

## LA INCLUSIÓN DE ACEITES VEGETALES EN EL PIENSO: EFECTO SOBRE ALGUNOS PARÁMETROS DEL SISTEMA INMUNE DE JUVENILES DE DORADA (*SPARUS AURATA*, L.)

La escasa disponibilidad y el alto coste del aceite de pescado han impulsado a los científicos a buscar fuentes alternativas a este recurso, como por ejemplo los aceites vegetales. En este estudio hemos evaluado el efecto de dos diferentes fuentes lipídicas vegetales (lino y soja) sobre el estado de salud de la dorada.

V. Grasso  
D. Montero  
F. Acosta

Los resultados indicaron que tanto una elevada (70%) como la total (100%) sustitución de aceite de pescado por aceites vegetales en la dieta de juveniles de dorada influyen negativamente en el crecimiento y conversión del alimento. Todas las dietas, con excepción de la del 70% de sustitución, presentaron un menor crecimiento y un peso final significativamente menor ( $p < 0,05$ ) que el control. La composición lipídica dietética se reflejó en los ácidos grasos de los macrófagos del riñón anterior, aunque se observó una incorporación selectiva de ARA y EPA. La expresión de Mx en respuesta a ambos estímulos (bacteria y Poli I: C) fue homogénea en todos los grupos, pero los niveles basales fueron más altos en los peces alimentados con dieta vegetal. Este resultado podría indicar un posible efecto beneficioso de los lípidos vegetales sobre el sistema inmune de los peces.

*Relative poor availability and high cost of fish oil induce the scientists to evaluate the use of alternative lipid sources, such as vegetable oils, in aquaculture. In this study we evaluate the effect of two vegetable oils (linseed and soybean) on gilt-head sea bream health.*

*The present results suggest that the high (70%) or total (100%) substitution of fish oil for vegetable oils affects growth and feed utilization in gilthead sea bream juveniles. All diets, except for the 70% substitution, present a minor growth with a final body weight significantly lower ( $p < 0.05$ ) than control. Dietary lipid composition was reflected in the fat acids composition of head kidney macrophages; however, a selective incorporation of ARA and EPA was observed. Mx expression in response by both stimuli (bacteria and Poli I: C) was homogeneous in all groups but the basal levels were higher in fishes fed with vegetable diets. This result may suggests a possible beneficial effect of vegetable lipids on fish Interferon system.*

### PRESENTACIÓN

La dorada es una especie de fundamental importancia en la acuicultura, su producción en los últimos años ha alcanzado las 80.000 TM. Pero el aceite de pescado, única fuente lipídica para el pienso de engorde de esta especie es cada vez más caro y difícil de conseguir. El futuro de este sector podrá continuar

entonces sólo si se desarrollan e introducen fuentes lipídicas alternativas como los aceites vegetales.

### INTRODUCCIÓN

El sector de la Acuicultura actualmente utiliza más del 60 % de la producción global de aceite de pescado y se calcula que en el 2010 consumirá alrededor del 100%, pero hoy en

**Los aceites vegetales parecen ser los candidatos ideales para sustituir parcialmente el aceite de pescado en la formulación de dietas para peces**

día las industrias que abastecen los requerimientos mundiales de aceite de pescado se encuentran estancadas, en declive y sobretodo dependientes de fenómenos naturales tipo "el Niño" (Sargent y Tacon 1999).

Por ello la futura expansión de este sector, en particular del cultivo de las especies más rentables como el salmón, podrá continuar sólo si desarrollan alternativas al aceite de pescado (Bell 2003).

La dorada (*Sparus aurata*) es objeto de este estudio por la importancia de su producción en la acuicultura marina. En Europa se producen más de 80.000 TM (datos FAO) de esta especie que constituye el 25% de la producción de peces en el Mediterráneo.

Los aceites vegetales parecen ser los candidatos ideales para sustituir parcialmente el aceite de pescado en la formulación de dietas para peces, pues los lípidos contenidos en las semillas de muchas plantas contienen una discreta cantidad de ácidos grasos insaturados. Por ejemplo, el aceite de lino contiene un 68,6% de ácidos grasos poliinsaturados, el aceite de oliva es rico (72,3%) en ácidos grasos monoinsaturados (White, 1992), mientras que los aceites de coco y palma contienen un 92 y 81,5% respectivamente de ácidos grasos saturados de cadena inferior a 15 átomos de carbono (Wood 1992).

El aceite de lino, a diferencia de los otros aceites vegetales ricos en ácidos grasos omega 6, contiene grandes cantidades (hasta un 58%) de ácido linolénico (omega 3). El aceite de Soja, al contrario, es más rico en ácido linoléico (hasta un 50%) y pobre en linolénico (8%).

El aceite de lino se presenta como el mejor candidato para sustituir parcialmente el aceite de pescado como fuente lipídica, ya que, entre todos los aceites vegetales, parece ser el que menos afecta al sistema inmune.

Algunos autores (Bell *et al.* 2001, Caballero *et al.* 2002) lo consideran como una buena fuente lipídica alternativa al pescado en dietas para salmónidos y peces de agua dulce.

En estudios anteriores (Montero *et al.* 2003) se demostró que niveles de inclusión de aceite de lino de un 60 y 80% en dietas de engorde para dorada no afectan parámetros inmunológicos como actividad lisozímica, actividad hemolítica de la vía alternativa del complemento, producción de radicales oxígeno y capacidad fagocítica. Queda por conocer cual es el nivel de sustitución más adecuado y hasta que punto se puede sustituir el aceite de pescado por aceite de lino sin provocar efectos indeseados sobre el sistema inmune.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Experimento 1

Los peces experimentales fueron suministrados por la empresa local Alevines y Doradas S.A. (ADSA, Gran Canaria, España) y fueron mantenidos en la nave de cultivo del Instituto Canario de Ciencias Marinas durante toda la duración del experimento 1.

Las doradas utilizadas, con peso medio inicial de 35,99 gr., fueron mantenidas en tanques de 1000 l y alimentadas con la dieta control durante un tiempo necesario a la aclimatación, sucesivamente se hizo una criba y se seleccionaron sólo aquellas con peso comprendido entre 35 y 50 gramos con el fin de evitar una posible dispersión de talla.

Los peces seleccionados fueron distribuidos de forma homogénea (50 peces por tanque en triplicado por cada dieta) en tanques de polietileno de 500 l con aireación continua, circuito de renovación de agua abierto y fotoperiodo natural. La alimentación fue hasta saciedad aparente (*ad libitum*) y las tomas diarias fueron en número de tres por seis días a la semana durante 6 meses.















lular permeabilidad y flexibilidad, esta última característica es de fundamental importancia para una correcta fagocitosis.

El sistema Interferón representa uno de los primeros y el más potente mecanismo de defensa frente una infección viral en vertebrados (Samuel, 1991), este tipo de respuesta empieza con la producción de interferón tipo I (IFN alfa y beta) una citoquina que a su vez induce la producción de proteínas, entre ellas las proteínas de resistencia a mixovirus (Mx), que inhiben la replicación viral.

La expresión del gen que codifica por las proteínas Mx ha sido detectada en músculo, hígado, riñón anterior, bazo, cerebro, corazón y agallas de dorada aunque la expresión más elevada se observa en el hígado, cerebro, bazo y agallas. Una expresión de tipo constitutivo ha sido detectada también en peces sanos de distintas especies como doradas (Tafalla *et al.* 2004), salmón atlántico (Jensen *et al.* 2002) y la platija japonesa (Lee *et al.* 2000).

Esto podría ser explicado con una producción basal de interferón (descrito en humanos) que estimularía la expresión génica de otras proteínas entre ellas las Mx.

En nuestro trabajo hemos encontrado una expresión basal de gen Mx en doradas sanas alimentadas con las dietas vegetales; sin embargo, los peces alimentados con la dieta control no presentaron expresión de Mx al día 0.

La hipótesis más probable es la que las dietas vegetales estimularían en cierta forma el sistema interferón y por consecuencia la expresión de las proteínas Mx.

Tras la inoculación del inmunostimulante Poly I:C todas las dietas presentaron un up-regulation a las 24 horas concordando con lo descrito por Tafalla *et al.* (2004). La mezcla de

aceites presentó los niveles basales más altos pero al día 7 la expresión de gen Mx fue inferior a los niveles iniciales.

En el caso de la respuesta bajo estímulo bacteria los patrones también fueron parecidos en todas las dietas, en este caso el incremento de expresión Mx fue más lento y el pico de producción se alcanzó al día 5 post-inoculación.

No obstante todas las dietas respondieron bien, el control fue el que mejor cinética tuvo, alcanzando valores de pico similares a las otras dietas pero empezando por valores iniciales iguales a cero y permaneciendo en valores superiores a los basales hasta el día 7. Otra dieta que respondió muy bien fue la 100% soja probablemente debido al efecto estimulante del ácido linoleico (Hara *et al.* 2003), esta dieta presentó un claro pico al día 5 y luego un descenso al día 7 pero manteniéndose siempre por encima de los valores basales.

La dieta 100% Lino también dio buena respuesta pero se agotó más rápido y no expresó Mx al día 7 presentando por lo tanto niveles inferiores a los basales, esto se podría explicar con el hecho de que las cantidades de linoleico en estas dietas no son tan elevadas como en el caso de la 100% soja y resultan insuficientes para mantener una estimulación duradera. Este resultado también concordó con lo descrito por Wallace *et al.* (2003) en humanos, es decir, que dietas enriquecidas con aceite de lino rico en ácido alfa-linolénico (ALNA) no afectan la producción de Interferón por parte de las células mononucleadas.

La mezcla 50:50 presentó un pico de expresión de Mx más precoz (al día 3), pero también fue la dieta con valores basales más elevados ( $r=0,4$ ), puede que en la caso de la mezcla lino/soja los macrófagos, cuya capacidad fagocítica no resultó afectada por la dieta, hayan respondido de







ce mechanism assay in fish. Phagocytic index, adherence and phagocytic ability of neutrophils (NBT test) And myeloperoxidase activity test. En: Fish disease diagnostic and diagnostic and preventions methods. FAO project GPC /INT /526 /JPN: 95-103.

Tafalla C, Aranguren R, Secombes CJ, Figueras A, Novoa B. Cloning and analysis of expression of a gilthead sea bream (*Sparus aurata*) Mx cDNA. Fish Shellfish Immunol 2004; 16: 11-24.

Trobridge G.D. and Leong J.C. (1995). Characterisation of a rainbow trout Mx gene. *Journal of Interferon and Cytokine Research* 15: 691-702.

Trobridge G.D., Chiou P.P. and Leong J.C. (1997). Cloning of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Mx2 and Mx3 cDNAs and characterization of trout Mx protein expression in salmon cells. *Journal of Virology* 71: 5304-5311.

Waagbo R., Hemre J. & Lie O. (1995). Tissue fatty acid composition, haematology and immunity in adult cod, *Gadus morhua* L., fed three dietary lipid sources. *Journal of Fish Disease* 13:615-622

Wallace Fiona A., Elizabeth A. Miles and Philip C. Calder Comparison of the effects of linseed oil and different doses of fish oil on mononuclear cell function in healthy human subjects. *British Journal of Nutrition* (2003), 89, 679-689.

White R.P. (1992). Fatty acids in oilseeds (vegetable oils) En: *Fatty acids in food and their health implications*, (C.K. Chow ed.) Marcel Dekker Inc., New York pp. 237-262.

Wood R. (1992). Biological effects of palm oil in humans. En: *Fatty acids in food and their health implications*, (C.K. Chow ed.) Marcel Dekker Inc., New York pp. 647-661.

Yano T. (1996). The nonspecific immune system: Humoral defence. En: *the Fish Immune System: Organism, Pathogen and Environment* (G. Iwama, & T. Nakanishi, eds) pp. 105-157. San Diego: Academic Press.

Yap, W.H., tay, A., Brenner, S. and Venkatesh, B. (2003). Molecular cloning of the pufferfish (*Takifugu rubripes* L.) Mx gene and functional characterisation of its promoter *Immunogenetics* 54 (10): 705-713.

## BIOGRAFÍA

### VALENTINA GRASSO

Licencia en Medicina Veterinaria en el año 2003 por la Universidad de Messina (Italia), obtuvo la calificación *cum laude* presentando una tesis experimental sobre el control sanitario de los mariscos. En el año 2004 trabajó en el CNR (Nacional Research Council), en Italia, donde llevó a cabo distintos proyectos de investigación en Acuicultura. En 2006 consigue el título de Especialista Universitario y Máster en Acuicultura otorgado por la ULPGC (Universidad de Las Palmas de Gran Canaria), el CIHEAM (Centro Internacional de Altos Estudios Agronómicos del Mediterráneo) y el ICCM Instituto Canario de Ciencias Marinas. Además de su experiencia profesional, ha realizado diversos estudios sobre el sistema inmune de la dorada de cultivo, los cuales han sido publicados en revistas científicas de alto impacto y ha participado en simposios internacionales. En la actualidad está cursando el segundo año de doctorado en Sanidad Animal y desarrollando una tesis sobre vacunas para dorada de acuicultura bajo la supervisión del Dr. D. Félix Acosta.

valegra2002@yahoo.it

Patrocinador de esta investigación:

**MEDIFONSA Y VIDRIERAS CANARIAS**