
REQUERIMIENTOS DE ACIDOS GRASOS EN LARVAS DE PECES: EFECTO DE FACTORES AMBIENTALES

P. Dantagnan, y M. Izquierdo

1. Importancia de los lípidos y ácidos grasos en el cultivo larvario de peces

El estudio de las demandas nutricionales en los primeros estadios de las larvas de peces, es difícil de abordar, puesto que son organismos tremendamente delicados y sus requerimientos dependen de múltiples factores tales como edad, presencia y actividad de enzimas digestivas, factores ambientales, especie en cuestión, interacción con otros nutrientes, entre otros (Watanabe, 1982; Izquierdo, 1996a, Izquierdo *et al.*, 2000). Los requerimientos nutricionales han sido enfocados hasta ahora, de acuerdo a los aportes energéticos de proteínas, carbohidratos, lípidos y recientemente de vitaminas y minerales. Sin embargo, en el momento de determinar los requerimientos nutricionales, los lípidos han sido los componentes más ampliamente estudiados en los organismos acuáticos, puesto que ellos representan la principal fuente de energía para las larvas recién eclosionadas (Watanabe y Kiron, 1994). Se conoce además, que los lípidos, fuera de cumplir importantes funciones energéticas, son componentes estructurales de las membranas celulares, principalmente en las fracciones polares (fosfolípidos), además de ser transportadores de ciertos nutrientes, como las vitaminas liposolubles A, E, D y K (Bell *et al.*, 1986; Watanabe y Kiron, 1994). También se reconoce que los ácidos grasos, cumplen un papel fundamental para el desarrollo y crecimiento de las larvas. Así, numerosos autores indican que los ácidos grasos saturados y monoinsaturados en general, estarían cumpliendo funciones energéticas, (Vázquez *et al.*, 1994), mientras que los poliinsaturados estarían cumpliendo, principalmente roles estructurales en las membranas biológicas y como precursores de eicosanoides u otros componentes biológicamente activos, involucrados entre otras cosas, en la sensibilidad a ciertos estímulos de estrés en los organismos (Bell *et al.*, 1992; Sargent *et al.*, 1995). Dentro de los ácidos grasos se ha logrado establecer que los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) de la serie n-3 y n-6 (ácidos grasos altamente insaturados, HUFA) son cruciales en larvas de primera alimentación, pues se sabe que tanto la sobrevivencia como el crecimiento mejora notablemente cuando las dietas contienen estos ácidos grasos altamente insaturados (Sargent *et al.*, 1989; Izquierdo *et al.*, 1989a; Koven *et al.*, 1989; Dhert *et al.*, 1991; Rodríguez *et al.*, 1993; Curé *et al.*, 1995). Su deficiencia puede producir algunas alteraciones, no sólo en el crecimiento y la sobrevivencia, sino también en el comportamiento, la anatomía de la larva o ciertas alteraciones en los órganos internos (Koven *et al.*, 1990; Bisbal y Bengston, 1991; Arnaiz *et al.*, 1993). Si bien se sabe que el EPA y el DHA, son los ácidos grasos más abundantes en la mayoría de los huevos y larvas de peces, en general se reconoce que estos ácidos grasos tienen roles fisiológicos distintos, pero complementarios, el primero como importante constituyente de la membrana celular de varios órganos en desarrollo (Kanazawa *et al.*, 1982) así como precursor de prostaglandinas (Bell *et al.*, 1986; Sargent *et al.*, 1995), mientras que el segundo es preponderante en la vitalidad, el crecimiento y sobrevivencia larval (Watanabe y Kiron, 1994). En este mismo sentido, se sabe que el DHA está asociado a la constitución de tejidos neurales, como los que conforman el cerebro, y por lo tanto tiene un rol preponderante en el desarrollo de la visión (Mourente y Tocher, 1992; Navarro y Sargent, 1992) y los tejidos olfatorios (Bell *et al.*, 1986; Sargent *et al.*, 1993), lo que puede llegar a ser muy importante durante la localización y captura de la presas (Rodríguez *et al.*, 1998), así

como en los procesos de metamorfosis y desarrollo de la pigmentación (Kanazawa, 1993; Estévez *et al.*, 1999). (Tocher y Sargent, 1984) señalan además la importancia que tiene el DHA en la fluidez de las membranas branquiales como componente de algunas formas lipídicas como los glicerofosfolípidos, por lo que su importancia en los procesos osmorregulatorios puede llegar a ser vital, sobretodo, en peces anádromos o catádromos (Sampekalo *et al.*, 1992), así como en los procesos de adaptación a diferentes temperaturas ambientales (Bell *et al.*, 1996).

Recientemente se ha ido descubriendo que los ácidos grasos esenciales además de cumplir roles individuales, interactúan entre sí, siendo la efectividad de su función dependiente de la relación establecida entre ellos. Así, por ejemplo, uno de los primeros índices en ser estudiados fue el DHA/EPA o EPA/DHA, considerándose a esta relación crítica para la viabilidad larval y el éxito de la pigmentación en larvas de rodaballo (Reitan *et al.*, 1994), dorada (Rodríguez *et al.*, 1998), aunque posteriormente, Estevez *et al.*, (1999) propusieron que esta relación por sí sola no era suficiente para explicar las anomalías en la pigmentación de el Rodaballo (*Scophthalmus maximus*) si no se considera al ARA en una relación EPA/DHA/ARA. Otro ejemplo es citado por Sargent *et al.*, (1999a) quienes indican que si bien el ARA es el principal precursor de eicosanoides en los peces, el EPA puede ser capaz de inhibir la formación de eicosanoides desde el ARA, por lo tanto la formación de estos productos y la acción de ellos en el organismos está determinado por la relación ARA/EPA. En este sentido, Sargent *et al.*, (1999b), en una revisión amplia acerca de la nutrición de ácidos grasos han propuesto que el estudio de los requerimientos dietarios óptimos de ácidos grasos, poliinsaturados, más que determinar cantidades relativas en forma individual, deben considerar una proporción equilibrada de los tres principales ácidos grasos de cadena larga más importantes, DHA/EPA/ARA, siendo esta relación la que realmente juega un rol en el mantenimiento de la integridad estructural y funcional de las membranas celulares de los diferentes tejidos en formación. En la práctica esto es difícil de abordar, por el hecho que muchos peces de agua dulce son capaces de producir DHA y EPA desde el ácido linolénico (18:3n-3) y ARA desde el ácido linoleico (18:2n-6), por lo que habría que establecer una nueva correlación, entre la razón 18:3n-3/18:2n-6 y la razón DHA/EPA/ARA, lo que es aún más complejo.

2. Requerimientos nutricionales en larvas de peces

Los requerimientos de ácidos grasos, difieren tanto en tipo como en cantidad entre especies, y más aún entre especies de agua dulce y marinas. Además, suelen ser diferentes entre larvas y juveniles de una misma especie, siendo normalmente el requerimiento de las larvas el doble que el de los juveniles (Izquierdo, 1996a). Todos los estudios al respecto indican que los ácidos grasos esenciales más importantes y requeridos en los peces, para un normal crecimiento y sobrevivencia son los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) y dentro de ellos principalmente los de la serie n-3 y n-6 (Izquierdo *et al.*, 1989; Izquierdo *et al.*, 1992; Rodríguez *et al.*, 1993; Mourente *et al.*, 1993; Salhi *et al.*, 1994), reportándose que las mortalidades y ciertos signos de deficiencia en la natación están relacionadas precisamente a bajos niveles de n-3 HUFA (Koven *et al.*, 1992). Los requerimientos de n-3 HUFA en larvas de peces marinos pueden ser variables, tanto entre especies diferentes, como dentro de la misma especie, y los estudios han reportado entre un 0,03% para *Pleuronectes plateassa* (Dickey - Collas y Geffen, 1992) y cerca del 4% en *Seriola quinqueradiata* (Watanabe, 1993), y en la mayoría de los casos pueden ser mantenidos principalmente con ácidos grasos de cadena larga como son el EPA (20:5n-3), el DHA (22:6n-3) y el ácido ARA (20:4n-6). Varios estudios han indicado sin embargo, que es probable que no sólo el contenido total de n-3HUFA o de DHA o EPA o ARA, en forma individual sea importante, sino que un adecuado balance de la relación EPA/DHA sea necesario para obtener un óptimo creci-

miento (Izquierdo, 1996 a y b, Rodríguez *et al.*, 1998), mas aún, recientemente se ha establecido que una relación entre estos tres ácidos grasos debe ser atendida, puesto que es esta relación la que puede determinar ciertos aspectos fisiológicos y morfológicos importante en larvas de (Estévez *et al.*, 1999; Sargent *et al.*, 1999b).

En peces de agua dulce, también los ácidos grasos poliinsaturados tienen claros efectos sobre el crecimiento y sobrevivencia, aunque en este caso, tanto los ácidos grasos de la serie n-3 como los de la serie n-6 PUFA pueden tener importancia, donde el 18:3n-3 y el 18:2n-6 suelen satisfacer las necesidades (Sargent *et al.*, 1995). Takeuchi (1997), en una amplia revisión acerca de los requerimientos en peces de agua dulce, indica que los requerimientos de n-3 HUFA, suelen ir acompañados de requerimientos de 18:3n-3 o 18:2n-6. Así, la trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) requiere un 0,5% de n-3 HUFA, en compañía de un 1% de 18:3n-3, la carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*) requiere 0,5% de n-3 HUFA y 1% de 18:2n-6 y el catfish (*Ictalurus punctatus*) 1-2% de 18:3n-3 y 0,5-0,75% de n-3 HUFA, principalmente aquellos derivados del ácido linolénico (18:3n-3) y linoleico (18:2n-6) (Satoh *et al.*, 1989). Por otra parte, también se ha demostrado que en la trucha arcoiris no hay diferencias en eficiencia de utilización entre EPA y DHA, aunque el crecimiento se ve aumentado por la combinación de ambos ácidos grasos (Watanabe, 1982). En general, los requerimientos de ácidos grasos insaturados en peces de agua dulce suelen ser más bajos, oscilando entre 1-2% (Sargent *et al.*, 1995) o incluso menos. Experimentos en larvas de carpa (*Cyprinus carpio*), han mostrado, que a diferencia de los peces marinos, éstas pueden sobrevivir y crecer bien con dietas que poseen niveles de n-3 HUFA, tan bajos como 0,05-0,1% (Guerden *et al.*, 1995). En todo caso, tanto en peces de agua dulce como marinos, un máximo crecimiento sin síntomas de una gran deficiencia, puede ser obtenido sólo con ácidos grasos n-3 HUFA, pero no únicamente con n-6 HUFA. Así, el salmón rey (*Oncorhynchus keta*), mantenido en agua dulce, si bien requiere 0,5% n-3HUFA más la adición de 1% de 18:2n-6 o 18:3n-3 para mejorar el crecimiento, la sobrevivencia se ve claramente reducida sólo con la adición de 0,5% 18:3n-3 (Takeuchi *et al.*, 1979). Según esto, los ácidos grasos de la serie n-6 suelen ser más determinantes en la sobrevivencia y el crecimiento en los peces de agua dulce que en peces marinos, aunque siempre acompañados de los ácidos grasos de la serie n-3, por lo que la relación n-3/n-6 HUFA también suele ser menor (Cowey y Sargent, 1972) y por lo cual, los ácidos grasos derivados del ácido linoleico (18:2n-6), como es ARA (20:4n-6), también cobran mayor relevancia en los peces de agua dulce que en los peces marinos.

Por otra parte, puesto que los peces marinos son incapaces de sintetizar ácidos grasos de cadena larga altamente insaturados, como los de la serie n-3 y n-6 por ejemplo, convertir el ácido linolénico (18:3n-3) a ácidos grasos altamente insaturados (HUFA), como es el DHA y EPA, tienen la necesidad de incorporar en las dietas estos últimos para un normal crecimiento y desarrollo (Sargent *et al.*, 1989; Stottrup, 1993). Sin embargo, los peces de agua dulce como la trucha, sí poseen la habilidad de convertir el ácido linolénico en DHA y EPA y ácido linoleico (18:2n-6) en ARA (20:4n-6). Por ello, la adición directa de EPA y/o DHA en la dieta de peces marinos mejora el crecimiento larval, pero no si se le adiciona el precursor (Watanabe, 1982). En los peces de agua dulce sin embargo, la adición de 18:3n-3 y 18:2n-6 sí mejora el crecimiento y disminuye los síntomas patológicos producto de las deficiencias, aunque varias evidencias indican también que la adición de ácidos grasos altamente insaturados (HUFA) como el 20:5n-3 y 22:6n-3, también son efectivos en mejorar el crecimiento. Por otra parte, la razón n-3/n-6 PUFA tiende a ser más baja en peces de agua dulce que en peces marinos. En este sentido, en los peces de agua dulce los requerimientos de ácidos grasos de la serie n-6 PUFA llegan a ser más importantes que los de la serie n-3, aunque se debe enfatizar que usualmente la presencia de n-3 PUFA en las dietas es más determinante que la sola presencia de n-6 PUFA (Cowey y Sargent, 1972; Sargent *et al.*, 1989).

En la actualidad, la forma más común de establecer dietas para primera alimentación que permitan cubrir las necesidades lipídicas de las larvas es obteniendo información mediante el estudio del patrón bioquímico de huevos y larvas recién eclosionadas (Fyhn, 1989; Tandler *et al.*, 1989; Planas *et al.*, 1993; Vázquez *et al.*, 1994). Otra práctica común y ligada a la anterior, es analizar la evolución (conservación y pérdida) de los lípidos y ácidos grasos corporales en larvas desde la eclosión hasta la desaparición del saco vitelínico (Rodríguez, 1994). Ambas prácticas consideran que los huevos de peces contienen todos los nutrientes esenciales para el desarrollo del embrión y el crecimiento de la larva hasta la absorción del saco, por lo que su estudio podría dar luces acerca de los requerimientos nutricionales en las larvas de primera alimentación, suponiendo que el sistema nutricional endógeno podría ser también el mismo para la alimentación exógena (Ostrowski y Divakaran, 1990). Si bien el crecimiento larval durante la etapa de nutrición endógena está influenciado por una serie de parámetros abióticos (Watanabe y Kiron, 1994), algunos autores han sugerido que las reservas nutritivas del saco vitelínico aportan los requerimientos necesarios para pasar esta etapa crítica del desarrollo y que el patrón de nutrientes usado por los embriones y larvas recién eclosionadas pueden indicar las necesidades nutricionales de las larvas durante su primera alimentación (Vázquez *et al.*, 1994). Los principales ácidos grasos en los lípidos de huevos en peces marinos tales como el fletán (*Hippoglossus hippoglossus*) (Falk-Petersen *et al.*, 1989), (*Scophthalmus maximus*) (Rainuzzo *et al.*, 1993), dorada japonesa (*Pagrus major*) (Izquierdo *et al.*, 1989a) y dorada (*Sparus aurata*) (Mourente y Odriozola, 1990) son el DHA, el ácido palmítico, EPA y el ácido oléico. Se debe indicar que la importancia relativa de cada ácido graso puede diferir entre las especies estudiadas y entre diferentes puestas de huevos de la misma especie. Estas diferencias pueden estar relacionadas principalmente con la dieta de los reproductores (Watanabe *et al.*, 1984; Watanabe, 1985, Fernández Palacios *et al.*, 1995). En algunas especies marinas, tales como el fletán, los n-3HUFA son marcadamente catabolizados después de la fertilización y durante el inicio del desarrollo embrionario, constituyendo la mayor fuente energética durante este período (Falk-Petersen *et al.*, 1989). Sin embargo, durante la última etapa de la embriogénesis en muchas otras especies tales como el rodaballo (Planas *et al.*, 1993) y la dorada (Mourente y Odriozola, 1990), estos ácidos grasos son conservados durante el desarrollo larval. Otro método utilizado por algunos autores para obtener información sobre los requerimientos de ácidos grasos en larvas de peces, es analizando los patrones de conservación y pérdida de ácidos grasos. Algunos ácidos grasos poliinsaturados tales como el DHA, el ácido araquidónico y en algunas especies el EPA son conservados a expensas de otros ácidos grasos, durante la inanición en peces como el rodaballo (Rainuzzo *et al.*, 1994), dorada japonesa (Tandler *et al.*, 1989) y la dorada (Koven *et al.*, 1989; Rodríguez, 1994). Esta estrategia bioquímica permite la preservación de componentes esenciales de las membranas biológicas durante los períodos críticos. En todos los casos estudiados el DHA es el ácido graso preferentemente conservado, sugiriendo la importancia de este ácido para las larvas de peces marinos (Izquierdo, 1996).

3. Efecto de factores ambientales en la composición de lípidos y ácidos grasos

En general, se reconoce que además de las condiciones alimenticias, los factores ambientales, tales como temperatura (Farkas *et al.*, 1980; Henderson, 1996, Olsen *et al.*, 1999), salinidad (Borlongan y Benitez, 1992; Tocher *et al.*, 1994), tipo de alimento disponible y la luz (Ota y Yamada, 1971), ejercen un efecto sobre la composición de los lípidos y ácidos grasos en los organismos acuáticos, más aún, cambios estacionales o geográficos pueden llegar a ejercer un efecto significativo (Olsen y Skjervold, 1995; Jobling *et al.*, 1998; Zenebe *et al.*, 1998), de forma que la composición bioquímica puede variar incluso de un año a otro dentro de una misma especie.

Estos cambios afectan principalmente los procesos metabólicos (Sheridan, 1989), los que repercuten en acumulaciones que pueden ser diferentes en los distintos órganos de los organismos acuáticos (Farkas *et al.*, 1980; Sheridan, 1989; Borlongan y Benítez, 1992).

En los peces, así como en otros organismos poiquilotermos, el grado de insaturación de los ácidos grasos es muy importante en los procesos de adaptación a las diferentes temperaturas ambientales. Así, es conocido que mientras más insaturado es un ácido graso, el punto de fusión también es más bajo, por lo cual la presencia de PUFA en las membranas de los organismos acuáticos, en ambientes de bajas temperaturas cobra mayor relevancia (Bell *et al.*, 1986). En este sentido, varios estudios han demostrado que las disminuciones de temperatura producen un marcado incremento en la insaturación de los ácidos grasos, principalmente en las fracciones neutras o polares de los lípidos (Kayama *et al.*, 1986; Greene y Selivonchick, 1987). Varios trabajos, han establecido que uno de los principales cambios a nivel de composición de ácidos grasos es un incremento en el DHA a bajas temperaturas (Thomson *et al.*, 1977; Farkas, 1984, Kayama *et al.*, 1986), principalmente en la fracción de fosfolípidos. Olsen y Skjervold (1995), encontraron que disminuciones en la temperatura del agua de mar, aparentemente explicaron el incremento significativo en DHA en salmones cultivados con la misma dieta, pero en distintas latitudes. Esto se explica por el hecho de que el DHA, es un constituyente esencial de las membranas biológicas, que cumple un rol fundamental en la fluidez de éstas (Bell *et al.*, 1986), y que cualquier cambio externo de temperatura, provocará cambios en las conductas metabólicas, principalmente un incremento de la actividad de las enzimas desaturasas a bajas temperaturas (Kayama *et al.*, 1986; Greene y Selivonchick, 1987), lo que de una u otra forma repercutirá en cambios de las estructuras bioquímicas de las células, esto puede entonces considerarse como una adaptación de la fluidez de las membranas de acuerdo a la temperatura, lo que puede significar en los peces un factor decisivo de sobrevivencia (Farkas *et al.*, 1980). Hall *et al.*, (2002) han establecido por su parte una estrecha relación entre el EPA y la fluidez de las membranas en el molusco bivalvo *Placopecten magellanicus* como respuesta a las bajas temperaturas.

Otro factor mencionado en la literatura, que ejerce claros efectos en la composición de lípidos y ácidos grasos en los organismos acuáticos, es la salinidad, la cual es particularmente importante en los peces migratorios, puesto que sucesivos cambios en la salinidad durante su movimiento entre el agua dulce y el agua salada, provocan cambios significativos en el metabolismo, lo que evidentemente, repercute en su composición bioquímica (Sheridan, 1989), esto como respuestas al proceso de osmorregulación que significa el cambio de ambiente. En todo caso, hay algunas evidencias que indican que estos cambios pueden incluso ocurrir antes que los peces cambien de ambiente, como una respuesta "preadaptativa", aunque los aspectos fisiológicos y los mecanismos bioquímicos que esto involucra son complejos y poco claros (Tocher *et al.*, 1994). Se sabe sin embargo, que la salinidad afecta principalmente los niveles de PUFA en los peces, encontrándose que la relación n-3/n-6 PUFA es distinta entre peces de agua dulce y peces marinos, más aún, existen claras diferencias, no sólo en la composición, sino también en el metabolismo, como ha sido señalado anteriormente (Ver sección requerimientos de ácidos grasos en peces). Incrementos en los PUFA, especialmente en los n-3 PUFA, en respuesta a incrementos en la salinidad, han sido señalados en experimentos de adaptación al agua de mar en algunos peces, principalmente DHA, aunque también de ARA (Daikoku *et al.*, 1982; Borlongan y Benítez, 1992). Estos resultados sugieren que el incremento de estos ácidos grasos, los n-3 PUFA y principalmente el DHA, juegan un rol preponderante en la osmorregulación (Sampekalo *et al.*, 1992; Tocher *et al.*, 1995).

4. Efecto de parámetros ambientales en los requerimientos de ácidos grasos

Aunque existen muchos factores ambientales que pueden incidir, tanto en la acumulación como en el metabolismo de los lípidos y ácidos grasos, sin embargo, existen pocas evidencias concretas que lo demuestren. En este sentido, es esperable que el efecto en los cambios ambientales provoquen también cambios en los requerimientos nutricionales específicos, especialmente de lípidos y ácidos grasos, que permitan a los peces adaptarse fisiológicamente a las diferentes condiciones ambientales.

Aunque son ampliamente conocidas las diferencias que existen en requerimientos nutricionales entre peces de agua dulce y peces marinos, no existen antecedentes de cómo, dentro de una misma especie, factores como la temperatura y la salinidad pueden afectar los requerimientos, lo que podría llegar a ser un elemento clave en las decisiones futuras, tanto para la elaboración de dietas como para la elección del cuerpo de agua donde podrían ser cultivadas las larvas de peces. Esta línea de investigación está poco desarrollada en la actualidad, debido a la innumerable variable involucrada y la complejidad en abordarlas.

BIBLIOGRAFÍA

- Arnaiz, R., Coa, A., Linares, F., Corcobado-oñate, F., Rua, N. y Amoedo, F. (1993) Una hipótesis nutricional de la mortalidad asociada al período crítico. Órganos y desarrollo larvario del rodaballo (*Scophthalmus maximus*) y la dorada (*Sparus aurata*). Necesidades de DHA. Actas IV Congreso Nacional de Acuicultura 73-78 pp.
- Bell, M.V., Henderson, R.J., Sargent, J. (1986) The role of polyunsaturated fatty acids in fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 83, 711 – 719.
- Bell, J.G., Sargent, J., Raynard, R.S. (1992) Effects of increasing dietary linoleic acid on phospholipid and eicosanoid production in leucocytes and gill cells of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Prost. Leuk. Essent. Fatty acids* 45, 197 – 206.
- Bell, M., McEvoy, L.A., Navarro, J.C. (1996) Deficit of didocosahexaenoyl phospholipid in eyes of larval sea bass fed an essential fatty acid deficient diet. *J. Fish Biol.* 49, 941 – 952.
- Bisbal, G.A., Bengston, D.A. (1991) Effect of dietary (n-3) HUFA enrichment on survival and growth of summer flounder *Paralichthys dentatus*, larvae. In: Lavens, P., Sorgeloos, P., Jaspers E., Ollevier F. (Eds.), *Larvi" 91Fish and crustacean Larviculture Symposium*. Europ. Aqua. Soc. Special Publ., 15, 56 – 57.
- Borlongan, I.G., Benitez, L.V. (1992) Lipid and fatty acid composition of milkfish (*Chanos chanos* Forksskal) grown in freshwater and seawater. *Aquaculture*, 104, 79 – 89.
- Cowey, C.B., Sargent, J.R. (1972) Fish nutrition. In : Russell, F.S., Yonge, M. (Eds.), *Advances in marine Biology* Academic Press, London.10, 383 – 492.
- Cure, K., Gajardo, G., Coutteau, P., Sorgeloos, P. (1995) Manipulation of DHA/EPA ratio in live feed: preliminary results on the effects on survival, growth, pigmentation and fatty acid composition of turbot larvae *Scophthalmus maximus*. In: Lavens, P., Sorgeloos, P., Jaspers E., Ollevier F. (Eds.), *Larvi" 95 Fish and Shellfish Larviculture Symposium* Europ. Aqua Soc., Special Publ. 24, 171 – 174.
- Daikoku, T., Yano, I., Masui, M. (1982) Lipid and fatty acid composition and their changes in the different organs and tissue of guppy, *Poecilia reticulata* on sea water adaption. *Comp. Biochem. Physiol.* 73, 167 – 174.
- Dhert, P., Lim, L.C., Lavens, P., Chao, T.M., Chou, R., Sorgeloos, P. (1991) Effects of dietary EFAs on egg quality and larviculture succes of the greasy grouper *Epinephelus tauvina* F. Preliminary results. In: Lavens, P., Sorgeloos, P., Jaspers E., Ollevier F. (Eds.), *Larvi" 91Fish & crustacean Larviculture Symposium*. Europ. Aqua. Soc. Special Publ. 15, 58 – 62.
- Dickey-Collas, M., Geffen, A.J. (1992) Importance of the fatty acids 20:5n-3 and 22:6n-3 in the diet of plaice (*Pleuronectes platessa*) larvae. *Mar. Biol.* 113, 463 – 468.
- Estévez, A., McEvoy, L.A., Bell, J.G., Sargent, J.R. (1999) Growth, survival, lipid composition and pigmentation of turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae fed –prey enriched in arachidonic and eicosapentaenoic acids. *Aquaculture* 180, 321 – 343.
- Falk-Petersen, S., Sargent, J.R., Fox, C., Falk-Petersen, I.B., Haug, T., Kjorsvik, E. (1989) Lipids in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) eggs from planktonic samples in Northern Norway. *Mar. Biol.* 101, 553 – 556.

- Farkas, T., Csegeri, I., Majoros, F., Olah, J. (1980) Metabolism of fatty acids in fish III. Combined effect of environmental temperature and diet on formation and deposition of fatty acids in the carp, *Cyprinus carpio* Linnaeus 1758. *Aquaculture* 20, 29 – 40.
- Farkas, T. (1984) Adaptation of fatty acid composition to temperature – a study on carp (*Cyprinus carpio* L.) liver slices. *Comp. Biochem. Physiol.*, 79, 531 – 535.
- Fernandez-Palacios, H., Izquierdo, M.S., Robaina, L., Valencia, A., Salhi, M., Vergara, J. (1995) Effect of n-3HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*, 132, 325 – 337.
- Fyhn, H.J. (1989) First feeding of marine fish larvae: Are a free amino acids the source of energy. *Aquaculture* 80, 111 – 120.
- Greene, D., Selivonchick, D. (1987) Lipid metabolism in fish. *Prog. Lipid Res.* 26, 53 – 85.
- Guerden, I., Radünz-Neto, J., Bergot, P. (1995) Essentiality of dietary phospholipids for carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae. *Aquaculture* 131, 303 – 314.
- Hall, J.M., Parrish, C., Thompson, R. (2002) Eicosapentaenoic acid regulates scallop (*Placopecten magallanicus*) membrane fluidity in response to cold. *Biol. Bull.* 3, 201 – 203.
- Henderson, R.J. (1996) Fatty acid Metabolism in freshwater fish with particular reference to polyunsaturated fatty acids. *Arch. Anim. Nutr.* 49, 5 – 22.
- Izquierdo, M.S., Watanabe, T., Takeuchi, T., Arakawa, T., Kitajima, C. (1989b) Optimal levels in *Artemia* to meet the EFA requirements of red seabream (*Pagrus major*). In: Takeda, M., Watanabe, T. (Eds.), *The current status of fish nutrition in Aquaculture*. Japan Translation Center, Ltd., Tokyo, Japan, 221 – 232.
- Izquierdo, M.S., Watanabe, T., Takeuchi, T., Arakawa, T., Kitajima, C. (1989a) Requirement of larval red seabream *Pagrus major* for essential fatty acids. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55, 859 – 867.
- Izquierdo, M.S., Arakawa, T., Takeuchi, T., Haroun, R., Watanabe, T. (1992) Effect of n-3HUFA levels in *Artemia* on growth of larval Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture* 105, 73 – 82.
- Izquierdo, M.S., Socorro, J., Arantzamendi, L., Hernandez-Cruz, C. (2000) Recent advances in lipid nutrition in fish larvae. *Fish Physiol. Biochem.* 22, 97 – 107.
- Izquierdo, M.S. (1996) Fatty acid requirement of cultured marine fish larvae. *Aquaculture nutrition* 2, 183 – 191.
- Izquierdo, M.S. (1996a) Essential fatty acid requirement of cultured marine fish larvae. En Gajardo G., Coutteau, P. (Eds.), *Improvement of the commercial production of marine aquaculture species. Proceeding of a Workshop on fish and mollusc larviculture, Santiago Chile*, pp. 31 – 44.
- Izquierdo, M.S. (1996b) Essential fatty acid requirements of cultured marine fish larvae. *Aquacult. Nutr.* 2, 183 – 191.
- Jobling M., Johansen, S.J., Foshaug, H., Burkow, I.C, Jorgensen, E.H. (1998) Lipid dynamics in anadromous Arctic char, *Salvelinus alpinus* (L.): seasonal variations in lipid storage depots and lipid class composition. *Fish Physiol. Biochem.* 18, 225 – 239.
- Kanazawa, A., Teshima, S., Inamori, S., Sumida, E., Iwashita, T. (1982) Rearing of larval red seabream an ayu with artificial diets. *Mem.Fac.Fish. Kagoshima Univ.* 32, 109 – 114.

- Kanazawa, A. (1993) Importance of dietary docosahexaenoic acid on growth and survival of fish larvae. Finfish hatchery in Asia. Proceedings of Finfish hatchery in Asia '91., Tungking Marine Laboratory, Tfri, Keelung (Taiwan). Tml conference proceedings. Tungking (TML CONF. PROC.) 3, 87 – 95.
- Kayama, M., Hirata, M., Hisai, T. (1986) Effect of water temperature on the desaturation of fatty acids in carp. Bull. Jap. Soc. Fish. 52, 853 – 857.
- Koven, W.M., Kissil, G.W., Tandler, A. (1989) Lipid and n-3 requirement of *Sparus aurata* larvae during starvation and feeding. Aquaculture, 79, 185 – 191.
- Koven, W.M., Tandler, A., Kissil, G.W., Sklan, D., Friezlander, O., Harel, M. (1990) The effect of dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids on growth, survival and swim bladder development in *Sparus aurata* larvae. Aquaculture 91, 131 – 141.
- Koven, W.M., Tandler, A., Kissil, G.W., Sklan, D. (1992) The importance of n-3 highly unsaturated fatty acids for growth in larval *Sparus aurata* and their effect on survival, lipid composition and size distribution. Aquaculture 104, 91 – 104.
- Mourente, G., Rodriguez A., Tocher, D., Sargent, J. (1993) Effects of dietary docosahexaenoic acid (DHA; 22:6n-3) on lipid and fatty acid compositions and growth in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) larvae during first feeding. Aquaculture 112, 79 – 98.
- Mourente, G., Odriozola, J.M. (1990) Effect of broodstock diets on total lipids and fatty acids composition of larvae of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) during yolk sac stage. Fish Physiol. Biochem. 8, 103 – 110.
- Mourente, G., Tocher, D.R. (1992) Effects of weaning onto a pelleted diet on docosahexaenoic acid (22:6n-3) levels in brain of developing turbot (*Scophthalmus maximus* L.). Aquaculture 105, 363 – 377.
- Navarro, J.C., Sargent, J. (1992) Behavioural differences in starving herring *Clupea harengus* L. larvae correlated with body levels of essential fatty acids. J. Fish Biol. 41, 509 – 513.
- Olsen, R.E., Lovaas, E., Lie, O. (1999) The influence of temperature, dietary polyunsaturated fatty acids, α -tocopherol and spermine on fatty acid composition and indices of oxidative stress in juvenile Arctic char, *Salvelinus alpinus* (L.). Fish Physiol. Biochem. 20, 13 – 29.
- Olsen, Y., Skjervold, H. (1995) Variation in content of ω 3 fatty acids in farmed Atlantic salmon, with special emphasis on effects of non dietary factors. Aquaculture International 3, 22 – 35.
- Ostrowsky, A.C., Divakaran, S. (1990) Survival and bioconversion of n-3 fatty acids during early development of dolphin (*Coryphaena hippurus*) larvae fed oil enriched rotifers. Aquaculture 89, 273 – 285.
- Ota, T., Yamada, M. (1971) Lipids of masu salmon *Oncorhynchus masou*. I. Variations of the lipid content and fatty acid composition of juvenile masu salmon during the period of smolt-transformation, and the influence of light upon those variations. Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ. 22, 151 – 158.
- Planas, M., Garrido, J.L., Labarta, U., Ferreiro, M.J., Fernandez-Reiriz, M.J., Munilla, R. (1993) Changes of fatty acid composition during development in turbot (*Scophthalmus maximus*) eggs and larvae. In: Walther B.T., Fyhn, H.J. (Eds.), Physiological and Biochemical aspects of fish development. Univ. of Bergen, Norway, pp. 323 – 329.
- Rainuzzo, J.R., Farestveit, R., Jorgensen, L. (1993) Fatty acid and aminoacid composition during

- embryonic and larval development in plaice (*Pleuronectes platessa*). In: Walther B.T., Fyhn, H.J. (Eds.), *Physiological and Biochemical aspects of fish development*. Univ. of Bergen, Norway, pp. 290 – 295.
- Rainuzzo, J.R., Reitan, K.I., Jørgensen, L., Olsen, Y. (1994) Lipid composition in turbot larvae fed live feed cultured by emulsions of different lipid classes. *Comp. Biochem. Physiol.* 107, 699 – 710.
- Reitan, K.T., Rainuzzo, J.R., Olsen, Y. (1994) Influence of lipid composition of live feed on growth, survival and pigmentation of Turbot larvae. *Aquaculture International* 2, 33 – 48.
- Rodríguez, C., Perez, J.A., Izquierdo, M.S., Mora, J., Lorenzo, A., Fernandez-Palacios, H. (1993). Essential fatty acid requirement of larval gilthead sea bream, *Sparus aurata* (L.). *Aquac. Fish. Manage.*, 24, 295 – 304.
- Rodríguez, C., Perez, J., Badía, P., Izquierdo, M.S., Fernández-Palacios, H., Hernandez, L., (1998) The n-3 highly unsaturated fatty acids requirements of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) larvae when using an appropriate DHA/EPA ratio in the diet. *Aquaculture* 169, 9 – 23.
- Rodríguez, C. (1994) Estudio de los requerimientos de ácidos grasos esenciales de la dorada europea durante las dos primeras semanas de alimentación. Tesis Doctoral, Universidad de La Laguna, España 284 pp.
- Salhi, M., Izquierdo, M.S., Hernandez-Cruz, C.M., Gonzalez, M., Fernandez-Palacios, H. (1994) Effect of lipid and n-3HUFA levels in microdiets on growth, survival and fatty acid composition of larval gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 124, 275 – 282.
- Sampekalo, J., Takeuchi, T., Watanabe, T. (1992) Comparison of gill lipids between freshwater fish. *J. Tokyo Univ. Fish.* 79, 71 – 76.
- Sargent, J., Bell, J.G., Bell, M.V., Henderson, R.J., Tocher, D.R. (1995) Requirement criteria for essential fatty acids. *J. Appl. Ichthyol.* 11, 183 – 198.
- Sargent, J.R., Bell, M.V., Tocher, D.R. (1993) Docosaehaenoic acid and the development of brain and retina in marine fish. In: Devron, C.A., Baksaas, I., Krokan, H.E. (Eds.), *Omega-3 fatty acids: Metabolism and biological Effects*. Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland, pp. 139 – 149.
- Sargent, J., Bell, G., McEvoy, L., Tocher, D., Estevez, A. (1999a) Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture* 177, 191 – 199.
- Sargent, J., McEvoy, L., Estevez, A., Bell, G., Bell, M., Henderson, J., Tocher, D. (1999b) Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. *Aquaculture* 179, 217 – 229.
- Sargent, J., Henderson, R.J., Tocher, D.R. (1989) The lipids. In: Halver J.E. (ed.), *Fish Nutrition* Academic press, San Diego, pp. 154 – 219.
- Satoh, S., Poe, W.R., Wilson R.P. (1989) Effect of dietary n-3 fatty acids on weight gain and liver polar lipid fatty acid composition of fingerling channel catfish. *J. Nutr.* 120, 23 – 28.
- Sheridan, M. (1989) Alterations in lipid metabolism accompanying smoltification and seawater adaption of salmonid fish. *Aquaculture* 82, 191 – 203.
- Stottrup, J.G. (1993) First feeding in Marine fish larvae: Nutritional and environmental aspects. In: Walther, B.T., Fyhn, H.J. (Eds.), *Physiological and Biochemical aspects of fish development*. Univ. of Bergen, Norway, pp. 123 – 131.

- Takeuchi, T. (1997) Essential fatty acid requirement of aquatic animals with emphasis of fish larvae and fingerling. *Reviews in Fisheries Science* 5, 1 – 25.
- Takeuchi, T., Watanabe, T., Nose, T. (1979) Requirement for essential fatty acids of chum salmon (*Onchorhynchus keta*) in freshwater environment. *Nippon Suisan Gakkaishi* 45, 1319 – 1323.
- Tandler, A. Watanabe, T., Satoh, S., Fukusho, K. (1989) The effect of food deprivation on the fatty acid and lipid profile of red seabream larvae (*Pagrus major*). *Br. J. Nutr.* 62, 349 – 361.
- Thomson, A., Sargent, J., Owen, J. (1977) Influence of acclimatization temperature and salinity on (Na⁺ + K⁺) dependent adenosine triphosphatase and fatty acid composition in the gills of the eel (*Anguilla anguilla*). *Comp. Biochem. Physiol.* 56B, 223 – 228.
- Tocher, D. R., Castell, J.D., Dick, J. R., Sargent, J. (1994) Effects of salinity on the growth and lipid composition of Atlantic salmon (*Salmo salar*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) cells in culture. *Fish Physiol. Biochem.* 13, 451 – 461.
- Tocher, D.R., Castell, J.D., Dick, J.R., Sargent, J. (1995) Effects of salinity on the fatty acid composition of total lipid and individual glycerophospholipid classes of Atlantic salmon (*Salmo salar*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) cells in culture. *Fish Physiol. Biochem.* 14, 125 – 137.
- Tocher, D.R., Sargent, J. R. (1984) Analysis of lipid and fatty acids in ripe roes of some Northwest European marine fish. *Lipids* 19, 492 – 499.
- Vázquez, R., Gonzales, S., Rodriguez, A., Mourente, G. (1994) Biochemical composition and fatty acid content of fertilized eggs, yolk sac stage larvae and first feeding larvae of the Senegal sole (*Solea senegalensis* Kaup). *Aquaculture* 119, 273 – 286.
- Watanabe, T., Arakawa, I., Kitajima, C., Fujita, S. (1984) Effect of nutritional quality broodstock diet on reproduction of red sea bream. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 50, 495 – 501.
- Watanabe, T., Kiron, V. (1994) Prospects in larval fish dietetics. *Aquaculture* 124, 223 – 251.
- Watanabe, T. (1982) Lipid nutrition in fish. *Comp. Biochem. Physiol* 73B, 1 – 16.
- Watanabe, T. (1985) Importance of the study of broodstock nutrition for further development of aquaculture. In: Cowey, C.B., Mackie A.M., Bell J.G. (Eds.), *Nutrition and feeding in fish..* Academic Press, London, pp. 395 – 414.
- Watanabe, T. (1993) Importance of dosahexanoic acid in marine larval fish. *J. World Aquacult. Soc.* 24, 152 – 161.
- Zenebe, T., Ahlgrent, G., Bomberg, M. (1998) Fatty acid content of some freshwater fish of commercial importance from tropical lakes in the Ethiopian Rift Valley. *J. Fish Biol.* 53 987 – 1005.