diferencia de color entre los ejemplares cultivados con los besugos capturados en el medio natural. Estos últimos poseían una coloración anaranjada especialmente en sus aletas. La alimentación con las dos dietas no produjo diferencias en los valores de claridad e intensidad en los diferentes muestreos. Únicamente se encontraron diferencias en los valores de hue a lo largo del experimento y sólo para la dieta pigmentada, para la que se obtuvieron valores significativamente menores ( $48,52$ ) en el muestreo final con respecto al inicial ( $52,48$ ). En comparación con los parámetros medidos en los ejemplares de 250g, los ejemplares de 650g presentaban valores que corresponden a una coloración algo más rojiza y más intensa, en ambas dietas por igual lo que ocasiona normalmente y tal como ocurre en este caso una disminución de la claridad (L) y por tanto la obtención de peces más oscuros. A las 18 horas posteriores al sacrificio, si bien no se encontraron diferencias en el tiempo para una misma dieta y los 3 parámetros estudiados, si que se obtuvieron diferencias entre dietas para un mismo punto de muestreo. Así para la dieta pigmentada se encontraron valores de claridad significativamente más bajos, o sea los peces

eran más oscuros que los peces alimentados con el pienso control, cuyo valor resultó similar al de los animales procedentes del medio natural. Si bien con intensidades similares entre dietas aunque ambas superiores a las de los besugos salvajes. Se encontraron diferencias en el hue, donde los resultados para la dieta pigmentada fueron similares a los de la dieta control, pero inferiores significativamente y por tanto, más rojizos al de los animales salvajes. Los besugos salvajes procedentes del medio natural tienen una coloración más amarillenta, más clara y menos intensa que los cultivados. Esto nos puede sugerir, que o bien la harina de carcasa de langostino y krill no es una buena fuente de carotenoides en besugo o que no hemos administrado la cantidad correcta de carotenoides. No se debe olvidar que el nivel de carotenoides en la dieta y la duración de la administración de la misma influyen en el índice de deposición de los carotenoides en el filete del pez (Spinelli y Mahnken, 1978; Kotic *et al.*, 1979; Choubert y Luquet, 1982; Torrissen, 1985; Storebakken *et al.*, 1987). En el caso del bocinegro, cantidades inferiores a 30 mg/kg no han tenido efectos satisfactorios (Cejas *et al.*, 2003; Kalinowski *et al.*, 2005). En otros casos, al administrar dosis superiores a la necesaria se ha conseguido el efecto contrario, que el color sea tan intenso, que tampoco sea atractivo para el consumidor (Chebakki, 2001).

Los resultados en la aleta caudal fueron bastante similares entre dietas para las medidas hechas en el momento del sacrificio, con variaciones únicamente en la claridad (L), en el muestreo medio había valores significativamente más bajos para los peces alimentados con la dieta pigmentada (36,68), frente a los alimentados con la dieta control (40,78), pero en el muestreo final estos valores se igualaron obteniéndose colas igual de oscuras. Esto está en concordancia con los valores más bajos y por tanto más rojizos del color (hue) y más intensos (aumenta el croma), aunque sin diferencias entre el muestreo medio (nuestro inicial) y el final.

Si analizamos los valores obtenidos de claridad (L) y color (hue) en la cola se observa una disminución de su valor en comparación a los valores obtenidos en la piel. Esto sugiere una progresiva deposición de los carotenoides en el cuerpo del pez. Esto se ha observado también en

el bocinegro (Kalinowski *et al.*, 2005) y en salmónidos, donde Bjerkeng (2000) encontró más astaxantina depositada en la zona caudal que en la anterior. Entre ambos tratamientos no se encontró diferencia significativa en el momento del sacrificio. En general son colas bastante oscuras y su coloración tiende más al rojo que al amarillo.

Lo más relevante encontrado en las colas a las 18 horas posteriores al sacrificio fue el incremento en los valores del hue para ambas dietas por igual con respecto a sus valores respectivos a las 0 horas, parece que se produce una degradación de los pigmentos hacia otros más amarillos-anaranjados. La comparación entre estas aletas caudales y las de los besugos salvajes no mostró diferencias en el hue, pues en ese momento todas poseen un color amarillo-anaranjado, con valores entre 50 y 60, aunque si existían diferencias significativamente mayores en la intensidad del color y en la claridad.

En el caso de las muestras de músculo, sólo se encontraron diferencias entre los peces alimentados con las dos dietas en el croma, con valores significativamente más intensos para la dieta pigmentada que para el control. Los músculos de los ejemplares salvajes son más claros que los de los ejemplares cultivados con ambas dietas, presentando diferencias significativas con los salvajes ( $p \leq 0,05$ ) y su color es más amarillento. Si se comparan los músculos de los ejemplares salvajes de besugo (L: 50-60) con los músculos de bocinegro salvaje (L: 40-50), se ve que estos últimos son más oscuros. La diferencia más importante la encontramos en el croma donde encontramos valores en torno a 6 para los besugos salvajes y de 1 para los bocinegros salvajes (Chebakki, 2001).

Analizando la concentración de carotenoides en la piel de los ejemplares de 250g se encontraron concentraciones de carotenoides del orden de 26,04 ug/g muestra en el muestreo inicial y del orden de 32,11 ug/g en los ejemplares de 650g. Ambos valores son muy superiores a la cantidad de carotenoides encontrada en la piel de los besugos salvajes que son del orden de 6,58 ug/g. Esto se podría explicar por la abundancia de alimento que los besugos cultivados tienen en sus jaulas debido a la abundancia de algas, almejilla y mejillones que hay en la zona.

Al final del experimento, sin embargo se observó una disminución generalizada del contenido en pigmentos en la piel e hígados de los animales, menor siempre en el caso de los peces alimentados con la dieta pigmentada. Así, la cantidad de pigmentos en la piel había disminuido un 22% con el pienso control y un 12% con el pienso pigmentado, en los ejemplares de 250g. Esta mayor disminución en la concentración de carotenoides de los peces alimentados con la dieta control, se puede deber a que estos peces presentaban un inicio de desarrollo gonadal y los carotenoides fueron transferidos de la piel a las gónadas. Esto vendría apoyado por la cantidad de lípidos que poseían dichas gónadas (del orden de 46,03%), pues los lípidos y los carotenoides se movilizan juntos en el animal.

En el caso de los ejemplares de 650g se observa una disminución de carotenoides en la piel de un 52% con el pienso control y de un 45% con el pienso pigmentado. Resulta interesante resaltar la mayor disminución observada en la concentración de pigmentos para los peces de mayor tamaño, lo cual podría estar en relación con una movilización de los mismos hacia otros órganos o tejidos en los que el animal los necesita en mayor cantidad. En este caso, la dieta pigmentada parece tener una influencia positiva ya que la movilización desde la piel es algo menor, ya que no se observó una disminución en la ingesta.

Si nos fijamos en los cambios fisiológicos del pez, se puede explicar esta disminución en la concentración de carotenoides, por una degradación de la astaxantina o por una transferencia de los carotenoides de la piel a las gónadas. Esto viene apoyado por el porcentaje de lípidos encontrados en las gónadas, que era superior en las de los peces alimentados con el pienso pigmentado (14,65%) frente a los peces alimentados con el pienso control (10,27%) ya que como se dijo anteriormente los carotenoides y los lípidos se movilizan juntos en el animal.

Otra ventaja de los piensos enriquecidos con la harina de carcasa de langostino y krill es que la cantidad de ácidos grasos PUFA y de la familia n-3 de las gónadas de los peces alimentados con carotenoides (51,06 ng/ug PS y 43,42 ng/ug PS) son superiores a los encontrados en las gónadas de los peces alimentados con la dieta control (34,82 ng/ug PS y

29,00 ng/ug PS), con los beneficios que esto supone para el aumento de la fecundidad y la puesta.

Los huevos pigmentados han mostrado mejoras en su calidad al alimentar al stock de reproductores con dietas con carotenoides, principalmente carotenoides rojizos como la astaxantina. Para el Pargo japonés (*Pagrus major*), la astaxantina diesterificada proveniente de la harina de krill es el factor determinante para mejorar la calidad de los huevos (Watanabe *et al.*, 1991a), sin embargo para la seriola, es la astaxantina en su forma libre la que mejora la calidad de los huevos (Verakunpiriya *et al.*, 1997b). Por otra parte, suplementaciones de la dieta con un 20% de harina de krill en dietas para seriola (Verakunpiriya *et al.*, 1997a) y en lucio rayado (*Pseudocaranx dentex*) causó un empeoramiento de la calidad de los huevos (Vassallo-Agius *et al.*, 2001).

Estudios en Pargo japonés mostraban que el enriquecimiento de las dietas con krill rico en astaxantina aumentaba la fecundidad (Watanabe *et al.*, 1991a). En dorada, Fernández-Palacios *et al.* (1995) demostró que un aumento del 1,6% de ácidos grasos n-3HUFA en la dieta aumentaba la fecundidad. Estos estudios nos indican la influencia de los enriquecimientos en las dietas, para la mejora de la calidad de las puestas, pero futuros estudios deben determinar los ingredientes y cantidades adecuadas para mejorar la fecundidad en diversas especies.

En los ejemplares de 650g se analizó la concentración de carotenoides en el hígado, en el muestreo inicial los valores de carotenoides eran del orden de 0,85 ug/g muestra, en el muestreo final se encontraron valores más similares en la concentración de carotenoides en el hígado de los peces alimentados con el pienso pigmentado (1,24 ug/g) que en los peces alimentados con el pienso control (0,76 ug/g) con los besugos procedentes del medio natural (1,03 ug/g).

En resumen, si bien no se encontraron claros efectos sobre el color de los animales tal y como se esperaba por la adición de los pigmentos contenidos en las harinas de krill y de carcasa de langostinos, lo que parece principalmente motivado por un exceso de alimento natural a expensas de los animales en las jaulas con lo que no se contó en principio, si que se encontraron

efectos positivos de su inclusión en las dietas sobre la deposición y posible movilización de los lípidos en los diferentes tejidos del animal. Si bien la astaxantina contenida en el pienso no produjo diferencias de color en los animales en relación a los peces control, los resultados indican que el besugo es capaz de transformar en la piel la astaxantina contenida en el pienso hacia otros pigmentos más amarillos/naranjas como ha sido observado en otras especies de peces.

Sería por tanto aconsejable trabajar en la línea de probar fuentes y concentraciones de distintos pigmentos más económicos quizá que la astaxantina, para poder conseguir una coloración más próxima entre los besugos salvajes y los cultivados. Resultaría conveniente así mismo prolongar la duración de las futuras experiencias que se lleven a cabo en este sentido con esta especie para poder evaluar mejor un posible efecto de los ingredientes y/o pigmentos adicionados sobre el crecimiento. Estudios sobre las variaciones a nivel metabólico en el animal serían igualmente interesantes.

Ya que el experimento sugiere que la administración de fuentes de astaxantina naturales mejoran la fecundidad y el estado de los huevos al producirse una mayor deposición de lípidos así como una deposición diferenciada de los mismos y una mayor transferencia de carotenoides de la piel a las gónadas del animal, sería interesante estudiar todo ello en el caso del besugo, especie para la que no se tienen datos de este tipo.

**Conclusiones**

## 5 CONCLUSIONES

1. Las tasas de crecimiento, índices de conversión del pienso e índices de grasa perivisceral no se vieron afectados por los tratamientos ensayados.
2. La inclusión de la harina de carcasa de langostino y krill en el pienso dio lugar a peces con un menor contenido en lípidos en el músculo, pero con un contenido superior en lípidos en el hígado.
3. Para los ejemplares de besugo, la administración de la dieta pigmentada, cuyos carotenoides provienen de las harinas de carcasa de langostino y krill (40 mg/Kg de dieta) durante 118 días no produce una coloración similar a la natural en la piel de los ejemplares salvajes.
4. El comportamiento de los besugos en cuanto a coloración obtenida resulto similar en los dos experimentos llevados a cabo (peces 250 y 650 g).
5. Los resultados muestran que los ejemplares alimentados con la dieta control se han estado alimentando de pigmentos que tenían a disposición en las jaulas. Futuros estudios deben ser realizados controlando en alguna medida este tipo de suplementos a los de la dieta.
6. El besugo parece tener capacidad metabólica para convertir unos pigmentos en otros en su piel. Así, los resultados muestran que la astaxantina contenida en la dieta pigmentada puede estar siendo degradada en ese tejido hacia otros pigmentos más amarillos/naranjas.
7. El incremento de lípidos en las gónadas (en especial ácidos grasos PUFA y  $\Sigma n-3$ ) y la disminución de la concentración de pigmentos en la piel a lo largo del experimento para los ejemplares alimentados con el pienso pigmentado, puede sugerir una transferencia de pigmentos de la piel a las gónadas, con beneficios para la fecundidad y calidad de los huevos

## **Referencias**

---

**6 REFERENCIAS.**

Abellán, E., García-Alcázar, A., Ortega, A., García-Alcázar, S. y Martín, P., 1994. *Informe Técnico del Instituto Español de Oceanografía*, Nº 148.

Agius, R.V., Watanabe, T., Satoh, S., Kiron, V., Imaizumi, H., Yamazaki, T. y Kawano, K., 2001. Supplementation of paprika as a carotenoid source in soft-dry pellets for broodstock yellowtail *Seriola quinqueradiata* (Temminck and Schlegel). *Aquac. Research*, 32, Suppl., 1: 263-272.

Al- Khalifa, A.S. y Simpson, K., 1988. Metabolism of astaxanthin in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 91B: 563-568.

AOAC, 1995. Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemistry. Washington, DC, pp. 1018.

Ando, S. y Hatano, M., 1986. Carotenoids in an egg yolk protein of chum salmon (*Oncorhynchus keta*). *Agric. Biol. Chem.*, 50: 1043-1044.

Ando, S. y Hatano, M., 1987. Metabolic pathways of carotenoids in chum salmon *Oncorhynchus keta* during spawning migration. *Comp. Biochem. Physiol.*, 87B, no 2: 411-416.

Apromar (Asociación Empresarial de Productores de Cultivos Marinos): Situación de la piscicultura marina en España. Informe de producción, 2003. Capítulo 1. Mayo de 2004. En: "Producción de pescados de crianza en Europa y el Mediterráneo", pp. 5-7.

Apromar (Asociación Empresarial de Productores de Cultivos Marinos): La Acuicultura en el mundo. Capítulo 1. Mayo de 2004. En: “La acuicultura marina de peces en España”/APROMAR, 2005, pp. 4-5.

Apromar (Asociación Empresarial de Productores de Cultivos Marinos): La Acuicultura Marina de Peces en España 2004. Mayo de 2005. [Disponible el 28/03/06 en URL: [www.apromar.es/informes.asp](http://www.apromar.es/informes.asp)], pp 19-20.

Arantzamendi, L., 2004. Efecto de los lípidos dietéticos sobre la producción, la composición y la actividad lipolítica en peces comerciales. Tesis doctoral. Universidad de las Palmas, España, pp. 250.

Bagnara, J.T. y Fernández, P.J., 1993. Hormonal influences on the development of amphibian pigmentation patterns. *Zool. Sci.*, 10: 733-748.

Barnabé, 1991. Acuicultura. Vol. I. Omega Ed. S.A. Barcelona, pp. 1099.

Bartov, I. y Bornstein, S., 1996. Studies of ethoxyquin on xanthophylls utilization. *Poultry Sci.*, 45: 297-305.

Basurco B. y Abellán, E., 1999. Finfish species diversification in the context of Mediterranean marine fish farming development. *Cahiers Options Mediterr.*, Ser. B: Etud. Rech. 24: 9-25.

Bjerkeng, B., 2000. Carotenoid pigmentation of salmonid fishes- recent progress. In: L.E. Cruz-Suarez, D. Rique-Marie, M. Tapia-Salazar, M.A. Overa-Novoa y R. Civera-Ceredero, Editors Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición acuícola 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán.

Bjerkeng, B., Storebakken, T. y Liaaen-Jensen, S., 1990. Dose response to carotenoids by rainbow trout in the sea: resorption and metabolism of dietary astaxanthin and canthaxanthin. *Aquac.*, 91: 153-162.

Bjerkeng, B., Storebakken, T. y Liaaen-Jensen, S., 1992. Pigmentation of rainbow trout from start feeding to sexual maturation. *Aquac.*, 108: 333-346.

Blaziak, S., Gluchowska, D., Krupinski, S., 1989. *Barmiki firmy*. La Roche. W tuczu pstraga teczowego. *Biul. Inf. Przem. Pasz.*, 3 / 4: 26-33.

Blight E.G. y Dyer, W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37: 911-917.

Bostock, J., 1998. Animal pharm's complete guide to aquaculture. Animal Pharm's reports of University of Stirling. Institute of Aquaculture. PJB Publications Ltd. 1: 1-229.

Bradford, M.M., 1976. A rapid sensitive method for the quantisation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248-254.

Britton, G., 1995. Isolation and Analysis. In: G. Briton, S. Liaan-Jensen y H. Pfander (ed), Carotenoids, vol 1 A. Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland, pp. 81-107.

Castell, J.D., Sinnhuber, R.O., Wales, J.H. y Lee, D.J., 1972. Essential fatty acids in the diet of rainbow trout (*Salmo Gairdneri*): growth, feed conversion and some gross deficiency symptoms. *J. Nutr.*, 102: 77-85.

Cejas, J.R., Samper, M, Jerez, S., Forés, E. y Villamandos, J., 1993. Actas del IV Congreso Nacional de Acuicultura, pp. 127-132.

Cejas, J.R, Almansa, E., Tejera, N., Jerez, S., Bolaños, A. y Lorenzo, A., 2003. Effect of dietary supplementation and lipid composition of red porgy (*Pagrus pagrus*) alevins. *Aquac.*, Vol. 218 Issues 1-4: 457-469.

Chebakki, K., 2001. Efecto de la nutrición sobre la coloración de la piel y la calidad del filete en bocinegro, *Pagrus pagrus*. Master Thesis. II International Master in Aquaculture, Universidad de las Palmas de Gran Canaria, Spain, 93 pp.

Chereguini, O., Fernández-Pato, C.A. y Martínez Tapia, C., 1990. Growth of wild black-spot sea bream (*Pagellus bogaraveo*, B) from Cantabrian sea under laboratory conditions. Some interesting parameters. *ICES C.M.* 1990/F32.

Choubert, G., 2002. In “Nutrición y alimentación de peces y crustaceos” (Guillaume, J., Kaushik, S., Bergot, P. y Métailler, R.) *Ediciones Mundi-prensa*, pp. 223-238.

Choubert, G. y Luquet, P., 1982. Fixation et rétention musculaire de la canthaxanthine par la truite arc-en-ciel. *Ann. Zootech.*, 31: 1-10.

Choubert, G. y Luquet, P., 1983. Utilization of shrimp meal for rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.) pigmentation. Influence of fat content of the diet. *Aquac.*, 32: 19-26.

Choubert, G. y Storebakken, T., 1989. Dose reponse to astaxanthin and canthaxanthin pigmentation of rainbow trout fed various dietary concentrations. *Aquac.*, 81: 69-77.

Choubert, G. y Storebakken, T., 1990. Carotenoids digestibility in fish: effect of pigment dose, salinity, feeding rate. Abstr. 9<sup>th</sup> Int. Symp. on Carotenoids, Kyoto, Japan, 20-25 May 1990.

- Choubert, G., Blanc, J.M. y Porsson, H., 1998. Effects of dietary keto-carotenoids (Canthaxanthin and astaxanthin) on the reproductive performance of female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)) *Aquac. Nut.*, 4: 249-259.
- Choubert, G., Milicua, J.C., Gomez Martinez, R., Sance, S., Petit, H., Negre-Sadargues, G., Costillo, R. y Trilles, J.P., 1991. Transport of canthaxanthin in serum of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). Abstr. IVth Int. Symp. Fish Nutrition and Feeding, Biarritz, France, 24-27 June 1991. INRA, Fish Nutrition Laboratory, F- 64310 St. Pée-sur-Nivelle, P4-19.
- Christiansen, R., Lie, O. y Torrissen, O.J., 1994. Effect of astaxanthin and Vitamin A on growth and survival during first feeding of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., *Aquac. and Fish. Manage.*, 25: 903-914.
- Christiansen, R., Glette, J., Lie, O., Torrissen, O.J. y Waagbo, R., 1995. Antioxidant status and immunity in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., fed semi-purified diets with and without astaxanthin supplementation. *J. Fish Diseases*, 18: 317-328.
- CIE, 1976. Oficial Recommendations on Uniform Colour Space, Colour Difference Equations and Metric Colour Terms. Suppl. No 2 to CIE Publication No 15, Colorimetry. Comisión Internacional de l'éclairage, Paris.
- Clydesdale, F.M., 1993. Color as a factor in food choice. *Crit. Rev. Fd. Sci. Nut.*, 33: 83-101.
- Coll, J.M., 2001. Actualidad y futuro de la Acuicultura Española. Revista Aquatic, nº 14, Julio 2001. [Disponible el 11/07/2005 en URL: <http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?t=h&c=124>].

Czeczuga, B., 1975. Carotenoids in fish. IV. Salmonidae and Thumallidae from Polish waters. *Hydrobiología*, 46: 223-239.

Czeczuga, B., 1977. Carotenoids in fish XVIII. Carotenoids in the brain of some fishes. *Folia Histochem, et Cytochem*, 15: 343-346.

Deming, D.M. y Erdman, J.W., 1999. Mammalian carotenoid absorption and metabolism. *Pure Appl. Chem.*, 12: 2213-2223.

Deufel, I., 1970. Probleme der Forrellenfütterung. Informationsdienst F.Hoffman-La Roche 1265. Stwitzerland.

Dirección General de Recursos Pesqueros. Nota sobre el Plan Estratégico de la Acuicultura Española. Revista Aquatic, nº 3, Mayo 1998. [Disponible el 21/12/2005 en URL: <http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?t=h&c=28>]. Ministerio de agricultura, pesca y alimentación.

Doménech, J.L. y León, S., 1997. Consideraciones sobre el cultivo de diversas especies de peces con posible interés en Asturias (Sargo: *Diplodus sargus*; Mojarra: *D. vulgaris*; Lubina: *Dicentrarchus labrax* y besugo: *Pagellus bogaraveo*). Actas del VI Congreso Nacional de Acuicultura. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Cartagena, 855-860.

Eckmann, R, Gaedke, H., Wetzler, I., 1988. Effects of climatic and density- dependent factors on year-class strength of *Coregonus lavaretus* L, in lake Costance can. I. *Fish. Aquacult. Sci.*, 45: 1088-1093.

FAO 2002: El estado mundial de la pesca y la acuicultura. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Viale delle terme di Caracalla. 00100- Roma, Italia.

FAO 2004: El estado mundial de la pesca y la acuicultura. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Viale delle terme di Caracalla. 00100- Roma, Italia.

FEAP (2004). Federation of European Aquaculture Producers. [Disponible el 02/11/05 en URL: [http://www.feap.info/production/countries/spain/spainprod\\_en.asp?](http://www.feap.info/production/countries/spain/spainprod_en.asp?) ]

FEAP (2005). Federation of European Aquaculture Producers. [Disponible el 28/03/06 en URL: [http://www.feap.info/production/countries/spain/spainprod\\_en.asp?](http://www.feap.info/production/countries/spain/spainprod_en.asp?) ]

Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M.S., Robaina, L., Valencia, A., Salhi, M. y Vergara, J.M., 1995. Effect of n-3 Hufa level in broodstock diets on eggs quality of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) *Aquac.*, 132: 325-337.

Fernández-Pato C.A., Martínez-Tapia, C., Chereguini, O. y García-Banda, I., 1990. Spawn, hatching and larvae rearing of black-spot sea bream (*Pagellus bogaraveo* B.). First experiences in the Oceanographic Center of Santander (Spain) in order to its culture. Coun. Meet. *ICES* 1990/F: 30.

Fernández-Reiriz M.J., Pérez-Camacho, A., Ferreiro, M.J., Blanco, J., Planas, M., Campos, M.J. y Labarta, U., 1989. Biomasa production and variation in the biochemical profile (total protein, carbohydrates, RNA, lipids and fatty acids) of seven species of marine microalgae. *Aquac.*, 83: 17-37.

Fernández Souto, B. y Rodríguez Villanueva, X.L., 2002. Guía de la piscicultura europea. Xunta de Galicia y la Consellería de Pesca y Asuntos Marítimos.

Foss, P., Storebakken, T., Schiedt, K., Liaaen-Jensen, S., Austreng, E. y Streiff, K., 1984. Carotenoids in diets for salmonids. I. Pigmentation of rainbow trout with the individual optical isomers of astaxanthin in comparison with canthaxanthin. *Aqua.*, 41: 213-226.

Fujii, R., 1969. In "Fish Physiology" (W.S. Hoar y D.J. Randall, eds.) Vol. 3, *Academia press*, New Cork, pp. 307-353.

Fujii, R., 1993. Coloration and chromatophores. In "The Physiology of Fishes" (D.H. Evans ed.) *CRC Press*, Ann Arbor, pp. 535-562.

Fujii, R. y Oshima, N., 1986. Control of chromatophore movements in teleost fishes. *Zool. Sci.*, 3: 13-47.

Fujita, T., Satake, M., Iikichi, S., Takeda, M., Shimeno, S., Kuwabara, I.I., Miki, W., Yamaguchi, K. y Konosu, S., 1983. Pigmentation of cultured yellowtail with krill oil. *Bull Japan. Soc. Sci. Fish.*, 49 (10):1595-1600.

García, B., Bermúdez, L., Gómez, O., Martín, P. y Ortega-García, A., 1987. Experiencia de engorde de dorada en estanques. *Pub. Téc.*, 8: 105-116. Conselleria de pesca, marisqueo e cultivos mariños.

García-Castrillo Riesgo, G. (texto) y Fernández Bustelo, J.A. (dibujos), 2000. Peces de la bahía de Santander y su entorno. *Fundación Marcelino Botín*, pp. 413.

Genovese, L., Micale, V., Patti, F. y Greco, S., 1998. Growth performance of *Pagellus bogaraveo* reared at different stocking densities. In: 33 international symposium on New Species for Mediterranean Aquaculture, Book of Abstracts, Alghero (Italy), 22-24 April, 1998.

Gilchrist, B.M. y Lee, W.L., 1972. Carotenoid pigments and their possible role in reproduction in the sand crab *Emerita analoga* (Stimpson, 1857). *Comp. Biochem. Physiol.*, 42B: 263-294.

Gomes, E., Dias, J., Silva, P., Valente, L., Empis, J., Gouveia, J.B. y Young, A., 2002. Utilization of natural and synthetic sources of carotenoids in the skin pigmentation of gilthead seabream (*Sparus aurata*), *Eur. Food Res. Technol.*, 214: 287-293.

González-Laxe, F., 2000. Revista *Productos del Mar*. Nº 145-146. Febrero 2000.

Guillaume, J., Kaushik, S., Bergot, P. y Métailler, R., 2002. Nutrición y alimentación de peces y crustaceos. Ediciones Mundi-prensa, pp. 475.

Guillou, A., Choubert, G., Storebakken, T., De la Noüe, J. y Kaushik, S., 1989. Bioconversion pathway of astaxanthin into retinal<sub>2</sub> in mature rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rish.). *Comp. Biochem. Physiol.*, 94B: 481-485.

Hardy, R.W., Torrissen, O.J., Scout, T.M., 1990. Absorption and distribution of <sup>14</sup>C- labelled canthaxanthin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquac.*, 87: 331-340.

Herold, P.M. y Kinsella, J.E., 1986. Fish oil consumption and decreased risk of cardiovascular disease: a comparison of findings from animal and human feeding trials. *Am. J. Clin. Nut.*, 43: 566-598.

Hunt, R.W.G., 1977. The specification of colour appearance: I. Concepts and terms, *Color Res. Appl.*, 2: 55-68.

Hureau, J.C. y Monod, T.H., 1973. Check-list of the fishes of the North-eastern Atlantic and Mediterranean (Clofnan), Vol. I and II. Unesco, Paris.

- Hwang, D., 1989. Essential fatty acids and immune responses. *FASEB J.*, 3: 2052-2061.
- Ipac. Acuicultura, nº 2. Edit. Sipsa, pp. 1-28, Noviembre 2005.
- Izquierdo, M.S., Obach, A., Arantzamendi, L., Montero, D., Robaina, L. y Rosenlung, G., 2003. Dietary lipid sources for seabream and seabass: growth performance, tissue composition and flesh quality. *Aquac. Nutrition*, 9: 397-407.
- Johnson, E.A. y An, G.H., 1991. Asthaxanthin from microbial sources. *Crit. Rev. Biotechnol.*, 11 (4): 297-326.
- Johnson, E.A., Villa, T.G. y Lewis, M.J., 1980. Phaffia Rhodozyma as an astaxanthin source in salmonid diets. *Aquac.*, 20: 123-134.
- Kalinowski, C.T., Robaina, L.E., Fernández-Palacios, H., Schuchardt, D. e Izquierdo, M.S., 2005. Effect of different carotenoid sources and their dietary levels on red porgy (*Pagrus pagrus*) growth and skin colour. *Aquac.*, 244: 223-231.
- Katsuyama, M., Komori, T., y Matsumo, T., 1987. Metabolism of three stereoisomers of astaxanthin in the fish, rainbow trout and tilapia. *Comp. Biochem. Physiol.*, 86B: 1-5.
- Kaushik, S.J. y Luquet, P., 1984. Relationship between protein intake and voluntary energy intake as affected by body weight with an estimation of maintenance needs in rainbow trout. *Z. Tierphysiol. Tierernähr. U. Futtermittelkd.*, 51: 57-69.
- Kentouri, M., Pavlides, M., Papandroulakis, N. y Divanach, P., 1995. Culture of red porgy, *Pagrus pagrus*, in Crete. Present knowledge, problems and perspectives. *Cah. Options Mediterr.*, 16: 65-78.

Kiessling, A., Storebakken, T., Asgard, T. y Kiessling, K.H., 1991a. Changes in structure and function of the epaxial muscle of rainbow trout in relation to ration and age. I. Growth dynamics. *Aquac.*, 93: 335-356.

Kiessling, A., Kiessling, K.H., Storebakken, T. y Asgard, T., 1991b. Changes in structure and function of the epaxial muscle of rainbow trout in relation to ration and age. II. Activity of key enzymes in energy metabolism. *Aquac.*, 93: 357-372.

Kiessling, A., Asgard, T., Storebakken, T., Johansson, L. y Kiessling, K.H., 1991c. Changes in structure and function of the epaxial muscle of rainbow trout in relation to ration and age. III. Chemical composition. *Aquac.*, 93: 373-387.

Koteng, D.F., 1992. Markedsundersokelse Norsk Laks. FNL, Bergen. Norway.

Kotik, L.V., Tolokonnikov, G.Y. y Dubrovin, N., 1979. The effect of krill meal additions to feeds on muscle pigmentation in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Ichthyol.*, 19: 119-123.

Krug, M., 1986. Reproduction of the blackspot seabream, *Pagellus bogaraveo* (Brünnich, 1768) in Azorean Waters. *ICES G*:61.

Krug, M., 1990. The Azorean Blackspot Seabream, *Pagellus bogaraveo* (Brünnich, 1768) (Teleostei Sparidae). Reproductive cycle, hermaphroditism, maturity and fecundity. *Cybiu* 14 (2): 151-159.

Lambertsen G. y Braekkan, O.R., 1971. Method of analysis of astaxanthin and its occurrence in some marine products. *J. Sci. Food. Agric.*, 22: 99-101.

Leger, C., 1985. Digestion, absorption and transport of lipids. In: C.B. Cowey, A.M. Mackie y J.C. Bell (Editors), *Nutrition and Feeding of Fish*. Academic Press, New York, NY, pp. 299-331.

Lepage G. y Roy C.C., 1986. Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *J. Lipid Res.*, 27: 114-120.

Liebler, D.C., 1993. Antioxidant reactions of carotenoids. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 691: 20–31.

Linares, F., 2004. Estudio del cultivo del besugo (*Pagellus bogaraveo*, B.). Reproducción en el medio natural y en cautividad. Engorde en tanques y jaulas flotantes. Memoria final del proyecto 2001-2003.

Linares, F., Olmedo, M., Ortega, A. y Peleteiro, J.B., 1999. Experiencias de engorde de besugo, *Pagellus bogaraveo* (Brünnich, 1768) en jaulas y tanques de cultivo. 7º Congreso Nacional de Acuicultura. Las Palmas de Gran Canaria, Spain, pp. 73.

Linares, F., Olmedo, M., Peleteiro, J.B. y Ortega, A., 2000a. Composición lipídica del besugo, (*Pagellus bogaraveo*) procedente del medio natural y de cultivo intensivo. Resultados preliminares. V Congreso de Ciencias del Mar. Marcuba 2000.

Linares, F., Olmedo, M., Peleteiro, J.B. y Gianzo, C. 2000b. Biochemical composition of blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*, B) larvae, throughout larval development. Initial results. *World Aquaculture* 2000. Nice. France.

Linares, F., Olmedo, M., Peleteiro, J.B. y Arán Echabe, J., 2001a. Ongrowing and biochemical composition of blackspot sea bream (*Pagellus bogaraveo*) juveniles fed with different dry food. *European Aquaculture Society*. Special publication. Nº 30: 318-321. Oostende, Belgium.

Linares, F., Olmedo, M., Ortega, A. y Peleteiro, J.B., 2001b. Experiencias de engorde de besugo, (*Pagellus bogaraveo* B.) en jaulas y tanques de cultivo. Monografías del Instituto Canario de Ciencias Marinas, 4: 206-210.

Linares, F., Olmedo, M., Peleteiro, J.B., Rodríguez, J.L. y Rodríguez, L.M., 2004. Promoción del cultivo de las nuevas especies de espáridos: Besugo. Ensayos piloto y transferencia tecnológica. Memoria CIMA 2004. Publicado por la Conselleria de pesca e asuntos marítimos.

Love, R.M., 1980. The Chemical Biology of Fishes. II. *Academic Press*, New York, NY.

Luna, D., Fernández-Polanco, J.M. y González-Laxe, F., 2004. El Mercado de la lubina y dorada en la UE en el periodo 2003-2006. Disponible el 23/01/06 en URL: [http://www.mapa.es/jacumar/publicaciones/plubi\\_recientes.asp](http://www.mapa.es/jacumar/publicaciones/plubi_recientes.asp)].

Martinez-Tapia, C., Fernández-Pato, C. y Chereguini, O., 1990. Comparative study of larvae survival and growth in sea bream (*Pagellus bogaraveo*, B) using microencapsulated or living food. *ICES C.M.* 1990/F 31.

Masser, M.P., Grant, W.E., Neill, W.H. y Robinson, E.H., 1991. A simulation model representing effects of dietary energy/protein ratio and water temperature on growth of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Ecol. Modelling*, 53: 17-35.

Mercamadrid [Disponible el 02/11/05 en URL: <http://www.mercamadrid.es/es/estadisticas/mensuales01.asp> ].

Nakamura, K. y Hata, M., 1985. A study on astaxanthin in salmon *Oncorhynchus keta* serum. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 51: 979- 983.

Nickell, D.C. y Bromage, N.R., 1998. The effect of timing and duration of feeding astaxanthin on the development and variation of fillet colour and efficiency of pigmentation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquac.*, 169: 233-246.

No, H.K. y Storebakken, T., 1991. Pigmentation of rainbow trout with astaxanthin at different water temperatures. *Aquac.*, 97: 203-216.

No, H.K. y Storebakken, T., 1992. Pigmentation of rainbow trout with astaxanthin and canthaxanthin in freshwater and saltwater. *Aquac.*, 101: 123-134.

Nys, Y., 2000. Dietary carotenoids and egg yolk coloration - a review. *Arch. Geflügelk*, 64: 45-54.

Olivier, R., 1928. Poissons de chalet. La dorade (*Pagellus centrodontus*) Résumé pratique de nos connaissances sur ce poisson. *Rev. Trav. Off. Pêches Marit.*, 1 (4) : 4-22.

Olmedo, M., Linares, F. y Peleteiro, J.B., 2002. Engorde de juveniles de besugo, *Pagellus bogaraveo*, (Brünnich, 1768) cultivados en tanques y jaulas. Boletín del *Inst. Español Oceanográfico*, 18: 1-4.

Olmedo, M., Linares, F., Ruiz, N., Álvarez-Blázquez, B., Peleteiro, J.B., Ortega, A. y Rodríguez, J.L., 1997. Preengorde de alevines de besugo (*Pagellus bogaraveo*, B.) nacidos en cautividad. Actas del VI Congreso Nacional de Acuicultura. Cartagena, Spain. pp. 879-885.

Olmedo, M., Peleteiro, J.B., Alvarez-Blázquez, B. y Gómez, C., 1998. First experiences with larval culture of blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*, B) ICES. C.M. 1998/L21.

Olmedo, M., Peleteiro, J.B., Linares, F., Álvarez-Blázquez, B., Gómez, C. y Ortega, A., 2000. Experience with ongrowing juvenile blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*, B.) born in captivity, in tanks at different temperatures. In: Recent advances in Mediterranean aquaculture finfish diversification. Vol. 47. *Cah. Options Mediterr.*, pp. 153-157.

Page, J.W. y Andrews, J.W., 1973. Interactions of dietary levels of protein and energy on channel carfish (*Ictalurus punctatus*). *J. Nutr.*, 103: 1339-1346.

Peleteiro, J.B., Olmedo, M. y Linares, F., 2000a. Recent advances in the cultivation techniques for Blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*, B.): Perspectives for industrial cultivation. Workshop on new species for aquaculture. Faro. Noviembre, 2000.

Peleteiro, J.B., Olmedo, M. y Alvarez-Blazquez, B., 2000b. Culture of *Pagellus bogaraveo*: Present knowledge, problems and perspectives. Recent advances in Mediterranean aquaculture finfish species diversification. Proceedings of the Seminar of the CIHEAM Network on Technology of Aquaculture in the Mediterranean (TECAM), jointly organized by CIHEAM and FAO, Zaragoza (Spain), 24-28 May 1999. *Cah. Options Mediterr.*, 47: 141-151.

Peleteiro J.B., Olmedo, M., Cal, R.M. y Gómez, C., 1994. Growth under laboratory conditions of wild juvenile black-spot sea bream (*Pagellus bogaraveo* B.). *Aquac. Eur.*, 18 (4): 6-10.

Peleteiro J.B., Olmedo, M., Gómez, C. y Álvarez-Blázquez, B., 1997. Study of reproduction in captivity of blackspot sea bream (*Pagellus bogaraveo* B.). Embryonic development and consumption of vitelline sac. Coun. Meet. *ICES 1997/HH19*.

Peleteiro, J.B., Olmedo, M., Gómez, C. y Álvarez-Blázquez, B., 1999. Evaluación de nuevas especies de peces potencialmente cultivables: besugo (*Pagellus bogaraveo*), salmonete (*Mullus surmuletus*), sargo (*Diplodus sargus*), mojarra (*Diplodus vulgaris*), abadejo (*Pollacius pollacius*),

aligote (*Pagellus acarne*), en el NW de la península ibérica. 7º Congreso Nacional de Acuicultura. Las Palmas de Gran Canaria, Spain, pp. 72.

Peleteiro, J.B., Olmedo, M., Gómez, C. y Urbieta, F.J., 2000c. Blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*, B.): a valid alternative to turbot (*Scophthalmus maximus*, L.) cultura. *World Aquaculture*, 2000. Nice, France.

Peleteiro, J. B., Olmedo, M., Alvarez-Blázquez, B. y Linares, F., 2002. Reproduction control of blackspot seabream, *Pagellus bogaraveo* B., in captivity. *European Aquaculture Society*. Special publication, 32: 424-426.

Polanco, E., 2000. La acuicultura. Biología, regulación, fomento, nuevas tendencias y estrategia comercial. Mundi prensa libros S.A. Fundación Alfonso Martín Escudero. Tomo I: Análisis del desarrollo de los cultivos: medio, agua y especies, pp. 246.

Pozo, R., Lavety, J. y Love, R.M., 1988. The role of dietary  $\alpha$ -tocopherol (vitamina E) in stabilising the cantaxanthin and lipids of rainbow trout muscle. *Aquac.*, 73: 165-175.

Putnam, M., 1992. A review of the nature, function, variability and supply of pigments in salmonid fish. *Publ. Eur. Aquacul. Soc.*, Nº 16: 245-263.

Robaina, L., Kalinowski, T., García, J., Schuchardt, D., Vergara, J.M., Ginés, R., Fernández, A. e Izquierdo, M.S., 2005. Calidad del bocinegro (*Pagrus pagrus*) de cultivo: apariencia externa, composición proximal, índice viscerosomático y características sensoriales. X Congreso Nacional de Acuicultura, Gandía (Valencia), 2005.

Röpke, M.A., 1988. Cantaxanthin concentration in different coloured fillets of farmed rainbow trout (*Salmo gairdneri*, R) in relation to dietary doses. *Int. Council. Explor. Sea, Maricult. Committ.*, 34: 7-14.

Saito, A. y Regier, L.W., 1971. Pigmentation of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) by feeding dry crustacean waste. *J. Fish. Res. Board can.*, 28 (4): 509-512.

Sanchez, F., 1983. Biology and fishery of the red sea-bream (*Pagellus bogaraveo* B.) in VI, VII and VIII subareas of ICES. *ICES*, Copenhagen (Denmark).

Sanchez, F., 1993. Las comunidades de Peces de la Plataforma del Cantábrico. Publicaciones Especiales del Instituto Español de Oceanografía. N° 13, pp.138, N13: VIII. Ministerio de agricultura, pesca y alimentación.

Saperstein, S. y Starr, M.P., 1954. The ketonic carotenoid canthaxanthin isolated from a colour mutant of *Corynebacterium michiganense*. *Biochem. J.*, 57: 273.

Schiedt, K., Leuenberger, F. J., Vecchi, M. y Glinz, E., 1985. Absorption, retention and metabolic transformation of carotenoids in rainbow trout, salmon and chicken. *Pure Appl. Chem.*, 57: 685-692.

Seemann, M., 1999. Faktoren mit Einfluß auf die Pigmentierung. *Lohmann Information*, 1/99: 9-16.

Shahidi, F., Metusalach, A. y Brown, J.A., 1998. Carotenoid pigments in seafoods and aquaculture. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 38: 1-67.

Sivtseva, L.V., 1982. Qualitative composition and distribution of carotenoids and vitamin A in the organs and tissues of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *J. Ichtyol.*, 22: 96-100.

Sokal, R.R. y Rohlf, F.I., 1979. Biometría. Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica. Ed. Blume, Madrid, pp. 832.

Spinelli, J. y Mahnken, C., 1978. Carotenoid deposition in pen-reared salmonids fed diets containing oil extracts of red crab (*Pleuroncodes planipes*). *Aquac.*, 13: 213-223.

Spinelli, J., Lehman, L. y Wieg, D., 1974. Composition, processing and utilization of red crab (*Pleuroncodes planipes*) as an aquacultural feed ingredient. *J. Fish. Res. Board Can.*, 31: 1025-1029.

Steel, R.E., 1971. Shrimp processing waste as a pigment source for rainbow trout. Oregon State Univ., Ph. D. Thesis, pp. 108.

Stephanou, D., Georgiou, G. y Shourkri, E., 1995. Reproduction and larval rearing of the common seabream (*Pagrus pagrus*), an experimental culture. *Cah. Options Mediterr.*, 16: 79-87.

Storebakken, T. y Choubert, G., 1991. Flesh pigmentation of rainbow trout. *Aquac.*, 100: 209-229.

Storebakken, T. y No, H.K., 1992. Pigmentation of rainbow trout. *Aquac.*, 100: 209-229.

Storebakken, T. y Umesh C. Goswami, 1996. Plasma carotenoid concentration indicates the availability of dietary astaxanthin for Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquac.*, 146: 147-153.

Storebakken, T., Foss, P., Huse, I., Wandsvik, A. y Lea, T.B., 1986. Carotenoids in diet for salmonids III. Utilization of cantaxanthin from dry and wet diet by Atlantic salmon, rainbow trout and sea trout. *Aquac.*, 51: 245-255.

Storebakken, T., Foss, P., Schiedt, K., Austreng, E., Liaaen-Jensen, S. y Manz, U., 1987. Carotenoids in diets for salmonids IV. Pigmentation of Atlantic salmon with astaxanthin, astaxanthin dipalmitate and canthaxanthin. *Aquac.*, 65: 279-292.

Storebakken, T., Sorensen, M., Bjerkgeng, B. y Hiu, S., 2004. Utilization of astaxanthin from red yeast, *Xanthophyllomyces dendrorhous*, in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*: effects of enzymatic cell wall disruption and feed extrusion temperature. *Aquac.*, 236: 391-403.

Sylvia, G., Morrissey, M.T., Graham, T. y García, S., 1995. Organoleptic qualities of farmed and wild salmon. *J. Aquac. Food. Prod. Technol.*, 4: 51-64.

Sylvia, G., Morrissey, M.T., Graham, T. y García, S., 1996. Changing trends in seafood markets: the case of farmed and wild salmon. *J. Food Prod. Market*, 3: 49-63.

Tacon, A.G.J., 1981. Speculative review of possible carotenoid function in fish. *Prog. Fish-Cult.* 43: 205-208.

TECAM, 1999. Survey on Mediterranean Marine Finfish Species Diversification, Marine finfish species diversification: current situation and prospects in Mediterranean aquaculture, *Cahier Options Mediterr.*, Ser. B: Etudes Rech. 24: 169.

Torrissen, O.J., 1984. Pigmentation of salmonids effects of carotenoids in eggs and start-feeding diet on survival and growth rate. *Aquac.*, 43: 185-193.

Torrissen, O.J., 1985. Pigmentation of salmonids: factors affecting carotenoids deposition in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquac.*, 46: 133-142.

Torrissen, O.J., 1986. Pigmentation of salmonids a comparison of astaxanthin and canthaxanthin as pigment sources for rainbow trout. *Aquac.*, 53: 271-278.

Torrissen, O.J., 1989. Pigmentation of Salmonids: Interactions of Astaxanthin and Canthaxanthin on Pigment Deposition in Rainbow Trout. *Aquac.*, 79: 363-374.

Torrissen, O., Tidemann, E., Hansen, F. y Raa, J., 1981. Ensiling in acid. A method to stabilize astaxanthin in shrimp processing by-products and improve uptake of this pigment by rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquac.*, 26: 77-83.

Torrissen, O.J., Hardy, R.W. y Shearer, K.D., 1989. Pigmentation of salmonids-carotenoid deposition and metabolism. *CRC Crit. Rev. Aquat. Sci.*, 1: 209-225.

Torrissen, O.J., Hardy, R.W., Shearer, K.D., Scott, T.M. y Stone, F.E., 1990. Effects of dietary canthaxanthin level and lipid level on apparent digestibility coefficients for canthaxanthin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquac.*, 88, nº 3-4: 351-362.

Valls, H. y Akrou, M., 1995. Los adelantos de la acuicultura Mediterránea. *Cahiers options*, 16: 1-2.

Vassallo-Agius, R., Imaizumi, H., Watanabe, T., Yamazaki, T., Satoh, S. y Kiron, V., 2001. Effect of Squid meal in dry pellets on the spawning performance of striped jack *Pseudocaranx dentex*. *Fish. Sci.*, 67: 271-280.

Verakunpiriya, V., Watanabe, K., Mushiake, K., Kawano, K., Kobayashi, T., Hasegawa, I., Kiron, V., Satoh, S. y Watanabe, T., 1997a. Effect of krill meal supplementation in soft dry pellets on spawning and quality of egg of yellowtail. *Fish. Sci.*, 63: 433–439.

Verakunpiriya, V., Mushiake, K., Kawano, K. y Watanabe, T., 1997b. Supplemental effect of astaxanthin in broodstock diets on the quality of yellowtail eggs. *Fish. Sci.*, 63: 816-823.

Watanabe, T. y Vassallo-Agius, R., 2003. Broodstock nutrition research on marine finfish in Japan. *Aquac.*, 227: 35–61.

Watanabe, T., Lee, M.J., Mizutani, J., Yamada, T., Satoh, S., Takeuchi, T., Yoshida, N., Kitada, T. y Arakawa, T., 1991a. Effective components in cuttlefish meal and raw krill for the improvement of quality of red sea bream *Pagrus major* eggs. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57: 681-694.

Watanabe, T., Lee, M.J., Mizutani, J., Yamada, T., Satoh, S. y Takeuchi, T., 1991b. Effect of polar and non polar lipids from krill on quality eggs of red sea bream *Pagrus major*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57: 695-698.

Whitehead, P.J.P., Bauchot, M.L., Hureau, J.C., Nielsen, J., Tortonese, E., 1986. Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean. Volumen II. Unesco, Paris.

Xunta de Galicia. Consellería de pesca e asuntos marítimos. [Disponible el 02/11/05 en URL: <http://www.pescadegalicia.com/publicaciones/listadopublicaciones.htm>].

Yu, T.C. y Sinnhuber, R.O., 1975. Effect of dietary linolenic and linoleic acids on growth and lipid metabolism of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Lipids*, 10: 63-66.