

NUTRICIÓN DE REPRODUCTORES Y LARVAS DE PECES. EFECTOS PRÁCTICOS DE LA MODIFICACIÓN DIETÉTICA DE ALGUNOS INGREDIENTES Y NUTRIENTES ESENCIALES. CONSECUENCIAS SOBRE LA CALIDAD DE PUESTA, SUPERVIVENCIA Y DESARROLLO LARVARIO.

M. IZQUIERDO LÓPEZ Y H. FERNÁNDEZ-PALACIOS BARBER

Grupo de Investigación en Acuicultura, ICCM y UPLGC, Apdo. 56, Telde, 35200 Las Palmas

RESUMEN: La producción Europea de peces de cultivos se ha incrementado considerablemente durante los últimos 10 años, llegando a rebasar actualmente las 800.000 toneladas métricas según datos de la FAO. Este incremento ha producido un incesante aumento en la demanda de alevines para el engorde en los tres principales grupos de especies cultivadas: salmónidos, ciprínidos y peces marinos, lo cual ha llevado a intensificar aún más la producción en los criaderos. En los últimos años este aumento en la producción de alevines también ha ido acompañado de mejoras en la tecnología de producción, incluyendo algunas relacionadas con aspectos nutricionales, tales como mejoras en los métodos de enriquecimiento y dietas de destete. Sin embargo, la oferta comercial de piensos específicos para reproductores y larvas de peces marinos es muy escasa, las tasas de supervivencia larvaria, particularmente en el caso de las especies marinas, son todavía bajas y la calidad y resistencia de los alevines producidos puede aún verse beneficiada por la mejora en la calidad nutritiva de piensos y alimento vivo. Durante los últimos diez o doce años se ha evaluado la calidad nutritiva de distintos ingredientes en dietas para reproductores, destacando particularmente el efecto beneficioso de las harinas de diversas especies de moluscos y crustáceos. Sin embargo, los estudios relativos a la importancia de los distintos nutrientes para la reproducción de los peces se han limitado exclusivamente a algunos pocos tales como: ácidos grasos esenciales, proteínas, vitamina C, vitamina E, fosfolípidos ó carotenoides. Pocos de estos estudios se refieren a peces marinos.

Aunque la cantidad de referencias que aparecen en la bibliografía relacionadas con la nutrición larvaria es mucho mayor que la dedicada a los reproductores, la mayoría de los estudios han sido enfocados a estudiar los efectos de los n-3 HUFA, por la importancia de estos ácidos grasos en el desarrollo larvario. Mas recientemente, han aparecido algunos trabajos que enfatizan la necesidad de mantener durante todo el desarrollo larvario niveles dietéticos adecuados de otros nutrientes tales como fosfolípidos, vitaminas y aminoácidos. Sin embargo, el papel que desempeñen otros nutrientes, tales como carotenoides ó minerales, y sus niveles adecuados en las presas vivas y las dietas para larvas no ha sido aún determinado.

Palabras clave: Nutrición, reproductores, alimentación, larvas, peces marinos, calidad de puesta.

SUMMARY: Total aquaculture finfish production in Europe has increased rapidly up to more than 800.000 metric tonnes during the past 10 years. As a consequence of this increment, the demand for good quality seed has been continuously arising and leading to a higher production intensification at the hatcheries. Increase in the production of juveniles has been possible with improvements in the larval rearing techniques, some of them related to nutritional aspects such as improvements in the enrichment methods and weaning diets. However, there is a shortage in the range of broodstock and larval diets availables in the market, larval survival rates, particularly for marine fish species, are still very low and the strength and quality of

juveniles is susceptible to be improved by the use of better nutritional quality of diets and live food.

During the last decade, the nutritional quality of several ingredients of broodstock diets have been evaluated, being particularly noticeable the beneficial effect of several molluscs and crustaceans meals. Nevertheless, studies related to the role of several nutrients in fish reproduction has been limited to few of them such as: protein, essential fatty acids, vitamin E, vitamin C, carotenoids, phosphorous and phosphoglycerides. Few of them deal with marine fish species.

A considerable amount of research has been devoted lately to study the nutritional requirements of marine fish larvae. Most of this research effort was initially related with the n-3 HUFA requirements of fish larvae, as early studies showed that one of the principal factors affecting the nutritional value of live preys for marine fish larvae was their EFA content. Only very few studies have been dedicated to the study of the dietary phosphoglyceride, fat-soluble vitamins or aminoacids requirements of marine fish larvae, and the nutritional role of other nutrients such as minerals or carotenoids is still mostly unknown.

Key Words: Nutrition, broodstock, feeding, larvae, marine fish, breeding quality

INGREDIENTES DE ALTA CALIDAD NUTRITIVA PARA REPRODUCTORES

Varios estudios han puesto de manifiesto el efecto beneficioso sobre la reproducción de la alimentación de los reproductores de espáridos con sepia (Watanabe *et al.*, 1984a y b; Mourente *et al.*, 1989), calamar o las harinas obtenidas de éstos cefalópodos (Zohar *et al.*, 1995), sugiriendo que presentan componentes nutritivos esenciales para obtener una alta calidad de puesta. Así, se observó un incremento en la producción de huevos y la viabilidad de los mismos (Watanabe *et al.*, 1984a and 1984b) cuando se alimentaron reproductores de dorada roja (*Pagrus major*) con una dieta a base de harina de sepia. Incluso la sustitución del 50% de la harina de pescado por harina de sepia (Watanabe *et al.*, 1984b) mejora la viabilidad de los huevos, aunque sin alterar la fertilidad de los mismos. Mourente y colaboradores (1989) relacionaron este efecto beneficioso con el elevado contenido en ácidos grasos esenciales de la sepia. Por otra parte, Watanabe *et al.* (1984a) sugirieron que el alto valor dietético de la sepia es debido principalmente a algún componente presente en la fracción hidrosoluble de la misma.

En 1994 Fernández-Palacios y colaboradores (1997) realizaron algunas experiencias encaminadas a discernir que componentes de la harina de calamar son responsables de la mejor calidad nutritiva de esta harina en comparación con la de pescado, una de las principales fuentes de proteína utilizadas para la alimentación de los reproductores de dorada. Para ello alimentaron reproductores de dorada (*Sparus aurata*) con cuatro tipos de dietas basadas en harina calamar, harina de pescado, harina de calamar desengrasada completada con aceite de pescado o harina de pescado completada con aceite de harina de calamar. Los resultados mostraron una mejora significativa en la calidad de las puestas cuando los reproductores eran alimentados con la fracción insoluble en solventes orgánicos de la harina de calamar, principalmente en términos de número total de huevos producidos por kg de hembra al día y porcentajes de huevos viables y fertilizados. La proteína de la harina de calamar, como componente principal de la fracción insoluble en solventes orgánicos parece ser responsable de esta mejora en la calidad de las puestas (Fernández-Palacios *et al.*, 1997). Puesto que los perfiles de aminoácidos fueron muy similares entre las distintas dietas, el valor superior de la proteína de calamar frente a la de pescado fue atribuido por dichos autores al

menos en parte a la mejor digestibilidad de la primera (Fernández-Palacios *et al.*, 1997). De hecho, el contenido proteico de los huevos obtenidos de los reproductores alimentados con proteína de calamar fue ligeramente superior al de los alimentados con harina de pescado, teniendo en cuenta además que los primeros produjeron además un 40% más de huevos/día/kg de hembra. El alto contenido en calcio de la harina de pescado no parece ser el responsable de la inferior calidad nutritiva de la harina de pescado comparada con las de cefalópodos en las dietas para reproductores, pues la adición de calcio a las dietas basadas en harina de sepia no afecta en absoluto la calidad de las puestas de otros espáridos.

Por otra parte, la sustitución de la proteína ó la grasa dietética proveniente de la harina de calamar por proteína ó grasa obtenida de la soja en las dietas para dorada origina una reducción significativa en los porcentajes de eclosión y de supervivencia al tercer día de vida de las larvas (Zohar *et al.*, 1995). Pero este detrimento en la calidad de las puestas puede ser ocasionado no solo por la reducción en la cantidad de harina de calamar, sino que bien podría deberse a un efecto perjudicial de la harina de soja. Aunque varios autores (Robaina *et al.*, 1995) han señalado el interés de la harina de soja como fuente de proteínas para el engorde de la dorada y este ingrediente es de hecho utilizado de forma generalizada en los piensos comerciales, la posible presencia de factores antinutritivos puede limitar su inclusión en altos niveles. Mas aún, un desequilibrio en la relación de ácidos grasos poliinsaturados n-3/n-6 junto con la reducción en la disponibilidad del fósforo en las dietas para reproductores basadas en harina de soja podría directamente reducir la calidad de las puestas, pues ambos tipos de nutrientes son esenciales para la reproducción de los espáridos (Watanabe *et al.*, 1984a; Watanabe and Kiron, 1995).

Otro ingrediente muy interesante en las dietas para reproductores lo constituye el krill crudo, que también parece tener un claro efecto promotor de la calidad de puestas de espáridos en comparación con la harina de pescado. Así por ejemplo, la inclusión de krill en este tipo de dietas duplica los porcentajes de huevos flotantes, eclosionados y larvas normales en la dorada roja (Watanabe and Kiron, 1995). En el caso de este ingrediente, parece ser la fracción lipídica la principal responsable del efecto positivo del krill sobre la calidad de las puestas. A pesar de la importancia de este ingrediente como promotor de la calidad de puestas de espáridos en el Pacífico, prácticamente no hay referencias en la bibliografía acerca de su valor nutricional para reproductores de especies europeas.

NIVELES DIETÉTICOS DE ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES

Uno de los factores nutricionales que afectan de una manera importante la calidad de puesta es el contenido de ácidos grasos esenciales de la dieta (Watanabe *et al.*, 1984a,b). En el caso de la dorada (Mourente and Odriozola 1990), cuando los reproductores eran alimentados con sepia picada ó una dieta comercial mas sepia picada se encontró una estrecha relación entre el contenido de lípidos su composición de ácidos grasos del alimento y de los huevos. Así mismo, la composición de las gónadas femeninas son modificadas por la composición dietética de ácidos grasos y puede afectar la calidad de las puestas en un corto período de tiempo (Zohar *et al.*, 1995).

En efecto, la calidad de las puestas de dorada mejora significativamente cuando los niveles dietéticos de n-3 HUFA (ácidos grasos poliinsaturados de la familia del linoleico con 20 o mas carbonos, esenciales para peces marinos) se incrementan hasta un 1.6 % (Fernández-Palacios *et al.*, 1995) obteniéndose efectos similares en otros espáridos (Watanabe *et al.*, 1984a y b). Estos valores son superiores a los determinados para salmónidos (sobre 1.0% n-3

HUFA), pero similares a los obtenidos para otros espáridos por Watanabe y colaboradores. Sin embargo, niveles elevados de n-3 HUFA pueden producir una reducción en el número total de huevos/día/kg de hembra y ocasionan una hipertrofia del saco vitelino en un gran número de larvas, dando lugar a reducciones importantes en la supervivencia larvaria (Fernández-Palacios *et al.*, 1995). Este efecto podría estar relacionado con una insuficiencia en los niveles dietéticos de vitamina E o antioxidantes como se discutirá mas adelante.

El hecho de la composición de los huevos y la calidad de las puestas de la dorada puede ser modificada por las dietas de los reproductores en tan solo tres semanas de alimentación (Fernández-Palacios *et al.*, 1997), sugiere que los ácidos grasos de origen dietético son rápidamente incorporados en las gónadas de la dorada y que la calidad de las puestas puede ser potenciada mediante la mejora en la calidad nutritiva de las dietas incluso durante la época de puesta. Así, en peces con puestas continuas y períodos vitelogenéticos cortos como los espáridos la calidad de las puestas puede ser modificada mediante la alteración de la composición lipídica de las dietas justo antes (Watanabe *et al.*, 1985) o incluso durante las puestas (Izquierdo y Fernández-Palacios, 1997). Por el contrario en especies con puestas puntuales tales como salmónidos y hasta 6 meses de vitelogénesis es necesario alimentar los reproductores con dietas con una alta calidad nutritiva durante varios meses antes de que suceda la puesta (Watanabe *et al.*, 1984c; Corraze *et al.*, 1993). Así, aunque la composición lipídica del músculo y los ovarios en desarrollo del salmon coho reflejen los perfiles dietéticos de ácidos grasos solamente tras dos meses de alimentación (Hardy *et al.*, 1989), en el caso de los espáridos la composición lipídica de estos tejidos en la dorada alcanzan un equilibrio con los lípidos dietéticos incluso después de 15 días de alimentación (Izquierdo y Fernández-Palacios, 1997).

Los niveles dietéticos de los ácidos grasos eicosapentaenoico (EPA) y araquidónico (AA) están directamente correlacionados con los porcentajes de fertilización en la dorada (Fernández-Palacios *et al.*, 1995; Fernández-Palacios *et al.*, 1997). Tanto el EPA como el AA son precursores de prostaglandinas de las series III y II respectivamente, ambas muy importantes en los peces. Algunas prostaglandinas producidas por la hembra del dorado (*Carassius auratus*), tales como las PGFs desempeñan un papel importante como feromonas, estimulando el comportamiento sexual en el macho y sincronizando las puestas de machos y hembras, y por lo tanto afectando los porcentajes de fertilización (Sorensen *et al.*, 1988). La distribución de AA y EPA en el esperma también puede ser modificada por la composición de ácidos grasos de la dieta como ha sido demostrado en trucha arcoiris (*Onchorhynchus mykiss*) (Labbe *et al.*, 1993) y puede también afectar la actividad de los espermatozoides y las tasas de fertilización.

El porcentaje de huevos morfológicamente normales incrementa con la elevación de los niveles de n-3 HUFA en las dietas y la incorporación de estos ácidos grasos en los huevos (Fernández-Palacios *et al.*, 1995), señalando la importancia de estos ácidos grasos esenciales para el desarrollo normal de los embriones de dorada. Estos ácidos grasos juegan un papel estructural importante como constituyentes de los fosfolípidos de las biomembranas, estando relacionados con la fluidez de la membrana y el correcto funcionamiento de la misma. Así mismo en algunas especies como el halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), los n-3 PUFA (ácidos grasos poliinsaturados con 18 ó mas carbonos) son también muy importantes como principal fuente de energía durante el desarrollo embrionario.

Los huevos de los espáridos alimentados con dietas deficientes en n-3 HUFA también suelen presentar un número anormal de gotas de grasa (Watanabe *et al.*, 1984a; Fernández-Palacios *et al.*, 1997).

Como se mencionó previamente, la composición de ácidos grasos de los huevos también se ve afectada por el contenido de n-3 HUFA de las dietas de reproductores; los contenidos de ácidos grasos de la serie n-3 y, en particular los de n-3 HUFA, en los huevos de dorada incrementan con la elevación de los niveles de n-3 HUFA dietético, debido principalmente al acrecentamiento del contenido de 18:3n-3, 18:4n-3 y EPA en los huevos (Fernández-Palacios *et al.*, 1995).

Ha sido sugerido por varios autores (Craik, 1985; Zohar *et al.*, 1995) que la composición bioquímica de los huevos de peces esta relacionada con la calidad de los mismos puesto que la composición del huevo debe satisfacer los requerimientos nutritivos del embrión para su adecuado desarrollo y crecimiento. Sin embargo, los resultados de Fernández-Palacios *et al.* (1995) sugieren que el porcentaje de n-3 HUFA de los huevos no se debe usar como un criterio exclusivo para evaluar la calidad del huevo de los reproductores de dorada, puesto que tanto los niveles bajos de n-3 HUFA como los altos están asociados a una baja calidad del huevo en función del número del total de huevos producido y la tasa de supervivencia larvaria.

IMPORTANCIA DEL ALFA-TOCOFEROL EN LAS DIETAS PARA REPRODUCTORES

Como sucede en otros vertebrados, la administración de vitamina E en las dietas es importante para la reproducción de los peces. La deficiencia de vitamina E impide la correcta maduración de las gónadas en carpa (*Cyprinus carpio*) y ayu (*Plecoglossus altivelis*) y reduce los porcentajes de eclosión y la supervivencia de los alevines. En la dorada roja la elevación de los niveles dietéticos de alfa-tocoferol hasta 2000 mg/kg de dieta mejora los porcentajes de huevos flotantes, eclosión y larvas normales (Watanabe *et al.*, 1991).

En el caso de la dorada, la reducción de los niveles dietéticos de alfa-tocoferol por debajo de 125mg/kg dieta produce una reducción en el contenido de EPA de los huevos (Fernández-Palacios *et al.*, 1996). Respecto al contenido de alfa-tocoferol en los huevos la elevación de los niveles dietéticos hasta 190 mg/kg no incrementó la deposición de esta vitamina. Sólo cuando los niveles dietéticos de vitamina E se elevaron hasta 2010 mg/kg dieta el contenido de vitamina E en el huevo se elevó, llegando a doblar los niveles presentes en los huevos de los demás tratamientos. La deficiencia en vitamina E produjo una reducción progresiva en la calidad del huevo a partir de la cuarta semana de alimentación con una dieta deficiente. Por ello, los peces alimentados con dietas no suplementadas con vitamina E dieron lugar a una reducción importante en el número de huevos viables.

Como consecuencia de la reducción progresiva en la calidad de puesta, los huevos de reproductores alimentados con el nivel más bajo de vitamina E presentaron el porcentaje más bajo de huevos viables. Se produjo una mejoría en este parámetro con la elevación de la vitamina E dietética hasta 125 mg/kg cuando el nivel dietético n-3 HUFA se mantuvo alrededor de 1.6%. La deficiencia en vitamina E también originó los porcentajes de fertilización más bajos lo que podría estar relacionado con la reducción en la motilidad y el número de espermatozoides como se ha observado en otros vertebrados. Con respecto a supervivencia larvaria se obtuvieron resultados similares que parecen estar relacionados un mejor mantenimiento de los componentes de la membrana celular y una permeabilidad de la misma más adecuada.

Por otra parte estos mismos autores observaron que cuando los niveles de n-3 HUFA se incrementan hasta 2.2 %, el incremento en la suplementación de vitamina E hasta 190 mg/kg evita la aparición de sacos vitelinos hipertróficos.

EFEECTO DE OTROS NUTRIENTES

Además del efecto beneficioso de los ácidos grasos esenciales y la vitamina E, se ha estudiado también la importancia de otros nutrientes en la reproducción de los peces. Por ejemplo, los experimentos de Watanabe y colaboradores (Watanabe *et al.*, 1991) sobre la mejora de la calidad de puesta de dorada roja promovida por el krill crudo señalan que tanto las fracciones polares como las apolares de sus lípidos son componentes nutritivos importantes para la reproducción. Estos autores, atribuyeron este efecto positivo a la presencia de fosfatidilcolina y astaxantina presentes en las fracciones polar y apolar, respectivamente.

Durante más de 50 años ha habido mucha controversia acerca de la relación entre el contenido en carotenoides y la calidad del huevo en salmonidos. Mientras que algunos autores sugieren que hay una clara relación entre pigmentación del huevo y la fertilización o supervivencia de la trucha arco iris (Craik, 1985) otros autores no han podido demostrar dicha relación (Torrissen y Christiansen, 1995). La suplementación con astaxantina de dietas para reproductores de dorada roja mejora los porcentajes de huevos flotantes y eclosionados, así como el porcentaje de larvas normales (Watanabe y Kiron, 1995). Sin embargo, la inclusión dietética de beta-caroteno no parece tener ningún efecto en estos parámetros. Miki *et al.*, 1984 demostraron la incorporación de cantaxantina o astaxantina dietética en huevos de dorada roja y la ausencia de tal incorporación para el beta-caroteno dietético. Estos resultados pueden estar relacionados con una absorción intestinal más baja del beta-caroteno en comparación la cantaxantina o la astaxantina. Los carotenoides constituyen uno de los tipos de pigmento más importantes en los peces, con una gran variedad de funciones y acciones tales como fotoprotección, provitamina A, antioxidación, etc.

También los fosfoacilglicéridos presentes en la dieta mejoran calidad de huevos en los espáridos (Watanabe *et al.*, 1991) pudiendo estar efectos relacionados con su capacidad antioxidante y estabilizadora de radicales libres.

Otros nutrientes dietéticos que afectan la reproducción de los peces marinos incluyen los niveles de proteína dietética y la vitamina C. Por ejemplo, una dieta de baja energía y alto nivel de proteínas causa una reducción en la calidad de las puestas de la dorada roja (Watanabe *et al.*, 1984c), mientras que la reducción de proteína dietética de 51 a 34% junto con el incremento de los hidratos de carbono dietéticos de 10 a 32% reduce la viabilidad del huevo de lubina (*Dicentrarchus labrax*) (Cerdá *et al.*, 1994). El ácido ascórbico juega un importante papel en la reproducción de salmónidos (Blom y Dabrowski, 1995). Los requerimientos dietéticos de esta vitamina en los reproductores de trucha arco iris parecen ser aproximadamente ocho veces más altos que los de los juveniles de esa misma especie (Blom y Dabrowski, 1995), mientras que los requerimientos de ácido ascórbico en los reproductores de bacalao parecen ser mucho menores (Mangor-Jensen *et al.*, 1993).

REQUERIMIENTOS DE ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES EN LA ALIMENTACIÓN LARVARIA

A pesar de que existen algunas evidencias del efecto de la correcta nutrición de los reproductores sobre el posterior éxito de la cría larvaria, prácticamente no se encuentra en la bibliografía ningún estudio que ponga de manifiesto claramente la influencia de la alimentación de los progenitores sobre la supervivencia y el crecimiento larvarios.

Por otra parte, un extenso número de estudios han demostrado que tanto rotíferos como *Artemia* y microdietas deficientes en n-3 HUFA producen una reducción en la deposición de n-3 HUFA en los lípidos totales y polares de las larvas, pero aumentan el contenido de ácido oleico en los lípidos polares (PL) produciendo así un incremento en la relación 18:1n-9/n-3 HUFA en los PL, ampliamente utilizada como un indicador de la deficiencia de ácidos grasos esenciales en los peces marinos (Izquierdo, 1996aa). Estas alteraciones en la composición corporal parecen ser a su vez causantes de una reducción significativa en el crecimiento, la supervivencia y la resistencia de las larvas de peces marinos de diversas especies (Izquierdo, 1996).

Además se han descrito diversas alteraciones en el comportamiento y la morfología de las larvas deficientes en ácidos grasos esenciales. Así por ejemplo, varios autores (Izquierdo *et al.*, 1989a,b; Rodríguez *et al.*, 1994) han descrito una reducción en la actividad trófica y en la natación de varias especies de espáridos. Otros autores (Koven *et al.*, 1990) achacan una incorrecta inflación de la vejiga natatoria con la deficiencia de n-3 HUFA en las larvas. A pesar de que se ha observado la deposición preferencial de ácido eicosapentaenoico en éste órgano, la reducción en la actividad natatoria de las larvas deficientes en n-3 HUFA podría entorpecer el desplazamiento de la larva hasta la superficie del agua para permitir la inflación inicial de la vejiga natatoria en las larvas fisóstomas (Watanabe y Kiron, 1995). También se han registrado disgregaciones en el epitelio branquial (Arnaiz *et al.*, 1993) y hidropesía (Watanabe *et al.*, 1989) aunque este último síntoma podría estar asociado a una deficiencia conjunta de vitamina E. El pseudoalbinismo, o hipomelanosis de la cara ocular de los peces planos en ocasiones puede ser originada por una deficiencia en ácidos grasos esenciales durante la formación de la retina en las larvas (Kanazawa, 1993). Esta alteración en la pigmentación también podría ser debida a insuficiencias dietéticas en vitamina A o fosfolípidos, o estar relacionada con otros factores.

Numerosos estudios se han encaminado a determinar los niveles óptimos de n-3 HUFA en las presas vivas y las microdietas para larvas de peces marinos (Izquierdo, 1996ab). Los requerimientos cuantitativos determinados para las distintas especies varían entre 0.3 y 39 g/kg en peso seco. El más bajo fue descrito para platija (*Pleuronectes platessa*) alimentada con *Artemia* mientras que el más alto se encontró para larvas de seriola (*Seriola quinqueradiata*). Este hecho podría estar relacionado con una mayor capacidad en los primeros para elongar o desaturar ácidos grasos precursores relacionada con las diferentes características dietéticas de cada especie (Izquierdo, 1996a).

En general los requerimientos de ácidos grasos esenciales en las larvas son superiores a los de los alevines (Izquierdo *et al.*, 1989a,b), debido no solo a las tasas de crecimiento superiores y por tanto a la necesidad de hacer frente a una mayor demanda de n-3 HUFA para la construcción de membranas, sino también por la necesidad de construir tejidos particularmente ricos en estos ácidos grasos tales como el neural (Mourente, 1996).

Sin embargo, la combinación de diversos factores determina el nivel dietético óptimo de n-3 HUFA, tales como: las proporciones relativas de los distintos ácidos grasos esenciales, la forma molecular en la que se administran, las interacciones con otros nutrientes (vitamina E, fosfolípidos, antioxidantes,...) el tipo de alimento suministrado y la disponibilidad de los ácidos grasos, las condiciones de cultivo (presencia de fitoplancton en el medio, salinidad, densidad de alimento, etc.), entre otros.

Así, no solamente el contenido dietético total de n-3 HUFA es importante para el desarrollo larvario, sino también las proporciones relativas de EPA y DHA. Diversos autores han demostrado que el DHA dietético es más eficaz que el EPA como factor promotor del crecimiento y la resistencia de las larvas (Watanabe *et al.*, 1989; Takeuchi *et al.*, 1990). Pero ambos ácidos grasos y, probablemente, también el AA son esenciales para la supervivencia y el crecimiento larvarios (Izquierdo, 1996a).

IMPORTANCIA DE OTROS NUTRIENTES

El estudio de la evolución del contenido en alfa-tocoferol en las larvas durante el desarrollo larvario de la dorada demuestra una reducción paulatina del mismo de 141.95 hasta 64.37 mg/kg en el día 15 de vida larvaria, durante la alimentación con rotíferos enriquecidos con fitoplancton y enriquecedores comerciales, seguida por una recuperación de los niveles iniciales tras la alimentación con *Artemia* de San Francisco (González, 1997). La suplementación de alfa-tocoferol en microdietas para dorada mejoró el crecimiento larvario, pero el incremento de los niveles dietéticos de alfa-tocoferol por encima de 260 mg/kg produjo una reducción significativa en el crecimiento y la supervivencia larvarias (González *et al.*, 1995). Este hecho sugiere el peligro de una hipervitaminosis E en las larvas posiblemente asociada a una insuficiencia en vitamina C.

En cuanto a la evolución del contenido en retinol total durante el desarrollo larvario de la dorada, se observa un incremento continuado hasta el día 20 seguido por una marcada reducción relacionada con la ausencia de retinol en el nauplio de la *Artemia* de San Francisco (González, 1997).

Otra vitamina importante para el desarrollo larvario y a la cual no se le ha prestado suficiente atención es el ácido ascórbico. Larvas de carpa (*Cyprinus carpio*) deficientes en ácido ascórbico presentaron malformaciones esqueléticas y daños en las branquias (Dabrowsky *et al.*, 1988) y sugieren una pobre eficacia de transferencia de vitamina C de las presas vivas a las larvas (Dabrowski, 1992).

Las larvas de varias especies de telósteos parecen necesitar la adición de fosfoglicéridos en sus dietas (Kanazawa, 1993). La adición de fosfoglicéridos en las microdietas mejora la supervivencia el crecimiento larvarios en varias especies (Kanazawa, 1993; Radúnz-Neto *et al.*, 1994). Así mismo la incidencia de deformidades esqueléticas se ve reducida por la adición de fosfolípidos (Geurden *et al.*, 1995). Este requerimiento en fosfoglicéridos puede ser debido en parte a la limitación en la síntesis de este tipo de compuestos a partir de precursores ordinarios. Por otra parte, además de ser una fuente de colina, inositol y ácidos grasos polinsaturados, el efecto beneficioso de la adición de fosfoglicéridos a las dietas puede estar relacionada con su acción emulsificante y antioxidante. También podrían ser necesarios para la formación de ensamblajes lipoproteicos tales como membranas y lipoproteínas circulantes.

A pesar de que los estudios en nutrición larvaria se han intensificado durante los últimos 15 años, éstos se han centrado básicamente en algunos nutrientes liposolubles, por lo que es necesario estudiar los requerimientos de otros muchos nutrientes importantes para el desarrollo larvario tales como los requerimientos cuantitativos de aminoácidos (López-Alvarado, 1995), vitamina B6, minerales y carotenoides, así como las interrelaciones entre los distintos nutrientes.