



universidad  
de león

TESIS DOCTORAL

**CRÍA DE JUVENILES DE TENCA (*Tinca tinca* L.):  
DIETAS COMPUESTAS Y ALTERNATIVAS PARA  
UNA ACUICULTURA SOSTENIBLE**

**María Teresa García van Gein**

Programa de doctorado: Ciencias Veterinarias y de los Alimentos

Tutor: **Jose Manuel Carral Llamazares**

Dirigida por: **María Sáez-Royuela Gonzalo y Jose M. Carral Llamazares**

León, mayo 2023

## AGRADECIMIENTOS

Me resulta muy emocionante escribir esta página. Desde que puse el primer pie en la Universidad de León, hasta hoy, ha pasado toda una vida. Retomar mis estudios en la madurez de mis cincuenta años ha sido todo un desafío y a la vez una gran satisfacción. Me he divertido mucho, he aprendido mucho, he madurado aún más si cabe, he logrado entender mejor la vida y estoy realmente feliz de haber dado este paso. Siempre digo que volver a estudiar fue la mejor idea de la pandemia del COVID 19, cuando en medio del encierro se me ocurrió preguntar a mi profesor del año 1998, Jose Carral, si era posible finalizar mis estudios de doctorado. Su respuesta fue en parte sorprendente, en parte muy oportuna y ventajosa para mí. Me dijo que era posible si yo contaba con la "Suficiencia Investigadora" (grado que ya no existe y que pasó a llamarse DEA hace algunos años y que tampoco se otorga actualmente, solo se homologa) y si Lidia Maraña, ex alumna de tercer ciclo de la U. de León, me cedía sus datos de los estudios que pasaron a formar parte de esta tesis. Me pareció una oportunidad única e irrepetible, al entender que la vida me estaba abriendo la puerta que tantos años atrás se me había cerrado. Desempolvé mi "Suficiencia Investigadora", que había recibido tras cursar y aprobar todos los créditos requeridos en el programa de doctorado veinte años atrás, me matriculé y aquí estoy, acabando por fin.

Vayan por lo tanto los primeros agradecimientos para Lidia. No la conozco personalmente, pero sé que es la persona a la que debo el comienzo de esta historia.

Tengo que agradecer a tantos que me han animado, alentado, apoyado, escuchado, entusiasmado. Parto por mi familia nuclear: agradezco a mi querido Gonzalo, mi marido por 27 años y contando, a mis tres hijas maravillosas, que son actualmente mis compañeras universitarias. Agradezco a mis padres, que siempre me han apoyado en todo; mi padre, lamentablemente falleció en abril de 2021, pero sé que sigue apoyándome. También agradezco a mis hermanos y sus familias. Gracias a mi familia extendida y amigos en Chile, a mi familia española y dentro de ellos especialmente los que pusieron a disposición su piso de Villaobispo, convenientemente ubicado a pasos del laboratorio del departamento de Producción Animal II de la U. de León. Mención especial para Irene que me dejó su cuarto. A mis amigos de León, que me hicieron compañía, a mis amigos repartidos por el mundo, que me siguen alentando y preguntando, ¿cuándo acabas? Pronto, pronto.....

Agradezco a los más importantes para lograr esta gran andanza: mis profesores; los Dres. María Sáez-Royuela Gonzalo y José Manuel Carral Llamazares, directores de esta Tesis, por ofrecerme sus valiosos conocimientos y experiencia profesional. Su tiempo, su interés, su atención, su amistad, los cafés conversados durante la pandemia afuera de la cafetería de la universidad, con el frío de León, que era de los pocos lugares públicos que se podían visitar. En fin, les agradezco en el alma haber confiado en mí para esta segunda etapa de estudiante que la vida me regaló. Les agradezco sus toneladas de paciencia conmigo y mis circunstancias.

A los miembros del Departamento de Producción Animal que de alguna manera han colaborado en el desarrollo de esta Tesis, y en particular a los técnicos de laboratorio Sergio Llamazares y Marta Barbado por su ayuda en el mantenimiento de las instalaciones. Al Dr. Vicente González Eguren, a la Dra. Marta Elena de la Varga, al Dr. Jesús Domingo Celada y todos los "compañeros de planta", que abrieron sus puertas, cuando el mundo entero se encerraba tras ellas por el temido COVID 19. Con mascarilla y todo, pasamos juntos el chaparrón.

A la piscifactoría Tencas de Babilonia (Cáceres) por su colaboración y abastecimiento de los animales necesarios para la realización de los diferentes estudios. A las empresas Skretting, Cargill y Camelina Company por proporcionar una parte importante de las materias primas necesarias para elaborar las dietas.

Reitero el agradecimiento a Gonzalo. Sabes perfectamente que jamás hubiese logrado esto sin ti.

**"Incluso la gente que afirma que no podemos hacer nada para cambiar nuestro destino,  
mira antes de cruzar la calle"**

(Stephen Hawking)

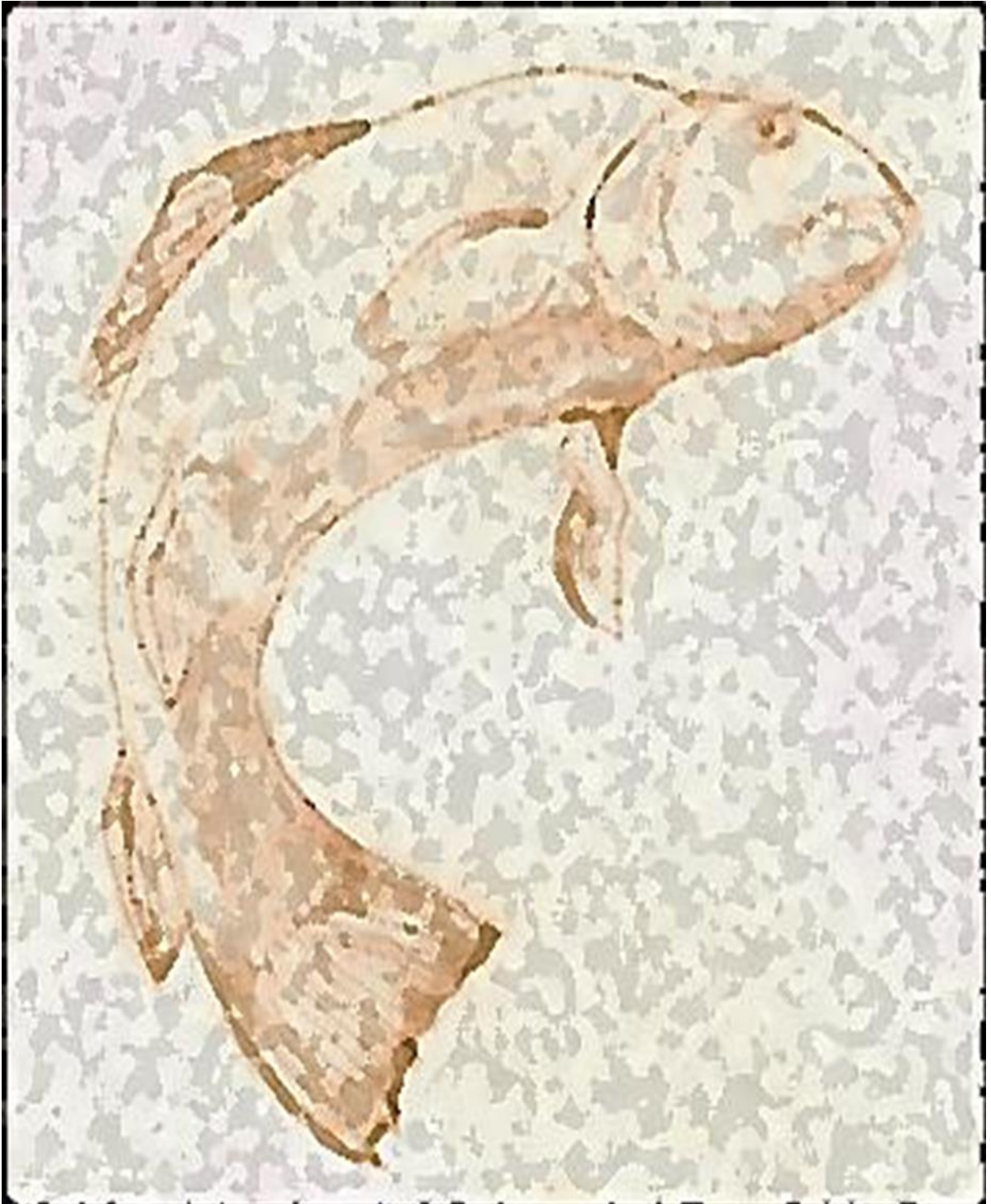
# ÍNDICE

1. Resumen/Abstract	1
2. Introducción y justificación temática de las publicaciones	3
3. Revisión bibliográfica	9
4. Objetivos	17
5. Animales, instalaciones y procedimiento básico de experimentación	18
6. Secuencia de experimentación	25
6.1. Estudio I: Supervivencia, crecimiento y composición corporal de juveniles de tenca ( <i>Tinca tinca</i> L.) alimentados con dietas con diferentes porcentajes de sustitución de harina de pescado por concentrado proteico de soja suplementado con metionina y arginina	25
6.2. Estudio II: Respuesta de juveniles de tenca ( <i>Tinca tinca</i> L.) alimentados con dietas con diferentes porcentajes de sustitución de harina de pescado por concentrado proteico de guisante suplementado con metionina	35
6.3. Estudio III: Sustitución de aceite de pescado por una mezcla de aceites vegetales en dietas para juveniles de tenca ( <i>Tinca tinca</i> Linnaeus, 1758): efectos sobre el crecimiento y la composición corporal	45
6.4. Estudio IV: Sustitución de aceite de pescado por aceite de camelina ( <i>Camelina sativa</i> L.) en dietas para juveniles de tenca ( <i>Tinca tinca</i> L.): efectos sobre el crecimiento y el perfil de ácidos grasos corporal	55
7. Discusión general	65
8. Conclusiones	69
9. Bibliografía	70

## ABREVIATURAS

<b>AAE</b>	Aminoácidos esenciales
<b>AAANE</b>	Aminoácidos no esenciales
<b>AC</b>	Aceite de Camelina
<b>ADH</b>	Ácido Docosahexaenoico
<b>AEP</b>	Ácido Eicosapentaenoico
<b>AGE</b>	Ácidos grasos esenciales
<b>AGMI</b>	Ácidos grasos monoinsaturados
<b>AGNE</b>	Ácidos grasos no esenciales
<b>AGPI CL n3</b>	Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga n3
<b>AGPI CL n6</b>	Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga n6
<b>AGPI</b>	Ácidos grasos poliinsaturados
<b>AGS</b>	Ácidos grasos saturados
<b>AL</b>	Ácido linoleico
<b>ALN</b>	Ácido linolénico
<b>AP</b>	Aceite de Pescado
<b>AV</b>	Aceites vegetales (mezcla de)
<b>CPG</b>	Concentrado proteico de guisante
<b>CPS</b>	Concentrado proteico de soja
<b>ESM</b>	Error estándar de la media
<b>FANs</b>	Factores antinutricionales
<b>GB</b>	Ganancia de biomasa
<b>HP</b>	Harina de pescado
<b>IC</b>	Índice de conversión del alimento
<b>ILT</b>	Incremento de longitud total
<b>K</b>	Factor de condición
<b>LT</b>	Longitud total
<b>P</b>	Peso
<b>TCE</b>	Tasa de crecimiento específico

1. RESUMEN /ABSTRACT



## 1. RESUMEN

Con el propósito de avanzar en la formulación y fabricación de una dieta específica y sostenible para juveniles de tenca, se evaluaron los efectos de la sustitución de la harina y del aceite de pescado por fuentes alternativas de proteína y lípidos sobre su supervivencia, crecimiento y composición corporal. Para ello, se realizaron cuatro experimentos de 90 días con juveniles de tenca de cuatro meses de edad.

Considerando resultados previos de nuestro equipo de investigación y la posible deficiencia de metionina y arginina como factor limitante para incrementar los niveles de inclusión en las dietas de concentrado proteico de soja y de guisante, se realizaron dos experimentos donde se evaluaron los efectos de la suplementación con ambos aminoácidos esenciales. En ambos casos, se comprobó que los juveniles presentaron una alta tolerancia a la inclusión, tanto de concentrado proteico de soja (hasta 383 g kg<sup>-1</sup> dieta) como de guisante (hasta 487 g kg<sup>-1</sup> dieta), sin que la supervivencia y el crecimiento se vieran afectados. La metionina fue el principal aminoácido limitante estimándose los requerimientos mínimos para juveniles de tenca en 10 g kg<sup>-1</sup> de dieta, haciendo innecesaria la suplementación de este aminoácido a partir de esta cantidad. Respecto a los efectos sobre la composición corporal, la inclusión de ambos concentrados proteicos determinó una reducción significativa del contenido lípidico en las dietas que se reflejó en la disminución del contenido graso corporal de los juveniles de tenca.

En los otros dos experimentos, se sustituyó el aceite de pescado por una mezcla de aceites vegetales o por aceite de camelina. En ambos casos, la sustitución total no afectó la supervivencia ni el crecimiento de los juveniles de tenca. En relación con la composición corporal, los peces alimentados con dietas que no contenían aceite de pescado mostraron una disminución significativa del contenido corporal de lípidos. No hubo diferencias significativas en el contenido total de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados entre los juveniles tenca alimentados con dietas donde se sustituyó parcial o totalmente el aceite de pescado por aceites vegetales. Los valores más elevados del índice nutricional ácidos grasos poliinsaturados / ácidos grasos saturados correspondientes al análisis corporal de los juveniles tenca se obtuvieron con las dietas que carecían de aceite de pescado, que se sustituyó por mezcla de aceites vegetales o aceite de camelina, 0.86 y 0.92, respectivamente.

Los resultados de esta Tesis Doctoral permiten disponer de una valiosa información para lograr dietas sin harina y aceite de pescado específicas para juveniles de tenca



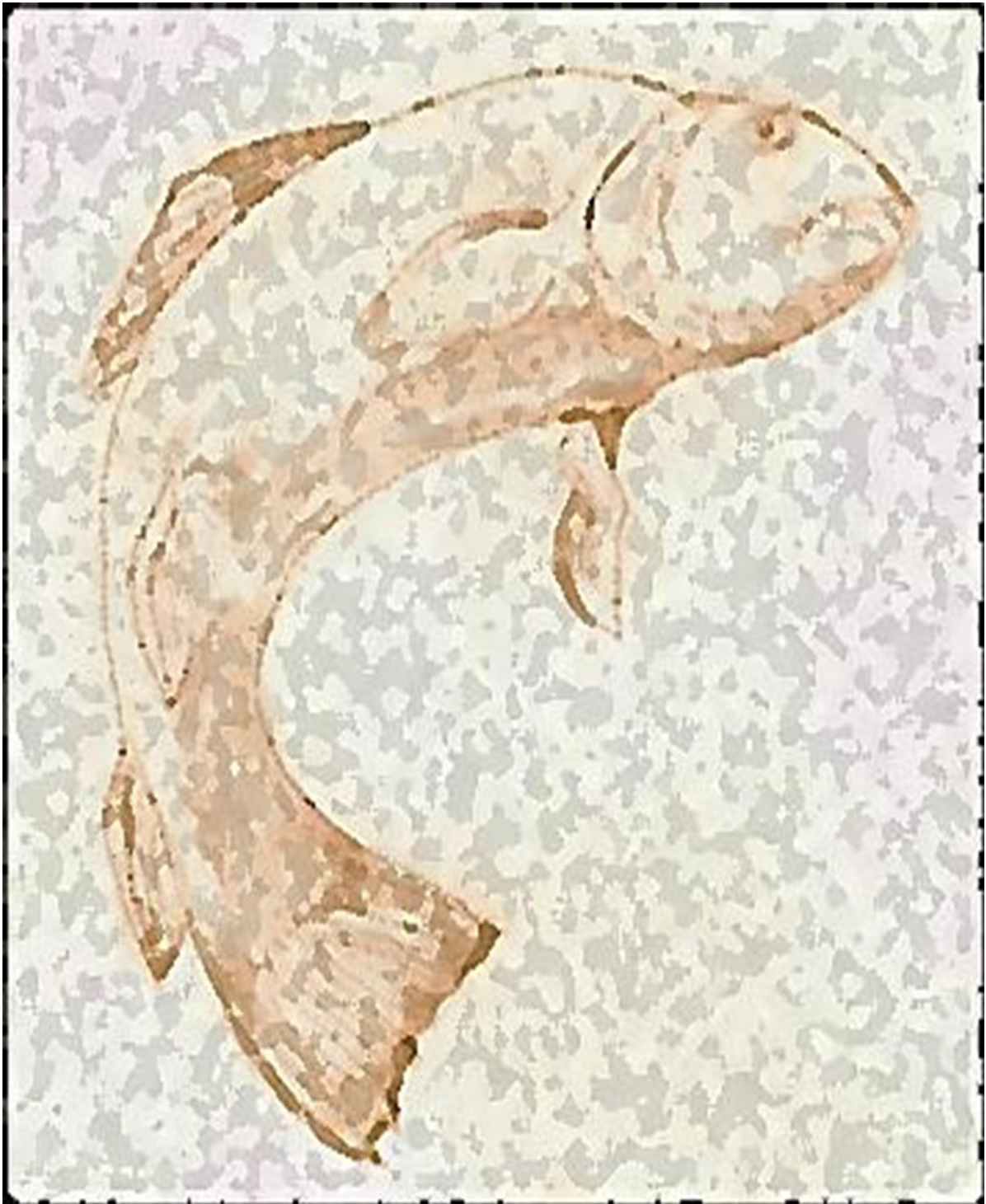
**ABSTRACT**

With the aim of advancing in the formulation and elaboration of a specific and sustainable diet for juvenile tench, the effects of fishmeal and fish oil replacement with alternative sources of protein and lipids on their survival, growth and body composition were evaluated. For this, four 90-day experiments were carried out with four-month-old tench juveniles. Considering previous results of our research team and considering a possible deficiency of methionine and arginine as a limiting factor to increase the inclusion levels of soybean and pea protein concentrate in the diets, two experiments were carried out where the effects of supplementation with both essential amino acids. In both cases, the tench juveniles had a high tolerance to the inclusion of both, soybean protein concentrate (up to 383 g kg<sup>-1</sup> diet) and pea (up to 487 g kg<sup>-1</sup> diet), without negative effects on survival and growth. Methionine was the main limiting amino acid and its minimum requirements for tench juveniles can be estimated at 10 g kg<sup>-1</sup> of diet, making supplementation of this amino acid unnecessary over that amount. Regarding the effects on body composition, the inclusion of both protein concentrates determined a significant reduction in lipid content in the diets, which was reflected in the decrease in body fat content of tench juveniles.

In the other two experiments, the fish oil was replaced by a mixture of vegetable oils or by camelina oil, verifying in both cases that the total substitution did not affect the survival or growth of tench juveniles. Regarding body composition, juveniles fed diets that did not contain fish oil showed a significant decrease in body lipid content. No significant differences were found in the total content of saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids among tench juveniles fed diets where fish oil was partially or totally replaced by vegetable oils. The highest/best values of the nutritional index polyunsaturated fatty acids / saturated fatty acids corresponding to the body analysis of the juvenile tench, were obtained with the diets with total replacement of fish oil by a mixture of vegetable oils or camelina oil, 0.86 and 0.92, respectively.

The results obtained in this provide valuable information to achieve specific free fishmeal and fish oil diets for juvenile tench.

## 2. INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN TEMÁTICA DE DE LOS ESTUDIOS



## 2. INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN TEMÁTICA DE LOS ESTUDIOS

Los alimentos acuáticos gozan de un reconocimiento cada vez mayor por el papel esencial que desempeñan en la seguridad alimentaria y la nutrición humana, no sólo como fuente de proteína sino también como uno de los mayores proveedores de ácidos grasos n-3. Por ello, la producción pesquera y acuícola desempeñará una función cada vez más importante en el suministro de alimentos.

Excluyendo las algas, el ritmo medio anual de crecimiento de consumo mundial de estos alimentos desde 1961 es del 3%, muy superior al 1.6% correspondiente al crecimiento de la población. Así, el consumo per cápita ha aumentado desde 9.9 kg en la década de 1960 a 20.5 kg en 2019, mostrando una ligera reducción a 20.2 kg en 2020. Considerando la previsión de un incremento del 15 %, que supondrá un consumo de 21.4 kg per cápita en 2030, es necesario que la producción total de animales acuáticos alcance los 202 Mt en ese año (FAO, 2022).

Según los últimos datos proporcionados en el informe de la FAO (2022), en 2020 el volumen mundial de productos acuáticos de origen animal destinados a consumo humano registró su cifra máxima, 178 Mt, debido en gran medida al crecimiento de la acuicultura, especialmente en Asia. Actualmente, la acuicultura aporta 88 Mt que, según las previsiones de crecimiento del sector, alcanzarán los 100 Mt 2027 y 106 Mt en 2030.

En aguas continentales se producen en torno a 54.8 Mt, destacando especies de la familia *Ciprinidae*. De hecho, junto a la tilapia, cuatro especies de carpa (carpa herbívora, carpa plateada, carpa cabezona y carpa común), ocupan los primeros puestos en la producción piscícola. La cría de ciprínidos se localiza fundamentalmente en Asia mientras que, en la Unión Europea, a excepción de la carpa común, la producción es testimonial, siendo la trucha arcoíris (*Onchorhynchus mykiss*) la especie predominante en el cultivo en aguas continentales (APROMAR, 2022a).

En ese contexto, la producción acuícola en España goza también de un auge sostenido desde hace décadas, tanto en aguas marinas como continentales. Aunque la pandemia de la COVID-19 y la guerra de Ucrania han impactado negativamente en la producción, aún se mantiene una tendencia de crecimiento. En comparación con la acuicultura marina, la cría de especies piscícolas en aguas continentales presenta una escasa diversificación (Tabla 1), centrándose fundamentalmente en la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), la anguila (*Anguilla anguilla*), el esturión (*Acipenser naccarii*, *Acipenser baerii*) y la tenca (*Tinca tinca*).

La tenca (Fotografía 1) es muy apreciada en numerosos países europeos, principalmente por su calidad gastronómica, pero también por su atractivo para la pesca deportiva (Wedekind et al., 2003; García et al., 2015; Pula et al., 2018;). A pesar de ser considerada una de las especies de agua dulce más prometedoras (Kujawa et al., 2011), en España su volumen de producción es un escaso, debido al predominio de sistemas de cultivo extensivo donde el crecimiento suele ser limitado, generando habitualmente rendimientos bajos e impredecibles (Kamiński et al., 2017; Pula et al., 2018). Por ello, el desarrollo de técnicas de cultivo intensivo es necesario no sólo para satisfacer su previsible aumento de demanda, sino también para cumplir con el objetivo de diversificación propuesto por la FAO (2017).

## Producción de peces de aguas continentales en España

Especie		Producción (t)	Valor (M€)
Trucha arcoiris	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	15805.72	51.541
Anguila	<i>Anguilla anguilla</i>	340.5	3.065
Esturión siberiano	<i>Acipenser baerii</i>	128.92	0.896
Esturión del Adriático	<i>Acipenser naccarii</i>	30.48	0.293
Tenca	<i>Tinca tinca</i>	7.13	0.040
Esturión del Danubio	<i>Acipenser baerii</i>	0.46	0.003
Otras especies		0.03	0.05
Total		16313.23	55.889

**Tabla 1.** Producción y valor de las especies piscícolas continentales en España correspondientes a 2020. (Fuente: SGP-MAPA, 2022)



**Fotografía 1.** Tenca adulta (Fuente: Departamento de Producción Animal).

En anteriores investigaciones, nuestro grupo ha desarrollado técnicas para el control de la reproducción, transferidas con éxito a centros de producción, que abarcan el desarrollo gonadal de los reproductores, la inducción de la ovulación, la obtención de gametos y la fecundación e incubación artificial (Carral et al. 2003, 2006; Rodríguez 2003, Rodríguez et al. 2004, 2005, 2008; Aguilera et al. 2005 ), permitiendo la obtención de alevines vesiculados (comúnmente llamadas larvas) bajo condiciones controladas.

Tras lograr una aceptable eficiencia en la producción de larvas, el siguiente paso abordó la mejora de las tasas de supervivencia y de crecimiento. Dentro de ello, la alimentación constituye un factor que influye decisivamente sobre los resultados desde el inicio de la alimentación externa. Este grupo de investigación formuló y elaboró una dieta práctica para juveniles con la que se consiguieron tasas de supervivencia próximas al 100% y un crecimiento aceptable (García et al. 2013). Posteriormente, González-Rodríguez et al. (2014a, b) estimaron los requerimientos proteicos entre 48 y 52%, a la

vez que probaron algunas alternativas a la harina de pescado en la formulación de piensos.

Dentro de los ingredientes empleados para la fabricación de los alimentos acuícolas comerciales, como fuente de proteína se utiliza mayoritariamente la harina de pescado. Aunque su inclusión muestra una tendencia a la baja, sigue siendo un componente importante en los piensos para numerosas especies de peces (Herman y Schmidt, 2016; Hua et al., 2019) y, de hecho, el sector de la acuicultura consume más del 70 % de la harina de pescado (Jannathulla et al., 2019). Considerando que esta materia prima se obtiene principalmente a partir de especies piscícolas sin interés para alimentación humana procedentes de la pesca y que sus capturas permanecen estancadas desde 1980, Cottrell et al. (2020) estimaron que, ante el previsible crecimiento de la acuicultura en las próximas décadas, satisfacer la demanda de harina de pescado resultará insostenible.

En la búsqueda de fuentes proteicas alternativas, las materias primas de origen vegetal se incorporan cada vez más en la fabricación de alimentos acuícolas (Malcorps et al., 2019). La harina de soja ha sido una de las alternativas más estudiadas, pero presenta limitaciones como baja palatabilidad, alto contenido de factores antinutricionales, desequilibrio de aminoácidos y efectos adversos sobre la integridad intestinal de algunas especies carnívoras (Gatlin et al. 2007; Torstensen et al. 2008; Daniel 2018). Su valor nutritivo se puede mejorar mediante la técnica de fraccionamiento utilizada para producir concentrado proteico de soja (Vielma et al. 2000; Collins et al. 2012), que tiene un contenido de proteína y aminoácidos similar a la harina de pescado (Hardy 2008). Además, gran parte de los factores antinutricionales presentes en la harina de soja se eliminan durante el procesamiento (Peisker 2001; Bowyer et al. 2013).

Existen numerosos estudios sobre los efectos de la sustitución de harina de pescado por concentrado proteico de soja (CPS) sobre en el crecimiento de especies marinas y continentales. Las cantidades incluidas sin efectos negativos sobre el crecimiento, muestran una gran variabilidad; entre 90 (Chen et al., 2019) y 503 g kg<sup>-1</sup> de dieta (Kalhor et al., 2018) en especies marinas y entre 121.2 (Burr et al. 2012) y 620 g kg<sup>-1</sup> (Kausik et al., 1995) en especies continentales.

En la tenca, González-Rodríguez et al. (2014c) obtuvieron un crecimiento similar en juveniles alimentados con una dieta control (sin CPS) y aquellos alimentados con dietas donde se sustituyó hasta el 45% de la harina de pescado (295 g CPS kg<sup>-1</sup> dieta). Sin embargo, cuando la inclusión de CPS sustituyó del 55% al 100% de la harina de pescado, el crecimiento se redujo significativamente. Al comparar el contenido de aminoácidos esenciales de las dietas, se evidenció una disminución significativa de metionina y arginina en las dietas con el 55% o porcentajes superiores de sustitución de harina de pescado, sugiriendo una posible deficiencia de ambos aminoácidos como principal causa de la reducción del crecimiento.

Otra prometedora fuente de proteína vegetal alternativa a la harina de pescado es el concentrado de proteína de guisante (Gatlin et al., 2007; Hartviksen et al., 2014). Este producto se obtiene mediante un proceso de fraccionamiento en seco que, tras la molienda, emplea un sistema de clasificación por aire para separar los gránulos más pequeños, ricos en proteínas, de los más grandes, ricos en fibra y almidón (Pelgrom et al., 2013; Schutyser et al., 2015). Entre sus principales ventajas, destaca el alto contenido proteico, entre 51% y 55% (Pelgrom et al., 2013), que permite formulaciones con alta sustitución de harina de pescado, y su buena digestibilidad (Øverland et al., 2009). Sin embargo, como sucede con otras fuentes vegetales, su valor nutritivo puede verse afectado negativamente por la presencia de factores antinutricionales, baja palatabilidad y desequilibrio de aminoácidos (Torstensen et al., 2008; Daniel, 2018).



La sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de guisante (CPG) ha sido probada por Tibaldi et al. (2005) en lubina europea (*Dicentrarchus labrax*), por Sánchez-Lozano et al. (2011) en dorada (*Sparus aurata*), por Gao et al. (2013), en dorada de cabeza negra (*Acanthopagrus schlegelii*), por Cantril (2015) en tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), por Carter y Hauler (2000) y Øverland et al. (2009) en salmón del Atlántico (*Salmo salar*) y por Thiessen et al. (2003), Collins et al. (2012) y Zhang et al. (2012) en trucha arcoíris (*O. mykiss*). La mayoría de estos estudios confirmaron la viabilidad de incluir entre 200 y 340 g CPG por kg de pienso, sin efectos negativos significativos en el crecimiento.

González-Rodríguez et al. (2016a) no encontraron diferencias significativas en el crecimiento entre juveniles de tenca alimentados con una dieta control (sin CPG) y los alimentados con dietas donde se sustituyó hasta el 35% harina de pescado (290.4 g CPG kg<sup>-1</sup> dieta). Sin embargo, cuando el CPG sustituyó el 45% de la harina de pescado (373.3 g kg<sup>-1</sup> de dieta), el crecimiento se redujo significativamente. Al igual que con el concentrado proteico de soja, se evidenció una disminución significativa de metionina en dietas con porcentajes de sustitución de harina de pescado del 45% o superiores, sugiriendo una posible deficiencia de este aminoácido como principal causa de la reducción del crecimiento.

Otro ingrediente comúnmente usado para fabricar los piensos acuícolas es el aceite de pescado, principal fuente de lípidos. Además de su alta digestibilidad y palatabilidad, es una fuente natural importante de algunos ácidos grasos poliinsaturados esenciales de cadena larga n-3 (AGPI CL n3), como el ácido eicosapentaenoico (AEP, 20:5n-3) y el ácido docosahexaenoico (ADH, 22:6n-3), para numerosas especies piscícolas. Teniendo en cuenta la baja eficiencia en el proceso de producción de aceite de pescado, ya que se necesita una tonelada de peces pelágicos para obtener un promedio de 50 kg de aceite (Hamilton et al., 2020), y el previsible déficit de suministro ante el crecimiento de la acuicultura (Tocher et al., 2019), es prioritario buscar alternativas para reemplazar este ingrediente en la fabricación de piensos.

Las más utilizadas provienen de plantas terrestres, ya que la producción de aceites vegetales, en términos generales, es más estable (Ayisi et al., 2019), y los precios son más bajos que los del aceite de pescado (Turchini et al., 2019). Los lípidos de origen vegetal suelen ser ricos en ácidos grasos C18, principalmente linoleico (AL, 18:2n-6),  $\alpha$ -linolénico (ALN, 18:3n-3) y oleico (OA, 18:1n-9), pero carecen o tienen un contenido muy limitado de AGPI CL n3, como AEP y ADH (Nasopoulou y Zabetakis, 2012). Una gran variedad de aceites vegetales, solos o en mezclas, se han considerado como sustitutos del aceite de pescado para muchas especies acuícolas (Turchini et al., 2009; Ayisi et al., 2019), destacando los de soja, palma, linaza, girasol, colza, camelina y oliva.

Según Tocher (2010), la sustitución parcial o total de aceite de pescado es más factible para las especies picícolas continentales que para las especies marinas, que aparentemente carecen de la capacidad de desaturar y alargar el AGPI C-18 y, por lo tanto, es más probable que tengan deficiencia de ácidos grasos poliinsaturados esenciales de cadena larga n-3. Por ello, en la mayoría de los estudios donde se evaluó la sustitución de aceite de pescado por aceites vegetales no se evidenciaron efectos negativos en el crecimiento de las especies de agua dulce, incluyendo los realizados en trucha arco iris (*O. mykiss*) (Güler y Yildiz 2011, Gesto et al., 2021), salvelino (*Salvelinus alpinus*) y trucha de arroyo (*S. fontinalis*) (Dupont-Cyr et al., 2022), trucha de Manchuria (*Brachymystax lenok*) (Yu et al., 2019), lucioperca (*Sander lucioperca*) (Schulz et al., 2005; Molnár et al., 2006), black bass (*Micropterus salmoides*) (Chen et al., 2020), esturión beluga (*Huso huso*) (Falahatkar et al., 2018), barbo plateado (*Puntius gonionotus*) (Nayak et al., 2017), pez mandarín (*Siniperca scherzeri*) (Sankian et al., 2019), tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Peng et al., 2016, Erondü et al., 2021), tilapia híbrida (*Oreochromis* spp.) (Teoh y Ng, 2016), carpa negra (*Mylopharyngodon*

*piceus*) (Sun et al., 2011), *Onchystoma macrolepis* (Gou et al., 2021) y carpa común (*Cyprinus carpio*) (Yildirim et al., 2013; Zorlu y Gümüs, 2022). Sin embargo, teniendo en cuenta que la composición final de pescado, ya sea del cuerpo entero o de los filetes, generalmente refleja la composición del alimento, varios estudios han mostrado que la sustitución de aceite de pescado por aceites vegetales puede modificar las propiedades saludables y la calidad de los peces al reducir su contenido de AGPI CL n3 (Turchini et al., 2011; Ayisi et al., 2019). Por esta razón, es necesario evaluar los cambios en el perfil de ácidos grasos, que pueden comprometer las propiedades nutricionales del pescado y los beneficios asociados con su consumo.

Entre las fuentes de lípidos de origen vegetal destaca la camelina (*Camelina sativa*), planta herbácea perteneciente a la familia Brassicaceae. Esta especie es nativa de Europa del norte y Asia central, pero se ha introducido en América del norte. De acuerdo con Zohary y Hopf (2000), hasta 1940 fue un cultivo importante en Europa oriental y central para producir aceite vegetal usado tradicionalmente en la fabricación de jabones y pinturas. Desde épocas más recientes, el aceite de camelina se utiliza en alimentación humana. En su revisión, Zanetti et al. (2021) aportan un número considerable de estudios sobre la adaptabilidad de la camelina a amplias condiciones ambientales, los bajos requisitos de agua y nutrientes, la resistencia a múltiples plagas y enfermedades de insectos, así como los múltiples usos en alimentos, piensos y aplicaciones de base biológica. Por todo ello, el interés por la producción de aceite de camelina ha crecido en los últimos años debido, no solo a sus beneficios agrotécnicos, que la hacen más respetuosa con el medio ambiente que otros cultivos oleaginosos convencionales (Budín et al., 1995; Neupane et al., 2022), sino también por su alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados, hecho poco común en aceites vegetales. Así, en el aceite de camelina obtenido mediante presión en frío más del 50% de los ácidos grasos son poliinsaturados, destacando el ácido alfa linoléico (ALN), precursor de AGPI CL n3. Además, los valores n-3/n-6 son cercanos a 2, hecho poco frecuente en los aceites vegetales (Toncea et al., 2013; Berti et al., 2016; Popa et al., 2017).

Como se mencionó anteriormente, este grupo ha llegado a la formulación y elaboración de una dieta práctica base específica para juveniles de tenca, que ha sido utilizada con buenos resultados para determinar los niveles óptimos de lípidos (Sáez-Royuela et al., 2015) utilizando aceite de pescado. Considerando la necesidad de reducir su inclusión como principal fuente de lípidos en los piensos para especies acuáticas, se plantea su sustitución por otras fuentes alternativas de origen vegetal.

En el marco del proyecto “Cría de la tenca (*Tinca tinca* L.) durante las etapas larvaria-postlarvaria y juvenil en condiciones controladas: dietas compuestas y alternativas para una acuicultura sostenible” referencia AGL-2015-64202-R (MINECO/FEDER), se planteó la cría de animales obtenidos mediante reproducción artificial desde el inicio de la ingestión de alimento hasta diversas edades juveniles. La finalidad básica de este proyecto fue llegar a la definición de dietas compuestas adecuadas para la cría de la tenca, teniendo en cuenta que los ingredientes han de ajustarse a las directrices globales para una acuicultura sostenible. Esta Tesis Doctoral incluye los resultados correspondientes a la evaluación de diferentes ingredientes alternativos a la harina y aceite de pescado usados para la alimentación de la tenca en la etapa juvenil y han generado cuatro publicaciones:

Carral J.M., **García T.**, Sáez-Royuela M., Celada J.D., Maraña L. (2022). Growth and feed utilization of juvenile tench (*Tinca tinca* L.) given diets in which soy protein concentrate replaces fishmeal and methionine and arginine are used as amino acid supplements. *Journal of Applied Aquaculture*, 34 (4): 969-988. <https://doi.org/10.1080/10454438.2021.1914266>

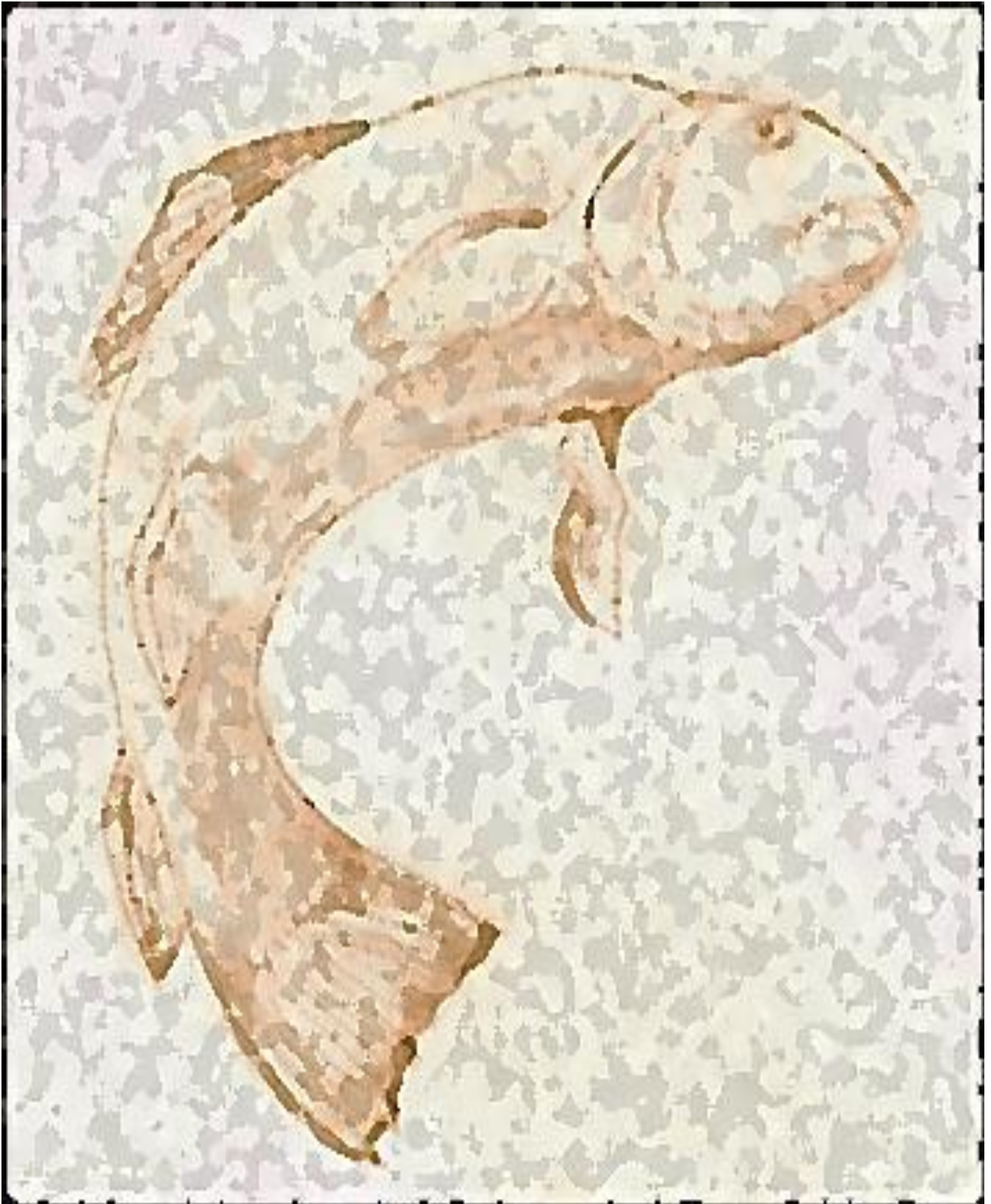
Carral J.M., **García T.**, Sáez-Royuela M., Celada J.D. (2021). Juvenile tench (*Tinca tinca* L.) response to practical diets with different replacement levels of fishmeal by pea protein concentrate supplemented with methionine. *Aquaculture Research*, 52 (11): 5260-5269. <https://doi.org/10.1111/are.15394>

Sáez-Royuela M., **García T.**, Carral J.M., Celada J.D. (2022). Fish Oil Replacement by a Blend of Vegetable Oils in Diets for Juvenile Tench (*Tinca tinca* Linnaeus, 1758): Effects on Growth Performance and Whole-Body Composition. *Animals* 2022, 12(9), 1113. <https://doi.org/10.3390/ani12091113>

**García T.**, Carral J.M., Sáez-Royuela M., Celada J.D. 2022. Fish oil replacement by camelina (*Camelina sativa* L.) oil in diets for juvenile tench (*Tinca tinca* L.): effects on survival, growth and whole-body fatty acid profile. *Animals*, 12(23), 3362; <https://doi.org/10.3390/ani12233362>



### 3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA



### 3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. ACUICULTURA MUNDIAL

La producción mundial de animales acuáticos fue de 178 millones de toneladas (Mt) en 2020 (214 Mt si sumamos la producción de algas), lo que supone un ligero descenso en comparación con el récord de 179 Mt en el año 2018. La pesca contribuyó con 90 Mt (51%) y la acuicultura con 88 Mt (49%). De la producción total, el 63% (112 Mt) se capturó o recolectó en aguas marinas (70% procedente de la pesca y 30% de la acuicultura) y el 37% (66 Mt) en aguas continentales (83% procedente de la acuicultura y 17% de la pesca) (FAO, 2022).

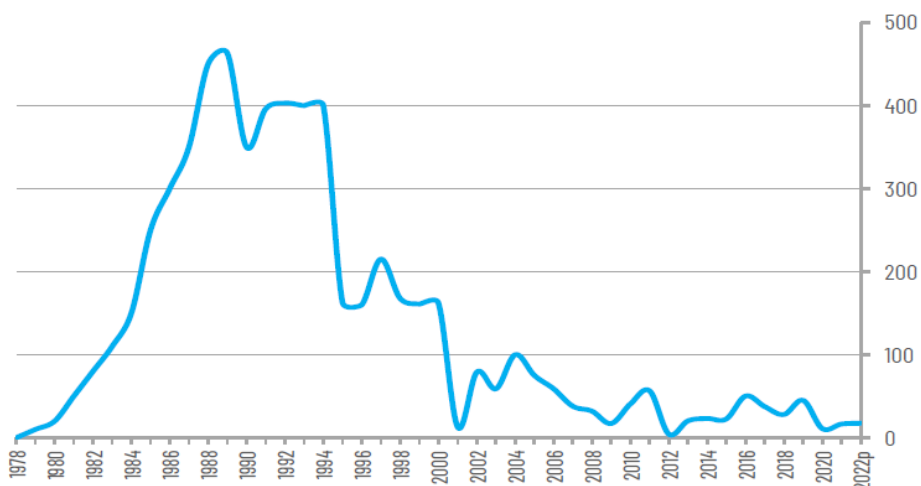
Excluyendo las algas, más de 157 Mt (el 89%) se emplearon para alimentación humana. Los 20 Mt restantes se destinaron a usos no alimentarios, principalmente para la producción de harina y aceite de pescado (16 Mt).

La expansión de la acuicultura en las últimas décadas ha impulsado el crecimiento general de la producción en aguas continentales. En 1950, el aporte de alimentos para consumo humano procedente de aguas continentales apenas representaba el 12 % del total (pesca + acuicultura), porcentaje que, con algunas fluctuaciones, se mantuvo relativamente estable hasta finales de la década de los 80 del siglo pasado. Con el crecimiento de la acuicultura, se incrementó gradualmente hasta el 18% en la década de los 90, el 28% en los 2000 y el 34% hasta el año 2020 (FAO, 2022).

#### 3.2. LA TENCA

Es un pez de agua dulce que pertenece a la familia de los ciprínidos (*Cyprinidae*). Es una especie autóctona de Europa y Siberia, pero en la actualidad está presente en todos los continentes (Freyhoff y Kottelat, 2008). En la península Ibérica fue introducida por los romanos (Cerdá y Mulet, 1992) y se cría principalmente en Extremadura, Castilla y León y Andalucía. Su distribución en España se asocia a las repoblaciones realizadas en cuerpos de agua cerrados del oeste peninsular más que a su desarrollo natural en ríos, donde su presencia es más bien escasa.

Esta especie se cultiva exclusivamente en Europa y en 2020 se obtuvieron 738 t. La tenca se cría en 20 países, siendo Francia el principal productor (240 t), seguido por Polonia (160 t), la República Checa (135 t) y Alemania (121 t). En España, las particulares características de su explotación y mercado dificultan enormemente obtener datos fiables de su producción. Según APROMAR (2022a), en 2021 se produjeron 17.5 toneladas, principalmente en Extremadura y en menor medida en Castilla y León, obtenidas mayoritariamente mediante el engorde en charcas. Ambas cifras están muy por debajo de los máximos alcanzados a finales de la década de los ochenta, en torno a las 450 t (Figura 1).



**Figura 1.** Evolución de la producción de la tenca España (Fuente: MAPA-FAO, 2022).

En 2022, la Asociación de Productores de Acuicultura Marina (APROMAR) ha desarrollado el proyecto “Análisis del Sector de la Tenca en España” junto a la Asociación de Tencicultores de Extremadura (Ibertenca) con el propósito de analizar las causas del estancamiento del cultivo y promoverlo como modelo de desarrollo rural sostenible (APROMAR, 2022b). Entre sus conclusiones, se afirma que la tenca es una especie clave en la acuicultura continental con elevado grado de sostenibilidad y de gran relevancia en las políticas de dinamización rural de la Unión Europea. Por ello, es necesario desarrollar técnicas que permitan intensificar su cultivo.

### 3.2.1. Ciclo vital y características biológicas de interés productivo

La tenca es una especie demersal que habita en aguas poco profundas, con abundante vegetación y fondos limosos o fangosos como charcas, lagos y embalses; en los ríos selecciona zonas con escasa velocidad de corriente y fondos blandos. Es considerado un pez de aguas cálidas que presenta tolerancia a bajos niveles de oxígeno (Coad, 1999) y rangos de pH entre 6.5 y 8, siendo letales valores por debajo de 4.5 y por encima de 10.8 (Lokowicz y Proske, 1980).

En hábitats naturales, es una especie carnívora (Kennedy y Fitzmaurice 1970) y su dieta se basa principalmente en zooplancton (cladóceros, copépodos y ostrácodos), crustáceos bentónicos (anfípodos y decápodos), insectos bentónicos (quironómidos, efímeros, odonatos, hemípteros e hirudíneos) y moluscos (gasterópodos y pequeños bivalvos) (Michel y Oberdorff, 1995; Rowe et al., 2008).

Respecto a la reproducción, aunque con un año de vida puede producir gametos fértiles (Rodríguez et al., 2004), se considera que alcanza la madurez sexual entre los dos y los cuatro años. La reproducción se inicia a finales de primavera, cuando la temperatura del agua se encuentra por encima de los 18-20 °C y se prolonga durante el verano, periodo en el que pueden tener lugar hasta 3 ó 4 oviposiciones (Morawska 1984). El número de huevos producido depende del tamaño de la hembra y varía entre 140.000 y 230.000 huevos/kg de peso vivo (Linhart y Billard, 1995). Para la eyección es necesaria la presencia de vegetación sumergida donde los huevos permanecen adheridos para su posterior fecundación y desarrollo embrionario. Los huevos eclosionan a los 100 grados día (Kennedy y Fitzmaurice, 1970; Pérez-Regadera, 1987), obteniéndose larvas de unos 4 mm de longitud, transparentes y con una vesícula vitelina muy alargada. Los alevines permanecen adheridos a la vegetación durante los primeros momentos de vida y, tras reabsorber la vesícula vitelina, su alimentación se basa en

microplancton y, posteriormente, cuando alcanzan una talla aproximada de 15 mm, comienzan a alimentarse de presas de mayor tamaño como zooplancton y otros pequeños invertebrados (Kennedy y Fitzmaurice 1970). En condiciones naturales, tras el primer verano (en el mes de octubre), los juveniles pueden alcanzar una talla entre 2.5 y 10 cm (Organización de Productores Piscicultores, 2006).

### 3.2.2. SITUACIÓN ACTUAL DEL CULTIVO DE TENCA EN ESPAÑA

En España, dependiendo del grado de intensificación, los sistemas de cultivo se pueden clasificar en extensivos, semiextensivos, semiintensivos e intensivos.

- **Extensivo.** Basado exclusivamente en la repoblación periódica con alevines en cuerpos de agua cerrados y en la recolección de los animales cuando han alcanzado la talla comercial. Se caracteriza por una producción muy variable y de bajo rendimiento. La cosecha normalmente se realiza a finales de verano-principios de otoño, cuando el volumen de agua es menor y los peces están más concentrados, lo que facilita su captura. Esta práctica productiva tradicional no requiere de importantes inversiones económicas, pero presenta numerosos inconvenientes derivados de la dependencia de las condiciones meteorológicas y la imposibilidad de control de enfermedades y depredadores.



**Fotografía 2:** Charca de engorde de tencas (Fuente: Departamento de Producción Animal).

- **Semiextensivo.** La fase reproductiva y la cría posterior se separan, utilizándose dos tipos de estanques en el proceso. Para la reproducción, se utilizan estanques con macrovegetación sumergida (*Myriophyllum* sp, *Potamogeton* sp o *Ceratophyllum* sp, etc.) sobre la que los reproductores realizan la freza (Fotografía 3). Tras alcanzar un tamaño suficiente, los alevines de tenca son transferidos a estanques de engorde. En ambos casos, se realiza un aporte de alimento suplementario a la alimentación natural.





**Fotografía 3.** Estanque de reproductores, piscifactoría Casaseca de las Chanas, Zamora. (Fuente: Departamento de Producción Animal).

- **Semiintensivo.** Se realiza control de la reproducción con el propósito de obtener larvas de tenca bajo condiciones controladas. El alevinaje y/o engorde posterior tiene lugar en estanques de tierra o de hormigón.



**Fotografía 4.** Batería de botellas tipo Zug para la incubación de huevos de tenca, piscifactoría Casaseca de las Chanas, Zamora. (Fuente: Departamento de Producción Animal).

- **Intensivo.** Su objetivo es lograr el ciclo completo, reproducción y posterior engorde, bajo condiciones controladas. Las etapas de alevinaje y engorde se encuentran en fase desarrollo y su consecución depende aún de los avances en el conocimiento de los requerimientos nutritivos y el desarrollo de piensos específicos para la tenca.

### 3.3. ESTADO ACTUAL DE LA INVESTIGACIÓN EN EL CULTIVO DE TENCA

#### 3.3.1. Reproducción

El desarrollo de técnicas para el control de la reproducción es clave para la intensificación de los procesos de cría de tenca. Por ello, gran parte de las investigaciones desarrolladas por nuestro grupo han incidido en la fase reproductiva permitiendo obtener resultados, transferidos con éxito a centros de producción, que abarcan desarrollo gonadal de los reproductores, inducción de la ovulación, obtención de gametos, fecundación e incubación artificial y recogida de alevines vesiculados (Carral et al., 2003; Rodríguez, 2003; Rodríguez et al., 2004; Aguilera et al., 2005; Rodríguez et al., 2005; Carral et al., 2006; Rodríguez et al., 2008).



**Fotografía 5.** Colector de alevines vesiculados de tenca (Fuente: Departamento de Producción Animal)



**Fotografía 6.** Larvas de tenca recién eclosionadas (Fuente: Departamento de Producción Animal).

Una vez garantizada la producción de larvas en condiciones controladas (Fotografías 5 y 6), los esfuerzos de investigación han de encaminarse a los factores que determinan su supervivencia y crecimiento. A continuación, se expone un breve resumen de los niveles actuales de conocimientos en los diferentes aspectos estudiados.

### 3.3.2. Cría larvaria-postlarvaria

Respecto a la temperatura, las investigaciones realizadas durante esta etapa han determinado un rango óptimo entre 22 °C y 28 °C (Korwin-Kossakowski y Jezierska 1984; Peñáz et al., 1989; Aguilera, 2004).

En un ensayo específico sobre la densidad Celada et al. (2007a) comprobaron que concentraciones iniciales entre 20 y 160 larvas por litro no afectaron significativamente a la supervivencia y al crecimiento.

En cuanto a la alimentación, el empleo de piensos secos como único alimento resulta insatisfactorio en términos de supervivencia y crecimiento, siendo necesario el aporte de alimento natural tras la reabsorción del vitelo. De esta forma, la utilización de diferentes especies de zooplancton recolectadas de su hábitat natural (Šestáková et al., 1989; Hamáčková et al., 1995 y 1998; Kamler et al., 1995) ha permitido resultados aceptables. Sin embargo, la dificultad para cultivar este zooplancton ha conducido a la búsqueda de alternativas más sencillas. Los resultados han demostrado que los nauplios vivos de *Artemia* pueden ser utilizados desde el primer día de alimentación externa, obteniéndose altos porcentajes de supervivencia y buenas tasas de crecimiento en experimentos con una duración entre 20 y 60 días (Wolnicki y Myszkowski, 1998; Hubenova et al., 2001; Wolnicki et al., 2003a; Celada et al., 2007a, 2008). Posteriormente, García et al. (2010) evidenciaron que los nauplios vivos pueden ser sustituidos por quistes decapsulados de *Artemia*, mejorando incluso los valores de crecimiento. Esto ha permitido establecer un protocolo de alimentación durante la etapa larvaria-postlarvaria de la tenca basado en el uso de quistes decapsulados, de diferentes calidades y/o sometidos a procesos de conservación (García et al., 2011; Celada et al., 2013).

### 3.3.3. Cría de juveniles

#### 3.3.3.1. Abastecimiento de agua, temperatura y fotoperiodo

No es necesario aportar grandes volúmenes de agua comparado con otras formas de acuicultura. Sin embargo, es evidente la necesidad de disponer de agua de buena calidad y en cantidad suficiente para mantener los parámetros químicos dentro de rangos tolerables por los animales.

El crecimiento de los peces teleósteos depende directamente de la temperatura y del fotoperíodo (Thorpe et al., 1989; Imsland et al., 1995). Por ello, ambos parámetros son manipulados habitualmente con objeto de mejorar el rendimiento, la rentabilidad y la sostenibilidad de las prácticas de cultivo.

Las investigaciones realizadas han determinado un rango de temperatura óptima que oscila entre 22 °C y 30 °C (Backiel, 1986). Puesto que temperaturas elevadas pueden afectar negativamente a la calidad del agua, en los ensayos realizados por nuestro equipo se ha mantenido un rango térmico de 22-26°C que coincide, aproximadamente, con el de la época de crecimiento en condiciones naturales.

En cuanto al fotoperíodo, existe una gran variabilidad interespecífica en la receptividad de los peces a los cambios de la luz. Así, la mayoría de las especies muestran diferente actividad de alimentación en relación con el ciclo diario de alternancia de luz/oscuridad (Boujard, 2004). En la tenca, la escasa información disponible sugiere la existencia de diferencias en la actividad de alimentación dependiendo de la edad (Pyka 1997). Se considera que las tencas adultas tienen hábitos estrictamente nocturnos (Siegmund, 1969; Herrero et al., 2003), pero durante las primeras etapas de vida (menos de 100 días) muestran una intensa actividad en horas diurnas (Pyka, 1997). Los estudios realizados por Carral et al. (2014) aportaron la primera información acerca de los efectos del fotoperíodo en la etapa juvenil. Las altas tasas de supervivencia obtenidas con los fotoperíodos probados apoyan la idea de que los juveniles de tenca son capaces de

adaptarse a condiciones extremas de luz (oscuridad o luz continua); pero estas condiciones afectaron negativamente al crecimiento. El mayor crecimiento y el índice de conversión del alimento más bajo fue observado con el fotoperiodo de 16 h luz/8 h oscuridad, que coincide con el de la estación de crecimiento de la tenca.

### 3.3.3.2. Densidad

Las pruebas realizadas bajo condiciones controladas han utilizado densidades iniciales entre 0.13 g/L y 4.08 g/L (Quirós y Alvariño, 1998; Wolnicki y Myszkowski, 1998; Wolnicki et al., 2003b y 2006; Quirós et al., 2003; Kamler et al. 2006; Mareš et al. 2007; Celada et al., 2007b y 2009; Zakęś et al., 2010; Myszkowski et al, 2010; García et al., 2010 y 2013). En experimentos específicos sobre el efecto de la densidad, se evidenció que el crecimiento individual fue mayor con bajas densidades (0,18 g/L), mientras que la biomasa obtenida por unidad de volumen fue muy superior con densidades más altas (1.3 o 4 g/L) (Celada et al., 2007b). Ambos factores han de combinarse en función de las circunstancias y teniendo en cuenta que cuanto más alta es la densidad, mayor es el trabajo de limpieza y el riesgo frente a cualquier eventualidad.

### 3.3.3.3. Alimentación

La inexistencia de dietas específicas ha forzado al uso de piensos comerciales formulados para otras especies de peces (carpa, trucha, dorada y anguila) que, aportados como único alimento, han determinado bajas tasas de supervivencia, reducidos índices de crecimiento y altos porcentajes de deformidades corporales (Quirós y Alvariño 1998, Quirós et al. 2003, Rennert et al. 2003, Kamler et al. 2006, Wolnicki et al. 2003b, 2006, Mareš et al. 2007, Celada et al. 2009, Myszkowski et al. 2010). Se ha demostrado que la adición de alimento natural a los mencionados piensos comerciales, como *Daphnia* sp. (Quirós y Alvariño 1998, Quirós et al. 2003) o larvas de quironómidos (dípteros) congelados (Wolnicki et al. 2003b) mejora los resultados.

En este sentido, Celada et al. (2007b, 2009) comprobaron que la suplementación de dietas secas para otras especies con determinadas cantidades de nauplios vivos de *Artemia salina* mejoraba, en gran medida, la supervivencia y el crecimiento. Se han probado diversas suplementaciones, evidenciándose relaciones positivas entre el crecimiento y las cantidades suministradas. El aporte adicional de alimento vivo puede ser parcialmente sustituido por reemplazantes secos de *Artemia*, pero sin alcanzar el crecimiento obtenido solo con nauplios (Sáez-Royuela et al., 2008). Sin embargo, el suplemento de nauplios vivos ha sido sustituido con éxito por las mismas cantidades de quistes de *Artemia* de alta calidad (eclosionabilidad) tanto en estado fresco (García et al., 2010) como conservados en salmuera o desecados, e incluso por quistes de bajo coste (García et al., 2014).

Kamler et al. (2006), Wolnicki et al. (2006) y Myszkowski et al. (2010) sugirieron la existencia de una posible relación entre la incidencia de deformidades corporales externamente visibles y el uso de dietas comerciales para otras especies que determinaban altos valores del coeficiente de condición (1.3-1.4) en los juveniles de tenca. Según estos autores, los juveniles con rápido crecimiento tendrían mayor probabilidad de presentar deformidades corporales y, por ello, recomiendan dosis diarias de alimento por debajo de la saciedad (hasta el 2.5% de la biomasa). No obstante, en nuestros ensayos se evidenció una incidencia prácticamente nula de deformaciones corporales cuando las dietas comerciales formuladas para otras especies se suplementaron con nauplius o quistes de *Artemia*, indicando que el uso de dietas equilibradas puede tener mayor transcendencia para la reducción del número de juveniles deformes.

Tras establecer posibles protocolos de alimentación durante la etapa juvenil con nauplius o quistes de *Artemia*, solos o como suplemento de dietas comerciales formuladas para otras especies piscícolas, García et al. (2015) formularon y fabricaron



una dieta práctica seca basada en los conocimientos disponibles sobre juveniles de tenca, pero no en todos los ingredientes, ya que se utilizó una premezcla de vitaminas y minerales para salmónidos. Posteriormente, González-Rodríguez et al. (2014a) definieron una composición de vitaminas y minerales mejor adaptada para la tenca. Asimismo, se determinaron los niveles óptimos de proteína, entre 50-52%, (González-Rodríguez et al. 2014b) y de lípidos (Sáez-Royuela et al., 2015) entre 8 y 10%, utilizando harina y aceite de pescado como fuente proteica y lipídica, respectivamente. Todo ello ha permitido disponer de una dieta práctica base relativamente bien equilibrada para juveniles de tenca que, aportada como único alimento, ha permitido tasas muy altas de supervivencia, aceptables ritmos de crecimiento y porcentajes muy bajos de animales deformes.

Sobre esta dieta ha sido posible realizar estudios de nutrición, cuyo objetivo es posibilitar la fabricación industrial de dietas compuestas específicas, todo ello dentro de una utilización de ingredientes acorde con las recomendaciones para una acuicultura sostenible. En este sentido, en el marco del proyecto del Plan Nacional de I+D+i ref. AGL2010-16554 se realizaron ensayos con fuentes proteicas alternativas a la harina de pescado. Entre las materias primas de origen animal se incluyeron harinas de plumas (González-Rodríguez et al., 2014a) y subproductos de pollo (González-Rodríguez et al., 2016b). La harina de subproductos de pollo ha permitido reemplazar hasta un 25% de harina de pescado sin efectos negativos sobre la supervivencia y el crecimiento, pero su deficiencia de metionina y su alto contenido de grasa (19-20%) limitan severamente su inclusión.

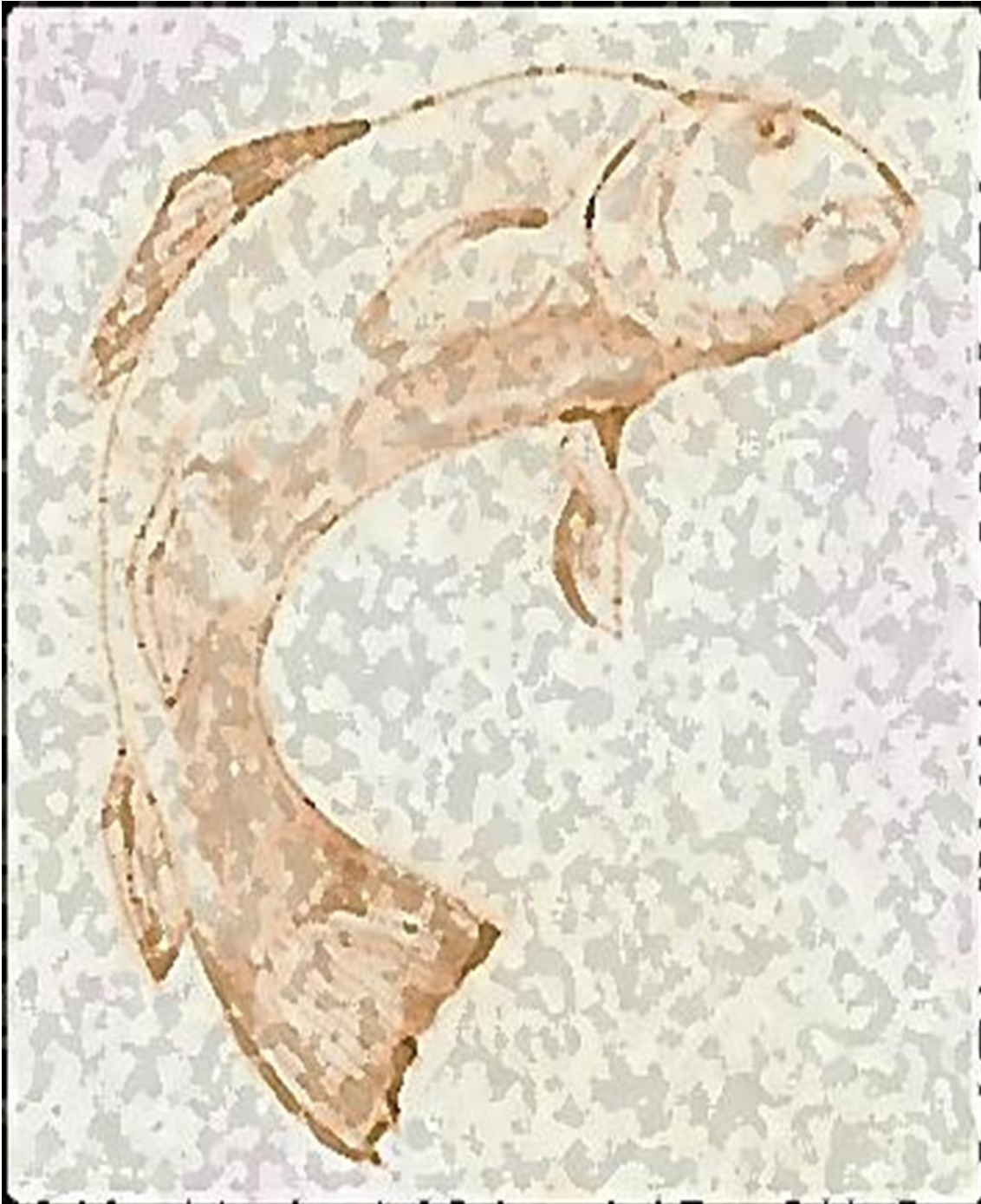
Respecto a las alternativas de origen vegetal, se ha probado la harina de soja (García et al., 2015), el concentrado proteico de soja (González-Rodríguez et al., 2014c) y el de guisante (González-Rodríguez et al., 2016a). Se puede sustituir hasta el 25% de harina de pescado por proteína de harina de soja (García et al., 2015) y esta sustitución puede llegar al 45% utilizando concentrado proteico de soja (González-Rodríguez et al., 2014c). Los aminoácidos más limitantes para niveles más altos de sustitución fueron la metionina y la arginina. El concentrado proteico de guisante ha permitido sustituir hasta el 35% de harina de pescado (González-Rodríguez et al., 2016a). En este caso, nuevamente la metionina y la arginina fueron los aminoácidos más limitantes. En conjunto, se han probado algunas fuentes alternativas de proteína mientras que se desconocen las posibilidades de sustitución del aceite de pescado.

### **3.4. Perspectivas de futuro**

Actualmente, la principal limitación para aumentar la producción de la tenca es el déficit de juveniles con fines de engorde y repoblación. Por ello, es indispensable desarrollar técnicas de cultivo para juveniles dentro de su primer año de vida bajo condiciones controladas, centrándose principalmente en la alimentación como un factor esencial.

En proyectos de investigación previos se ha establecido la formulación y posterior fabricación de una dieta práctica base específica para juveniles de tenca determinando necesidades de lípidos (utilizando aceite de pescado) y de proteína (utilizando harina de pescado), que ha sido utilizada con buenos resultados. Esto ha permitido evaluar posibilidades de sustitución de harina de pescado por otros ingredientes de origen vegetal como la harina de soja, el concentrado proteico de guisante y el concentrado proteico de soja. Sobre esta base y considerando además la necesidad de reducir el consumo de aceite de pescado como principal fuente de lípidos en los piensos para especies acuáticas, se plantearon los objetivos del presente plan de investigación.

## 4. OBJETIVOS



#### 4. OBJETIVOS

La finalidad de esta Tesis Doctoral fue avanzar en la formulación y fabricación de una dieta específica y sostenible para juveniles de tenca evaluando las posibilidades de sustitución de la harina de pescado y del aceite de pescado por fuentes alternativas de proteína y lípidos. Los objetivos específicos fueron:

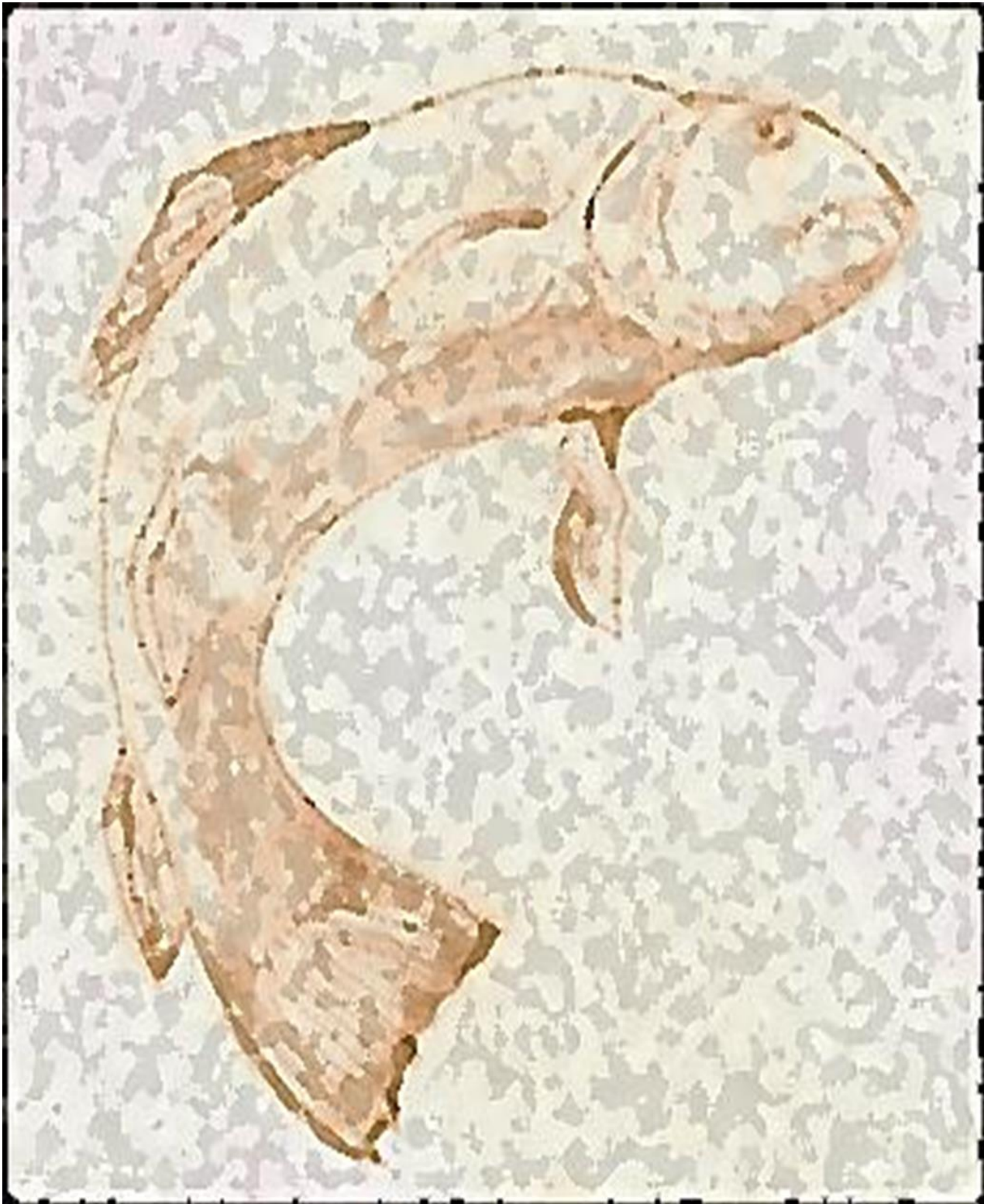
- 1.- Evaluar las posibilidades de incrementar los niveles de sustitución de harina de pescado por concentrado proteico de soja mediante suplementación con metionina y arginina sin afectar la supervivencia y el crecimiento de los juveniles de tenca.
1. Evaluar las posibilidades de incrementar los niveles de sustitución de harina de pescado por concentrado proteico de guisante mediante suplementación con metionina sin afectar la supervivencia y el crecimiento de los juveniles de tenca.
2. Evaluar los efectos de la sustitución parcial o total de aceite de pescado por una mezcla de aceites vegetales sobre la supervivencia, crecimiento y composición corporal de los juveniles de tenca.
3. Evaluar los efectos de la sustitución parcial o total de aceite de pescado por aceite de camelina sobre la supervivencia, crecimiento y composición corporal de los juveniles de tenca.

Estos objetivos están incluidos en el proyecto “Cría de la tenca (*Tinca tinca* L.) durante las etapas larvaria-postlarvaria y juvenil en condiciones controladas: dietas compuestas y alternativas para una acuicultura sostenible” referencia AGL-2015-64202-R (MINECO/FEDER).

La información obtenida permitirá establecer las bases de composición analítica e ingredientes adecuados para dietas compuestas específicas para la tenca durante la etapa juvenil y ofrecer diversas posibilidades de utilización de fuentes alternativas de proteína y de lípidos a fin de lograr una acuicultura sostenible y compatible con el medio ambiente.



**5. ANIMALES, INSTALACIONES Y PROCEDIMIENTO BÁSICO DE EXPERIMENTACIÓN.**



## 5. ANIMALES, INSTALACIONES Y PROCEDIMIENTO BÁSICO DE EXPERIMENTACIÓN.

### 5.1. ANIMALES E INSTALACIONES

Los estudios de esta Tesis se llevaron a cabo en el laboratorio de acuicultura del Departamento de Producción Animal de la Universidad de León, ubicado en la Facultad de Veterinaria (Fotografía 7).



**Fotografía 7.** Vista general de las instalaciones del laboratorio de acuicultura (Fuente: Departamento de Producción Animal).

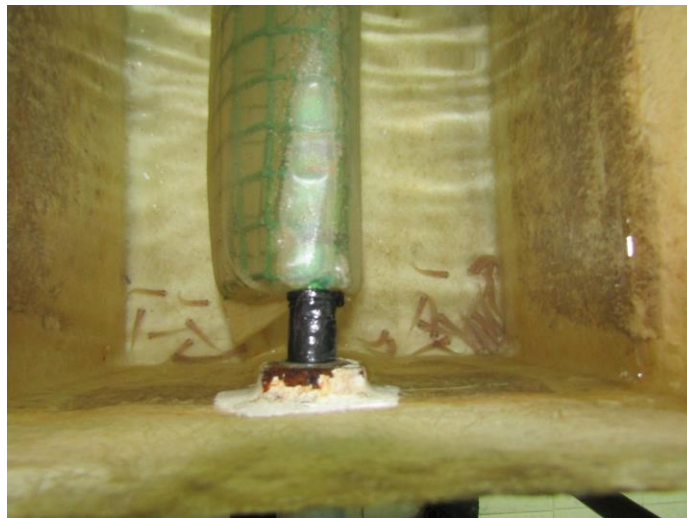
Durante los meses de mayo y junio, se seleccionaron reproductores maduros procedentes de la piscifactoría Tencas de Babilonia ubicada en la provincia de Cáceres. Tras su traslado al laboratorio, las larvas se obtuvieron mediante las técnicas de reproducción controlada (Fotografía 8) descritas por Rodríguez et al., (2004). Desde el quinto día post eclosión se alimentaron con quistes frescos decapsulados de *Artemia salina* durante un periodo de 2 meses. Posteriormente, se realizó una transición durante dos semanas, con el objetivo de proporcionar como único alimento la dieta extrusionada control propuesta por González-Rodríguez et al (2014a) y García *et al* (2015), que se utilizó hasta el inicio de los estudios.

Se llevaron a cabo 4 experimentos de 90 días de duración: dos de sustitución de harina de pescado por fuentes proteicas de origen vegetal suplementadas con aminoácidos esenciales y dos de sustitución de aceite de pescado por aceites vegetales. En todos, los juveniles, procedentes de, al menos, 8 reproductores, fueron distribuidos al azar entre los diferentes grupos experimentales. Las instalaciones de acuicultura eran abastecidas con agua procedente de un pozo artesiano cuyos parámetros de calidad se analizaban periódicamente en nuestro laboratorio. Los valores medios de las características físicoquímicas más relevantes del agua a la entrada de las instalaciones de experimentación fueron pH = 7.5, dureza total = 5.3 °dH (calcio 32.8 mg/L), sólidos totales en suspensión = 35 mg/L. Cada semana, se medían el oxígeno disuelto, el amonio y los nitritos del agua de los tanques donde se encontraban los animales. Las medidas de oxígeno se realizaron con un oxímetro HACH HQ30d (Hach Lange GMBH, Vigo, España) y los valores oscilaron entre 5.7 y 7.2 mg/L. El amonio y los nitritos midieron con un espectrofotómetro HACH DR 2800 (Hach Lange GMBH, Vigo, España) mostrando valores inferiores a 0.1 mg/L y 0.013 mg/L, respectivamente.



**Fotografía 8.** Fecundación artificial: extracción de semen (Fuente: Departamento de Producción Animal).

Para el mantenimiento de los animales, se utilizaron tanques de fibra de vidrio aglomerada con poliéster (0.5 x 0.25 x 0.25 m) con una capacidad de 25 litros. El régimen de circulación del agua fue en sistema abierto, de modo que cada tanque tenía su propia entrada de agua con un flujo continuo de 0.3 L/min y una salida provista con una malla de 250  $\mu\text{m}$  a fin de evitar posibles pérdidas de alimento durante el desarrollo de los experimentos. Además, cada tanque disponía de una ligera aireación (Fotografía 9). La temperatura se registraba dos veces al día manteniéndose valores de  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ . En todos los casos, el fotoperiodo fue de 16 horas luz/ 8 horas oscuridad.



**Fotografía 9.** Vista superior de un tanque (Fuente: Departamento de Producción Animal).

Cada dos días se limpiaban los tanques mediante sifonado y los filtros con agua a presión. Al finalizar cada prueba, se limpiaban, desinfectaban con hipocloruro sódico y se dejaban secos.

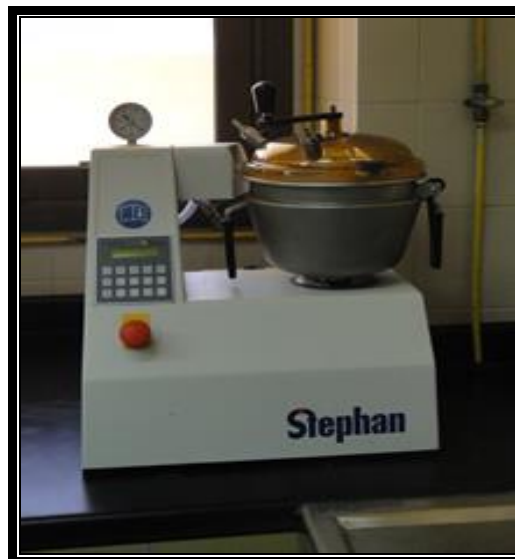
## 5.2. DIETAS Y ALIMENTACIÓN.

La dieta práctica propuesta por este grupo de investigación (González-Rodríguez *et al.* 2014a; García *et al.* 2015) se utilizó como control. (Fotografía 10). A partir de ella, se formularon las diferentes dietas de los cuatro estudios de esta Tesis Doctoral.



**Fotografía 10.** Dieta práctica (Fuente: Departamento de Producción Animal).

Para su fabricación, se utilizó una mezcladora STEPHAN UMC5 para homogeneizar los ingredientes (Fotografía 11). La mezcla resultante se introducía en una extrusora BRABENDER KE19/25D, a un rango de temperatura entre 90 y 110 °C (Fotografías 12 y 13). Los pellets obtenidos, con un diámetro de 1 mm, se secaban en una campana de flujo laminar durante 24 horas a una temperatura de 30 °C y después se cubrían con la mezcla de aceites de cada fórmula. Una vez finalizado el proceso, los piensos se almacenaban a 3-4 °C, hasta su aporte a los animales.

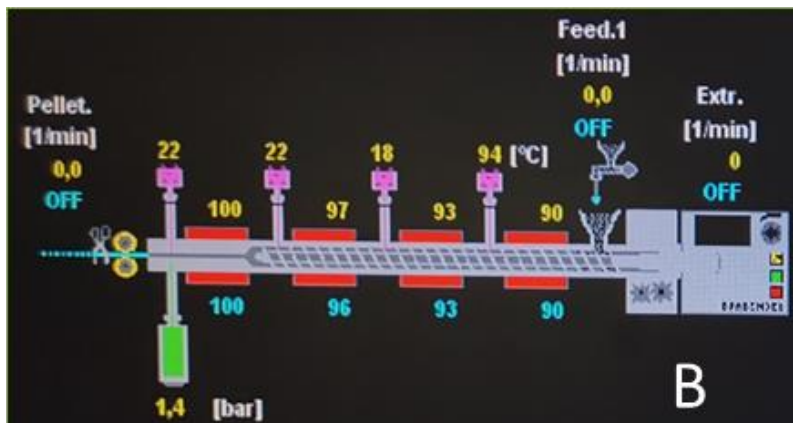


**Fotografía 11.** Mezcladora STEPHAN UMC5 (Fuente: Departamento de Producción Animal).





**Fotografía 12.** Extrusora BRABENDER KE19/25D (Fuente: Departamento de Producción Animal).



**Fotografía 13.** Pantalla mostrando la rampa de temperaturas durante el proceso de extrusión (Fuente: Departamento de Producción Animal).

Las dietas se suministraron manualmente tres veces al día: a las 10, 14 y 18 horas hasta saciedad aparente.

### 5.3. ANÁLISIS DE DIETAS Y ANIMALES.

Tras la elaboración de los piensos, se tomó una muestra de 50 g para analizar su composición proximal y, dependiendo del experimento, perfil de aminoácidos o de ácidos grasos. Al comienzo y al final de cada estudio se tomó una muestra de juveniles de los distintos tratamientos para realizar los análisis mencionados anteriormente. Previamente, los animales se mantuvieron en ayunas durante 14 horas. Las muestras se almacenaron a -30°C hasta su análisis.



Los análisis se realizaron por duplicado en el laboratorio Analiza Calidad (Burgos, España) siguiendo el Regulación 152/2009 de la Comisión Europea mediante la metodología que se describe a continuación:

- Humedad: por secado a 105 °C.
- Proteína: con el método Kjeldahl.
- Lípidos: por extracción con petróleo ligero y destilación adicional.
- Cenizas: por calcinación a 550°C.
- Energía bruta: según la regulación de la UE 1169/2011.
- Hidratos de carbono: cálculo mediante diferencia entre peso húmedo total y el contenido de humedad, proteínas, lípidos y cenizas.

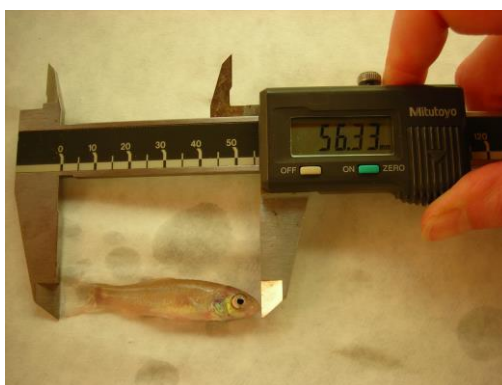
El perfil de aminoácidos se analizó con HPLC utilizando el método AccQTag de Waters (Milford, MA, EE. UU.). Los aminoácidos se derivatizaron con reactivo de carbamato de 6-aminoquinolil-N-hidroxisuccinimidilo (AQC) por el método de Cohen y Michaud (1993) y Cohen y De Antonis (1994), detectados por el Detector de Absorbancia Dual  $\lambda$  Waters 2487 de Waters (Milford, MA, USA) a 254 nm y cuantificados con el software Empower Pro 2.0 de Waters (Milford, MA, USA). El perfil de ácidos grasos se analizó mediante cromatografía de interacción hidrofílica usando el método AccQTag de Waters (Milford, MA).

#### 5.4. RECOGIDA DE DATOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

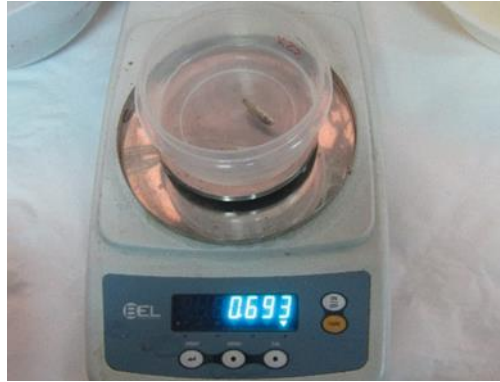
Con el fin de garantizar una longitud y peso iniciales medios similares en todos los tanques, el tamaño de la muestra se calculó suponiendo un nivel mínimo aceptable de potencia estadística del 80% (Buhjel, 2008). Antes de la distribución en los diferentes grupos experimentales, se midió en una muestra de 120 individuos la longitud total (LT) y el peso (P).

Para facilitar el manejo y minimizar los potenciales daños derivados de su manipulación durante estas mediciones, los juveniles se anestesiaron con metasulfato de triclaína MS-222 (Ortoquímica S.L, Barcelona, España).

La longitud total de cada individuo se midió con un calibre digital Sylvac con una precisión de  $\pm 0.01$  mm (Fotografía 14) y, previa eliminación del agua con papel absorbente, se registró el peso con una balanza COBOS M-150-SX con una precisión de  $\pm 0.001$  g (Fotografía 15). Asimismo, se registró la biomasa inicial de cada tanque.



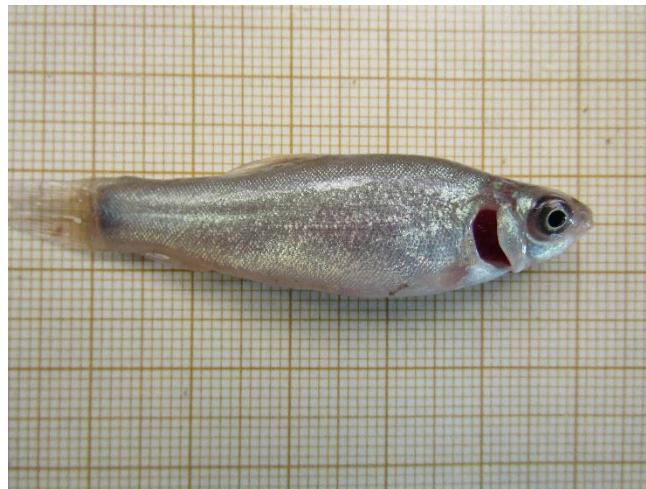
**Fotografía 14.** Medición de longitud total (Fuente: Departamento de Producción Animal).



**Fotografía 15.** Medición de peso (Fuente: Departamento de Producción Animal).

En todos los experimentos, el diseño fue unifactorial, siendo la variable independiente el diferente nivel de sustitución de harina o aceite de pescado (que a su vez afectó al perfil de aminoácidos y ácidos grasos). Por cada tratamiento, se establecieron tres réplicas que correspondían a tres tanques con 30 juveniles/tanque.

Cada 30 días, se tomaba una muestra representativa de cada réplica (el 50% del total) con objeto de registrar la longitud total y peso de cada individuo. Al finalizar, los experimentos, en todos los casos de 90 días, se midieron y pesaron individualmente los juveniles y se registró la biomasa final de cada tanque. Asimismo, se cuantificó el número de animales con deformidades externamente visibles, que afectaron mayoritariamente al opérculo y a la espina dorsal (Fotografías 16 y 17).



**Fotografía 16.** Juvenil de tenca con deformación del opérculo (Fuente: Departamento de Producción Animal).



**Fotografía 17.** Juvenil de tenca con deformación de la espina dorsal (Fuente: Departamento de Producción Animal).

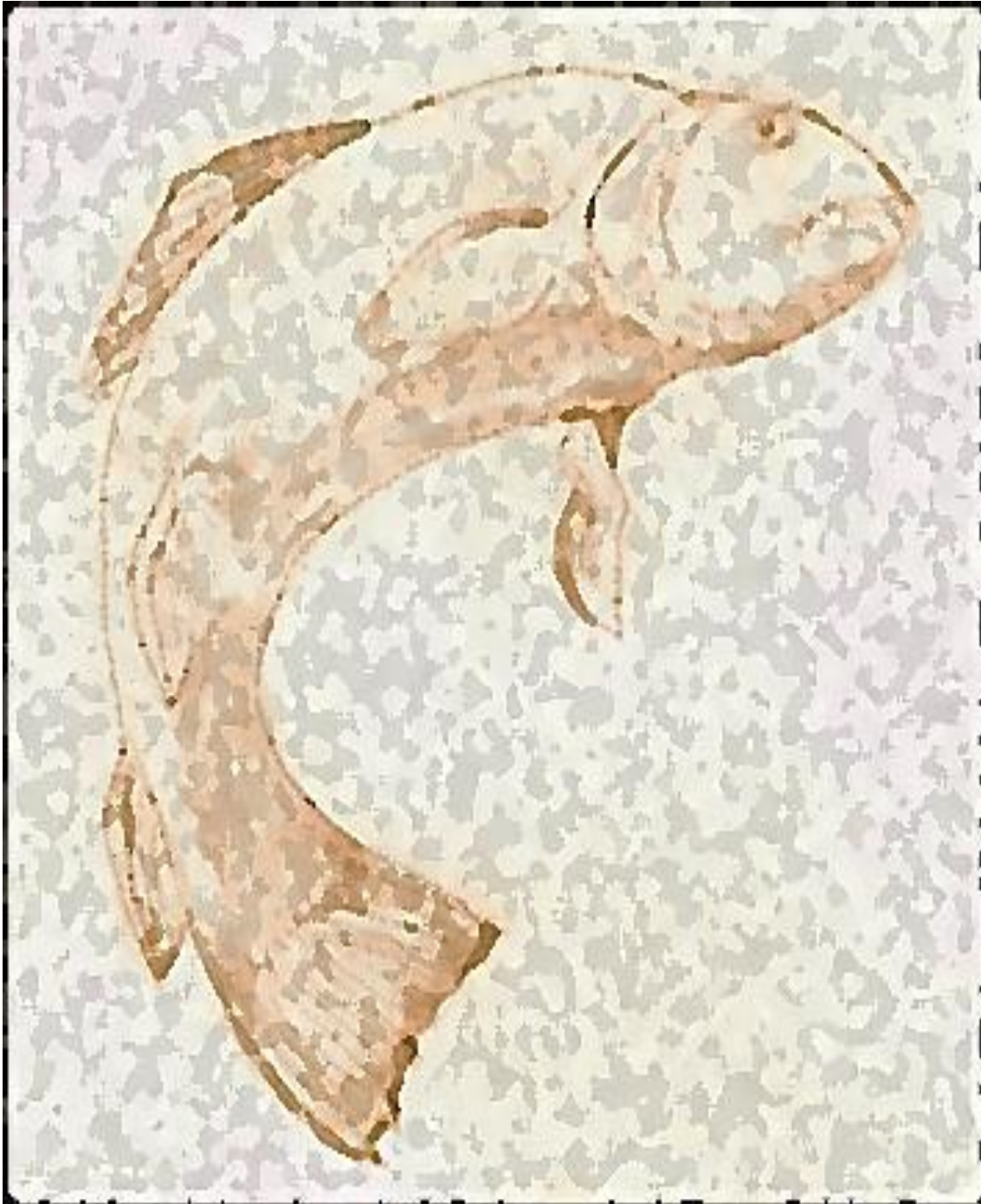
Con los resultados obtenidos se calcularon los siguientes índices:

- Porcentaje de supervivencia (%):  $n^{\circ}$  final de juveniles /  $n^{\circ}$  inicial de juveniles  $\times 100$ .
- Tasa de crecimiento específico, TCE (%) =  $(\ln P \text{ final (g)} - \ln P \text{ inicial (g)}) \times 100 / \text{días}$ .
- Índice de conversión del alimento, IC =  $\text{Alimento suministrado (g)} / (P \text{ final (g)} - P \text{ inicial (g)})$  (Fornshell y Hinshaw, 2008).
- Factor de condición,  $K = P \text{ final (mg)} / \text{LT (mm)}^3$ .
- Incremento de longitud total diario, ILT (mm/ día):  $\text{LT final} - \text{LT inicial} / \text{días}$
- Ganancia de biomasa, GB (g) =  $\text{Biomasa final por tanque} - \text{Biomasa inicial por tanque}$ .

Diariamente, se inspeccionaban cuidadosamente los tanques para verificar el correcto mantenimiento de las condiciones de experimentación, así como para retirar y anotar los animales muertos. Se hicieron observaciones sobre el consumo de alimentos y el comportamiento de los juveniles durante las tareas de suministro de alimentos y limpieza de tanques.

Para la realización de los estudios estadísticos, se utilizó el programa SPSS 16.0 (SPSS Inc. Chicago, ILL., USA). Las comparaciones entre los tratamientos de los diferentes experimentos fueron realizadas mediante un análisis de varianza (ANOVA) seguido por un análisis de contraste de polinomios y, en su caso, de regresión. La comparación de medias se llevó a cabo por el método Tukey y el nivel de significación establecido fue siempre  $p < 0.05$ . Los porcentajes fueron transformados al arcoseno previamente a los análisis estadísticos.

## 6. SECUENCIA DE EXPERIMENTACIÓN





## 6.1. ESTUDIO I: SUPERVIVENCIA, CRECIMIENTO Y COMPOSICIÓN CORPORAL DE JUVENILES DE TENCA (*Tinca tinca* L.) ALIMENTADOS CON DIETAS CON DIFERENTES PORCENTAJES DE SUSTITUCIÓN DE HARINA DE PESCADO POR CONCENTRADO DE PROTEÍNA DE SOJA SUPLEMENTADO CON METIONINA Y ARGININA.

**Growth and feed utilization of juvenile tench (*Tinca tinca* L.) given diets in which soy protein concentrate replaces fishmeal and methionine and arginine are used as amino acid supplements.**

José M. Carral, Teresa García, María Sáez-Royuela, Jesús D. Celada, Lidia Maraña

**Journal of Applied Aquaculture**  
<https://doi.org/10.1080/10454438.2021.1914266>

### 6.1.1. PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL

El concentrado proteico de soja (CPS) se ha incluido como sustituto de la harina de pescado en dietas de diversas especies piscícolas marinas y continentales, mostrando una gran variabilidad de resultados, dependiendo de la especie, el tamaño y la suplementación con aminoácidos (Tabla 1).

En juveniles de tenca, González-Rodríguez *et al.* (2014c) compararon ocho dietas prácticas con diferente nivel de sustitución de harina de pescado por CPS. Después de 90 días, el crecimiento fue similar en los juveniles alimentados con la dieta control y aquellos alimentados con dietas donde se sustituyó el 45% de harina de pescado (295 g CPS kg<sup>-1</sup>). Sin embargo, cuando recibieron dietas con mayor contenido de CPS (55 % al 100% de sustitución de harina de pescado), el crecimiento fue significativamente inferior. Al comparar el contenido de aminoácidos esenciales (AAE) de las dietas, se evidenció una disminución significativa de metionina y arginina con un nivel de sustitución del 55 % o superior, sugiriendo una posible deficiencia de ambos como la causa principal de la reducción del crecimiento.

Por ello, se planteó evaluar si la sustitución parcial (superior al 45%) o total de la harina de pescado con concentrado proteico de soja suplementado con metionina y arginina sería factible sin afectar la supervivencia y el crecimiento de juveniles de tenca.

### 6.1.2. Material y Métodos

Se realizó un experimento de 90 días en el que 630 juveniles de tenca de cuatro meses (LT inicial: 20.7 ± 0.14 mm; P medio inicial: 0.122 mg ± 0.005 mg) se alimentaron con siete dietas que diferían en el nivel de sustitución de harina de pescado por concentrado proteico de soja: 0% (dieta control), 45%, 55%, 65%, 75%, 85% o 100%, correspondientes a 0, 312, 383, 451.6, 521.7, 590 y 695 g CPS kg<sup>-1</sup> de dieta, respectivamente.

Según los datos proporcionados por las empresas, el CPS se obtuvo mediante la extracción con etanol acuoso de harina de soja, mientras que la harina de pescado procedía de anchoveta. Las siete dietas fueron formuladas para obtener un contenido similar de proteína y energía.

Bajo la hipótesis de una posible deficiencia de aminoácidos esenciales propuesta por González-Rodríguez *et al.* (2014c), las dietas se suplementaron con arginina y metionina a partir del nivel de sustitución del 55% con objeto de proporcionar la misma cantidad de AAE que la dieta control. La formulación de las dietas se incluye en la Tabla 2.

Tabla 1. Cantidad de concentrado de proteína de soja (CPS) incluida en la dieta sin efectos negativos en los parámetros de crecimiento en especies piscícolas marinas y continentales.

<b>Autores</b>	<b>Especies marinas</b>	<b>P inicial</b>	<b>CPS (g kg<sup>-1</sup>)</b>	<b>Suplementación AAE</b>
Day y González (2000)	Rodaballo ( <i>Scophthalmus maximus</i> )	13	185	Met
Deng et al. (2006)	Lenguado Japonés ( <i>Paralichthys olivaceus</i> )	2.45	≤ 159	Met, Lys, Leu, Val, Thr
Chatzifotis et al. (2008)	Dentón común ( <i>Dentex dentex</i> )	35.4-39.8	223.2	Tau
Li et al. (2015)	Lenguado estrellado ( <i>Platichthys stellatus</i> )	12.76	279.2	Met y Lys
Salze et al. (2010)	Cobia ( <i>Rachycentron canadum</i> )	81.7-104	494	Met, Lys y Tau
Raggi et al. (2019)	Cobia	122-132	210*	Met, Lys y Tau
Ngandzali et al. (2011)	Besugo negro ( <i>Acanthopagrus schlegelii</i> )	10.7	249.2	Ninguna
Kalhor et al. (2018)	Besugo negro	5.53	503.2	Met
Burr et al. (2012)	Salmón del Atlántico ( <i>Salmo salar</i> )	31.5	216.4*	Met, Lys, Thr, Tau
Quintero et al. (2012)	Pómpano de Florida ( <i>Trachinotus carolinus</i> )	8.2	120	Ninguna
Bowyer et al. (2013)	Pez rey cola amarilla ( <i>Seriola lalandi</i> )	5-10	200	Met y Lys
Wu et al. (2015)	Pómpano dorado ( <i>Trachinotus ovatus</i> )	14-14.8	160	Ninguna
Mohd Faudzi et al. (2018)	Mero híbrido ( <i>Epinephelus lanceolatus</i> x <i>E. fuscoguttatus</i> )	6.1	424	Tau
Chen et al. (2019)	Mero híbrido	8	90	Ninguna
Biswas et al. (2019)	Besugo rojo ( <i>Pagrus major</i> )	2	300	Tau
<b>Especies continentales</b>				
Kaushik et al. (1995)	Trucha arcoiris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	83	620	Met
Stickney et al. (1996)	Trucha arcoiris	12	325	Met, Lys y Tre
Mambrini et al. (1999)	Trucha arcoiris	103-105	319.5	Met
Vielma et al. (2000)	Trucha arcoiris	252	315*	Met y Lys
Barrows et al. (2007)	Trucha arcoiris	38	322.2	Met y Lys
Burr et al. (2012)	Trucha arcoiris	19.5	121.2	Met, Lys, Thr y Tau
Collins et al. (2012)	Trucha arcoiris	610.8	300	Met
Espirito Santo et al. (2015)	Tilapia del Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	10	493	Ninguna
Zhang et al. (2019)	Anguila de campo de arroz ( <i>Monopterus albus</i> )	25.6	255	Ninguna
Escaffre et al. (1997)	Carpa común ( <i>Cyprinus carpio</i> )	0.62	200-400	Ninguna
González-Rodríguez et al. (2014b)	Tenca ( <i>Tinca tinca</i> )	0.4	285	Ninguna

\* Cantidad máxima de CPS de las dietas usadas en el estudio.

**Tabla 2.** Formulación de las dietas prácticas con diferentes niveles de sustitución de harina de pescado por concentrado proteico de soja (CPS) ( $\text{g kg}^{-1}$  dieta).

Ingredientes ( $\text{g kg}^{-1}$ )	% Sustitución					
	0	45	65	75	85	100
Harina de pescado <sup>a</sup>	645	355	226	161	97	0
Concentrado proteico de soja <sup>b</sup>	0	312	451.6	521.7	590	690
Harina de maíz <sup>c</sup>	1556	131.5	102.7	94.5	86.8	75.1
Quistes <i>Artemia</i> decapsulados <sup>d</sup>	100	100	100	100	100	100
Carboximetilcelulosa <sup>e</sup>	30	30	30	30	30	30
Aceite de hígado de bacalao <sup>f</sup>	30	30	30	30	30	30
L-ascorbil-2-monofosfato-Na <sup>g</sup>	5	5	5	5	5	5
Fosfato dicálcico <sup>g</sup>	10	10	10	10	10	10
Cloruro de colina <sup>g</sup>	3	3	3	3	3	3
Lecitina de soja <sup>h</sup>	11	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5
Cloruro sódico <sup>i</sup>	1	1	1	1	1	1
Premix vitamínico-mineral <sup>j</sup>	10	10	10	10	10	10
Metionina <sup>g</sup>	0	0	9.2	10.3	11.7	13.4
Arginina <sup>g</sup>	0	0	9	11	13	15

<sup>a</sup>Skretting España S.A., Ctra. de la Estación s/n 09620 Cojóbar. Burgos. España.

<sup>b</sup>C.D.A. S.L., Pol. Ind. El Estanquillo. Burguillos. Sevilla. España.

<sup>c</sup>Adpan Europa S.L., ES-33186 El Berrón. Siero. Asturias. España.

<sup>d</sup>INVE Aquaculture Nutrition. Hoogyeld 91. Dendermonde. Bélgica.

<sup>e</sup>Helm Iberica S.A., ES-28108 Alcobendas. Madrid. España.

<sup>f</sup>Acofarma distribution S.A., ES-08223 Terrassa. Barcelona. España.

<sup>g</sup>Cargill, ES-28720 Colmenar Viejo. Madrid. España.

<sup>h</sup>Biover N.V., Monnikenwerve 109. B-8000 Brugge. Bélgica.

<sup>i</sup>Unión Salinera de España S.A., ES-28001 Madrid. España.

<sup>j</sup>Premix de minerales y vitaminas ( $\text{mg kg}^{-1}$ ): inositol, 50000; tiamina, 500; riboflavina, 800; niacina, 5000; piridoxina, 1500; ácido pantoténico, 5000; biotina, 150; ácido fólico, 3500; cianocobalamina, 5; retinol, 2400;  $\alpha$ -tocoferol, 30000; colexcalciferol, 6.25; naftoquinona, 5000; hidroxitolueno butilado, 1500;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 300000;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 11000;  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 4000;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 1180;  $\text{CoSO}_4$ , 26;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 77400; KI, 340;  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ , 68.

### 6.1.3. RESULTADOS

La composición proximal y el perfil de aminoácidos de las principales fuentes proteicas incluidas en las dietas se presentan en la Tabla 3.

El análisis proximal y el perfil de aminoácidos de las dietas se recogen en las Tablas 4 y 5. Se observó una reducción lineal significativa del contenido de lípidos y cenizas cuando aumentó la inclusión de CPS. Cuando el porcentaje de sustitución de harina de pescado aumentó, el contenido de histidina, lisina y tirosina disminuyó, mientras que el de leucina, fenilalanina, aspartato, cisteína, glutamato y prolina aumentó ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 3.** Composición proximal y perfil de aminoácidos de la harina de pescado (HP) y del concentrado proteico de soja (CPS) (g kg<sup>-1</sup>). Los análisis se realizaron por duplicado.

<b>Composición proximal</b>	<b>HP</b>	<b>CPS</b>
Humedad	75 ± 2.8	72 ± 2.8
Proteína bruta	668 ± 11.3	620 ± 7.1
Lípidos totales	96 ± 5.6	8.0 ± 0.7
Carbohidratos	–	198 ± 7.1
Cenizas	161 ± 4.2	68.0 ± 5.6
Energía (MJ)	14.0 ± 0.1	13.6 ± 0.2
<b>Aminoácidos esenciales</b>		
Arginina	57.2 ± 0.3	41.0 ± 0.3
Histidina	36.0 ± 0.6	29.5 ± 0.6
Isoleucina	23.3 ± 0.4	25.0 ± 0.3
Leucina	44.3 ± 0.4	55.2 ± 0.6
Lisina	51.5 ± 0.7	42.0 ± 1.1
Metionina	28.2 ± 0.4	8.7 ± 0.6
Fenilalanina	28 ± 0.6	39.5 ± 0.7
Treonina	24.1 ± 0.4	26.0 ± 0.4
Triptófano	7.1 ± 0.3	9.8 ± 0.7
Valina	28.2 ± 0.3	31.5 ± 0.6
<b>Aminoácidos no esenciales</b>		
Alanina	43.4 ± 0.6	33.0 ± 0.4
Aspartato	67.8 ± 1.0	80 ± 1.3
Cisteína	6.0 ± 0.1	10.4 ± 0.3
Glutamato	85.4 ± 0.7	130.0 ± 3.5
Glicina	48.9 ± 1.1	27.7 ± 0.8
Prolina	28.4 ± 0.6	42.0 ± 1.1
Serina	30.5 ± 0.7	37.6 ± 0.6
Tirosina	23.1 ± 0.4	22.0 ± 0.6

Valores: media ± desviación estándar.

A partir de las observaciones del comportamiento de los juveniles, las dietas fueron ingeridas por igual durante todo el experimento, independientemente de la cantidad de CPS. Al comienzo del experimento, se observó un comportamiento anormal (natación lateral cerca de la superficie del agua y de forma errática) e hinchazón abdominal, que afectaba a los juveniles alimentados con las dietas con 65–100% de sustitución (12.2 %, 23.3 %, 21.1 % y 17.8 % de peces, respectivamente). Los síntomas desaparecieron espontáneamente después de un período promedio de 20 días, sin mortalidad.



**Tabla 4.** Composición proximal de la dieta control y las dietas con diferentes niveles de sustitución de harina de pescado por concentrado proteico de soja (CPS) ( $\text{g kg}^{-1}$  de pienso). Los análisis se realizaron por duplicado.

% Sustitución	0	45	55	65	75	85	100	ESM	ANOVA
Humedad	74.5	74.2	74.1	73.8	74.6	75.6	74.6	1.33	1.000
Proteína	495.3	492.5	493.1	493.2	492.2	493.2	493.5	1.95	1.000
Lípidos	108.1 <sup>a</sup>	98.0 <sup>ab</sup>	92.0	89.0 <sup>bc</sup>	85.6 <sup>bc</sup>	79.5 <sup>c</sup>	73.7 <sup>c</sup>	3.09	0.003
Carbohidratos	188.7 <sup>a</sup>	234.8 <sup>b</sup>	246.2 <sup>b</sup>	253.8 <sup>bc</sup>	263.9 <sup>bcd</sup>	280.7 <sup>cd</sup>	295.4 <sup>c</sup>	9.14	0.000
Cenizas	133.4 <sup>a</sup>	100.5 <sup>b</sup>	94.6 <sup>b</sup>	90.2 <sup>b</sup>	83.7 <sup>bc</sup>	74.0 <sup>bc</sup>	62.8 <sup>c</sup>	5.95	0.000
Energía (MJ/kg)	15.6	15.4	15.3	15.3	15.3	15.3	15.1	0.20	0.953

Valores presentados como medias. ESM: error estándar de la media combinado.

La ausencia de superíndices dentro de una fila representa diferencias no significativas ( $p > 0.05$ ).

Las diferencias de crecimiento entre los juveniles alimentados con diferentes dietas no fueron significativas después de 30 días (valores medios de LT y P = 27.02–28.12 mm; 0.32–0.37 g) ni después de 60 días de experimento (valores medios de LT y P 32.20–37.01 mm; 0.56–0.68 g). Se lograron aumentos medios de LT del 33% y 67% después de 30 y 60 días, respectivamente. El peso casi se triplicó a los 30 días, mientras que a los 60 días fue 5 veces mayor.

Las tasas de supervivencia, los datos de crecimiento y el porcentaje de animales con deformidades externamente visibles tras 90 días se presentan en la Tabla 6. No hubo diferencias entre las tasas de supervivencia, que fueron cercanas al 100%. Con respecto al crecimiento, los juveniles alimentados con la dieta control y con las dietas de sustitución de 45% y 55% (312 y 383 CPS  $\text{kg}^{-1}$ , respectivamente) alcanzaron una LT significativamente más alta que aquellos alimentados con mayores porcentajes de sustitución. En cuanto al peso, solo se encontraron diferencias significativas entre la dieta control y la del 75% de sustitución. El ILT y el TCE mostraron una disminución significativa cuando los animales fueron alimentados con niveles de sustitución del 65 % y superiores. No hubo diferencias significativas entre los tratamientos para K (1.31–1.37). El porcentaje de peces con deformidades externamente visibles estuvo entre 0% y 9.3% con mayor incidencia ( $p < 0.05$ ) en los tratamientos de 75%, 85% y 100% de sustitución. Las deformidades afectaron al opérculo y a la espina dorsal en su zona caudal.

La Tabla 7 recoge los datos de composición proximal y el perfil de aminoácidos en el cuerpo entero de los juveniles al principio y al final del experimento.

**Tabla 5.** Perfil de aminoácidos de la dieta control y de las dietas con diferentes niveles de sustitución de harina de pescado por concentrado proteico de soja (CPS) (g kg<sup>-1</sup> de pienso). Los análisis se realizaron por duplicado.

% Sustitución	0	45	55	65	75	85	100	ESM	ANOVA
<b>AAE</b>									
<b>Arg</b>	45.0 <sup>a</sup>	37.2 <sup>b</sup>	45.4 <sup>a</sup>	45.3 <sup>a</sup>	45.25 <sup>a</sup>	45.4 <sup>a</sup>	45.3 <sup>a</sup>	0.80	0.000
<b>His</b>	23.8 <sup>a</sup>	21.7 <sup>b</sup>	21.9 <sup>bc</sup>	20.5 <sup>bcd</sup>	20.2 <sup>cd</sup>	19.7 <sup>d</sup>	18.9 <sup>d</sup>	0.43	0.000
<b>Ile</b>	15.6	15.7	15.8	15.9	15.9	16.1	15.9	0.27	0.000
<b>Leu</b>	31.7 <sup>a</sup>	32.3 <sup>ab</sup>	32.8 <sup>bc</sup>	33.1 <sup>bcd</sup>	33.7 <sup>cd</sup>	34.0 <sup>d</sup>	35.1 <sup>e</sup>	0.30	0.000
<b>Lys</b>	34.6 <sup>a</sup>	30.8 <sup>b</sup>	30.0 <sup>bc</sup>	29.3 <sup>c</sup>	28.7 <sup>cd</sup>	27.8 <sup>de</sup>	26.8 <sup>e</sup>	0.65	0.000
<b>Met</b>	20.8 <sup>a</sup>	13.4 <sup>b</sup>	20.6 <sup>a</sup>	20.7 <sup>a</sup>	20.6 <sup>a</sup>	20.7 <sup>a</sup>	20.6 <sup>a</sup>	0.71	0.000
<b>Phe</b>	20.6 <sup>a</sup>	21.4 <sup>ab</sup>	22.0 <sup>bc</sup>	22.8 <sup>cd</sup>	23.5 <sup>de</sup>	24.1 <sup>ef</sup>	24.9 <sup>f</sup>	0.40	0.000
<b>Thr</b>	16.2	16.4	16.3	16.4	16.5	16.6	16.5	0.67	0.909
<b>Trp</b>	4.6	4.4	4.7	4.8	4.9	5.0	5.2	0.08	0.159
<b>Val</b>	19.2	19.4	19.4	19.7	19.8	19.9	20.1	0.09	0.052
<b>AANE</b>									
<b>Ala</b>	27.2 <sup>a</sup>	25.4 <sup>b</sup>	24.6 <sup>c</sup>	23.7 <sup>d</sup>	22.9 <sup>e</sup>	22.3 <sup>e</sup>	21.2 <sup>f</sup>	0.52	0.000
<b>Asp</b>	47.3 <sup>a</sup>	47.6 <sup>a</sup>	47.9 <sup>ab</sup>	48.9 <sup>bc</sup>	49.3 <sup>c</sup>	50.0 <sup>cd</sup>	50.9 <sup>d</sup>	0.35	0.000
<b>Cys</b>	4.2 <sup>a</sup>	5.2 <sup>b</sup>	5.5 <sup>b</sup>	5.8 <sup>bc</sup>	6.0 <sup>bc</sup>	6.1 <sup>bc</sup>	6.7 <sup>c</sup>	0.21	0.001
<b>Glu</b>	47.9 <sup>a</sup>	68.1 <sup>b</sup>	70.7 <sup>c</sup>	73.6 <sup>d</sup>	75.8 <sup>e</sup>	78.6 <sup>f</sup>	82.6 <sup>g</sup>	2.90	0.000
<b>Gly</b>	42.5 <sup>a</sup>	25.8 <sup>b</sup>	24.2 <sup>c</sup>	22.8 <sup>c</sup>	21.3 <sup>d</sup>	19.8 <sup>e</sup>	17.7 <sup>f</sup>	2.11	0.000
<b>Pro</b>	21.2 <sup>a</sup>	22.3 <sup>b</sup>	23.2 <sup>bc</sup>	23.9 <sup>cd</sup>	24.7 <sup>de</sup>	25.3 <sup>e</sup>	26.7 <sup>f</sup>	0.48	0.000
<b>Ser</b>	21.9 <sup>a</sup>	22.3 <sup>a</sup>	21.9 <sup>a</sup>	22.8 <sup>ab</sup>	23.1 <sup>ab</sup>	23.4 <sup>ab</sup>	23.9 <sup>b</sup>	0.21	0.010
<b>Tyr</b>	10.2 <sup>a</sup>	14.9 <sup>b</sup>	14.6 <sup>b</sup>	14.7 <sup>ab</sup>	14.3 <sup>b</sup>	14.2 <sup>b</sup>	14.0 <sup>b</sup>	0.42	0.000

Valores presentados como medias. ESM: error estándar combinado de la media.  
La ausencia de superíndices dentro de una fila representa diferencias no significativas ( $p > 0.05$ ).

La inclusión de CPS condujo a una disminución significativa en el contenido de lípidos en comparación con los peces alimentados con la dieta control. Aunque las dietas proporcionaron un contenido significativamente diferente de seis AAE y de todos los AANE (Tabla 5), el perfil corporal de aminoácidos solo se vio afectado en lisina, aspartato y cisteína.

**Tabla 6.** Tasa de supervivencia, resultados de crecimiento y porcentaje de deformidades externamente visibles en juveniles de tenca alimentados con dietas con diferentes niveles de sustitución de harina de pescado por concentrado proteico de soja (CPS) tras 90 días.

% Sustitución								Contraste polinómico		
	0	45	55	65	75	85	100	ESM	ANOVA	Lineal
Supervivencia (%)	99.0	97.9	97.9	99.0	97.8	99.0	99.0	0.466	0.983	0.795
LT (mm)	45.24 <sup>a</sup>	44.47 <sup>a</sup>	45.20 <sup>a</sup>	42.75 <sup>b</sup>	42.57 <sup>b</sup>	42.83 <sup>b</sup>	42.94 <sup>b</sup>	0.209	0.000	0.000
P (g)	1.31 <sup>a</sup>	1.28 <sup>a</sup>	1.30 <sup>a</sup>	1.12 <sup>ab</sup>	1.06 <sup>b</sup>	1.13 <sup>ab</sup>	1.12 <sup>ab</sup>	0.199	0.001	0.000
TCE (% día <sup>-1</sup> ) <sup>A</sup>	2.54 <sup>a</sup>	2.52 <sup>ab</sup>	2.53 <sup>a</sup>	2.36 <sup>b</sup>	2.34 <sup>b</sup>	2.42 <sup>b</sup>	2.40 <sup>b</sup>	0.017	0.002	0.001
ILT (mm día <sup>-1</sup> ) <sup>B</sup>	0.27 <sup>a</sup>	0.26 <sup>ab</sup>	0.27 <sup>a</sup>	0.24 <sup>b</sup>	0.24 <sup>b</sup>	0.24 <sup>b</sup>	0.25 <sup>b</sup>	0.002	0.000	0.000
K <sup>C</sup>	1.33	1.37	1.32	1.34	1.32	1.31	1.35	0.006	0.162	0.428
IC <sup>D</sup>	1.27	1.32 <sup>a</sup>	1.29	1.41	1.46	1.38	1.41	0.267	0.072	0.047
Peces deformes (%)	0 <sup>a</sup>	3.2 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>	3.2 <sup>b</sup>	8.6 <sup>c</sup>	9.3 <sup>c</sup>	9.3 <sup>c</sup>	1.083	0.012	0.000

Valores presentados como medias. ESM: error estándar de la media combinado. La ausencia de superíndices en la misma fila representa diferencias no significativas entre tratamientos ( $p > 0.05$ ).

<sup>A</sup> Tasa de crecimiento específico (% d<sup>-1</sup>) =  $100 \times [(\ln P \text{ final} - \ln P \text{ inicial}) \times \text{días}^{-1}]$ .

<sup>B</sup> Incremento diario de longitud total (mm día<sup>-1</sup>) = (LT final-LT inicial) x días<sup>-1</sup>

<sup>C</sup> Factor de condición =  $100 \times (P \times \text{LT}^{-3})$ .

<sup>D</sup> Índice de conversión del alimento = total alimento suministrado x ganancia de peso<sup>-1</sup>.

#### 6.1.4. DISCUSIÓN

El nivel de inclusión de CPS en dietas sin efectos negativos en el crecimiento muestra una gran variabilidad entre especies. En peces marinos, los valores oscilan entre 90 (Chen et al. 2019) y 503 g kg<sup>-1</sup> (Kalhor et al. 2018), mientras que en peces de agua dulce se encuentran entre 121.2 (Burr et al. 2012) y 620 g kg<sup>-1</sup> (Kaushik et al. 1995). En nuestro estudio, los juveniles de tenca toleraron hasta 383 g kg<sup>-1</sup> de CPS, valor cercano a los más elevados en otras especies carnívoras.

Según las revisiones de Daniel (2018) y Gyan et al (2019), las principales limitaciones para el uso de harina de soja como sustituto de la harina de pescado en alimentos acuícolas son la baja palatabilidad, la composición desequilibrada de aminoácidos esenciales, la presencia de factores antinutricionales y la baja digestibilidad. De acuerdo con nuestras observaciones, los juveniles de tenca aceptaron por igual todas las dietas y, por tanto, parece que la inclusión de CPS no afectó a la palatabilidad. Este hecho podría estar relacionado con la eliminación del sabor amargo durante el proceso de producción de CPS mediante la extracción acuosa con etanol a partir de la harina de soja

(Morr y Ha 1991) y su consiguiente mejora en la palatabilidad (Gatlin et al., 2007; Cruz-Suárez et al., 2009), haciendo las dietas atractivas para la tenca.

**Tabla 7.** Composición proximal y perfil de aminoácidos del cuerpo entero de juveniles de tenca alimentados con dietas con diferentes niveles de sustitución de harina de pescado por concentrado proteico de soja (CPS) (g kg<sup>-1</sup>). Los análisis se realizaron por duplicado.

	% Sustitución								ESM	ANOVA	Contraste polinómico
	Inicial <sup>a</sup>	0	45	55	65	75	85	100			
Humedad	782.0±11.5	744.0	748.8	755.3	764.1	760.2	757.6	743.0	2.72	0.246	0.371
Proteína	144.8±7.3	162.9	161.1	161.2	162.4	160.3	165.5	159.7	1.13	0.928	0.833
Lípidos	34.2±2.8	66.2 <sup>a</sup>	49.3 <sup>b</sup>	50.4 <sup>b</sup>	50.2 <sup>b</sup>	50.5 <sup>b</sup>	48.3 <sup>b</sup>	48.1 <sup>b</sup>	1.80	0.018	0.001
Cenizas	25.1±2.7	25.6	25.3	23.8	23.6	21.1	21.5	21.6	0.67	0.410	0.053
<b>AAE</b>											
Arginina	10.6±0.3	11.5	11.1	11.4	11.4	11.3	11.5	11.5	0.76	0.874	0.856
Histidina	5.6±0.3	7.5	7.7	7.0	7.6	7.0	6.8	6.6	0.13	0.109	0.024
Isoleucina	2.6±0.3	4.5	3.9	4.3	4.4	4.3	4.5	4.4	0.09	0.656	0.868
Leucina	8.7±0.4	10.5	9.9	10.2	10.4	10.2	10.8	10.9	0.13	0.424	0.298
Lisina	13.2±0.4	16.6 <sup>ab</sup>	15.6 <sup>b</sup>	16.2 <sup>ab</sup>	16.5 <sup>ab</sup>	17.1 <sup>ab</sup>	17.2 <sup>ab</sup>	17.6 <sup>a</sup>	0.19	0.027	0.014
Metionina	2.6±0.1	4.9	4.3	4.8	4.4	4.1	4.5	4.9	0.11	0.395	0.577
Fenilalanina	5.7±0.4	6.2	5.8	5.9	6.3	6.3	6.5	6.8	0.10	0.124	0.048
Treonina	4.3±0.4	4.3	4.6	4.4	4.4	5.1	5.3	5.4	0.14	0.052	0.006
Triptófano	0.1±0.0	0.7	0.7	0.7	0.6	0.6	0.6	0.6	0.02	0.792	0.214
Valina	5.0±0.1	5.1	5.0	5.5	5.6	5.5	5.8	5.6	0.09	0.227	0.037
<b>AANE</b>											
Alanina	8.1±0.3	10.1	9.9	9.2	9.3	9.8	10.1	10.0	0.11	0.069	0.842
Aspartato	12.7±0.3	15.4 <sup>a</sup>	15.6 <sup>a</sup>	16.4 <sup>ab</sup>	16.5 <sup>ab</sup>	17.3 <sup>bc</sup>	17.8 <sup>bc</sup>	18.1 <sup>c</sup>	0.28	0.001	0.000
Cisteina	0.9±0.1	1.8 <sup>a</sup>	1.5 <sup>ab</sup>	1.2 <sup>ab</sup>	0.9 <sup>b</sup>	1.1 <sup>ab</sup>	0.8 <sup>b</sup>	0.7 <sup>b</sup>	0.11	0.012	0.000
Glutamato	17.5±0.4	22.9	20.2	23.2	22.5	20.6	20.5	22.6	0.60	0.783	0.669
Glicina	8.1±0.3	9.0	8.8	8.7	7.22	7.4	7.6	7.8	0.21	0.012	0.002
Prolina	5.8±0.1	6.2	6.1	6.0	5.8	5.8	6.1	6.2	0.08	0.726	0.696
Serina	6.1±0.4	6.8	6.7	6.7	6.6	6.8	6.9	7.1	0.09	0.913	0.555
Tirosina	2.6±0.1	4.0	3.9	3.9	3.6	3.2	3.4	3.6	0.98	0.246	0.053

<sup>a</sup> Los datos iniciales no se incluyeron en el análisis estadístico. Valores presentados como medias.

ESM: error estándar combinado de la media. La ausencia de superíndices dentro de una fila representa diferencias no significativas entre tratamientos ( $p > 0.05$ ).

Además de las diferencias interespecíficas y la palatabilidad, la suplementación con aminoácidos esenciales determina la cantidad de CPS que puede incluirse en las dietas para especies piscícolas sin generar efectos negativos sobre el crecimiento en especies piscícolas. La metionina es el primer aminoácido limitante cuando se incluyen altos

niveles de proteína de soja en la dieta (Furuya et al., 2004) y, por lo tanto, la suplementación puede mitigar los efectos negativos de una elevada inclusión. En este sentido, Mambrini et al. (1999) afirmaron que la suplementación con metionina revirtió parcialmente los efectos adversos sobre el crecimiento en truchas arcoíris alimentadas con dietas de elevado contenido en CPS. También Kalhor et al. (2018) atribuyeron parcialmente a la suplementación con metionina los buenos resultados obtenidos en los juveniles de dorada de cabeza negra (*Acanthopagrus schlegelii*) alimentados con dietas con alto porcentaje (82.5 %) de sustitución de harina de pescado por CPS. Según González-Rodríguez et al. (2014c), los juveniles de tenca toleraron hasta 285 g kg<sup>-1</sup> de inclusión de CPS, mientras que en el presente experimento no se observaron diferencias significativas en el crecimiento con la inclusión de 383 g kg<sup>-1</sup> (55% sustitución) y con la dieta control y con 45 % de sustitución. Considerando que el contenido de metionina y arginina en la dieta 45% fue significativamente menor que en el resto, la posibilidad de reemplazar mayores cantidades de harina de pescado sin efectos adversos sobre el crecimiento no puede atribuirse a la suplementación de aminoácidos, lo que nos lleva a considerar que en todas las dietas el contenido de ambos AAE necesario para cubrir los requerimientos de los juveniles era adecuado.

Teniendo en cuenta los datos de González-Rodríguez et al. (2014c) y los del presente estudio, para cubrir los requerimientos de juveniles de tenca, la dieta debe aportar al menos 10 g kg<sup>-1</sup> de metionina, valor cercano al recomendado (NRC, 2011) para la carpa mrigal (*Cirrhinus mrigala*) y la perca amarilla (*Perca fluviatilis*). Respecto a la arginina, la cantidad mínima suministrada (37.2 g kg<sup>-1</sup>) superaba ampliamente las necesidades de especies de agua dulce (NRC, 2011) como la carpa común (*Cyprinus carpio*), la perca amarilla, el bagre de canal (*Ictalurus punctatus*), la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) o la trucha arco iris. Por tanto, la suplementación con este aminoácido parece ser innecesaria.

Aunque la producción del CPS implica una gran reducción de los factores antinutricionales (Peisker 2001; Bowyer et al. 2013; Gyan et al. 2019), algunos con efectos negativos sobre la utilización y digestión de proteínas, como el inhibidor de tripsina, el ácido fítico, el antígeno de glicinina y oligosacáridos, todavía están presentes (Zhou et al. 2018). Además, la inclusión de CPS en las dietas puede inducir cambios en la microbiota intestinal que conducen a trastornos intestinales, como señalaron Green et al (2013) en el salmón del Atlántico. Ambos factores podrían haber causado el comportamiento anómalo observado en juveniles de tenca alimentados con cantidades elevadas de CPS al inicio del experimento (natación lateral y errática próxima a la superficie del agua) y la hinchazón abdominal, compatible con el proceso conocido como enteritis inducida por la ingestión de harina de soja (Baeverfjord y Krogdahl 1996; Gu et al. 2016; Booman et al. 2018). De forma similar a los señalado por Urán et al. (2008) en la carpa común, los síntomas desaparecieron espontáneamente tras un período medio de 20 días sin causar mortalidad. Sin embargo, González-Rodríguez et al. (2014c) no señalaron este problema incluso con la sustitución total de harina de pescado. Teniendo en cuenta que los animales jóvenes son más vulnerables a los factores antinutricionales de la dieta (Dersjant-Li, 2002), la diferente respuesta en ambos experimentos podría estar relacionada con la edad/tamaño de los juveniles. De hecho, el presente experimento se inició con animales más jóvenes/pequeños (4 meses, peso inicial 0.11 g) que el realizado por González-Rodríguez et al. (2014c) con juveniles de 5 meses y 0.4 g de peso.

En un estudio para evaluar los requerimientos lipídicos de los juveniles de tenca, Sáez-Royuela et al. (2015) obtuvieron los mejores valores de crecimiento con contenidos de lípidos totales entre 84.7 y 118 g kg<sup>-1</sup> de dieta. En el presente experimento, la inclusión de CPS determinó una disminución significativa del contenido de lípidos, si bien únicamente las dietas 85% y 100% de sustitución de harina de pescado proporcionaron cantidades inferiores (79.5 y 73.7 g kg<sup>-1</sup> respectivamente) a las recomendadas por los mencionados autores. No obstante, debido a que no se encontraron diferencias en la



LT, la TCE y el ILT entre dietas con 65% y dietas con porcentajes de sustitución de pescado superiores, el contenido de lípidos no parece ser la causa del menor crecimiento registrado.

Puesto que no pudo medirse la cantidad de pienso ingerido, el índice de conversión del alimento se calculó según Fornshell y Hinshaw (2008), considerando la cantidad suministrada. Como los juveniles se alimentaron hasta conseguir una aparente saciedad y, por lo tanto, una pequeña cantidad de pienso no fue consumida, este índice fue sobrevalorado. No obstante, los datos pueden compararse con los de González-Rodríguez et al. (2014c) quienes comprobaron un aumento significativo del IC cuando las dietas incluían niveles de sustitución de harina de pescado del 55% o superiores, coincidiendo con un contenido de metionina por debajo de  $10 \text{ g kg}^{-1}$  de dieta. En el presente estudio, aunque el IC empeoró cuando aumentó el concentrado de proteína de soja, no se encontraron diferencias significativas entre las dietas.

De acuerdo con Jobling (2001), Sargent et al. (2002) y Sáez-Royuela et al. (2015), el contenido de lípidos de las dietas está correlacionado con la composición corporal. Así, la disminución de lípidos en las dietas con concentrado proteico de soja (Tabla 4) supuso una disminución significativa de los lípidos en los juveniles de tenca en comparación con los alimentados con la dieta control (Tabla 6).

Coincidiendo con un menor contenido corporal de cenizas, los porcentajes de juveniles de tenca con deformidades externamente visibles fueron mayores en las dietas con 75%, 85% y 100% de sustitución de harina de pescado. En salmón del Atlántico, según Storebakken et al. (1998), las dietas basadas en concentrados de soja tienen poca disponibilidad de fósforo, lo que conduce a una cantidad reducida de este mineral en el cuerpo de los peces. Dado que el fósforo juega un papel relevante en la incidencia de deformidades esqueléticas (Baeverfjord et al. 2019), el aumento de tencas juveniles deformes podría atribuirse a su baja disponibilidad en dietas con un alto contenido de CPS.

En resumen, ni la suplementación con metionina y arginina, ni la reducción del contenido de lípidos explican el menor crecimiento en juveniles de tenca alimentados con dietas con alto contenido en concentrado proteico de soja (sustitución de harina de pescado del 65% y superior), siendo probablemente la tolerancia a la proteína de origen vegetal la principal causa de reducción del crecimiento.

## 6.2. ESTUDIO II: RESPUESTA DE JUVENILES DE TENCA (*Tinca tinca* L.) A DIETAS PRÁCTICAS CON DIFERENTES NIVELES DE SUSTITUCIÓN DE HARINA DE PESCADO POR CONCENTRADO PROTEICO DE GUISANTE SUPLEMENTADO CON METIONINA

Juvenile tench (*Tinca tinca* L.) response to practical diets with different replacement levels of fish meal by pea protein concentrate supplemented with methionine.

José M. Carral | Teresa García | María Sáez-Royuela | Jesús D. Celada

Aquaculture Research. 2021; 00:1–10.  
<https://10.1111/are.15394>

### 6.2.1. PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL

Entre las fuentes de proteína vegetal, el concentrado proteico de guisante (CPG) es una alternativa a la harina de pescado (Gatlin et al., 2007; Hartviksen et al., 2014)

En juveniles de tenca, González-Rodríguez et al. (2016a) obtuvieron un crecimiento similar en juveniles alimentados con una dieta control (sin CPG) y aquellos alimentados con dietas con sustitución de harina de pescado hasta el 35% (290.4 g CPG kg<sup>-1</sup> de dieta). Sin embargo, cuando se sustituyó el 45% (373.3 g CPG kg<sup>-1</sup> de dieta), el crecimiento se redujo. Al comparar el contenido de AAE's de las dietas, la disminución de metionina en la dieta de sustitución del 45% fue significativa, sugiriendo una posible deficiencia de este aminoácido como la causa principal del menor crecimiento. Sobre esta base, el objetivo del presente estudio fue evaluar las posibilidades de incrementar los niveles de sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de guisante en dietas suplementadas con metionina.

### 6.2.2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un experimento de 90 días en el que 540 juveniles de tenca de cuatro meses (longitud media inicial: 30.7 ± 0.43 mm; peso medio inicial: 0.390 mg ± 0.002 mg) fueron alimentados con seis dietas (50 % de proteína) que diferían en el nivel de sustitución de harina de pescado por concentrado proteico de guisante (CPG): 0 % (dieta control), 35 %, 45 %, 60 %, 75 % y 85 %, respectivamente, correspondiendo a 0, 285, 366, 487, 608 y 685.4 g CPG kg<sup>-1</sup> de dieta, respectivamente. Para proporcionar la misma cantidad que la dieta control, se incluyó metionina a partir del nivel de sustitución del 45%.

La Tabla 1 muestra la composición proximal y el perfil de aminoácidos esenciales de la harina de pescado y del concentrado proteico de guisante. La formulación de las dietas se incluye en la Tabla 2.

**Tabla 1.** Composición proximal y perfil de aminoácidos de la harina de pescado (HP) y del concentrado de proteico de guisante (CPG) (g kg<sup>-1</sup>dieta). El análisis se realizó por duplicado.

<b>Composición proximal</b>	<b>HP</b>	<b>CPG</b>
Humedad	75±1.4	96±3.9
Proteína	668±3.1	535±2.5
Lípidos	96±3.0	53.5±2.1
Carbohidratos	0	254.8±4.0
Cenizas	161±4.6	60.7±2.7
<b>AAE</b>		
Arginina	38.1±1.1	36.5±2.8
Histidina	18.6±2.4	8.4±1.4
Isoleucina	23.3±1.9	21.2±2.0
Leucina	44.3±3.3	32.9±2.6
Lisina	51.2±4.0	31.4±2.4
Metionina	19.2±2.2	7.5±1.0
Fenilalanina	28.0±2.3	27.0±2.0
Treonina	24.1±2.1	22.7±2.3
Triptófano	7.1±1.1	5.2±0.8
Valina	28.2±2.4	22.2±2.0
<b>AANE</b>		
Alanina	43.4±3.1	28.6±2.1
Aspartato	67.8±4.2	61.2±4.4
Cisteína	6.0±0.9	1.6±0.3
Glutamato	85.4±5.1	79.0±4.8
Glicina	48.9±3.9	27.5±2.6
Prolina	47.1±2.2	24.3±2.1
Serina	30.5±3.0	29.1±2.6
Tirosina	23.1±1.9	18.0±1.4

Valores presentados como media ± desviación estándar.

**Tabla 2.** Formulación de las dietas con diferentes niveles de sustitución de harina de pescado por concentrado proteico de guisante ( $\text{g kg}^{-1}$  dieta).

Ingredientes ( $\text{g kg}^{-1}$ )	% Sustitución					
	0	35	45	60	75	85
Harina de pescado <sup>1</sup>	645	419	354	258	161.2	95
CPG <sup>2</sup>	-	285	366	487	608	685.4
Harina de maíz <sup>3</sup>	166	116	88	62	37.3	25.1
Quistes secos de <i>Artemia</i> <sup>4</sup>	100	100	100	100	100	100
Carboximetilcelulosa <sup>5</sup>	30	30	30	30	30	30
Aceite de hígado de bacalao <sup>6</sup>	20	20	20	20	20	20
L-ascorbil-2-monofosfato-Na <sup>7</sup>	5	5	5	5	5	5
Fosfato dicálcico <sup>7</sup>	10	10	10	10	10	10
Cloruro de colina <sup>7</sup>	3	3	3	3	3	3
Lecitina de soja <sup>8</sup>	10	10	10	1	10	10
Cloruro sódico <sup>9</sup>	1	1	1	1	1	1
Metionina <sup>7</sup>			3	4	4.5	5.5
Premix vitamínico-mineral <sup>10</sup>	10	10	10	10	10	10

<sup>1</sup> Skretting España S.A., Ctra. de la Estación s/n 09620 Cojobar. Burgos. España.

<sup>2</sup> Yantai Oriental Protein Tech Co., Ltd., Jincheng Road, Zhaoyuan City, Shandong Province, China.

<sup>3</sup> Adpan Europa S.L., ES-33186 El Berrón. Siero. Asturias. España.

<sup>4</sup> INVE Aquaculture Nutrition. Hoogyeld 91. Dendermonde. Bélgica.

<sup>5</sup> Helm Iberica S.A., ES-28108 Alcobendas. Madrid. España.

<sup>6</sup> Acofarma distribution S.A., ES-08223 Terrassa. Barcelona. España.

<sup>7</sup> Cargill., ES-28720 Colmenar Viejo. Madrid. España.

<sup>8</sup> Biover N.V., Monnikenwerwe 109. B-8000 Brugge. Bélgica.

<sup>9</sup> Unión Salinera de España S.A., ES-28001 Madrid. Spain.

<sup>10</sup> Premix ( $\text{mg kg}^{-1}$ ): inositol, 50000; tiamina, 500; riboflavina, 800; niacina, 5000; piridoxina, 1500; ácido pantoténico, 5000; biotina, 150; ácido fólico, 3500; cianocobalamina, 5; retinol, 2400;  $\alpha$ -tocoferol, 30000; colecalciferol, 6.25; naftoquinona, 5000; hidroxitolueno butilado, 1500;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 300000;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 11000;  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 4000;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 1180;  $\text{CoSO}_4$ , 26;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 77400; KI, 340;  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ , 68.

### 6.2.3. RESULTADOS

La composición proximal y el perfil de aminoácidos de las dietas se presentan en la Tabla 3. Se observó una reducción lineal significativa del contenido de lípidos y cenizas con el aumento de CPG, mientras que los carbohidratos mostraron un aumento significativo. Cuando aumentó el porcentaje de sustitución de harina de pescado, disminuyó el contenido de arginina, histidina, leucina, lisina, valina, alanina, aspartato, glutamato y prolina ( $p < 0.05$ ).

A partir de las observaciones de su comportamiento, se comprobó que los juveniles de tenca ingirieron por igual todas las dietas, independientemente de la cantidad de CPG incluida. En ningún caso se observaron comportamientos anormales.

**Tabla 3.** Composición proximal y perfil de aminoácidos de las dietas con diferentes niveles de sustitución de harina de pescado por concentrado proteico de guisante suplementadas con metionina (g kg<sup>-1</sup> dieta).

	% Sustitución						ESM	ANOVA
	0	35	45	60	75	85		
Humedad	61.01	61.4	62.5	63.1	61.2	59.8	0.57	0.737
Proteína	501.0	500.5	500.2	500.6	501	500.3	1.07	1.000
Lípidos	107.5 <sup>a</sup>	102.7 <sup>ab</sup>	95.5 <sup>abc</sup>	95.9 <sup>abc</sup>	92.0 <sup>bc</sup>	87.1 <sup>c</sup>	2.31	0.007
Carbohidratos	200.1 <sup>a</sup>	225.3 <sup>b</sup>	237.7 <sup>bc</sup>	243.0 <sup>b</sup>	257.3 <sup>cd</sup>	271.2 <sup>d</sup>	6.96	0.000
Cenizas	130.4 <sup>a</sup>	110.1 <sup>b</sup>	104.1 <sup>bc</sup>	97.4 <sup>bcd</sup>	88.5 <sup>cd</sup>	81.6 <sup>d</sup>	4.88	0.001
Energía (MJ)	15.8	16.0	15.9	16.1	16.1	15.2	0.12	0.244
<b>AAE</b>								
Arginina	25.1 <sup>a</sup>	23.8 <sup>ab</sup>	22.2 <sup>abc</sup>	21.0 <sup>bcd</sup>	20.3 <sup>cd</sup>	19.7 <sup>d</sup>	0.67	0.002
Histidina	12.3 <sup>a</sup>	10.5 <sup>b</sup>	10.0 <sup>b</sup>	9.2 <sup>bc</sup>	8.6 <sup>c</sup>	8.0 <sup>c</sup>	0.43	0.000
Isoleucina	27.1	26.8	26.6	26.1	25.8	25.7	0.19	0.172
Leucina	36.1 <sup>a</sup>	32.8 <sup>b</sup>	32.6 <sup>b</sup>	32.3 <sup>b</sup>	32.1 <sup>b</sup>	31.9 <sup>b</sup>	0.44	0.000
Lisina	41.3 <sup>a</sup>	32.0 <sup>b</sup>	31.7 <sup>bc</sup>	31.0 <sup>bcd</sup>	30.2 <sup>cd</sup>	30.1 <sup>d</sup>	1.18	0.000
Metionina	12.7 <sup>a</sup>	10.3 <sup>b</sup>	12.6 <sup>a</sup>	12.5 <sup>a</sup>	12.5 <sup>a</sup>	12.6 <sup>a</sup>	0.27	0.050
Fenilalanina	31.8	31.1	30.2	31.2	30.6	30.8	0.18	0.115
Treonina	19.9	19.7	19.6	19.4	19.1	19.0	0.21	0.384
Triptófano	4.3	4.2	4.2	4.2	4.1	4.1	0.07	0.986
Valina	23.3 <sup>a</sup>	23.0 <sup>a</sup>	22.6 <sup>a</sup>	21.4 <sup>b</sup>	18.7 <sup>c</sup>	18.1 <sup>c</sup>	0.63	0.000
<b>AANE</b>								
Alanina	28.3 <sup>a</sup>	25.4 <sup>b</sup>	25.2 <sup>b</sup>	24.2 <sup>b</sup>	22.6 <sup>c</sup>	20.4 <sup>d</sup>	0.74	0.000
Aspartato	59.3 <sup>a</sup>	57.3 <sup>ab</sup>	57.8 <sup>ab</sup>	57.7 <sup>ab</sup>	57.5 <sup>ab</sup>	56.5 <sup>b</sup>	0.27	0.021
Cisteína	4.3	4.2	4.2	4.1	4.0	4.1	0.80	0.468
Glutamato	67.8 <sup>a</sup>	67.5 <sup>a</sup>	67.3 <sup>a</sup>	65.4 <sup>b</sup>	65.3 <sup>b</sup>	64.4 <sup>b</sup>	0.41	0.002
Glicina	32.4	31.9	31.6	31.4	30.7	30.8	0.21	0.110
Prolina	30.5 <sup>a</sup>	27.0 <sup>b</sup>	26.1 <sup>b</sup>	24.5 <sup>d</sup>	24.5 <sup>d</sup>	22.9 <sup>e</sup>	0.74	0.000
Serina	20.6	20.7	20.6	20.3	20.2	20.3	0.12	0.860
Tirosina	15.0	14.7	14.6	14.0	14.1	13.8	0.16	0.136

Valores presentados como medias. ESM: error estándar de la media combinado. La ausencia de superíndices en la misma fila representa diferencias no significativas entre tratamientos ( $p > 0.05$ ).



La longitud total y el peso a los 30 y 60 días de experimento se recogen en la Tabla 4. No hubo diferencias significativas entre los valores medios de LT y P tras 30 días (35.69–38.39 mm; 0.67–0.85 g) ni tras 60 días de experimento (46.11–47.33 mm; 1.43–1.69 g). Se registraron aumentos medios de LT del 20% y del 67% después de 30 y 60 días, respectivamente. El peso medio se duplicó después de 30 días, mientras que a los 60 días fue casi cuatro veces mayor.

En la Tabla 5 se muestran las tasas de supervivencia, los resultados de crecimiento y el porcentaje de animales con deformidades externamente visibles al finalizar el experimento tras 90 días. No hubo diferencias significativas entre las tasas de supervivencia, que fueron cercanas al 100 %.

Se evidenció una reducción del crecimiento con el aumento de CPG en las dietas, pero no hubo diferencias significativas en la LT de los juveniles alimentados con la dieta control, 35%, 45%, 60% y 75% de sustitución de harina de pescado (285, 366, 487 y 608 g CPG kg<sup>-1</sup> dieta, respectivamente). Sin embargo, el peso fue significativamente inferior en los juveniles que recibieron las dietas con un porcentaje de sustitución de harina de pescado superior al 75%.

La TCE y el IC fueron significativamente inferiores cuando los animales fueron alimentados con las dietas con 75% y 85% de sustitución en comparación con la dieta control, mientras que el ILT presentó diferencias significativas solo con el nivel de sustitución mayor. Sin embargo, no hubo diferencias significativas en el factor de condición (rango 1.30-1.39) entre los tratamientos.

El análisis de contrastes polinómicos indicó que la inclusión de CPG originó una relación lineal negativa significativa en LT ( $r^2= 0.60$ ), P ( $r^2=0.66$ ), TCE ( $r^2= 0.71$ ), ILT ( $r^2= 0.60$ ) e IC ( $r^2= 0.69$ ).

Las dietas no afectaron los porcentajes de peces con deformidades visibles externamente, que fueron inferiores al 0.1%. Las deformidades corporales afectaron al opérculo y la espina dorsal a nivel del pedúnculo caudal.

La composición proximal y el perfil de aminoácidos en el cuerpo entero de los juveniles al principio y al final del experimento figuran en la Tabla 6. Se evidenció una disminución lineal significativa en el contenido de lípidos con el incremento de la cantidad de CPG en las dietas. Aunque las dietas proporcionaron un contenido significativamente diferente de nueve aminoácidos (Tabla 3), no hubo diferencias en su contenido en el cuerpo entero de los juveniles.

**Tabla 4.** Longitud total peso en juveniles de tenca alimentados con dietas con diferentes niveles de sustitución de harina de pescado por concentrado proteico de guisante suplementadas con metionina, después de 30 y 60 días de experimento.

% Sustitución		0	35	45	60	75	85	ESM	ANOVA
30 días	LT (mm)	36.46	35.69	37.3	38.39	35.94	37.39	0.326	0.133
	P (g)	0.81	0.73	0.79	0.85	0.67	0.82	0.022	0.156
60 días	LT (mm)	46.89	47.29	46.13	47.33	46.40	46.11	0.302	0.788
	P (g)	1.69	1.60	1.53	1.56	1.45	1.43	0.040	0.462

Valores presentados como medias. ESM: error estándar de la media combinado.

**Tabla 5.** Tasa de supervivencia, resultados de crecimiento y deformidades externamente visibles de juveniles de tenca alimentados con dietas con diferentes niveles de sustitución de harina de pescado por concentrado proteico de guisante suplementadas con metionina durante 90 días.

% Sustitución	0	35	45	60	75	85	ESM	ANOVA	Contraste
									polinómico Lineal
Supervivencia	100	95.8	97.9	97.9	93.7	96.5	0.845	0.411	0.132
Longitud total (mm)	61.23 <sup>a</sup>	59.17 <sup>ab</sup>	59.08 <sup>ab</sup>	57.66 <sup>ab</sup>	57.03 <sup>ab</sup>	55.96 <sup>b</sup>	0.529	0.028	0.001
Peso (g)	3.47 <sup>a</sup>	3.17 <sup>ab</sup>	3.14 <sup>ab</sup>	2.85 <sup>ab</sup>	2.70 <sup>b</sup>	2.61 <sup>b</sup>	0.876	0.010	0.000
<sup>1</sup> TCE (% día <sup>-1</sup> )	2.24 <sup>a</sup>	2.12 <sup>ab</sup>	2.13 <sup>ab</sup>	2.03 <sup>abc</sup>	1.98 <sup>bc</sup>	1.90 <sup>c</sup>	0.031	0.003	0.000
<sup>2</sup> ILT (mm día <sup>-1</sup> )	0.34 <sup>a</sup>	0.32 <sup>ab</sup>	0.31 <sup>ab</sup>	0.30 <sup>ab</sup>	0.29 <sup>ab</sup>	0.28 <sup>b</sup>	0.006	0.028	0.001
<sup>3</sup> K	1.39	1.39	1.39	1.37	1.34	1.30	0.010	0.085	0.170
<sup>4</sup> IC	1.15 <sup>a</sup>	1.30 <sup>ab</sup>	1.31 <sup>ab</sup>	1.46 <sup>abc</sup>	1.51 <sup>bc</sup>	1.67 <sup>c</sup>	0.047	0.003	0.000
Peces deformes (%)	0.04	0.10	0.01	0.03	0.01	0.04	0.010	0.123	0.358

Valores presentados como medias. ESM: error estándar de la media combinado. La ausencia de superíndices en la misma fila representa diferencias no significativas entre tratamientos ( $p > 0.05$ )

<sup>1</sup> Tasa de crecimiento específico (% día<sup>-1</sup>) =  $100 \times [(\ln P \text{ final} - \ln P \text{ inicial}) \times \text{días}^{-1}]$

<sup>2</sup> Incremento diario en el largo total (mm día<sup>-1</sup>) =  $(LT \text{ final} - LT \text{ inicial}) \times \text{días}^{-1}$

<sup>3</sup> Factor de condición =  $100 \times [P \text{ final} \times (LT \text{ final})^{3-1}]$

<sup>4</sup> Índice de conversión del alimento = cantidad total de alimento ingerido x ganancia de peso<sup>-1</sup>

#### 6.2.4. DISCUSIÓN

Los estudios sobre las posibilidades de inclusión de concentrados de proteína de guisante en los alimentos acuícolas muestran importantes diferencias interespecíficas. En juveniles de sargo picudo (*Diplodus puntazzo*), Nogales-Merida *et al.* (2016) comprobaron que las cantidades de CPG incluidas, entre 160 y 487 g kg<sup>-1</sup>, tuvieron efectos negativos sobre el crecimiento. Sin embargo, en la tilapia del Nilo (Cantril, 2015) y en la dorada (Sánchez-Lozano *et al.*, 2011) la inclusión de 325 y 340 g kg<sup>-1</sup>, respectivamente, no causaron efectos negativos sobre el crecimiento. En la trucha arcoiris, Zhang *et al.* (2012) recomendaron no incluir cantidades superiores a 300 g kg<sup>-1</sup>. En otras especies, como la lubina europea (Tibaldi *et al.*, 2005) y el salmón del Atlántico (Carter y Hauler, 2000; Øverland *et al.*, 2009), las cantidades de CPG toleradas fueron inferiores, entre 200 y 258 g kg<sup>-1</sup>. En todos estos estudios, el peso inicial fue superior al de los juveniles de tenca de este experimento. A pesar de ello, la inclusión de 487 g kg<sup>-1</sup> (60% de sustitución de harina de pescado) no afectó a su crecimiento, mostrando la tolerancia de la especie a esta fuente de proteína vegetal.

Las diferencias interespecíficas podrían atribuirse a las limitaciones de las fuentes proteicas vegetales para reemplazar la harina de pescado en los alimentos acuícolas. Según Daniel (2018), estas limitaciones están relacionadas con un menor contenido de aminoácidos esenciales, una menor palatabilidad, la presencia de factores antinutricionales y una menor digestibilidad. Respecto a los AAEs, la sustitución de la harina de pescado está limitada por el nivel de metionina (Séité *et al.*, 2018), que desempeña un papel fundamental en el crecimiento y el aprovechamiento de los piensos (Gao *et al.*, 2019). Los guisantes poseen un bajo contenido de este aminoácido esencial, incluso después de ser procesados para la obtención de concentrados (Çabuk *et al.*, 2018). En el estudio de González-Rodríguez *et al.* (2016<sup>a</sup>) sobre las posibilidades de sustitución de harina de pescado por CPG en juveniles de tenca, el crecimiento fue similar con una dieta de control (sin CPG) y con un 25% y un 35% de sustitución. Sin embargo, cuando el nivel aumentó del 35% (290.4 g de CPG) al 45% (373.3 g de CPG), coincidiendo con una disminución en el contenido de metionina de 9.8 a 8.9 g kg<sup>-1</sup> dieta, se registró una disminución significativa en el crecimiento, lo que sugiere una posible deficiencia de este aminoácido esencial. Considerando estos resultados, en el presente experimento se suplementaron con metionina las dietas con niveles de sustitución del 45% o superiores para conseguir contenidos similares a la dieta control (12.7 g kg<sup>-1</sup>). No hubo diferencias significativas entre los resultados de crecimiento con la dieta control y con las dietas con niveles de sustitución de harina de pescado hasta el 60%. Por lo tanto, se puede deducir que el menor contenido de metionina proporcionado por la dieta no suplementada con aminoácidos (10.2 g kg<sup>-1</sup>) permitió cubrir los requerimientos de los juveniles de tenca. Teniendo en cuenta los resultados de González-Rodríguez *et al.* (2016a) y del presente estudio, se puede sugerir que las dietas para la tenca juvenil deberían proporcionar alrededor de 10 g de metionina kg<sup>-1</sup> de dieta.

**Tabla 6.** Composición proximal y perfil de aminoácidos del cuerpo entero de juveniles de tenca alimentados con dietas con diferentes niveles de sustitución de harina de pescado por concentrado proteico de guisante (CPG) (g kg<sup>-1</sup>). Los análisis se realizaron por duplicado.

	% Sustitución							ESM	Contraste polinómico	
	Inicial <sup>a</sup>	0	35	45	60	75	85		ANOVA	Lineal
Humedad	767.4±9.7	733.6	733.8	734.1	748.2	754.8	752.4	3.50	0.209	0.034
Proteína	133.5±8.7	160.0	164.0	162.0	159.0	160	159.0	2.03	0.990	0.805
Lípidos	73±4.7	80.5 <sup>a</sup>	63.4 <sup>b</sup>	56.1 <sup>b</sup>	48.9 <sup>b</sup>	49.7 <sup>b</sup>	47.5 <sup>b</sup>	3.61	0.002	0.000
Cenizas	24.5±2.1	24.6	25.7	24.3	23.2	23.8	23.1	0.68	0.893	0.981
<b>AAE</b>										
Arginina	9.5±0.4	11.6	11.3	11.3	11.4	11.4	11.1	0.15	0.984	0.594
Histidina	2.5±0.2	4.6	4.4	4.2	3.9	4.4	4.3	0.09	0.470	0.326
Isoleucina	20.1±2.2	25.2	26.2	23.3	22.6	21.4	21.1	0.72	0.233	0.040
Leucina	4.9±0.7	5.8	5.9	4.9	5.2	4.9	5.2	0.15	0.178	0.062
Lisina	10.2±0.8	11.8	11.9	11.6	12.1	11.5	11.7	0.22	0.990	0.867
Metionina	3.9±0.2	5.4	5.1	4.4	4.9	4.9	4.2	0.14	0.052	0.014
Fenilalanina	11.2±0.9	12.0	11.9	11.7	12.2	11.6	11.8	0.20	0.985	0.738
Treonina	5.5±0.5	5.8	6.2	6.2	6.2	5.9	6.4	0.15	0.993	0.559
Triptofano	0.4±0.1	0.6	0.6	0.6	0.5	0.6	0.6	0.04	0.981	0.904
Valina	6.1±0.9	6.2	6.4	6.2	6.2	6.2	6.7	0.21	0.989	0.758
<b>NAAE</b>										
Alanina	7.7±0.7	8.8	9.2	9.2	8.9	9.1	9.1	0.20	0.996	0.812
Aspartato	13.0±1.3	13.9	14.2	13.9	13.9	14.1	14.2	0.34	1.000	0.891
Cisteína	0.2±0.0	0.7	0.6	0.6	0.6	0.6	0.5	0.04	0.870	0.295
Glutamato	17.7±1.9	20.1	21.1	19.4	20.5	19.8	20.1	0.36	0.900	0.846
Glicina	2.5±0.6	8.7	8.3	8.2	7.8	8.5	8.4	0.16	0.796	0.625
Prolina	4.9±0.7	5.3	5.2	6.0	6.1	6.2	6.4	0.21	0.553	0.117
Serina	6.3±0.4	6.4	6.3	6.2	6.0	6.4	6.7	0.11	0.732	0.690
Tirosina	2.0±0.3	4.6	4.3	3.8	4.2	4.2	4.0	0.17	0.896	0.465

Valores presentados como medias. ESM: error estándar de la media combinado. La ausencia de superíndices en la misma fila representa diferencias no significativas entre tratamientos ( $p > 0.05$ )<sup>a</sup> Los datos iniciales presentados como media ± desviación estándar no se incluyeron en el análisis estadístico.

Como los efectos adversos sobre el crecimiento cuando el CPG reemplazó al 75% y el 85% de la harina de pescado no se pueden atribuir a la deficiencia de metionina, se deben considerar otros factores. La menor palatabilidad del CPG estaría asociada al contenido de saponinas, que no se eliminan mediante el procesado para su obtención (Zhang *et al.*, 2012). En la lubina europea, Tibaldi *et al.* (2005) consideraron que la peor palatabilidad podría representar un importante factor limitante para lograr la sustitución total de la harina de pescado por CPG. A partir de las observaciones realizadas durante el suministro de las dietas, se comprobó que todas eran ingeridas rápidamente, lo que permite considerar que la palatabilidad era adecuada, siendo atractivas para los juveniles incluso con una alta inclusión de CPG.

Aunque el proceso de producción del CPG determina una importante reducción de algunos factores antinutricionales, Schulz *et al.* (2007) afirmaron que el proceso de descascarillado y clasificado por aire aumenta, en gran medida, los niveles de otros FAN's como los inhibidores de la proteasa, el ácido fítico y los  $\alpha$ -galactósidos. Estos no solo tienen efectos negativos sobre la utilización de proteínas, la biodisponibilidad mineral y la fisiología digestiva (Francis *et al.*, 2001), sino que también pueden provocar enteritis. En el salmón del Atlántico adulto, Penn *et al.* (2011) observaron una inflamación y un menor peso relativo del intestino distal, similar a lo descrito en la enteritis inducida por harina de soja, cuando la dieta contenía  $350 \text{ g kg}^{-1}$  de CPG. Aunque en el presente trabajo no se tomaron muestras del intestino de los juveniles, no se observaron síntomas conductuales compatibles con enteritis. Sin embargo, el previsible aumento de los factores antinutricionales derivado de las mayores cantidades de CPG podría ser la causa del empeoramiento significativo del rendimiento del crecimiento. La posible disminución en la absorción de nutrientes derivada de la presencia de FANs también podría explicar el aumento de la tasa de conversión de alimento a medida que aumenta el CPG de la dieta.

Utilizando dietas similares, González-Rodríguez *et al.* (2016a) obtuvieron valores de TCE inferiores, entre  $1.73$  y  $1.88 \text{ \% día}^{-1}$ , a las del presente estudio,  $1.90$ – $2.24 \text{ \% día}^{-1}$ . La tasa de crecimiento específica tiende a disminuir con la edad (Lugert *et al.*, 2016) y, por ello, las diferencias de edad/tamaño se deben tener en cuenta para establecer comparaciones. Así, las mayores TCE podrían atribuirse parcialmente al menor peso inicial de los juveniles de tenca en este estudio ( $0.39 \text{ g}$ ) respecto al de González-Rodríguez *et al.* (2016a),  $0.46 \text{ g}$ . El incremento diario en la longitud total (ILT) es considerado por Kamiński *et al.* (2017) un indicador más fiable de crecimiento somático que la TCE, ya que no depende del depósito de grasa en los peces. En este estudio, el ITL tuvo una tendencia similar a la TCE mostrando que ambas medidas dan información valiosa en estudios nutricionales.

La inclusión de CPG determinó una disminución significativa de lípidos y un aumento de carbohidratos en las dietas. El contenido lipídico osciló entre  $84.7$  y  $118 \text{ g kg}^{-1}$  dieta, dentro del rango recomendado por Sáez-Royuela *et al.* (2015) para juveniles de tenca, lo que nos lleva a considerar que su reducción no afecta al crecimiento. Aunque no existen datos sobre la tolerancia máxima a los hidratos de carbono en la alimentación de la tenca, teniendo en cuenta que, en hábitats naturales, los juveniles se alimentan principalmente con zooplancton y otros pequeños invertebrados (Pyka, 1997), se podría considerar el alto contenido de hidratos de carbono de las dietas con un 75% y un 85% de sustitución de harina de pescado como una posible causa para explicar el menor crecimiento.

Según Jobling (2001), Sargent *et al.* (2002) y Sáez-Royuela *et al.* (2015), el contenido de lípidos de las dietas se correlaciona positivamente con la composición corporal de los peces. De acuerdo con esta afirmación, la disminución del contenido de lípidos en las dietas con CPG (Tabla 3) condujo a una disminución significativa de la grasa de la tenca juvenil en comparación con los animales alimentados con la dieta control (Tabla 6).

En juveniles de tenca, Kamler *et al.* (2006), Wolnicki *et al.* (2006), y Myszkowski *et al.* (2010) sugirieron una relación entre un elevado factor de condición (1.3-1.4) y la incidencia de deformidades corporales. En este experimento, a pesar de que los valores de K oscilaron entre 1.30 y 1.39, el porcentaje de animales con deformidades externamente visibles fue bajo ( $<0.10\%$ ). Por tanto, los altos valores de K no parecen ser responsables, al menos cuando se suministran dietas equilibradas ya que, según Fontagné (2009), la alimentación, especialmente durante el desarrollo temprano, es importante para evitar malformaciones.

En resumen, los requerimientos mínimos de metionina para los juveniles de tenca pueden estimarse en  $10 \text{ g kg}^{-1}$  de dieta, sin necesidad de una suplementación a partir de



esta cantidad. Los juveniles de tenca tienen una alta tolerancia a la inclusión de concentrado de proteína de guisante en la dieta, hasta  $487 \text{ g kg}^{-1}$  sin afectar al crecimiento, lo que permite considerar esta fuente de proteína como un sustituto adecuado de la harina de pescado.

### 6.3. ESTUDIO III: SUSTITUCIÓN DE ACEITE DE PESCADO POR UNA MEZCLA DE ACEITES VEGETALES EN DIETAS PARA JUVENILES DE TENCA (*Tinca tinca* LINNAEUS, 1758): EFECTOS SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA COMPOSICIÓN CORPORAL.

**Fish Oil Replacement by a Blend of Vegetable Oils in Diets for Juvenile Tench (*Tinca tinca* Linnaeus, 1758): Effects on Growth Performance and Whole-Body Composition.**

María Sáez-Royuela \*, Teresa García, José M. Carral y Jesús D. Celada

***Animals* 2022, 12, 1113. [https://doi.org/ 10.3390/ani12091113](https://doi.org/10.3390/ani12091113)**

#### 6.3.1. PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL

Según la OECD/FAO (2022) el incremento de la producción de animales acuáticos para alimentación humana se debe principalmente al continuo crecimiento de acuicultura, cuya previsión para 2031 se estima en 108 Millones de toneladas. Este crecimiento debe cumplir con una de las nuevas áreas prioritarias del Marco Estratégico de la FAO para 2022-2031, la Transformación Azul, que se centra en el desarrollo de sistemas acuícolas más eficientes, inclusivos, resilientes y sostenibles (FAO, 2022). En la actualidad, la acuicultura es el mayor consumidor de harina y aceite de pescado, con un uso en 2019 del 78% y 68%, respectivamente (EUMOFA, 2021) y, por lo tanto, la huella ambiental derivada de su uso en los piensos constituye un importante problema para lograr un crecimiento sostenible (Boyd *et al.*, 2020) La estimación para 2031 de la producción de aceite de pescado es de 1.3 Mt y el 53% provendrá de especies procedentes de la pesca no utilizadas para consumo humano directo (OECD/FAO, 2022). Además de su alta digestibilidad, el aceite de pescado es una fuente natural de algunos ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga n-3 (AGPI CL n3), esenciales para especies piscícolas, como el ácido eicosapentaenoico (AEP, 20:5n-3) y el ácido docosahexaenoico (ADH, 22:6n-3). Teniendo en cuenta la baja eficiencia en el proceso de producción de aceite de pescado, ya que se necesita una tonelada de peces pelágicos para obtener un promedio de 50 kg (Hamilton *et al.*, 2020), se estima un enorme déficit de suministro (Tocher *et al.*, 2019). Por ello, es necesario encontrar fuentes alternativas de lípidos en la previsible creciente demanda de alimentos acuícolas.

Considerando que la producción de aceites vegetales, en términos generales, es más estable (Ayisi *et al.*, 2019) y los precios son inferiores a los aceites de pescado (Turchini *et al.*, 2019), se planteó evaluar los efectos de la sustitución de aceite de pescado (AP) por una mezcla de aceites vegetales (AV) sobre la supervivencia y crecimiento de juveniles de tenca. Puesto que la composición de los peces generalmente refleja la composición del alimento, se determinó la composición proximal y el perfil de ácidos grasos de los juveniles con objeto de comprobar si la inclusión de la mezcla de aceites vegetales en las dietas afectó a su características nutritivas.

#### 6.3.2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un experimento de 90 días en el que 540 juveniles de tenca de cuatro meses (longitud media inicial:  $23.9 \pm 0.25$  mm; peso medio inicial:  $0.150 \text{ mg} \pm 0.005$  mg) se alimentaron con seis dietas isonitrogénicas e isolípidas con diferentes niveles de sustitución de aceite de pescado por una mezcla de aceites vegetales que contenía 30% de aceite de linaza, 20% de aceite de maíz y 50% de aceite de oliva: 0% (control), 20% de AV, 40% de AV, 60% AV, 80% AV y 100% AV. En la Tabla 1 se

muestra la formulación de las dietas y en las Tablas 2 y 3 su composición proximal y perfil de ácidos grasos, respectivamente.

**Tabla 1.** Formulación de las dietas con diferentes niveles de sustitución de pescado por una mezcla de aceites vegetales (30% aceite de linaza, 20% aceite de maíz y 50% aceite de oliva).

Ingredientes (g kg <sup>-1</sup> )	% Sustitución					
	0	20	40	60	80	100
Harina de pescado <sup>1</sup>	645	645	645	645	645	645
Harina de maíz <sup>2</sup>	166	166	166	166	166	166
Quistes secos de <i>Artemia</i> <sup>3</sup>	100	100	100	100	100	100
Carboximetilcelulosa <sup>4</sup>	30	30	30	30	30	30
Mezcla de aceites vegetales	0	4	8	12	16	20
Aceite de hígado de bacalao <sup>5</sup>	20	16	12	8	4	0
L-ascorbil-2-monofosfato-Na <sup>6</sup>	5	5	5	5	5	5
Fosfato dicálcico <sup>6</sup>	10	10	10	10	10	10
Cloruro de colina <sup>6</sup>	3	3	3	3	3	3
Lecitina de soja <sup>7</sup>	10	10	10	10	10	10
Cloruro de sodio <sup>8</sup>	1	1	1	1	1	1
Premix vitamínico-mineral <sup>9</sup>	10	10	10	10	10	10

<sup>1</sup> Skretting España S.A., Ctra. de la Estación s/n 09,620 Cojobar. Burgos. España; <sup>2</sup> Adpan Europa S.L., ES-33186 El Berrón. Siero. Asturias. Spain; <sup>3</sup> INVE Aquaculture Nutrition. Hoogveld 91. Dendermonde. Belgium; <sup>4</sup> Helm Iberica S.A., ES-28108 Alcobendas. Madrid. Spain; <sup>5</sup> Acofarma distribution S.A., ES-08223 Terrassa. Barcelona. Spain; <sup>6</sup> Cargill., ES-28720 Colmenar Viejo. Madrid. Spain; <sup>7</sup> Biover N.V., Monnikenwerve 109. B-8000 Brugge. Belgium; <sup>8</sup> Unión Salinera de España S.A., ES-28001 Madrid. Spain; <sup>9</sup> Provides mg kg<sup>-1</sup> premix: inositol, 50000; thiamin, 500; riboflavin, 800; niacin, 5000; pyridoxine, 1500; pantothenic acid, 5000; biotin, 150; folic acid, 3500; cyanocobalamin, 5; retinol, 2400;  $\alpha$ -tocopherol, 30000; cholecalciferol, 6.25; naphthoquinone, 5000; butylated hydroxytoluene, 1500; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 300000; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 11000; MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 4000; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, 1180; CoSO<sub>4</sub>, 26; FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 77400; KI, 340; Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>, 68.

No hubo diferencias significativas en la composición proximal de las dietas experimentales (Tabla 2). Como se puede observar en la Tabla 3, en comparación con el grupo control, existió una reducción significativa de los ácidos grasos mirístico (14:0), pentadecanoico (15:0), palmitoleico (16:1), AEP y ADH en dietas con 60% de sustitución de aceite de pescado y superiores. La reducción del ácido miristoleico (14:1) fue significativa en todas las dietas que incluían la mezcla de aceites vegetales. Finalmente, el contenido de 18:2-n6 (ácido linoleico) y 18:3-n3 (ácido linolénico) aumentó significativamente a partir del 60% de sustitución de aceite de pescado.

**Tabla 2.** Composición proximal (g kg<sup>-1</sup> de dieta) de las dietas experimentales con diferentes niveles de sustitución de aceite de pescado por una mezcla de aceites vegetales (AV).

	% Sustitución					
	0	20	40	60	80	100
Humedad	72.0±2.0	71±1.5	70.1±3.2	74.1±3.5	69.8±2.8	71.6±2.3
Proteína	482±12.0	482±11.0	471±12	481±13.0	478±10.0	479±9.0
Lípidos	111.0±3.4	113.5±2.6	117.8±3.1	114.0±2.9	110.8±2.8	112.4±3.0
Carbohidratos	205.0±4.2	203.3±3.0	203.0±3.2	204.3±3.9	211.4±4.4	200.0±3.6
Cenizas	130.0±1.9	130.2±2.0	128.1±1.8	126.6±1.7	130.0±1.8	137.0±1.7
Energía Bruta (MJ kg <sup>-1</sup> )	15.70±0.7	15.73±0.8	15.87±0.6	15.72±0.7	15.71±0.7	15.6±0.6

Valores presentados como media ± error estándar de la media (ESM).

**Tabla 3.** Perfil de ácidos grasos (% del contenido total de lípidos) de las dietas con diferentes niveles de sustitución del aceite de pescado por la mezcla de aceites vegetales.

	% Sustitución					
	0	20	40	60	80	100
14:0	5.11±0.11 <sup>a</sup>	5.48±0.26 <sup>a</sup>	5.48±0.20 <sup>a</sup>	3.16±0.16 <sup>b</sup>	3.05±0.10 <sup>b</sup>	3.00±0.10 <sup>b</sup>
15:0	0.47±0.02 <sup>a</sup>	0.53±0.02 <sup>a</sup>	0.52±0.02 <sup>ab</sup>	0.35±0.03 <sup>b</sup>	0.38±0.02 <sup>b</sup>	0.39±0.02 <sup>b</sup>
16:0	18.73±0.50	18.53±0.04	18.41±0.23	18.35±0.35	18.00±0.20	18.12±0.19
17:0	0.64±0.02	0.54±0.02	0.53±0.02	0.49±0.06	0.48±0.04	0.48±0.03
18:0	3.95±0.10	4.56±0.31	4.44±0.32	4.25±0.28	4.99±0.33	4.95±0.34
20:0	1.36±0.06	1.61±0.20	1.59±0.18	1.26±0.15	1.14±0.21	1.04±0.19
24:0	0.32±0.02	0.32±0.01	0.27±0.02	0.24±0.01	0.24±0.02	0.23±0.01
14:1	0.26±0.03	0	0	0	0	0
16:1	8.5±0.20 <sup>a</sup>	8.10±0.10 <sup>ab</sup>	7.98±0.06 <sup>ab</sup>	7.32±0.13 <sup>bc</sup>	6.53±0.12 <sup>c</sup>	5.66±0.14 <sup>d</sup>
17:1	0.63±0.02	0.61±0.05	0.60±0.04	0.56±0.02	0.57±0.03	0.53±0.02
18:1n-9	23.37±0.47	24.05±1.50	24.73±1.30	25.79±1.40	26.20±1.30	26.50±1.10
20:1	2.44±0.30	2.49±0.21	2.55±0.30	3.00±0.27	3.10±0.29	3.60±0.31
22:1n-9	1.85±0.02	1.91±0.22	1.87±0.18	1.51±0.15	1.52±0.14	1.43±0.13
24:1	1.01±0.02	1.02±0.07	1.10±0.09	1.11±0.10	1.10±0.12	0.99±0.08
18:2-n6	6.50±0.30 <sup>a</sup>	7.40±0.50 <sup>ab</sup>	7.77±0.42 <sup>abc</sup>	7.66±0.18 <sup>bcd</sup>	9.51±0.55 <sup>cd</sup>	11.62±0.67 <sup>d</sup>
18:3n-6	<0.05	<0.05	0.07±0.06	0.12±0.06	0.26±0.06	0.31±0.06
18:3n-3	1.65±0.04 <sup>a</sup>	2.31±0.13 <sup>ab</sup>	2.28±0.12 <sup>ab</sup>	2.82±0.14 <sup>bc</sup>	3.34±0.19 <sup>c</sup>	4.28±0.21 <sup>d</sup>
20:4n-6	0.78±0.03	0.98±0.09	1.05±0.08	0.85±0.09	0.75±0.06	0.78±0.05
20:5n-3	9.48±0.20 <sup>a</sup>	8.50±0.23 <sup>ab</sup>	8.34±0.24 <sup>abc</sup>	8.20±0.21 <sup>bc</sup>	7.95±0.19 <sup>bc</sup>	7.24±0.18 <sup>c</sup>
22:6n-3	7.67±0.37 <sup>a</sup>	6.77±0.29 <sup>ab</sup>	6.65±0.26 <sup>ab</sup>	6.47±0.24 <sup>abc</sup>	5.87±0.26 <sup>bc</sup>	5.03±0.21 <sup>c</sup>
Σ AGS <sup>1</sup>	30.58±0.79	31.57±1.10	31.24±1.30	28.10±0.90	28.28±0.85	28.21±0.79
Σ AGM <sup>2</sup>	38.05±1.16	38.08±1.98	38.83±1.50	39.29±1.53	39.02±1.48	38.71±1.62
Σ AGPI <sup>3</sup>	26.08±0.94	25.96±1.03	26.69±1.02	27.96±1.22	29.00±1.09	29.26±1.09
AL/ALN <sup>4</sup>	0.25±0.006 <sup>a</sup>	0.31±0.003 <sup>ab</sup>	0.29±0.05 <sup>ab</sup>	0.32±0.007 <sup>ab</sup>	0.32±0.005 <sup>ab</sup>	0.37±0.004 <sup>b</sup>

Valores presentados como media ± error estándar de la media.

La ausencia de superíndices en la misma fila representa diferencias no significativas entre tratamientos ( $p > 0.05$ ).

No se muestran ácidos grasos con valores <0.05%

<sup>1</sup> Total ácidos grasos saturados

<sup>2</sup> Total ácidos grasos monoinsaturados

<sup>3</sup> Total ácidos grasos poliinsaturados

<sup>4</sup> Ácido linolénico/ Ácido linoleico

### 6.3.3. RESULTADOS

Mediante las observaciones del comportamiento de los juveniles, se comprobó que ingerían las dietas por igual durante todo el experimento, independientemente de la cantidad de mezcla de aceite vegetal incluida. En ningún caso, los juveniles de tenca mostraron un comportamiento anormal.

La Tabla 4 muestra la longitud total y el peso de los juveniles después de 30 y 60 días de experimento. No hubo diferencias significativas entre las dietas experimentales para LT y P tras 30 días (31.37–33.14 mm y 0.44–0.57 g) y tras 60 días de experimento (42.64–43.88 mm y 1.07–1.2 g). El aumento medio de LT fue de 35.7% y 83%, tras 30 y 60 días, respectivamente. El peso medio se triplicó después de 30 días, mientras que a los 60 días fue casi ocho veces mayor.

En todos los casos la tasa de supervivencia fue del 100%. Los resultados de crecimiento a los 90 días se recogen en la Tabla 5. Las diferencias significativas lo que muestra la posibilidad de sustituir completamente el aceite de pescado sin que el crecimiento se vea afectado negativamente. No se observaron peces con deformidades visibles externamente.

**Tabla 4.** Resultados de crecimiento de tencas juveniles alimentadas con dietas con diferentes niveles de sustitución de aceite de pescado por una mezcla de aceites vegetales durante 30 y 60 días.

% Sustitución		20	40	60	80	100	ESM	ANOVA	
30 días	LT <sup>1</sup> (mm)	33.15	31.84	31.82	32.82	33.33	31.37	0.334	0.46
	P <sup>2</sup> (g)	0.57	0.44	0.45	0.47	0.50	0.42	0.019	0.30
60 días	LT <sup>1</sup> (mm)	43.26	44.23	42.60	43.95	43.93	44.92	0.371	0.63
	P <sup>2</sup> (g)	1.18	1.12	1.08	1.16	1.19	1.29	0.033	0.59

Valores presentados como medias. ESM: error estándar de la media combinado

<sup>1</sup> Longitud total (LT)

<sup>2</sup> Peso (P)

**Tabla 5.** Resultados de crecimiento de tencas juveniles alimentadas con dietas con diferentes niveles de sustitución de aceite de pescado por una mezcla de aceites vegetales durante 90 días.

% Sustitución	0	20	40	60	80	100	ESM	ANOVA
LT <sup>1</sup> (mm)	50.09	51.34	49.98	50.76	50.84	51.24	0.285	0.71
P <sup>2</sup> (g)	1.92	1.91	1.86	1.82	1.87	1.94	0.361	0.96
TCE <sup>3</sup> (% día <sup>-1</sup> )	2.65	2.70	2.64	2.69	2.74	2.74	0.021	0.71
K <sup>4</sup>	1.35	1.31	1.35	1.31	1.36	1.34	0.068	0.13
IC <sup>5</sup>	1.29	1.28	1.27	1.32	1.30	1.28	0.034	0.20
GB <sup>6</sup> (g)	53.83	54.36	53.02	50.21	52.21	53.91	1.074	0.94

Valores presentados como medias. ESM: error estándar de la media combinado.

<sup>1</sup> Longitud total (LT)

<sup>2</sup> Peso (P)

<sup>3</sup> Tasa de crecimiento específico (SGR) =  $100 \times [(\ln P \text{ final} - \ln P \text{ inicial}) \times \text{días}]^{-1}$

<sup>4</sup> Factor de condición (K) =  $100 \times (P \times [(LT^3)^{-1}])$

<sup>5</sup> Índice de conversión del alimento = cantidad total de alimento suministrado por tanque x BG<sup>-1</sup>

<sup>6</sup> Ganancia de biomasa = Biomasa final por tanque – Biomasa inicial por tanque.

**Tabla 6.** Composición proximal ( $\text{g kg}^{-1}$ ) del cuerpo entero de juveniles de tenca alimentados con dietas con diferentes niveles de sustitución de aceite de pescado por una mezcla de aceites vegetales.

	(% Sustitución)							Contrastes polinómicos			
	Inicial	0	20	40	60	80	100	ESM	ANOVA	Lineal	Cuadrático
Humedad	799.9	753.5	763.4	756.4	770.2	772.4	752.8	7.64	0.77	0.16	0.97
Proteína	137.0	140.0	152.5	153.8	142.3	150.8	156.7	2.61	0.29	0.13	0.19
Lípidos	31.3 <sup>a</sup>	77.0 <sup>b</sup>	75.6 <sup>b</sup>	76.5 <sup>b</sup>	67.1 <sup>bc</sup>	69.6 <sup>bc</sup>	64.2 <sup>c</sup>	4.32	<0.001	<0.001	0.01
Cenizas	24.9	27.4	23.4	25.1	22.0	20.4	22.4	0.70	0.07	0.50	0.009

Valores presentados como medias. ESM: error estándar de la media combinado.

La ausencia de superíndices en la misma fila representa diferencias no significativas entre tratamientos ( $p > 0.05$ ).

La composición proximal y el perfil de ácidos grasos corporal de los juveniles al principio y al final del experimento se resumen en las Tablas 6 y 7, respectivamente. Las dietas afectaron a la composición de los juveniles, siendo el contenido de lípidos significativamente menor en los animales alimentados con la dieta que incluía únicamente la mezcla de aceites vegetales. Considerando la composición corporal inicial, después de 90 días, el contenido de lípidos y los ácidos grasos mirístico (14:0), pentadecanoico (15:0), palmitoleico (16:1), eicosadienoico (20:2n-6), y gamolénico (18:3n-6) aumentaron significativamente, mientras que el contenido de eicosanoico (20:0), tetracosanoico (24:0), elaidico (18:1n-9), tetracosanoico (24:1) y araquidónico (20:4n-6) disminuyeron. Además, se evidenció una disminución significativa de AGM y un aumento significativo de AGPI (Tabla 7).

El contenido corporal de ALN (18:3n-3) fue más elevado a medida que aumentaba la sustitución de aceite de pescado, siendo significativamente mayor respecto a la dieta control en las dietas con 40% o porcentajes de sustitución superiores. No se encontraron diferencias en  $\Sigma\text{AGS}$ ,  $\Sigma\text{AGMI}$ ,  $\Sigma\text{AGPI}$  y  $\Sigma n-3$  y  $\Sigma n-6$ .

La Tabla 8. incluye algunos índices comúnmente utilizados para determinar el valor nutritivo y saludable de los peces como alimento para humanos. Las relaciones  $\Sigma\text{AGPI}/\Sigma\text{AGS}$  y  $\Sigma n-6/\Sigma n-3$  tendieron a aumentar con la mezcla de aceites vegetales de la dieta, mientras que la suma AEP + ADH mostró una tendencia opuesta.



**Tabla 7.** Perfil de ácidos grasos (% de lípidos) del cuerpo entero de juveniles de tenca alimentados con dietas con diferentes niveles de sustitución de aceite de pescado por una mezcla de aceites vegetales.

	(% Sustitución)								Contraste polinómico	
	Inicial	0	20	40	60	80	100	ESM	ANOVA	Lineal
14:0	1.53 <sup>a</sup>	3.42 <sup>b</sup>	3.00 <sup>b</sup>	2.92 <sup>b</sup>	3.47 <sup>b</sup>	3.15 <sup>b</sup>	2.92 <sup>b</sup>	0.17	0.001	<0.001
15:0	<0.05	0.42 <sup>b</sup>	0.37 <sup>b</sup>	0.38 <sup>b</sup>	0.44 <sup>b</sup>	0.38 <sup>b</sup>	0.37 <sup>b</sup>	0.04	0.001	<0.001
16:0	15.38	21.72	21.08	20.28	21.30	21.28	20.46	0.76	0.34	0.03
17:0	0.35	0.32	0.30	0.30	0.34	0.29	0.29	0.01	0.424	0.135
18:0	3.83	3.21	3.10	3.35	3.05	3.18	3.12	0.09	0.374	0.04
20:0	0.52 <sup>a</sup>	0.20 <sup>b</sup>	0.18 <sup>b</sup>	0.19 <sup>b</sup>	0.18 <sup>b</sup>	0.18 <sup>b</sup>	0.19 <sup>b</sup>	0.03	<0.001	<0.001
24:0	1.26 <sup>a</sup>	<0.05 <sup>b</sup>	0.30 <sup>c</sup>	0.27 <sup>c</sup>	0.33 <sup>c</sup>	0.32 <sup>c</sup>	0.25 <sup>c</sup>	0.10	<0.001	<0.001
14:1	<0.05 <sup>a</sup>	<0.05 <sup>a</sup>	<0.05 <sup>a</sup>	0.29 <sup>bc</sup>	0.33 <sup>b</sup>	0.30 <sup>bc</sup>	0.26 <sup>c</sup>	0.04	<0.001	<0.001
16:1	5.59 <sup>a</sup>	11.94 <sup>b</sup>	11.12 <sup>b</sup>	11.33 <sup>b</sup>	11.00 <sup>b</sup>	10.87 <sup>b</sup>	10.41 <sup>b</sup>	0.60	0.004	<0.001
17:1	0.69	0.70	0.65	0.64	0.69	0.62	0.59	0.02	0.903	0.66
18:1n-9	48.52 <sup>a</sup>	31.46 <sup>b</sup>	34.10 <sup>b</sup>	33.51 <sup>b</sup>	33.3 <sup>b</sup>	33.24 <sup>b</sup>	33.10 <sup>b</sup>	1.57	0.001	<0.001
20:1	1.26 <sup>a</sup>	2.44 <sup>ab</sup>	2.49 <sup>ab</sup>	2.55 <sup>ab</sup>	3.00 <sup>b</sup>	3.10 <sup>b</sup>	3.60 <sup>b</sup>	0.31	0.008	0.001
22:1n-9	0.44 <sup>a</sup>	0.75 <sup>b</sup>	0.62 <sup>ab</sup>	0.66 <sup>ab</sup>	0.76 <sup>b</sup>	0.66 <sup>ab</sup>	0.60 <sup>ab</sup>	0.03	0.047	0.004
24:1	0.77 <sup>a</sup>	<0.05 <sup>b</sup>	<0.05 <sup>b</sup>	<0.05 <sup>b</sup>	<0.05 <sup>b</sup>	<0.05 <sup>b</sup>	<0.05 <sup>b</sup>	0.07	<0.001	<0.001
18:2n-6	7.11	5.36	6.95	6.94	6.82	7.37	7.71	0.30	0.60	0.66
20:2n-6	<0.05 <sup>a</sup>	0.19 <sup>b</sup>	0.20 <sup>b</sup>	0.16 <sup>b</sup>	0.18 <sup>b</sup>	0.21 <sup>b</sup>	0.18 <sup>b</sup>	0.02	0.001	<0.001
18:3n-6	<0.05 <sup>a</sup>	0.21 <sup>b</sup>	0.19 <sup>b</sup>	0.19 <sup>b</sup>	0.21 <sup>b</sup>	0.20 <sup>b</sup>	0.19 <sup>b</sup>	0.02	0.001	<0.001
18:3n-3	1.38 <sup>a</sup>	1.37 <sup>a</sup>	2.48 <sup>ab</sup>	2.92 <sup>b</sup>	2.74 <sup>b</sup>	2.93 <sup>b</sup>	3.33 <sup>b</sup>	0.21	0.002	0.002
20:3n-6	<0.05 <sup>a</sup>	0.28 <sup>b</sup>	0.32 <sup>b</sup>	0.30 <sup>b</sup>	0.29 <sup>b</sup>	0.30 <sup>b</sup>	0.31 <sup>b</sup>	0.03	<0.001	<0.001
20:4n-6	1.07 <sup>a</sup>	0.15 <sup>b</sup>	0.17 <sup>b</sup>	0.19 <sup>b</sup>	0.16 <sup>b</sup>	0.16 <sup>b</sup>	0.19 <sup>b</sup>	0.09	<0.001	<0.001
20:5n-3	3.25	5.34	4.41	4.58	5.23	4.46	4.30	0.19	0.14	0.01
22:6n-3	6.53	7.64	6.27	6.52	6.57	6.28	6.25	0.19	0.56	0.81
ΣAGS <sup>1</sup>	22.87	29.29	28.33	27.69	29.11	28.78	27.60	0.69	0.06	0.003
ΣAGMI <sup>2</sup>	57.27 <sup>a</sup>	47.29 <sup>b</sup>	48.99 <sup>b</sup>	49.05 <sup>b</sup>	49.08 <sup>b</sup>	48.79 <sup>b</sup>	48.56 <sup>b</sup>	1.00	0.01	<0.001
ΣAGPI <sup>3</sup>	12.81 <sup>a</sup>	20.54 <sup>b</sup>	20.99 <sup>b</sup>	21.80 <sup>b</sup>	21.50 <sup>b</sup>	21.91 <sup>b</sup>	22.46 <sup>b</sup>	0.89	0.001	<0.001
Σn-6	8.18	6.19	7.83	7.78	7.66	8.24	8.58	0.26	0.27	0.42
Σn-3	14.41	14.35	13.16	14.02	13.84	13.67	13.88	0.27	0.953	0.56

Valores presentados como medias. ESM: error estándar de la media combinado. La ausencia de superíndices en la misma fila representa diferencias no significativas entre tratamientos ( $p > 0.05$ ). No se muestran ácidos grasos con valores <0.05%. <sup>1</sup>Suma de ácidos grasos saturados; <sup>2</sup>Suma de ácidos grasos monoinsaturados; <sup>3</sup>Suma de ácidos grasos poliinsaturados.

**Tabla 8.** Índices nutricionales de todo el cuerpo de juveniles de tenca, alimentados con dietas con diferentes niveles de sustitución de pescado por una mezcla de aceites vegetales.

	(% Sustitución)						ESM	ANOVA
	0	20	40	60	80	100		
$\Sigma\text{AGPI}/\Sigma\text{AGS}^1$	0.70	0.74	0.79	0.74	0.76	0.86	0.01	0.68
AEP+ADH <sup>2</sup>	9.99	8.07	8.49	7.45	7.47	6.67	0.36	0.44
$\Sigma n-6/ \Sigma n-3$	0.43	0.60	0.56	0.59	0.61	0.62	0.03	0.59

Valores presentados como medias. ESM: error estándar de la media combinado

<sup>1</sup> $\Sigma$  ácidos grasos poliinsaturados/ $\Sigma$  ácidos grasos saturados (g kg<sup>-1</sup> peso húmedo)

<sup>2</sup> Suma de ácido eicosapentaenoico y ácido docosahexaenoico (g kg<sup>-1</sup> peso húmedo).

#### 6.3.4. DISCUSIÓN

En los hábitats naturales, la presencia de crustáceos planctónicos y otros invertebrados en su tracto digestivo revelan que los juveniles de tenca actúan como depredadores (Adámek et al., 2003; Alaş et al., 2010) y, por tanto, los aceites de origen vegetal están ausentes de su dieta natural. Por esta razón, la inclusión de aceites vegetales en la dieta podría tener efectos negativos sobre la palatabilidad y, en consecuencia, sobre la ingesta de alimento. En nuestro experimento, los juveniles aceptaron todas las dietas por igual, lo que demuestra que el sabor era aceptable y, como sugirieron Turchini et al. (2009), la fracción lipídica juega un papel menor en la palatabilidad de los alimentos acuícolas.

En estudios realizados en otras especies de ciprínidos, como la carpa negra (*Mylopharyngodon piceus*) (Sun et al., 2011) y el minnow (*Onchystoma macrolepis*) (Gou et al., 2021) con aceite de colza, y en la carpa común (*Cyprinus carpio*) con aceite de cacahuete sin refinar (Yildirim et al., 2013), aceite de girasol (Sonu et al., 2014) o aceite de semilla de uva (Zorlu y Gümüş, 2022), la sustitución total de aceite de pescado no afectó negativamente al crecimiento. En el presente estudio, la sustitución total de aceite de pescado por una mezcla de aceites vegetales fue factible sin efectos negativos sobre los parámetros de crecimiento, lo que nos llevó a considerar que los requerimientos de ácidos grasos esenciales estaban completamente cubiertos. Es importante tener en cuenta que dichos requerimientos varían cualitativa y cuantitativamente entre las especies, pero también durante el desarrollo, siendo las primeras etapas un período crítico (Tocher, 2010). En este experimento, los juveniles de tenca tenían inicialmente una longitud y peso inferiores a los de otros estudios con especies de agua dulce. Ello nos lleva a considerar que la cantidad de AGE proporcionada por las dietas podría ser una buena aproximación de los valores mínimos requeridos en esta especie.

A diferencia de los peces marinos, las necesidades de AGE para especies de agua dulce generalmente son cubiertos por el AGPI C:18, ya que son capaces de convertir los ácidos linoleico y linolénico en ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga n-6 y n-3, como el AEP y el ADH (Xie et al., 2021). Bajo esta consideración, las cantidades de aceite de maíz, de linaza y de oliva de la mezcla se calcularon para proporcionar un contenido similar o superior de AL y ALN al del aceite de hígado de bacalao y, de hecho, el contenido de ambos aumentó al incorporar mayores

cantidades de la mezcla de aceites vegetales (ver Tabla 3). La dieta control de este estudio tiene la misma formulación que la descrita en Sáez-Royuela *et al.* (2015), pero el contenido de ALN fue inferior ( $1.83 \text{ g kg}^{-1}$  y  $4.60 \text{ g kg}^{-1}$ , respectivamente), mientras que el contenido de AL fue similar ( $7.2$  y  $6.7 \text{ g kg}^{-1}$ , respectivamente). Los buenos resultados de crecimiento en ambos casos sugieren que los requerimientos de ALN para juveniles de tenca podrían ser inferiores a los recomendados en peces de agua dulce (Tocher, 2010), entre el 0.5 y el 1% del peso seco de la dieta.

Puesto que la dieta influye sobre la composición final del pescado, sus propiedades nutricionales y su calidad como alimento humano podrían verse afectadas (Ayisi *et al.*, 2019). Con respecto a la composición corporal, se evidenció, respecto a la dieta control, una disminución significativa del contenido de lípidos cuando los juveniles de tenca se alimentaron con la dieta sin aceite de pescado. Este resultado no concuerda con los obtenidos en otras especies de agua dulce, como la tilapia del Nilo (Erondu *et al.*, 2021), el esturión beluga (Falathkar *et al.*, 2018), la trucha arco iris (Güler y Yildiz, 2010) y el pez mandarín (Sankian *et al.*, 2019), donde la inclusión de aceites vegetales en la dieta determinó un aumento del contenido de lípidos en todo el cuerpo y/u otros tejidos. En un estudio con juveniles de pompano dorado (*Trachinotus ovatus*), Guo *et al.* (2021) hallaron una relación entre el contenido corporal de lípidos y la relación ALN/AL en las dietas, de modo que el menor contenido coincidió con la relación ALN/AL más elevada. En nuestro experimento, encontramos una relación similar, de modo que el contenido mayor de lípidos correspondió a juveniles alimentados con la dieta control (ALN/AL = 0.25), y el menor en aquellos alimentados con sustitución total de aceite de pescado (ALN/AL = 0.37).

El contenido de ácidos grasos de cadena larga n-3 es abundante en los peces y, debido a su importancia en el crecimiento y el mantenimiento de la salud humana a través de la prevención de enfermedades cardiovasculares crónicas, diabetes, cáncer y enfermedades degenerativas relacionadas con la edad, el consumo de productos pesqueros es muy recomendable (Calder, 2014). Un efecto negativo derivado de la sustitución de aceite de pescado por aceites vegetales es la reducción de dos ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, EPA y DHA, en la composición corporal de los peces. Este hecho ha sido ampliamente documentado en muchos estudios recientes, tanto en especies marinas, como la dorada (*Sparus aurata*) (Álvarez *et al.*, 2020, Ofori-Mensah *et al.* 2020a), lubina europea (*Dicentrarchus labrax*) (Eroldoğan *et al.*, 2013), corvina de aleta corta (*Cynoscion parvipinnis*) (González-Félix *et al.* 2016), mero híbrido (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂) (An *et al.*, 2020), corvina amarilla (*Larimichthys crocea*) (Mu *et al.*, 2020), corvina (*Argyrosomus regius*) (Katsika *et al.*, 2021) y seriola (*Seriola dumerili*) (Milián-Sorribes *et al.*, 2021), y también en especies de agua dulce, como el barbo plateado (Nayak *et al.*, 2017), la carpa negra (Sun *et al.*, 2011), el “black bass” (Chen *et al.*, 2020), la trucha de Manchuria (Yu *et al.*, 2019), el salvelino ártico y de arroyo (Dupont-Cyr *et al.*, 2022) y la trucha arco iris (Lazzarotto *et al.*, 2018). En este experimento, aunque el contenido de AEP y ADH en las dietas disminuyó significativamente a medida que aumentaba el aceite vegetal, no se encontraron diferencias en su contenido en el cuerpo de los juveniles, lo que concuerda con los

resultados de Garrido et al. (2020) sobre la alta capacidad de la tenca para biosintetizar AGPI CL n-3 a partir de ALN.

Al igual que otros estudios en especies de aguas continentales (Gesto et al., 2021; Dupont-Cyr et al., 2022; Yu et al., 2019; Nayak et al., 2017; Sankian et al., 2019; Gou et al., 2021; Lazzarotto et al., 2018), la inclusión de aceites vegetales en la dieta resultó en un aumento significativo de AL en la composición corporal de los juveniles de tenca. En humanos, la ingesta de AL se correlaciona inversamente con la enfermedad cardiovascular y el riesgo de cáncer (Naghshi et al., 2021) y, por lo tanto, la mezcla de aceites de origen vegetal utilizada parece tener un efecto positivo en la calidad nutritiva de la tenca.

Entre los índices utilizados para evaluar el valor nutritivo de los alimentos humanos,  $\Sigma\text{AGPI}/\Sigma\text{AGS}$  es uno de los más utilizados. En los peces, presenta un amplio rango de valores, entre 0.50 y 1.62, dependiendo de las especies (Chen et al., 2020), siendo mejor cuanto mayor sea su valor. En este experimento, esta relación varió entre 0.70 y 0.86, correspondiente a los peces que recibieron la dieta control y la dieta con sustitución total de aceite de pescado, respectivamente. Estos resultados fueron inferiores a los obtenidos en filetes de tenca de tamaño comercial, cultivada bajo condiciones semiintensivas (peso promedio 680 g,  $\Sigma\text{AGPI}/\Sigma\text{AGS}$ : 1.10) y extensivas (peso medio 210 g,  $\Sigma\text{AGPI}/\Sigma\text{AGS}$ : 1.32) (Linhartová et al., 2018). No obstante, fueron superior a 0.40, el límite mínimo para considerar un alimento como no aconsejable para la salud humana, debido a su potencial efecto de aumento de los niveles de colesterol en sangre (Wood et al., 2008; Wereńska et al., 2021). Otro índice utilizado para evaluar el valor nutritivo y saludable del pescado es la suma de AEP + ADH (Chen et al., 2020). En tencas cultivadas en condiciones semiintensivas, este índice fue de 3.19 g kg<sup>-1</sup> (Linhartová et al., 2018), mientras que los valores absolutos en nuestro estudio fueron mayores, entre 7.88 g kg<sup>-1</sup> para los juveniles alimentados con la dieta que incluía 100% aceites vegetales y 13.2 g kg<sup>-1</sup> en los que recibieron la dieta control. Los valores más altos obtenidos en nuestro estudio podrían atribuirse no solo al diferente tamaño de los peces, sino también a las condiciones de alimentación. En este sentido, Linhartová et al. (2018) encontraron un menor contenido de AEP + ADH y lípidos en tencas criadas en condiciones extensivas, con alimentos naturales, que en las cultivadas en condiciones semiintensivas. En nuestro estudio, los juveniles de tenca solo recibieron dietas extrusionadas, lo cual determinó una mayor deposición de lípidos que en el estudio mencionado anteriormente y, en consecuencia, un mayor contenido de AEP + ADH.

Finalmente, la relación  $\Sigma\text{n-6}/\Sigma\text{n-3}$  es un indicador útil no solo para comparar el valor nutritivo de diferentes especies piscícolas, sino también para establecer si el alimento resulta saludable en humanos, donde la proporción óptima recomendada varía de 1/1 a 4/1 (Simopoulos, 2004). Considerando los datos de Wereńska et al. (2021), esta proporción varía significativamente entre las especies piscícolas, siendo más elevados en las de aguas continentales. Los valores obtenidos en nuestro estudio, entre 0.43 y 0.62, no difirieron en gran medida a los obtenidos en tencas de cultivos semiintensivos y extensivos: 0.75 y 0.47, respectivamente (Linhartová et al., 2018).

Es importante considerar que las comparaciones entre los valores de los índices nutricionales para la tenca disponibles en la literatura científica y nuestros resultados deben interpretarse con precaución, ya que se han obtenido a partir de animales de pequeño tamaño, el perfil de ácidos grasos corresponde al cuerpo completo y los juveniles no recibieron alimento natural. Por tanto, la información proporcionada podría considerarse como un enfoque inicial, siendo necesario realizar futuros ensayos sobre los efectos de dietas con aceites vegetales en la calidad nutritiva de tencas criadas hasta el tamaño comercial.

#### 6.4. ESTUDIO IV: SUSTITUCIÓN DE ACEITE DE PESCADO POR ACEITE DE CAMELINA (*Camelina sativa* L.) EN DIETAS PARA JUVENILES DE TENCA (*Tinca tinca* L.): EFECTOS SOBRE LA SUPERVIVENCIA, EL CRECIMIENTO Y EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS CORPORAL.

**Fish oil replacement by camelina (*Camelina sativa* L.) oil in diets for juvenile tench (*Tinca tinca* L.): effects on survival, growth and whole-body fatty acid profile.**

Teresa García, José M. Carral\*, María Sáez-Royuela, Jesús D. Celada.  
**Animals 2022, 123362**

##### 6.4.1. PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL

Las formulaciones de piensos destinados a animales acuáticos incluyen cada vez mayor cantidad de aceites de origen vegetal, especialmente para la acuicultura (OECD/FAO, 2022). Tal como se planteó en el experimento anterior de esta secuencia, los aceites vegetales, solos o en mezclas, se han considerado como posibles sustitutos del aceite de pescado en diversas especies acuícolas (Turchini y Torstensen, 2009; Ayisi et al., 2018), destacando los de soja, palma, linaza, girasol, colza y oliva. Los lípidos de origen vegetal suelen ser ricos en ácidos grasos C18, principalmente linoleico (AL, 18:2n-6),  $\alpha$ -linolénico (ALN, 18:3n-3) y oleico (18:1n-9), pero carecen o tienen un contenido muy limitado de ácidos grasos poliinsaturados n-3 de cadena larga (AGPI CL n3), como los ácidos eicosapentanoico (AEP, 20:5n-3) y docosahexaenoico (ADH, 22:6n-3).

Una nueva fuente de ácidos grasos poliinsaturados n-3 es la *Camelina sativa*, una especie de la familia Brassicaceae comúnmente conocida como camelina. El interés en su producción ha aumentado en los últimos años, debido no solo a sus beneficios agrotécnicos, que la hacen más respetuosa con el medio ambiente que otros cultivos oleaginosos convencionales (Budin et al., 1995; Neupane et al., 2022), sino también por el perfil de ácidos grasos de su aceite. En su revisión, Zanetti et al. (2021) recogen un considerable número de estudios sobre la adaptabilidad de la camelina a variadas condiciones ambientales, sobre sus bajos requisitos de agua y nutrientes, su resistencia a múltiples plagas, enfermedades e insectos, así como sobre sus múltiples usos en alimentación humana y animal y obtención de biodiesel. En relación a los usos alimentarios, el aceite de camelina (AC) presenta un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados (>55%), destacando el ácido linolénico, precursor de AGPI CL n3, y valores de relación n-3/n-6 cercanos a 2, que son poco frecuentes en aceites vegetales (Toncea et al., 2013; Berti et al., 2016; Popa et al., 2017). Según Tocher (2010), la sustitución parcial o total de aceite de pescado es más factible en peces de agua dulce que en especies marinas, que carecen de la capacidad de desaturar y alargar los AGPI C-18 y, por lo tanto, es más probable que tengan deficiencia de AGPI CL n3. Se han evidenciado efectos negativos sobre el crecimiento cuando el aceite de pescado fue parcial o totalmente reemplazado por aceite de camelina en dorada (*Sparus aurata*) por Huyben et al. (2020) y Ofori-Mensah et al. (2020), en bacalao del Atlántico (*Gadus morhua*) por Hixson y Parrish (2014) y en totoaba (*Totoaba macdonaldi*) por Maldonado-Othon et al. (2022). Sin embargo, la sustitución total no afectó al crecimiento de especies de agua dulce como la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) (Lu et al., 2020), la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Toyes-Vargas et al., 2020) y el salmón del Atlántico (*Salmo salar*) (Hixson et al., 2014; Betancor et al., 2015a, 2015b; Ye et al., 2021). Con objeto de incrementar su contenido en EPA y DHA, se probó en lubina europea (*Dicentrarchus labrax*) (Betancor et al., 2021), dorada (Huyben et al., 2020; Betancor et al., 2016) y salmón del Atlántico (Betancor et al., 2015a, 2015b) aceite de *C. sativa*



genéticamente modificada para expresar genes de algas. En todos los casos, la inclusión de aceite de camelina transgénica no tuvo efectos negativos sobre el crecimiento y las propiedades nutritivas de los peces cultivados.

Considerando que la camelina es un cultivo alternativo de semillas oleaginosas con un impacto ambiental marcadamente bajo y que su aceite posee un alto contenido de ácidos grasos insaturados, el objetivo del presente trabajo fue conocer los efectos de la sustitución parcial o total de aceite de pescado por aceite de camelina sobre la tasa de supervivencia, el crecimiento y la composición corporal de los juveniles de tenca.

#### 6.4.2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un experimento de 90 días en el que 540 juveniles de tenca de cuatro meses (longitud media inicial:  $31.48 \pm 0.49$  mm; peso medio inicial:  $0.330 \pm 0.18$  g) se alimentaron con seis dietas (50 % de proteína) que diferían en el nivel de sustitución de aceite pescado por aceite de camelina: 0% (control), 20%, 40%, 60%, 80% o 100%. La formulación de las dietas prácticas se presenta en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Formulación de las dietas con diferente sustitución del aceite de pescado por aceite de camelina ( $\text{g kg}^{-1}$  dieta).

Ingredientes ( $\text{g kg}^{-1}$ )	0	20	40	60	80	100
Harina de pescado <sup>1</sup>	645	645	645	645	645	645
Harina de maíz <sup>2</sup>	166	166	166	166	166	166
Quistes desecados de <i>Artemia</i> <sup>3</sup>	100	100	100	100	100	100
Carboximetilcelulosa <sup>4</sup>	30	30	30	30	30	30
Aceite de camelina <sup>5</sup>	0	4	8	12	16	20
Aceite de hígado de bacalao <sup>6</sup>	20	16	12	8	4	0
L-ascorbil-2-monofosfato-Na <sup>7</sup>	5	5	5	5	5	5
Fosfato dicálcico <sup>7</sup>	10	10	10	10	10	10
Cloruro de colina <sup>7</sup>	3	3	3	3	3	3
Lecitina de soja <sup>8</sup>	10	10	10	10	10	10
Cloruro de sodio <sup>9</sup>	1	1	1	1	1	1
Premix vitamínico-mineral <sup>10</sup>	10	10	10	10	10	10

<sup>1</sup> Skretting España S.A., Ctra. de la Estación s/n 09620 Cojóbar. Burgos. España.

<sup>2</sup> Adpan Europa S.L., ES-33186 El Berrón. Siero. Asturias. Spain.

<sup>3</sup> INVE Aquaculture Nutrition. Hoogveld 91. Dendermonde. Bélgica.

<sup>4</sup> Helm Iberica S.A., ES-28108 Alcobendas. Madrid. Spain.

<sup>5</sup> Camelina Company. Camino de la Carrera, 11-11, 28140 Fuente el Saz, Madrid.

<sup>6</sup> Acofarma distribution S.A., ES-08223 Terrassa. Barcelona. Spain.

<sup>7</sup> Cargill, ES-28720 Colmenar Viejo. Madrid. Spain.

<sup>8</sup> Biover N.V., Monnikenwerve 109. B-8000 Brujas. Bélgica.

<sup>9</sup> Unión Salinera de España S.A., ES-28001 Madrid. Spain.

<sup>10</sup> Aporta  $\text{mg kg}^{-1}$  de premezcla: inositol, 50000; tiamina, 500; riboflavina, 800; niacina, 5000; piridoxina, 1500; ácido pantoténico, 5000; biotina, 150; ácido fólico, 3500; cianocobalamina, 5; retinol, 2400;  $\alpha$ -tocoferol, 30000; colecalfiferol, 6.25; naftoquinona, 5000; hidroxitolueno butilado, 1500;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 300000;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 11000;  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 4000;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 1180;  $\text{CoSO}_4$ , 26;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 77400; KI, 340;  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ , 68.

En las Tablas 2 y 3 se recoge la composición proximal y perfil de ácidos grasos de las dietas, respectivamente.

### 6.4.3. RESULTADOS

Observando el comportamiento de los juveniles de tenca, se comprobó que las dietas fueron ingeridas a lo largo del experimento, independientemente de la cantidad de aceite de camelina incluida.

La Tabla 4 muestra la longitud total y el peso en juveniles después de 30 y 60 días de experimento. No hubo diferencias significativas entre los juveniles alimentados con diferentes dietas después de 30 (rango de valores medios: 40.55-43.55 mm y 0.98-1.19 g) y 60 días de experimento (rango de valores medios: 51.43-54.43 mm y 2.00-2.68 g). Tras de 30 y 60 días se lograron aumentos medios de LT del 34.1% y el 69.3%, respectivamente. Respecto al peso inicial, el peso medio fue 3.4 veces mayor después de 30 días, mientras que a los 60 días fue casi 7 veces mayor.

**Tabla 2.** Composición proximal (g kg<sup>-1</sup> de dieta) de las dietas con diferente sustitución de aceite de pescado por aceite de camelina.

Composición proximal (g kg <sup>-1</sup> )	% Sustitución					
	0	20	40	60	80	100
Humedad	65.8±3.1	60.5±2.2	67.7±3.4	67.3±2.1	68.3±1.5	64.2±2.5
Proteína Bruta	509±4.0	508±2.0	509±5.0	509±3.0	504±2.0	510±3.0
Lípidos	99.1±1.8	99.3±1.8	99.4±1.7	100.0±2.0	99.8±2.1	99.6±2.2
Carbohidratos	196.1±3.2	202.0±3.5	196.1±2.6	193.3±0.5	199.4±3.8	196.5±3.4
Cenizas	130.0±1.8	130.2±1.9	128.1±1.5	126.6±2.0	130.0±2.2	129.7±1.8
Energía bruta (MJ kg <sup>-1</sup> )	15.3±0.1	15.2±0.1	15.1±0.1	15.4±0.1	15.3±0.2	15.3±0.1

Valores presentados como media ± error estándar de la media.

Los resultados de crecimiento tras 90 días se muestran en la Tabla 5. La tasa de supervivencia fue del 100% en todos los grupos experimentales. No hubo diferencias en LT, P, TCE, IC, K y GB entre los juveniles alimentados con diferentes dietas, lo que demuestra la viabilidad de una sustitución completa del aceite de pescado sin efectos adversos. No se observaron peces con deformidades visibles externamente.

**Tabla 3.** Perfil de ácidos grasos (% del contenido total de lípidos) de las dietas con diferentes niveles de sustitución de aceite de pescado por aceite de camelina.

	% Sustitución					
	0	20	40	60	80	100
14:0	4.17±0.01 <sup>a</sup>	4.02±0.06 <sup>a</sup>	3.82±0.19 <sup>ab</sup>	3.46±0.0.18 <sup>abc</sup>	3.16±0.21 <sup>bc</sup>	2.86±0.05 <sup>c</sup>
15:0	0.52±0.06	0.50±0.04	0.49±0.03	0.47±0.03	0.44±0.03	0.43±0.06
16:0	17.14±1.20	16.65±0.93	16.25±0.96	15.80±0.82	15.18±0.78	14.90±0.75
17:0	0.47±0.03	0.46±0.02	0.44±0.03	0.44±0.04	0.41±0.02	0.40±0.03
18:0	2.98±0.12	2.92±0.14	2.92±0.13	2.90±0.15	2.76±0.03	2.92±0.11
20:0	0.10±0.02 <sup>a</sup>	0.21±0.06 <sup>ab</sup>	0.28±0.07 <sup>ab</sup>	0.39±0.08 <sup>abc</sup>	0.49±0.10 <sup>bc</sup>	0.60±0.10 <sup>c</sup>
24:0	0.30±0.04	0.28±0.02	0.27±0.03	0.27±0.04	0.26±0.01	0.25±0.03
14:1	0.55±0.06	0.55±0.05	0.53±0.03	0.51±0.03	0.45±0.01	0.44±0.02
16:1	8.16±0.70	7.92±0.60 <sup>ab</sup>	7.44±0.50 <sup>ab</sup>	7.08±0.40 <sup>bc</sup>	6.29±0.30 <sup>c</sup>	5.85±0.20 <sup>d</sup>
17:1	0.12±0.01	0.12±0.02	0.12±0.01	0.11±0.01	0.10±0.01	0.09±0.01
18:1n-9	26.8±1.70	25.59±1.80	24.95±1.60	24.57±1.50	23.73±1.40	23.63±1.40
20:1	6.24±0.40	6.32±0.30	6.32±0.32	6.63±0.44	6.88±0.40	7.29±0.61
22:1n-9	0.61±0.03 <sup>a</sup>	0.57±0.03 <sup>ab</sup>	0.51±0.04 <sup>abc</sup>	0.48±0.01 <sup>bc</sup>	0.41±0.03 <sup>cd</sup>	0.32±0.01
24:1	0.73±0.01	0.66±0.04	0.61±0.03	0.64±0.04	0.64±0.04	0.64±0.03
18:2-n-6	6.63±0.30 <sup>a</sup>	7.09±0.50 <sup>ab</sup>	8.17±0.42 <sup>bc</sup>	9.24±0.18 <sup>cd</sup>	10.40±0.55 <sup>de</sup>	11.67±0.67 <sup>e</sup>
18:3n-6	<0.05 <sup>a</sup>	0.07±0.01 <sup>a</sup>	0.37±0.03 <sup>b</sup>	0.37±0.03 <sup>b</sup>	0.32±0.01 <sup>b</sup>	0.31±0.03 <sup>b</sup>
18:3n-3	2.96±0.13 <sup>a</sup>	5.15±0.14 <sup>b</sup>	7.29±0.22 <sup>c</sup>	9.12±0.31 <sup>d</sup>	11.17±0.42 <sup>e</sup>	13.31±0.46 <sup>f</sup>
20:3n-6	0.14±0.01 <sup>a</sup>	0.12±0.01 <sup>ab</sup>	0.10±0.01 <sup>b</sup>	<0.05 <sup>c</sup>	<0.05 <sup>c</sup>	<0.05 <sup>c</sup>
20:4n-6	0.16±0.02 <sup>a</sup>	0.23±0.03 <sup>ab</sup>	0.35±0.03 <sup>bc</sup>	0.36±0.03 <sup>bc</sup>	0.43±0.06 <sup>c</sup>	0.50±0.06 <sup>c</sup>
20:5n-3	8.33±0.31 <sup>a</sup>	7.77±0.34 <sup>ab</sup>	7.11±0.38 <sup>abc</sup>	6.61±0.34 <sup>bc</sup>	6.18±0.31 <sup>cd</sup>	5.19±0.27 <sup>d</sup>
22:6n-3	8.97±0.80 <sup>a</sup>	8.28±0.75 <sup>ab</sup>	7.37±0.72 <sup>ab</sup>	6.62±0.63 <sup>ab</sup>	6.44±0.61 <sup>ab</sup>	5.02±0.51 <sup>b</sup>
Σ AGS <sup>1</sup>	25.68±1.00	25.03±0.91	24.47±0.89	23.73±0.87	22.74±0.79	22.36±0.75
Σ AGMI <sup>2</sup>	42.96±1.10	41.78±0.92	40.48±0.87	39.99±0.84	38.65±0.83	38.27±0.80
Σ AGPI <sup>3</sup>	27.19±0.94 <sup>a</sup>	28.71±1.03 <sup>a</sup>	30.71±1.02 <sup>ab</sup>	32.22±1.22 <sup>ab</sup>	34.94±1.09 <sup>b</sup>	36.00±1.09 <sup>b</sup>
ALN/AL <sup>4</sup>	0.48±0.001 <sup>a</sup>	0.73±0.05 <sup>b</sup>	0.89±0.01 <sup>c</sup>	0.99±0.01 <sup>cd</sup>	1.07±0.001 <sup>de</sup>	1.14±0.001 <sup>e</sup>

Valores presentados como media ± error estándar de la media.

Medias en la misma fila con diferentes superíndices son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

No se muestran algunos ácidos grasos presentes en pequeñas cantidades (<0,05%).

<sup>1</sup> Ácidos grasos saturados totales; <sup>2</sup> Ácidos grasos monoinsaturados totales

<sup>3</sup> Ácidos grasos poliinsaturados totales; <sup>4</sup> Ácido linolénico/ácido linoleico

**Tabla 4.** Crecimiento de tencas juveniles alimentadas con dietas con diferentes niveles de sustitución de aceite de pescado por aceite de camelina después de 30 y 60 días.

% Sustitución		0	20	40	60	80	100	ESM	ANOVA
30 días	TL <sup>1</sup> (mm)	41.86	43.55	42.41	43.16	40.55	42.2	0.64	0.861
	Peso <sup>2</sup> (g)	1.18	1.17	1.11	1.19	1.09	0.98	0.05	0.886
60 días	TL <sup>1</sup> (mm)	54.23	51.43	52.38	54.34	54.11	53.3	0.66	0.808
	Peso <sup>2</sup> (g)	2.68	2.00	2.22	2.30	2.29	2.32	0.09	0.424

Valores presentados como medias.

ESM: error estándar de la media combinado.

<sup>1</sup> Longitud total.

<sup>2</sup> Peso

**Tabla 5.** Resultados de crecimiento de juveniles de tenca alimentados con dietas con diferentes niveles de sustitución de aceite de pescado por aceite de camelina durante 90 días.

% Sustitución	0	20	40	60	80	100	ESM	ANOVA
LT <sup>1</sup> (mm)	66.54	67.01	66.85	68.58	68.64	66.83	0.439	0.633
P <sup>2</sup> (g)	4.78	4.64	4.47	4.79	4.68	4.59	0.089	0.933
TCE <sup>3</sup> (% día <sup>-1</sup> )	2.78	2.44	2.78	2.84	2.85	2.81	0.060	0.404
K <sup>4</sup>	1.44	1.41	1.39	1.37	1.37	1.45	0.009	0.051
IC <sup>5</sup>	1.20	1.26	1.26	1.21	1.22	1.22	0.013	0.674
GB <sup>6</sup> (g)	137.75	130.39	124.00	136.68	131.53	131.14	1.074	0.812

Valores presentados como medias. ESM: error estándar de la media combinado.

<sup>1</sup> Longitud total.

<sup>2</sup> Peso.

<sup>3</sup> Tasa de crecimiento específico =  $100 \times [(\ln \text{ peso corporal final} - \ln \text{ peso corporal inicial}) \times \text{días}]^{-1}$

<sup>4</sup> Factor de condición =  $100 \times (\text{peso corporal} \times [(\text{longitud corporal})^{-3}]^{-1})$

<sup>5</sup> Tasa de conversión alimenticia = cantidad total de alimento suministrado por tanque x BG-1

<sup>6</sup> Ganancia de biomasa = biomasa final por tanque – biomasa inicial por tanque.

La composición proximal y el perfil de ácidos grasos de los juveniles al inicio y al final del experimento se resumen en las Tablas 6 y 7. Las dietas afectaron a la composición corporal de los animales, de modo que el contenido de lípidos fue significativamente inferior en peces alimentados con dietas con 40% y porcentajes superiores de aceite de camelina.

**Tabla 6.** Composición proximal ( $\text{g kg}^{-1}$ ) del cuerpo entero de juveniles de tenca alimentados con dietas prácticas con diferentes niveles de sustitución de aceite de pescado por aceite de camelina.

	% Sustitución							ESM	ANOVA	Contrastes polinómicos	
	Inicial	0	20	40	60	80	100			Lineal	Cuadrático
Humedad	768.7	763.6	768.6	759.5	774.3	760.3	773.8	3.46	0.44	0.64	0.81
Proteína	147.2	159.9	145.7	145.8	145.3	149.1	151.4	1.80	0.15	0.22	0.03
Lípidos	19.4	59.2 <sup>a</sup>	56.1 <sup>ab</sup>	48.0 <sup>b</sup>	48.4 <sup>b</sup>	38.5 <sup>c</sup>	32.2 <sup>c</sup>	2.39	<0.001	<0.001	0.001
Cenizas	24.2	22.5	19.1	18.1	22.6	22.5	18.2	0.70	0.06	0.47	0.93

Valores presentados como medias. ESM: error estándar de la media combinado.

Medias en la misma fila con diferentes superíndices son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

Después de 90 días, el contenido corporal de ALN aumentó a medida que lo hizo la inclusión de aceite de camelina, siendo significativamente mayor con respecto a la dieta control en las dietas con porcentajes de sustitución del 40% y superiores. Se evidenció un aumento significativo de 20:4n-6 (ácido araquidónico) en juveniles alimentados con dietas con 60% de aceite de camelina y niveles superiores. El contenido de 22:1n-9 (ácido erúcico) disminuyó en los juveniles alimentados con dietas a partir de un 80% de aceite de camelina. Finalmente, no se encontraron diferencias en  $\Sigma\text{AGS}$ ,  $\Sigma\text{AGMI}$ ,  $\Sigma\text{AGPI}$ ,  $\Sigma\text{n-3}$  y  $\Sigma\text{n-6}$ .

La Tabla 8 incluye algunos índices comúnmente utilizados para determinar el valor nutritivo de los peces como alimento humano. Las relaciones  $\Sigma\text{AGPI}/\Sigma\text{AGS}$  y  $\Sigma\text{n-6}/\Sigma\text{n-3}$  mostraron una tendencia al aumento lineal con la incorporación de aceite de camelina en los piensos, mientras que EPA+DHA mostró una tendencia opuesta. Así, en comparación con la dieta control, el contenido de EPA+DHA fue significativamente menor en los juveniles de tenca alimentados con la dieta con 100 % de aceite de camelina y la relación  $\Sigma\text{n-6}/\Sigma\text{n-3}$  fue significativamente mayor en los juveniles de tenca alimentados con dietas con 80 % y 100 %.

#### 6.4.4. DISCUSIÓN

La palatabilidad es una de las principales características de los alimentos acuícolas para garantizar una ingestión óptima y reducir la cantidad de alimento no consumido. Kasumayan y Døving (2003) afirmaron que los peces se sienten atraídos por compuestos solubles en agua, anfóteros, no volátiles y que contienen nitrógeno, con un bajo peso molecular. Teniendo esto en cuenta, los lípidos parecen desempeñar un papel menor en la palatabilidad de los alimentos acuícolas (Turchini y Mailer., 2010). Sin embargo, el alto contenido de glucosinolatos en *C. sativa* podría ser una desventaja, ya que estas sustancias pueden ser responsables del sabor amargo o fuerte (Berhow et al., 2013; Singh et al., 2021). De hecho, Ofori-Mensah et al. (2020a) en doradas, Betancor et al. (2021) en lubina europea y Hixson y Parrish (2014) en bacalao del Atlántico señalaron una reducción del crecimiento cuando los peces se alimentaron con dietas que incluían aceite de camelina, lo que atribuyeron a una menor ingestión debido a una merma de la palatabilidad. En nuestro experimento, los juveniles de tenca aceptaron por igual todas las dietas, lo que nos llevó a considerar que el sabor y el olor eran aceptables, incluso cuando no contenía aceite de pescado.

**Tabla 7.** Perfil de ácidos grasos (% de lípidos) del cuerpo entero de juveniles de tenca alimentados con dietas con diferentes niveles de sustitución de aceite de pescado por aceite de camelina.

	% Sustitución							Contraste polinómico		
	Inicial	0	20	40	60	80	100	ESM	ANOVA	Lineal
14:0	3.29	2.65	2.62	2.57	2.41	2.23	2.23	0.06	0.06	0.005
15:0	0.45	0.37	0.37	0.37	0.40	0.36	0.34	0.01	0.55	0.42
16:0	16.50	20.53	21.07	20.07	19.49	19.39	19.95	0.33	0.79	0.32
17:0	0.33	0.24	0.24	0.27	0.27	0.25	0.23	0.01	0.44	0.88
18:0	2.78	2.77	2.71	2.61	2.65	2.58	2.58	0.04	0.70	0.17
20:0	0.14	0.18 <sup>ab</sup>	0.21 <sup>ab</sup>	0.22 <sup>ab</sup>	0.25 <sup>ab</sup>	0.27 <sup>ab</sup>	0.29 <sup>b</sup>	0.01	0.17	0.01
24:0	0.23	0.16	0.18	0.15	0.17	0.14	0.17	0.01	0.55	0.72
14:1	0.39	0.33	0.35	0.35	0.35	0.32	0.26	0.01	0.21	0.08
15:1	0.14	0.14	0.11	0.11	0.12	0.11	0.10	0.01	0.39	0.11
16:1	12.3	11.52	11.66	11.35	10.74	10.54	10.82	0.30	0.92	0.36
17:1	0.13	0.63	0.62	0.63	0.72	0.67	0.58	0.01	0.07	0.96
18:1n-9	27.82	33.98	33.20	32.79	31.36	31.79	32.53	0.41	0.57	0.19
20:1	2.23	3.30	3.20	3.50	3.63	3.91	3.91	0.10	0.39	0.05
22:1n-9	1.09	1.01 <sup>a</sup>	0.95 <sup>ab</sup>	0.83 <sup>ab</sup>	0.72 <sup>abc</sup>	0.64 <sup>bc</sup>	0.46 <sup>c</sup>	0.06	0.007	<0.001
24:1	0.14	0.18	0.18	0.15	0.15	0.15	0.13	0.01	0.14	0.02
18:2n-6	6.54	5.20	5.42	6.07	6.92	7.18	7.31	0.30	0.13	0.01
18:3n-6	0.49	0.19	0.20	0.20	0.23	0.21	0.20 <sup>b</sup>	0.01	0.87	0.60
18:3n-3	1.83	1.64 <sup>a</sup>	2.41 <sup>ab</sup>	3.40 <sup>bc</sup>	4.36 <sup>cd</sup>	5.11 <sup>de</sup>	5.64 <sup>e</sup>	0.43	<0.001	<0.001
20:3n-6	0.47	0.31	0.32	0.31	0.37	0.38	0.41	0.01	0.06	0.06
20:4n-6	0.12	0.15 <sup>a</sup>	0.19 <sup>a</sup>	0.27 <sup>ab</sup>	0.34 <sup>bc</sup>	0.39 <sup>bc</sup>	0.41 <sup>c</sup>	0.03	0.001	<0.001
20:5n-3	2.39	3.61	3.51	3.42	3.48	3.24	3.21	0.08	0.79	0.20
22:6n-3	10.06	8.73	7.63	8.11	8.25	7.77	6.49	0.28	0.32	0.09
ΣAGS <sup>1</sup>	23.72	26.40	27.40	26.23	25.64	25.29	25.85	0.49	0.92	0.46
ΣAGMI <sup>2</sup>	46.24	51.09	50.39	49.71	47.79	48.13	48.83	0.58	0.63	0.17
ΣAGPI <sup>3</sup>	21.90	19.83	19.68	21.88	24.09	24.28	23.65	0.67	0.08	0.01
Σn-6	7.76	5.85	6.13	6.85	7.86	8.16	8.33	0.34	0.09	0.008
Σn-3	14.28	13.98	13.55	14.93	16.09	16.12	15.34	0.43	0.49	0.13

ESM: error estándar de la media combinado. Los datos iniciales no se incluyeron en el análisis estadístico. Medias en la misma fila con diferentes superíndices son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). No se muestran algunos ácidos grasos presentes en menor cantidad (<0.05%).<sup>1</sup> Suma ácidos grasos saturados; <sup>2</sup> Suma ácidos grasos monoinsaturados; <sup>3</sup> Suma ácidos grasos poliinsaturados



**Tabla 8.** Índices nutricionales en juveniles de tenca alimentados con dietas experimentales con diferentes niveles de sustitución de aceite de pescado por aceite de camelina tras 90 días.

	% Sustitución						Contraste polinómico		
	0	20	40	60	80	100	ESM	ANOVA	Lineal
$\Sigma$ AGPI/ $\Sigma$ AGS <sup>1</sup>	0.75	0.72	0.83	0.94	0.96	0.92	0.03	0.09	0.01
AEP+ADH <sup>2</sup>	6.07 <sup>a</sup>	6.25 <sup>a</sup>	5.53 <sup>a</sup>	5.67 <sup>a</sup>	4.24 <sup>ab</sup>	3.16 <sup>b</sup>	0.35	0.01	0.001
$\Sigma$ n-6/ $\Sigma$ n-3	0.42 <sup>a</sup>	0.45 <sup>ab</sup>	0.46 <sup>ab</sup>	0.49 <sup>ab</sup>	0.51 <sup>b</sup>	0.52 <sup>b</sup>	0.01	0.02	0.001

ESM: error estándar de la media combinado.

Medias en la misma fila con diferentes superíndices son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ )

<sup>1</sup>  $\Sigma$  ácidos grasos poliinsaturados/ $\Sigma$  ácidos grasos saturados (g kg<sup>-1</sup> peso húmedo).

<sup>2</sup> Ácido eicosapentaenoico + ácido docosahexaenoico (g kg<sup>-1</sup> peso húmedo).

Los requisitos de ácidos grasos esenciales en especies de agua dulce generalmente pueden ser satisfechos mediante la ingesta de ácidos grasos poliinsaturados C: 18, ya que pueden convertir AL y ALN en AGPI LC n-6 y n-3. Como era de esperar, la inclusión en las dietas de aceite de camelina proporcionó mayores cantidades de ALN y AL, mientras que el contenido de ADH y AEP disminuyó (ver Tabla 3). Sin embargo, la sustitución total de aceite de pescado por aceite de camelina fue posible sin afectar negativamente al crecimiento en juveniles de tenca, demostrando que los requisitos de AGE estaban cubiertos. Este estudio concuerda con los resultados obtenidos en el salmón del Atlántico (Hixson et al., 2014; Ye et al., 2016) y en otras especies de agua dulce como la trucha arco iris (Lu et al., 2020) y la tilapia del Nilo (Toyes-Vargas et al., 2020) donde la sustitución total no tuvo un impacto perjudicial sobre los valores de crecimiento. Sin embargo, en especies marinas solo ha sido factible la sustitución parcial de aceite de pescado por aceite de camelina, alcanzándose peor crecimiento con dietas con una sustitución total (Hixson et al., 2014; Huyben et al., 2020; Ofori-Mensah et al., 2020; Maldonado-Othón et al., 2022), a excepción de los estudios realizados en juveniles de bacalao atlántico por Morais et al. (2012) y en juveniles de besugo por Mzengereza et al., (2021). En este último, los autores plantearon la hipótesis de que los requerimientos AGPI LC n-3 habían probablemente sido cubiertos mediante las cantidades de AEP y ADH proporcionadas por la harina de pescado incluida en las dietas, permitiendo buenos resultados de crecimiento incluso cuando el aceite de pescado fue completamente reemplazado por aceites vegetales.

Es ampliamente reconocido que la composición final del pescado refleja el alimento consumido y, por lo tanto, la dieta podría alterar sus propiedades nutricionales y su calidad como alimento humano (Ayisi et al., 2019). La sustitución de aceite de pescado por aceite de camelina no afectó al contenido de lípidos en el cuerpo entero o los filetes de peces marinos (Morais et al., 2012; Betancor et al., 2016; Huyben et al., 2020; Ofori-Mensah et al., 2020), ni en algunas especies de salmónidos (Hixson et al., 2014; Betancor et al., 2015a; Lu et al., 2020; Toyos-Vargas et al., 2020; Ye et al., 2016). Estos resultados no concuerdan con los de este experimento donde, en comparación con la dieta control, el contenido corporal de lípidos disminuyó significativamente cuando los juveniles se alimentaron con dietas que incluían niveles de aceite de camelina del 40% y superiores. De la misma manera, Mzengereza et al. (2021) y Maldonado-Othón et al. (2022) señalaron una disminución del contenido de lípidos en el músculo con la inclusión de aceite de camelina en la dieta. En estudios con juveniles de pompano dorado (*Trachinotus ovatus*), Guo et al. (2021) y juveniles de tenca, Sáez-Royuela et al. (2022), se observó

una relación entre el contenido corporal de lípidos y la relación ALN/AL en las dietas, de modo que el menor contenido coincidió con la relación ALN/AL más elevada. En nuestro experimento, encontramos una relación similar, de modo que el contenido mayor de lípidos correspondió a juveniles alimentados con la dieta control (ALN/AL = 0.25), y el menor a aquellos alimentados sin aceite de pescado (ALN/AL = 1.14).

Los productos pesqueros son altamente recomendados para el consumo humano por aportar ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga n-3, que desempeñan un papel importante en el crecimiento y mantenimiento de la salud a través de la prevención de enfermedades cardiovasculares crónicas, diabetes, cáncer y enfermedades degenerativas relacionadas con la edad (Calder, 2014). Un efecto negativo común en todos los estudios que incluyen aceite de camelina en las dietas es la reducción del contenido de AEP y ADH en el cuerpo entero de los peces o en los filetes. En este experimento, aunque el contenido de AEP y ADH disminuyó significativamente en las dietas a medida que aumentaba el aceite de camelina, no se encontraron diferencias en el contenido corporal de AGPI LC n-3. Esto confirma los resultados de Garrido et al. (2020) sobre la alta capacidad de la tenca para biosintetizar AGPI CL n3 a partir de ALN.

De acuerdo con lo señalado en el bacalao del Atlántico (Morais et al., 2012; Hixson et al., 2014), dorada (Huyben et al., 2020; Ofori-Mensah et al., 2020), besugo rojo (Mzengereza et al., 2021) y tilapia del Nilo (Toyos-Vargas et al., 2020), la incorporación de aceite de camelina condujo a un mayor contenido de ALN en las dietas, determinando un aumento de este ácido graso en el cuerpo de los juveniles de tenca. Teniendo en cuenta que la ingestión de ALN se correlaciona inversamente con la enfermedad cardiovascular y el riesgo de cáncer en humanos (Naghshi et al., 2021), el aceite de camelina parece haber mejorado la calidad nutritiva de la tenca.

Uno de los índices más utilizados para evaluar el valor nutritivo de los alimentos para consumo humano es el  $\Sigma$ AGPI/ $\Sigma$ AGS. Este índice presenta un amplio rango, entre 0.50 y 1.62, dependiendo de las especies piscícolas consideradas (Chen y Liu, 2020), siendo mejor cuanto mayor sea su valor. En este experimento, esta relación varió entre 0.75 y 0.92, correspondientes a los juveniles que recibieron la dieta control y la dieta con sustitución total de aceite de pescado, respectivamente. Estos valores fueron similares a los obtenidos por Sáez-Royuela et al. (2022) en juveniles de tenca alimentados con dietas con diferentes niveles de sustitución de aceite de pescado por una mezcla de aceites vegetales. Linhartová et al. (2018) notificaron valores más altos en filetes de tenca de tamaño comercial, cultivada bajo condiciones extensivas (peso medio 210 g,  $\Sigma$ AGPI/ $\Sigma$ AGS: 1.32) o semiintensivas (peso medio 680 g,  $\Sigma$ AGPI/ $\Sigma$ AGS: 1.10). En este estudio, los valores de este índice fueron superiores a 0.45, el límite mínimo para considerar un alimento como no aconsejable para la salud humana, debido a su potencial efecto de aumento de los niveles de colesterol en sangre (Wood et al., 2008).

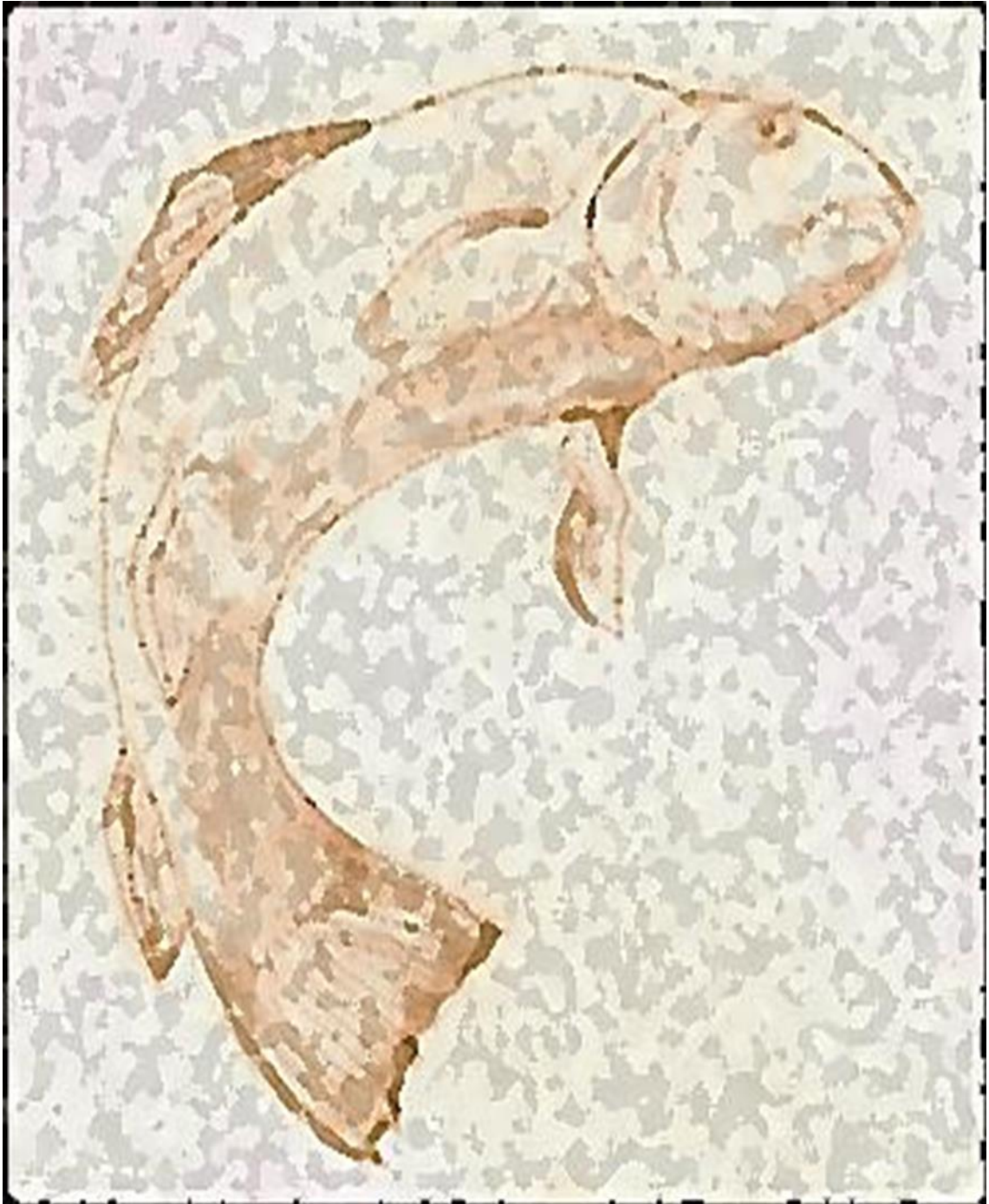
Según la FAO (2010), la ingesta mínima de AEP+ADH recomendada para una salud óptima de los adultos es de 0.25 g día<sup>-1</sup>. En filetes de tenca, Linhartová et al. (2018) encontraron valores de 3.19 y 3.75 g kg<sup>-1</sup> en peces cultivados en condiciones semiintensivas o extensivas, respectivamente. En nuestro estudio, los valores tienden a disminuir a medida que aumenta la inclusión de aceite de camelina, siendo significativamente menor cuando se reemplaza totalmente el aceite de pescado (3.16 g kg<sup>-1</sup> en 100% vs. 6.07 g kg<sup>-1</sup> en dieta control). Los valores más altos en nuestro estudio, a excepción de los juveniles alimentados con dietas que contenían 100% de aceite de camelina, se podrían atribuir no solo a las condiciones de alimentación sino también al diferente tamaño de los peces. Los juveniles de tenca solo recibieron dietas extruidas lo cual determinó una mayor deposición de lípidos que en el estudio de Linhartová et al. (2018) y, en consecuencia, una mayor

contenido de AEP+ADH. También es necesario considerar que nuestros datos se obtuvieron a partir de muestras de cuerpo entero debido al pequeño tamaño de los juveniles al final del experimento.

El  $\Sigma n-6/\Sigma n-3$  es un indicador útil no solo para comparar el valor nutritivo de diferentes especies piscícolas, sino también para establecer si el alimento resulta saludable en humanos. Simopoulos et al., (2004) afirmaron que son más deseables valores bajos para reducir el riesgo de numerosas enfermedades crónicas de alta prevalencia en las sociedades occidentales, así como en los países en desarrollo. Según Strobel et al. (2012), esta relación varía significativamente dependiendo de las especies, alcanzando mayores valores en las de aguas continentales, y de si los peces son silvestres o provienen de la acuicultura. En general, los peces silvestres tienden a presentar  $\Sigma n-6/\Sigma n-3$  menores que los peces cultivados, al presentar éstos un mayor contenido de ácidos grasos poliinsaturados n-6 debido a los aceites vegetales incorporados en alimentos acuícolas como alternativa al aceite de pescado (Strobel et al., 2012). A excepción de la dieta control, los valores de este estudio, entre 0.42 y 0.52, fueron similares a los obtenidos en tencas criadas en cultivo extensivo (0.47) donde solo disponían de alimentos naturales (Linhartová et al., 2018). Con respecto a este índice, el aceite de camelina podría considerarse un buen sustituto del aceite de pescado, ya que el valor nutritivo no se vio afectado.

Debido a la escasa información sobre los valores de los índices nutritivos para la tenca disponibles en la literatura científica, la comparación con nuestros resultados debe interpretarse con precaución, principalmente por el pequeño tamaño de los animales y las diferencias en las condiciones de alimentación. Por tanto, será necesario realizar futuras investigaciones sobre los efectos del aceite de camelina sobre la calidad nutritiva de tencas criadas hasta el tamaño comercial.

## 7. DISCUSIÓN GENERAL



## 7. DISCUSIÓN GENERAL

La respuesta a la inclusión de fuentes proteicas vegetales en los piensos en términos de crecimiento presenta una gran variabilidad entre las especies piscícolas. Según las revisiones de Daniel (2018) y Gyan (2019) las diferencias interespecíficas pueden atribuirse diversas limitaciones entre las que destacan: la menor palatabilidad y el menor contenido de aminoácidos esenciales en comparación con la harina de pescado, así como la presencia de factores antinutricionales y, como consecuencia, la menor digestibilidad.

En los hábitats naturales, la presencia de crustáceos planctónicos y otros invertebrados en su tracto digestivo revelan que los juveniles de tenca actúan como depredadores (Adámek et al., 2003; Alaş et al., 2010) y, por tanto, las proteínas y aceites vegetales están ausentes en su dieta natural. Por ello, su inclusión en las dietas podría afectar negativamente a la palatabilidad y, en consecuencia, a la ingestión de alimento. En este sentido, los juveniles de tenca aceptaron por igual todas las dietas independientemente del contenido de las harinas vegetales. En el concentrado proteico de soja, el proceso de producción mediante la extracción acuosa con etanol elimina su sabor amargo (Morr y Ha 1991) y, por ello, habría mejorado la su palatabilidad, haciendo las dietas atractivas para la tenca. Por el contrario, según Zhang et al. (2012) el procesado para la obtención de concentrado proteico de guisante no tiene efecto en la reducción del contenido de saponinas que pueden causar sabor amargo. De hecho, en la lubina europea Tibaldi et al. (2005) consideraron la merma de la palatabilidad un importante factor limitante para lograr la sustitución total de la harina de pescado por CPG. Esto no sucedió en juveniles de tenca que ingirieron rápidamente las dietas, incluso cuando contenían elevadas cantidades de CPG. Respecto a la inclusión de aceites vegetales en la dieta, los juveniles aceptaron todas las dietas por igual, lo que demuestra que el sabor era aceptable mostrando que la fracción lipídica, como sugirieron Turchini et al. (2009), juega un papel menos relevante sobre la palatabilidad de los alimentos acuícolas.

La deficiencia de determinados aminoácidos esenciales ha sido considerada en varios estudios como una de las principales limitaciones para sustituir harina de pescado en las dietas para juveniles de tenca. Según González-Rodríguez et al. (2014c), los juveniles de tenca toleraron hasta 285 g kg<sup>-1</sup> de CPS, mientras que en el presente experimento no se evidenciaron diferencias significativas en el crecimiento con la inclusión de 383 g kg<sup>-1</sup> (55% sustitución) y con la dieta control y con 45 % de sustitución. Considerando que el contenido de metionina y arginina en la dieta 45% fue significativamente inferior que en el resto de dietas, la posibilidad de reemplazar mayores cantidades de harina de pescado sin efectos adversos sobre el crecimiento no puede atribuirse a la suplementación de aminoácidos, lo que nos llevó a considerar que en todas las dietas el contenido de ambos AAE necesario para cubrir los requerimientos de los juveniles era adecuado. Con el concentrado proteico de guisante, González-Rodríguez et al. (2016a) obtuvieron un crecimiento en juveniles de tenca cuando sustituyeron hasta el 35% de harina de pescado (290.4 g CPG kg<sup>-1</sup> dieta), similar al grupo que recibió la dieta control. Al incrementar hasta 373.3 g de CPG kg<sup>-1</sup> dieta (45% de sustitución), se registró una disminución significativa en el crecimiento que coincidió con una reducción del contenido de metionina de 9.8 a 8.9 g kg<sup>-1</sup> dieta. En el estudio 2 no se evidenciaron diferencias significativas entre los resultados de crecimiento con la dieta control y con las dietas con niveles de sustitución de harina de pescado hasta el 60%. Nuevamente, la dieta sin suplemento de metionina, con un aporte de 10.2 g kg<sup>-1</sup> de este aminoácido, permitió cubrir los requerimientos de los juveniles de tenca. Teniendo en cuenta los datos de González-Rodríguez et al. (2014c, 2016a) y los obtenidos en los dos primeros estudios de la presente tesis, la dieta debe aportar al menos 10 g kg<sup>-1</sup> de metionina para cubrir los requerimientos de juveniles de tenca, valor cercano al recomendado (NRC ,2011) en la carpa mrigal y en la perca amarilla. Respecto a la arginina, la cantidad mínima suministrada (37.2 g kg<sup>-1</sup>) superó ampliamente las



necesidades de especies de agua dulce (NRC 2011) como la carpa común, la perca amarilla, el bagre de canal, la tilapia del Nilo o la trucha arco iris. Por tanto, la suplementación con este aminoácido parece ser innecesaria.

Aunque los procesos para la obtención de concentrados proteicos vegetales determinan una importante reducción de factores antinutricionales algunos, con efectos negativos sobre la utilización y digestión de proteínas aún se encuentran presentes. Es el caso del inhibidor de tripsina, el ácido fítico, el antígeno de glicinina y oligosacáridos ( $\alpha$ -galactósidos tanto en CPS (Zhou et al. 2018) como en CPG (Schulz et al. 2007)). Los juveniles de tenca alimentados con dietas que incluían elevadas cantidades de CPS mostraron un comportamiento anómalo al inicio del experimento (natación lateral y errática próxima a la superficie del agua) e hinchazón abdominal, compatible con el proceso conocido como enteritis inducida por la ingestión de harina de soja (Baeverfjord y Krogdahl 1996; Gu et al. 2016; Booman et al. 2018). De forma similar a lo señalado por Urán et al. (2008) en la carpa común, los síntomas desaparecieron espontáneamente tras un período medio de 20 días sin causar mortalidad. Utilizando dietas con alto contenido de CPG ( $350 \text{ g kg}^{-1}$ ), Penn et al. (2011) observaron en salmones del Atlántico adultos una inflamación y un menor peso relativo del intestino distal, similar a lo descrito en la enteritis inducida por harina de soja. En nuestro estudio, no se observaron comportamientos compatibles con enteritis cuando los juveniles de tenca recibieron dietas con alto contenido en CPG. No obstante, el empeoramiento significativo del crecimiento podría atribuirse a la presencia factores antinutricionales derivada del incremento de inclusión de ambos concentrados proteicos.

Debido a las diferencias en composición entre la harina de pescado y los concentrados vegetales, la inclusión de CPS o CPG determinó una reducción del contenido de lípidos y un aumento de los carbohidratos en las dietas. En un estudio para evaluar los requerimientos lípidicos de los juveniles de tenca, Sáez-Royuela et al. (2015) obtuvieron los mejores valores de crecimiento con contenidos entre  $84.7$  y  $118 \text{ g kg}^{-1}$  de dieta. En la presente tesis, el contenido de lípidos en las dietas que incluían CPG siempre superó los valores mínimos estimados por Sáez-Royuela et al. (2015). Únicamente las dietas 85% y 100% de sustitución de harina de pescado por CPS proporcionaron cantidades inferiores ( $79.5$  y  $73.7 \text{ g kg}^{-1}$  respectivamente) a las recomendadas. A pesar de ello, no hubo diferencias en la LT, la TCE y el ILT entre estas dietas y la dieta con 65% de sustitución (Estudio 1). Esto nos lleva a considerar que el contenido de lípidos no parece ser la causa del menor crecimiento registrado. No existen datos sobre la tolerancia máxima a los hidratos de carbono en tenca pero, considerando que en hábitats naturales los juveniles se alimentan principalmente con zooplancton y otros pequeños invertebrados (Pyka, 1997), el alto contenido de hidratos de carbono derivado de altos niveles de CPS y CPG podría explicar el menor crecimiento registrado. De hecho, los juveniles de tenca alimentados con dietas con contenido en hidratos de carbono superior a  $253.8 \text{ g kg}^{-1}$  presentaron un crecimiento significativamente inferior.

De acuerdo con Jobling (2001), Sargent et al. (2002) y Sáez-Royuela et al. (2015), el contenido de lípidos de las dietas está correlacionado con la composición corporal. Así, tanto la inclusión de CPS como de CPG determinó una reducción significativa del contenido de lípidos en las dietas que se reflejó en la disminución del contenido graso corporal en comparación con los juveniles de tenca alimentados con la dieta con harina de pescado.

A diferencia de los peces marinos, los requisitos de AGE para especies de agua dulce generalmente son cubiertos por el AGPI C:18, ya que son capaces de convertir los ácidos linoleico y linolénico en ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga n-6 y n-3, como el AEP y el ADH (Xie et al., 2021). Considerando los resultados de los estudios 3 y 4, la sustitución total de aceite de pescado por una mezcla de aceites vegetales o por aceite de camelina fue factible sin efectos negativos sobre el crecimiento, lo que nos llevó a



considerar que en ambos casos los requerimientos de ácidos grasos esenciales estaban completamente cubiertos.

Puesto que la dieta influye sobre la composición final del pescado, su calidad nutritiva podría verse afectada (Ayisi et al., 2019). Así, se comprobó una disminución significativa del contenido de corporal de lípidos cuando los juveniles de tenca se alimentaron con las dietas que no contenían aceite de pescado. Nuestros resultados no concuerdan con los obtenidos en otras especies de agua dulce, como la tilapia del Nilo (Erondu et al., 2021), el esturión beluga (Falahatkar et al., 2018), la trucha arco iris (Güler y Yildiz, 2010) y el pez mandarín (Sankian et al., 2019), donde la inclusión de aceites vegetales en la dieta determinó un aumento del contenido de lípidos en determinados tejidos o en el cuerpo entero. En un estudio con juveniles de pompano dorado (*Trachinotus ovatus*), Guo et al. (2021) hallaron una relación inversa entre el contenido corporal de lípidos y la relación ALN/AL en las dietas, de modo que el menor contenido coincidió con la relación ALN/AL más elevada. En la presente tesis, en los estudios 3 y 4, encontramos una relación similar, de modo que el mayor contenido lipídico correspondió en ambos casos a juveniles alimentados con la dieta control y el menor en aquellos alimentados con sustitución total de aceite de pescado por la mezcla de aceites vegetales (ALN/AL = 0.37) o por camelina (ALN/AL = 1.14).

Los productos pesqueros son altamente recomendados para la alimentación humana por aportar ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga n-3, que desempeñan un papel importante en el crecimiento y mantenimiento de la salud a través de la prevención de enfermedades cardiovasculares crónicas, diabetes, cáncer y enfermedades degenerativas relacionadas con la edad (Calder, 2014). Un efecto negativo común en todos los estudios que incluyen aceite de camelina en las dietas es la reducción del contenido de AEP y ADH en el cuerpo entero de los peces o en los filetes. Como era esperable, en nuestros estudios la inclusión de aceites vegetales en las dietas determinó un incremento del contenido de ALN y AL y una reducción significativa de AEP y ADH. A pesar de ello, no se encontraron diferencias en el contenido corporal de AGPI CL n-3. Esto confirma los resultados de Garrido et al. (2020) sobre la alta capacidad de la tenca para biosintetizar AGPI CL n-3 a partir de ALA.

Entre los índices para evaluar el valor nutritivo de los alimentos para consumo humano, el  $\Sigma\text{PUFA}/\Sigma\text{SFA}$  es uno de los más utilizados. En peces, este índice presenta un amplio rango de valores, entre 0.50 y 1.62, dependiendo de las especies (Chen et al., 2020), considerándose más adecuado cuanto mayor sea su valor. En los juveniles de tenca alimentados con dietas donde el aceite de pescado se sustituyó por aceites vegetales, los valores máximos se obtuvieron sustitución total, 0.86 con la mezcla de aceites vegetales y 0.92 con el aceite de camelina. Estos resultados fueron inferiores a los obtenidos en filetes de tenca de tamaño comercial, cultivada bajo condiciones semiintensivas (peso promedio 680 g,  $\Sigma\text{AGPI}/\Sigma\text{AGS}$ : 1.10) y extensivas (peso medio 210 g,  $\Sigma\text{AGPI}/\Sigma\text{AGS}$ : 1.32) (Linhartová et al., 2018). No obstante, sobrepasaron el límite mínimo, 0.40, para considerar un alimento como no aconsejable para la salud humana, debido a su potencial efecto de aumento de los niveles de colesterol en sangre (Wood et al., 2008; Wereńska et al., 2021).

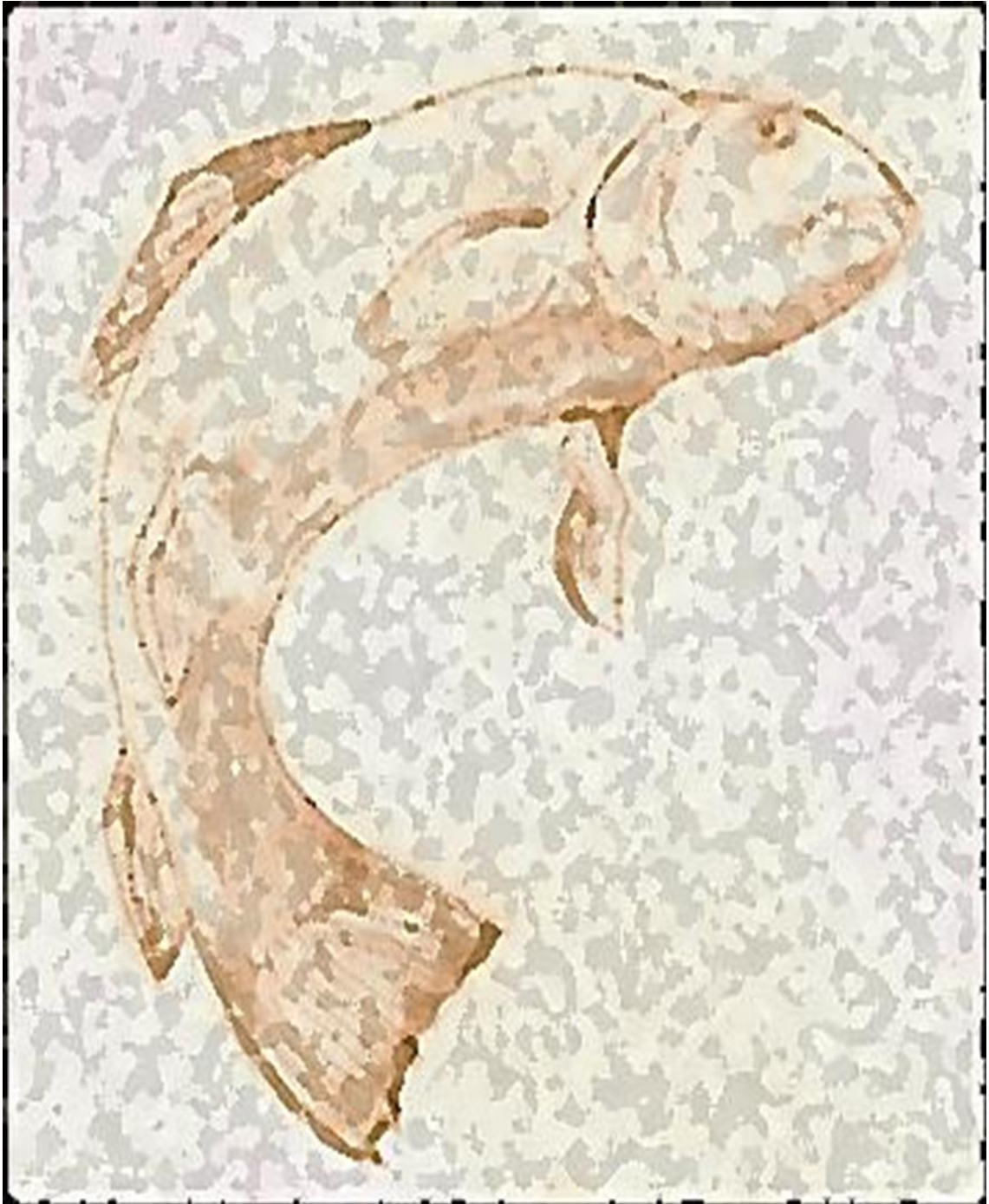
Según la FAO (2010), la ingesta mínima de AEP+ADH recomendada en adultos para mantener una salud óptima es de  $0.25 \text{ g día}^{-1}$ . En filetes de tenca, Linhartová et al. (2018) encontraron valores de AEP+ADH de 3.19 y  $3.75 \text{ g kg}^{-1}$  en peces cultivados en condiciones semiintensivas o extensivas, respectivamente. En nuestros estudios, aunque los valores tendieron a disminuir a medida que aumentó la inclusión de aceites vegetales, el contenido osciló entre 3.16, para aquellos alimentados con dietas que incluían 100% de aceite de camelina, y 6.67 para los alimentados con dietas que incluían 100% de mezcla de aceites vegetales. Para interpretar adecuadamente estos datos es necesario considerar que los juveniles de tenca solo recibieron dietas extrusionadas lo cual determinó una mayor deposición de lípidos que la registrada por Linhartová et al.

(2018) y, en consecuencia, un mayor contenido de AEP+ADH. También debe tenerse en cuenta que nuestros datos se obtuvieron a partir de muestras de cuerpo entero debido al pequeño tamaño de los juveniles al final del experimento.

Finalmente, la relación  $\Sigma n-6/\Sigma n-3$  es un indicador útil no solo para comparar el valor nutritivo de diferentes especies piscícolas, sino también para establecer si el alimento es saludable en humanos. Simopoulos et al., (2004) afirmaron que el consumo de alimentos un índice bajo es aconsejable para reducir el riesgo de numerosas enfermedades crónicas de alta prevalencia en las sociedades occidentales, así como en los países en desarrollo. Según Wereńska et al. (2021), esta proporción varía significativamente entre las especies piscícolas, alcanzando mayores valores en las continentales. Además, existe un efecto derivado de la procedencia, silvestres o de acuicultura que, según Strobel et al. (2012), podría deberse a la incorporación aceites vegetales en alimentos acuícolas que determinaría un mayor valor de  $\Sigma n-6/\Sigma n-3$  en animales cultivados. A excepción de la dieta control, los índices de nuestros estudios, entre 0.60 y 0.62 con la sustitución con mezcla de aceites vegetales y entre 0.45 y 0.52 con aceite de camelina, se aproximaron a los obtenidos en tencas criadas en cultivo extensivo (0.47) donde sólo disponían de alimento natural.

Es importante considerar que las comparaciones entre los valores de los índices nutricionales para la tenca disponibles en la literatura científica y nuestros resultados deben interpretarse con precaución, ya que se han obtenido a partir de animales de pequeño tamaño, el perfil de ácidos grasos corresponde al cuerpo completo y los juveniles no recibieron alimento natural. Por tanto, la información proporcionada podría considerarse como un enfoque inicial, siendo necesario realizar futuros ensayos sobre los efectos de dietas con aceites vegetales en la calidad nutritiva de tencas criadas hasta el tamaño comercial.

## 8. CONCLUSIONES

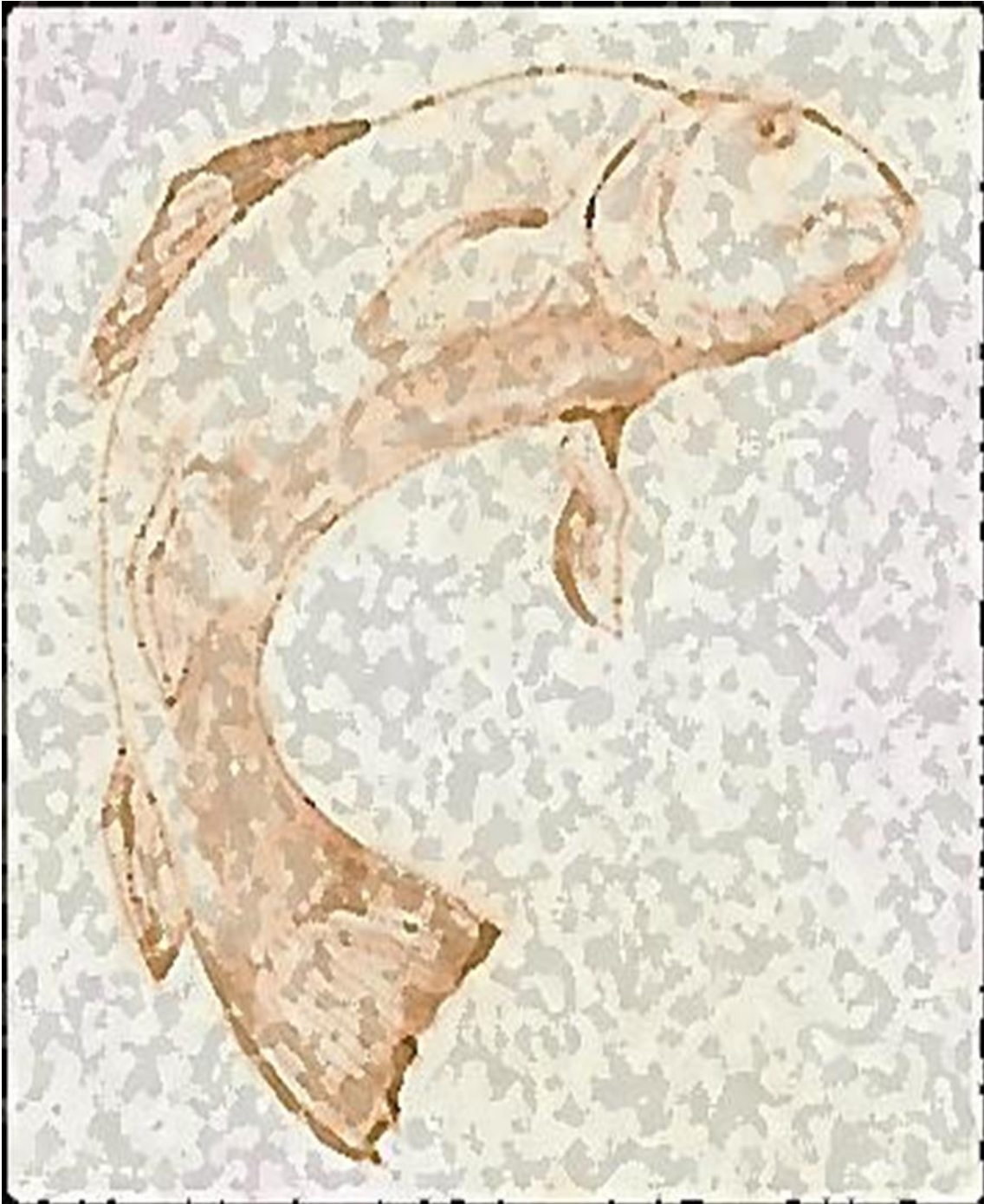


## 8. CONCLUSIONES

1. Los juveniles de tenca presentaron una alta tolerancia a la inclusión de concentrado proteico de soja en la dieta, hasta  $383 \text{ g kg}^{-1}$ , sin que la supervivencia y el crecimiento se vieran afectados.
2. Los juveniles de tenca presentaron una alta tolerancia a la inclusión de concentrado proteico de guisante en la dieta, hasta  $487 \text{ g kg}^{-1}$ , sin que la supervivencia y el crecimiento se vieran afectados.
3. Los requerimientos mínimos de metionina para los juveniles de tenca pueden estimarse en  $10 \text{ g kg}^{-1}$  de dieta, haciendo innecesaria la suplementación de este aminoácido a partir de esa cantidad.
4. La inclusión de concentrado proteico de soja o de guisante determinó una reducción significativa del contenido de lípidos en las dietas que se reflejó en la disminución del contenido graso corporal de los juveniles de tenca.
5. La sustitución total de aceite de pescado por una mezcla de aceites vegetales o por aceite de camelina no afectó la supervivencia ni el crecimiento de los juveniles de tenca.
6. Los juveniles alimentados con dietas sin aceite de pescado mostraron una disminución significativa del contenido corporal de lípidos.
7. No se evidenciaron diferencias significativas en el contenido total de ácidos grasos saturados ( $\Sigma\text{AGS}$ ), monoinsaturados ( $\Sigma\text{AGMI}$ ) y polinsaturados ( $\Sigma\text{AGPI}$ ) entre los juveniles tenca alimentados con dietas con sustitución parcial o total de aceite de pescado por aceites vegetales.
8. Los valores más elevados, y por tanto, mejores del índice nutricional  $\Sigma$  ácidos grasos polinsaturados /  $\Sigma$  ácidos grasos polinsaturados ( $\text{AGPI}/\Sigma\text{AGS}$ ) correspondientes al análisis corporal de los juveniles tenca, se obtuvieron con las dietas con sustitución total de aceite de pescado por mezcla de aceites vegetales o aceite de camelina, 0.86 y 0.92 respectivamente.
9. Aunque el índice nutricional ácido eicosapentaenoico + ácido docosahexaenoico correspondiente al análisis corporal fue significativamente menor cuando los juveniles fueron alimentados con las dietas donde se realizó una sustitución del 80% o total del aceite de pescado por aceite de camelina, los valores obtenidos, 4.24 y 3.16, respectivamente, se encuentran dentro del rango recomendado para los alimentos saludables.



## 9. BIBLIOGRAFÍA



## 9. BIBLIOGRAFÍA

- Adámek, Z., Sukop, I., Moreno Rendón, P., Kouřil, J. (2003) Food competition between 2+ tench (*Tinca tinca* L.), common carp (*Cyprinus carpio* L.) and bigmouth buffalo (*Ictiobus cyprinellus* Val.) in pond polyculture. *J. Appl. Ichthyol.*, 19 (3), 165-169. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0426.2003.00467.x>
- Aguilera, A. (2004) Técnicas de alevinaje de la tenca (*Tinca tinca* L.) en condiciones controladas. Tesis Doctoral. España: Universidad de León.
- Aguilera A., Celada J.D., Carral J.M., Sáez.Royuela M., Rodríguez R., Melendre P.M. (2005) Eficiencia de la incubación artificial de huevos de tenca (*Tinca tinca* L.) en tres sistemas diferentes. España: IX Congreso Nacional de Acuicultura, Libro de Actas.
- Alaş, A., Altındağ, A., Yılmaz, M., Kirpık, M.A., Ak, A. (2010) Feeding Habits of tench (*Tinca tinca* L., 1758) in Beysehir Lake (Turkey). *Turkish J. Fish. Aquat. Sci.*, 10 (2), 187-194. <https://doi.org/10.4194/trjfas.2010.0205>
- APROMAR (2022a) La acuicultura en España 2022. 106 pp.
- APROMAR (2022b) Informe proyecto tenca OPP30. Ponto Fish S.L. 35pp.
- Álvarez, A., Fontanillas, R., Hernández-Contreras, A., Hernández, M.D. (2020) Partial replacement of fish oil with vegetal oils in commercial diets: The effect on the quality of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Anim. Feed Sci. Technol*, 265, 114504. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114504>
- An, W., Dong, X., Tan, B., Wu, M., Zhang, S., Chi, S., Yang, Q., Liu H., Yang Y. (2020) Effects of dietary vegetable oil on growth performance, digestive capacity, antioxidant capacity and expression of immune-related genes in the hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂). *Aquac Nutr*, 26 (6), 2086–2101. <https://doi.org/10.1111/anu.13149>
- Ayisi C., Zhao, J., Wu, J-W. (2018) Replacement of fish oil with palm oil: Effects on growth performance, innate immune response, antioxidant capacity and disease resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *PLoS ONE*, 13(4), e0196100. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196100>
- Ayisi, C.L., Zhao, J., Apraku, A. (2019) Consequences of replacing fish oil with vegetable oils in fish. *J. Anim. Res. Nutr.*, 4, 1:3. <https://doi.org/10.21767/2572-5459.100053>
- Backiel, T. (1986) Masking effects of variability of growth on its estimation in juvenile tench (*Tinca tinca* L.) reared at different temperatures. *Polish Archives of Hydrobiology*, 33 (1), 69-95.
- Baeverfjord, G., Krogdahl, Å. (1996) Development and regression of soybean meal induced enteritis in Atlantic Salmon, *Salmo salar* L., distal intestine: A comparison with the intestines of fasted fish. *J. Fish Dis.*, 19(5), 375–387. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.1996.d01-92.x>.
- Baeverfjord, G., Antony Jesu Prabhu, P., Fjellidal, P.G., Albrektsen, S., Hatlen, B., Denstadli, V., Ytteborg, E., Takle, H., Lock, E.J., Berntssen, M.H.G., Lundebye, A.K., Asgard, T., Waagbø, R. (2019) Mineral nutrition and bone health in salmonids. *Reviews in Aquaculture*, 11 (3), 740–765. <https://doi.org/10.1111/raq.12255>



- Barrows, F. T., Gaylord, T.G., Stone, D. A. J., Smith, C. E. (2007). Effect of protein source and nutrient density on growth efficiency, histology and plasma amino acid concentration of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquac. Res.*, 38, 1747–58. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01854.x>.
- Berhow, M.A., Polat, U., Glinski, J.A., Glensk, M., Vaughn, S.F., Isbell, T., Ayala-Diaz, I., Marek, L., Gardner, C. (2013) Optimized analysis and quantification of glucosinolates from *Camelina sativa* seeds by reverse-phase liquid chromatography, *Ind. Crops Prod.*, 43, 119-125. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.07.018>
- Berti, M., Gesch, R., Eynck, C., Anderson, J., Cermak, S. (2016) *Camelina* uses, genetics, genomics, production, and management, *Ind. Crops Prod.* 94, 690-710. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.09.034>.
- Betancor, M.B., Sprague, M., Sayanova, O., Usher, S., Campbell, P.J., Napier, J.A., Caballero, M.J., Tocher, D.R. (2015a) Evaluation of a high-EPA oil from transgenic *Camelina sativa* in feeds for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): Effects on tissue fatty acid composition, histology and gene expression. *Aquaculture*, 444, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.03.020>
- Betancor, M.B., Sprague, M., Usher, S., Sayanova, O., Campbell, P.J., Napier, J.A., Tocher, D.R. (2015b) A nutritionally-enhanced oil from transgenic *Camelina sativa* effectively replaced marine fish oil as a source of eicosapentaenoic acid for farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Sci. Rep.*, 5, 8104. <https://doi.org/10.1038/srep08104>
- Betancor, M.B., Sprague, M., Montero, D., Usher, S., Sayanova, O., Campbell, P.J., Napier, J.A., Caballero, M.J., Izquierdo, M., Tocher, D.R. (2016) Replacement of marine fish oil with de novo Omega-3 oils from transgenic *Camelina sativa* in feeds for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Lipids*, 51 (10), 1171-1191. <https://doi.org/10.1007/s11745-016-4191-4>.
- Betancor, M.B., MacEwan, A., Sprague, M., Gon, X., Montero, D., Han L., Napier, J.A., Norambuendia, F., Izquierdo, M., Tocher, D.R. (2021) Oil from transgenic *Camelina sativa* as a source of EPA and DHA in feed for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture*, 530, 735759. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735759>
- Biswas, A., Araki, H., Sakata, T., Nakamori, T., Takii, K. (2019) Optimum fish meal replacement by soy protein concentrate from soymilk and phytase supplementation in diet of red sea bream, *Pagrus major*. *Aquaculture*, 506, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.03.023>
- Booman, M., Forster, I., Vederas, J.C., Groman, D.B., Jones, S.R. (2018) Soybean meal-induced enteritis in Atlantic salmon (*Salmo salar*) and Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) but not in pink salmon (*O. gorbuscha*). *Aquaculture*, 483, 238–43. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.10.025>
- Boujard, T., 2004: Comportamiento alimentario y regulación de la ingesta (Feeding behaviour and regulation of ingestion). In: *Nutrición y alimentación de peces y crustáceos (Nutrition and Feeding of Fish and Crustaceans)*. pp. 45–52. J. Guillaume, S. Kaushik, P. Bergot and R. Métalier (Eds). Mundi-Prensa, Madrid, 475 pp.

- Bowyer, J. N., Qin, J. G., Smullen, R. P., Adams, L.R., Thompson, M.J., Stone, D.A.J. (2013) The use of a soy product in juvenile yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) feeds at different water temperatures: 2. Soy protein concentrate. *Aquaculture*, 410–411, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.06.001>
- Boyd, C.E., D'Abramo, L.R., Glencross, B.D., Huyben, D.C., Juarez, L.M., Lockwood, G.S., McNevin, A.A., Tacon, A.G.J., Teletchea, F., Tomasso, J.R., Tucker, C.S., Valenti, W.C. (2020) Achieving sustainable aquaculture: Historical and current perspectives and future needs and challenges. *J. World Aquac. Soc.*, 51, 578–633. <https://doi.org/10.1111/jwas.12714>
- Budin, J.T., Breene, W.M., Putnam, D.H. (1995) Some compositional properties of camelina (*Camelina sativa* L. Crantz) seeds and oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 72, 309–315. <https://doi.org/10.1007/BF02541088>.
- Buhjel, R. C. (2008) *Statistics for aquaculture*. Iowa, USA: Willey-Blackwell Publishers.
- Burr, G. S., Wolters, W.R., Barrows, F.T., Hardy, R.W. (2012) Replacing fishmeal with blends of alternative proteins on growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), and early or late stage juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 334–337, 110–116. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.12.044>
- Çabuk, B., Nosworthy, M.G., Stone, A.K., Korber, D.R., Tanaka, T., House, J.D., Nickerson, M.T. (2018) Effect of fermentation on the protein digestibility and levels of non-nutritive compounds of pea protein concentrate. *Food Technol. Biotechnol.*, 56 (2), 257–264. <https://doi.org/10.17113/ftb.56.02.18.5450>
- Calder, P.C. (2014) Very long chain omega-3 (n-3) fatty acids and human health. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 116, 1280–1300. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201400025>
- Cantril, J. (2015) Pea seed protein concentrate in tilapia feeds. *International Aquafeed*, September–October 2015.
- Carral J.M., Rodríguez R., Celada J.D., Sáez-Royuela M., Aguilera A., Melendre P. (2003) Succesfull gondadal development and maturation of Tench (*Tinca tinca* L.) in small concrete ponds. *J. Appl. Ichthyol.*, 19 (3), 130–131. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0426.2003.00458.x>
- Carral J.M., Celada J.D., Sáez-Royuela M., Rodríguez R., Aguilera A., Melendre P (2006) Effects of four stocking procedures on hatching rate and further survival and growth of larvae in the tench (*Tinca tinca* L.) *Aquac. Res.*, 37 (6), 632–636. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2109.2006.01473.X>
- Carral J.M., García V., Celada J.D., González R., Sáez -Royuela M., González A. (2014) Effects of different photoperiod conditions on juvenile tench (*Tinca tinca* L.) under intensive rearing. *J. Appl. Ichthyol.*, 30, 44–49. <https://doi.org/10.1111/jai.12424>
- Carter, C.G., Hauler, R. C. (2000). Fish meal replacement by plant meals in extruded feeds for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture*, 185(3–4), 299–311. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00353-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00353-1)
- Celada, J.D., Carral, J.M., Rodríguez, R., Sáez-Royuela, M., Aguilera, A., Melendre, P., Martín, J. (2007a) Tench (*Tinca tinca* L.) larvae rearing under controlled conditions: density and basic supply of *Artemia* nauplii as the sole food. *Aquac. Int.*, 15 (6), 489–495. <https://doi.org/10.1007/s10499-007-9116-z>

- Celada J.D., García V., Carral J.M., Sáez-Royuela M., Aguilera A., Melendre P.M., Pérez J.R. (2007b) Effects of stocking density on survival and growth of juvenile tench (*Tinca tinca* L.). *Aquac. Int.*, 15 (6), 461-465. <https://doi.org/10.1007/s10499-007-9111-4>
- Celada J. D., Aguilera A., Carral J.M., Sáez-Royuela M., Melendre P.M. (2008) Rearing tench (*Tinca tinca* L.) larvae on live feed (*Artemia*) and on two transition schedules from live to dry diets. *J. Appl. Ichthyol.*, 24 (5), 595-600. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2008.01078.x>
- Celada, J. D., Aguilera, A., García, V., Carral, J.M., Sáez-Royuela, M., González, R., González, Á. (2009) Rearing juvenile tench (*Tinca tinca* L.) under controlled conditions using *Artemia* nauplii as supplement to a dry diet. *Aquac. Int.*, 17 (6), 565–570. <https://doi.org/10.1007/s10499-008-9225-3>
- Celada, J.D., García, V., Carral, J.M., Sáez-Royuela, M., González, R., González, A. (2013) Decapsulated *Artemia* cysts of different quality (high or low hatch-rate) as direct food for tench (*Tinca tinca* L.) larvae. *Aquac. Res.*, 44 (2), 167-175. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.03020.x>
- Cerdá I., Mulet J. (1992) Producción de Carpas. Jornadas de Acuicultura Internacional. Feria Universal Ganadera, Salamanca, España.
- Chatzifotis, S., Polemitou, I., Divanach, P., Antonopoulou, E. (2008) Effect of dietary taurine supplementation on growth performance and bile salt activated lipase activity of common dentex, *Dentex dentex*, fed a fish meal/soy protein concentrate-based diet. *Aquaculture* 275 (1–4), 201–08. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.12.013>.
- Chen, J., Liu, H. (2020) Nutritional Indices for Assessing Fatty Acids: A Mini-Review. *Int. J. Mol. Sci.*, 21(16), 5695. <https://doi.org/10.3390/ijms21165695>
- Chen, Y., Ma, J., Huang, H., Zhong H. (2019) Effects of the replacement of fishmeal by soy protein concentrate on growth performance, apparent digestibility, and retention of protein and amino acid in juvenile pearl gentian grouper. *PLoS ONE* 14(12), e0222780. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222780>
- Chen, Y., Sun, Z., Liang, Z., Xie, Y., Su, J., Luo, Q., Zhu, J., Liu, Q., Han, T., Wang, A. (2020) Effects of dietary fish oil replacement by soybean oil and l-carnitine supplementation on growth performance, fatty acid composition, lipid metabolism and liver health of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*. *Aquaculture*, 516, 734596. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734596>
- Coad, B.W. (1999) Fish i. Freshwater fishes, p. 655–669. In: *Encyclopædia Iranica. Bibliotheca Persica Press Volume IX, Fascicle 6. Festivals VIII–Fish*, Yarshater, E. (Ed.). New York.
- Cohen, S.A., Michaud, D.P. (1993) Synthesis of a fluorescent derivatizing reagent, 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate, and its application for the analysis of hydrolysate amino acids via high-performance liquid chromatography. *Anal. Biochem.*, 211, 279–287. <https://doi.org/10.1006/abio.1993.1270>
- Cohen, S.A., De Antonis, K.M. (1994) Applications of amino acid derivatization with 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate. Analysis of feed grains, intravenous solutions and glycoproteins. *J. Chromatogr. A*, 661 (1–2), 25–34. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(93\)E0821-B](https://doi.org/10.1016/0021-9673(93)E0821-B)

- Collins, S.A., Desai, A.R., Mansfield, G.S., Hill, J.E., Van Kessel, A. G., Drew, M.D. (2012) The effect of increasing inclusion rates of soybean, pea and canola meals and their protein concentrates on the growth of rainbow trout: Concepts in diet formulation and experimental design for ingredient evaluation. *Aquaculture*, 344–349, 90–99. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.02.018>
- Cottrell, R.S., Blanchard, J.L., Halpern, B.S., Metian, M., Froehlichet, H.E. (2020) Global adoption of novel aquaculture feeds could substantially reduce forage fish demand by 2030. *Nat. Food.*, 1, 301–308. <https://doi.org/10.1038/s43016-020-0078x>
- Cruz-Suárez, L.E., Tapia-Salazar, M., Villarreal-Cavazos, D.A., Beltran-Rocha, J., Nieto-López, M.G., Lemme, A., Ricque-Marie, D. (2009). Apparent dry matter, energy, protein and amino acid digestibility of four soybean ingredients in white shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Aquaculture* 292 (1), 87–94. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.03.026>
- Daniel, N. (2018). A review on replacing fish meal in aquafeeds using plant protein sources. *Int. J. Fish. Aquat. Sci.*, 6 (2), 164–179.
- Day, O., González, H.G.P. (2000) Soybean concentrate as a protein source for turbot *Scophthalmus maximus* L. *Aquac. Nutr.*, 6 (4), 221–228. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.2000.00147.x>
- Deng, J., Mai, K., Ai, Q., Zhang, W., Wang, X., Xu, W., Liufu, Z. (2006) Effects of replacing fish meal with soy protein concentrate on feed intake and growth of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceous*. *Aquaculture*, 258 (1–4), 503–513. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.04.004>
- Dersjant-Li, Y. (2002) The use of soy protein in aquafeeds. *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*, ed. L.E. Cruz-Suárez, D. Ricque-Marie, M. Tapia-Salazar, M. G. Gaxiola-Cortés and N. Simoes. Cancún, Quintana Roo, México. 541-558. ISBN 970-694090-1. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, N.L. México.
- Dupont-Cyr, B.A., Le François, N.R., Christen, F., Desrosiers, V., Savoie, A., Vandenberg, G.W., Dufresne, F., Blier, P.U. (2022) Linseed oil as a substitute for fish oil in the diet of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*), brook charr (*S. fontinalis*) and their reciprocal hybrids. *Aquac. Rep.*, 22, 100949. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100949>
- Eroldoğan, T.O.; Yılmaz, A.H.; Turchini, G.M.; Arslan, M.; Sirkecioğlu, N.A.; Engin, K.; Özşahinoğlu, I.; Mumoğullarında, P. (2013) Fatty acid metabolism in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): effects of n-6 PUFA and MUFA in fish oil replaced diets. *Fish Physiol. Biochem.*, 39(4), 941-55. <https://doi.org/10.1007/s10695-012-9753-7>.
- Erondu, E., Akpoilih, B.U., John, F.S. (2021) Total replacement of dietary fish oil with vegetable lipid sources influenced growth performance, whole body composition, and protein retention in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *J Appl Aquac.*, 35 (2), 330-349. <https://doi.org/10.1080/10454438.2021.1960230>
- Escaffre, A. M., Zambonino Infante, J.L., Cahu, C. L., Mambrini M., Bergot, P., Kaushik, S.J. (1997) Nutritional value of soy protein concentrate for larvae of common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. *Aquaculture*, 153 (1–2), 63–80. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00010-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00010-0)

- Espirito Santo, N.G., Fernandes, V.A.G., Pierri, B., Fracalossi, D. (2015) Replacement of animal protein sources by soy protein concentrate for juvenile Nile tilapia. *Boletim do Instituto de Pesca*, 41 (especial):707–17. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2015v41nep707>
- EUMOFA (2021) European Market Observatory for Fisheries and Aquaculture Products. Fishmeal and fish oil: Production and trade flows in the E.U. Publications Office of the European Union, Luxembourg.
- Falahatkar, B., Asheri, S., Safarpour Amlashi, A., Ershad Langroudi, H. (2018) Canola oil, as a good alternative dietary lipid source in sturgeon: Effects on growth, physiology and fatty acid profile in Beluga sturgeon *Huso huso* L. *Aquac. Nutr.*, 24, 1263–1273. <https://doi.org/10.1111/anu.12664>
- FAO (2010) Fats and fatty acids in human nutrition. Report of an expert consultation in food and nutrition. Paper 91. FAO, Roma, Italia, 188 pp.
- FAO (2017) Planning for aquaculture diversification: The importance of climate change and other drivers. FAO Technical Workshop 23–25 June 2016. Harvey, B., Soto, D., Carosfeld, J., Beveridge, M. y Bartley, D. M. (Eds.). FAO, Roma, Italia, 145 pp.
- FAO (2022) Blue Transformation - Roadmap 2022–2030: A vision for FAO's work on aquatic food systems. Roma, Italia. <https://doi.org/10.4060/cc0459en>
- Fontagné, S. (2009) The impact of nutritional components on rainbow trout. In: Control of malformations in fish aquaculture: Science and practice. Baeverfjord, G., Helland, S., Hough, C. (Eds.), 73–83. Rapid Press.
- Fornshell, G., Hinshaw, J.M. (2008) Better management practices for flow-through aquaculture systems. In Environmental best management practices for aquaculture, Tucker, C.S. y Hargreaves, J.A. (Eds.). 331-388. Blackwell Publishing, Ames, USA.
- Francis, G., Makkar, H.P.S., Becker, K. (2001). Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, 199 (3–4), 197–227. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00526-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00526-9)
- Freyhof, J., Kottelat, M. (2008). Tinca tinca. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T21912A9339248. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T21912A9339248.en>. Accessed on 03 May 2023.
- Furuya, W. M., Pezzato, L.E., Barros, M.M., Pezzato, A.C., Furuya, V.R.B., Carvalho de Miranda, E. (2004) Use of ideal protein concept for precise formulation of amino acid levels in fish-meal-free diets for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquac. Res.*, 35 (12), 1110–1116. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01133.x>
- Gao, S., Yin, N., Zhou, F., Li, H., Zhou, J., Wang, R., Shao, Q. (2013). Evaluation of pea proteins and poultry protein as fish meal alternatives in the diets for juvenile black sea bream, *Acanthopagrus schlegelii*. *Aquac. Nutr.*, 19 (3), 278–288. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2012.00957.x>
- Gao, Z., Wang, X., Tan, C., Zhou, H., Mai, K., He, G. (2019) Effect of dietary methionine levels on growth performance, amino acid metabolism and intestinal homeostasis in turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture*, 498, 335–342. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.08.053>

- García, V., Celada, J.D., Carral, J.M., Sáez-Royuela, M., González, R., González, A. (2010) Decapsulated *Artemia* cysts: A suitable dietary supplement for juvenile tench (*Tinca tinca* L.). J. Appl. Aquac., 22 (1), 57–65. <https://doi.org/10.1080/10454430903539186>
- García V., Celada J. D., Carral J.M., González R., González Á., Sáez-Royuela M. (2011) A comparative study of different preparations of decapsulated *Artemia* cysts as food for tench (*Tinca tinca* L.) larvae. Anim. Feed Sci. Technol., 170 (1–2), 72-77. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.08.005>
- García V., Celada J.D., González R., Carral J.M., Sáez-Royuela M., González A. (2013) Response of juvenile tench (*Tinca tinca* L.) fed practical diets with different protein contents and substitution levels of fish meal by soybean meal. Aquac. Res., 46 (1), 28-38. <https://doi.org/10.1111/are.12154>
- García, V., Celada, J.D., González-Rodríguez, Á., Carral, J.M., Sáez-Royuela, M., González, R., González, Á. (2014) Evaluation of different qualities and preparations of decapsulated *Artemia* cysts as dietary supplement for juvenile tench (*Tinca tinca* L.). J. Appl. Ichthyol., 30 (1), 40-43. <https://doi.org/10.1111/jai.12432>
- García, V., Celada, J.D., González, R., Carral, J.M., Sáez-Royuela, M., González, A. (2015) Response of juvenile tench (*Tinca tinca* L.) fed practical diets with different protein contents and substitution levels of fish meal by soybean meal. Aquac. Res., 46, 28–38. <https://doi.org/10.1111/are.12154>
- Garrido, D., Monroig, Ó., Galindo, A., Betancor, M.B., Pérez, J.A., Kabeya, N., Marrero, M., Rodríguez, C. (2020) Lipid metabolism in *Tinca tinca* and its n-3 LC-PUFA biosynthesis capacity. Aquaculture, 523, 735147. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735147>.
- Gatlin, D.M., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G., Krogdahl, A., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., Souza, E.J., Stone, D., Wilson, R., Wurtele, E. (2007) Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: A review. Aquac. Res., 38 (6), 551–579. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01704.x>
- Gesto, M., Madsen, L., Andersen, N.R., El Kertaoui, N., Kestemont, P., Jokumsen, A., Lund, I. (2021) Early performance, stress- and disease-sensitivity in rainbow trout fry (*Oncorhynchus mykiss*) after total dietary replacement of fish oil with rapeseed oil. Effects of EPA and DHA supplementation. Aquaculture, 536, 736446. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736446>
- González-Félix, M.L., Maldonado-Othón, C.A., Pérez-Velázquez, M. (2016) Effect of dietary lipid level and replacement of fish oil by soybean oil in compound feeds for the shortfin corvina (*Cynoscion parvipinnis*). Aquaculture, 454, 217-228. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.12.021>
- González-Rodríguez Á., Celada, J.D., Carral, J. M., Sáez-Royuela, M., Fuertes, J. B. (2014a) Evaluation of a practical diet for juvenile tench (*Tinca tinca* L.) and substitution possibilities of fish meal by feather meal. Anim. Feed Sci. Technol., 187, 61-67. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.10.001>
- González-Rodríguez, Á., Celada, J.D., Carral, J.M., Sáez-Royuela, M., Fuertes J.B. (2014b) Effects of varying protein level in practical diets on survival, growth, feed utilization



- and body composition of juvenile tench (*Tinca tinca* L.). *Aquac. Int.* 22 (5):1723–35. <https://doi.org/10.1007/s10499-014-9777-3>
- González-Rodríguez, Á., Celada, J.D., Carral, J.M., Sáez-Royuela, M., García, V., Fuertes, J.B. (2014c) Evaluation of soy protein concentrate as replacement of fish meal in practical diets for juvenile tench (*Tinca tinca* L.). *Turkish J. Fish. Aquat. Sci.*, 14, 807–15. [https://doi.org/10.4194/1303-2712-v14\\_3\\_23](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v14_3_23)
- González-Rodríguez, Á., Celada, J.D., Carral, J.M., Sáez-Royuela, M., Fuertes, J.B. (2016a). Evaluation of pea protein concentrate as partial replacement of fish meal in practical diets for juvenile tench (*Tinca tinca* L.). *Aquac. Res.*, 47 (9), 2825–2834. <https://doi.org/10.1111/are.12732>
- González-Rodríguez, Á., Celada, J.D., Carral, J.M., Sáez-Royuela, M., García, V., Fuertes, J.B. (2016b) Evaluation of poultry by-product meal as partial replacement of fish meal in practical diets for juvenile tench (*Tinca tinca* L.). *Aquac. Res.*, 47 (5), 1612-1621. <https://doi.org/10.1111/are.12622>
- Gou, N., Ji, H., Zhong, M., Chang, Z., Deng, W. (2021) Effects of dietary fish oil replacements with three vegetable oils on growth, fatty acid composition, antioxidant capacity, serum parameters and expression of lipid metabolism related genes in juvenile *Onychostoma macrolepis*. *Aquacult Nutr*, 27 (1), 163–175. <https://doi.org/10.1111/anu.13174>
- Green, T.J., Smullen, R., Barnes A.C. (2013) Dietary soybean protein concentrate-induced intestinal disorder in marine farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* is associated with alterations in gut microbiota. *Vet. Microbiol.*, 166 (2), 286–92. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.05.009>
- Gu, M., Bai, N., Zhang, Y., Krogdahl, Å (2016) Soybean meal induces enteritis in turbot *Scophthalmus maximus* at high supplementation levels. *Aquaculture*, 464, 286–95. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.06.035>
- Güler, M., Yıldız, M. (2011) Effects of dietary fish oil replacement by cottonseed oil on growth performance and fatty acid composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 35(3), 157-167. <https://doi.org/10.3906/vet-1002-252>
- Guo, H., Chen, C., Yan, X., Li, Y., Wen, X., You, C., Monroig, Ó., Tocher, D.R., Wang, S. (2021) Effects of different dietary oil sources on growth performance, antioxidant capacity and lipid deposition of juvenile golden pompano *Trachinotus ovatus*. *Aquaculture*, 530, 735923. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735923>
- Gyan, W. R., Ayiku, S., Yang, Q. (2019) Effects of replacing fishmeal with soybean products in fish and crustaceans performance. *J. Aquac. Res. Dev.*, 10 (9), 573. <https://doi.org/10.35248/2155-9546.19.10.573>
- Hamáčková J., Kouril J., Kamler E., Szalaminska M, Vachta R., Stibranyiová I., Muñoz C. (1995) Influence of short-term temperatura decreases on survival, growth and metabolism of tench (*Tinca tinca* L.) larvae. *Polish Archives of Hydrobiology*, 42 (1-2), 109-120.

- Hamáčková J., Kouril J., Kozák P. (1998) The effect of pH upon survival and growth rates in tench (*Tinca tinca* L.) larvae. Polish Archives of Hydrobiology, 45 (3), 399-405.
- Hamilton, H.A., Newton, R., Auchterlonie, N.A., Müller, D.B. (2020) Systems approach to quantify the global omega-3 fatty acid cycle. Nat. Food, 1, 59–62. <https://doi.org/10.1038/s43016-019-0006-0>
- Hardy, R. W. (2008) Farmed fish diet requirements for the next decade and implications for global availability of nutrients. In Alternative protein sources in aquaculture diets, C. Lim, C. D. Webster and C. Lee (Eds.), 1–15. New York, NY: The Hayworth Press, Taylor and Francis Group.
- Hartviksen, M., Vecino, J., Ringø, E., Bakke, A.M., Wadsworth, S., Krogdahl, Å., Ruohonen, K., Kettunen, A. (2014) Alternative dietary protein sources for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) effect on intestinal microbiota, intestinal and liver histology and growth. Aquac. Nutr., 20, 381–398. <https://doi.org/10.1111/ anu.12087>
- Herman, E.M., Schmidt, M.A. (2016) The potential for engineering enhanced functional-feed soybeans for sustainable aquaculture feed. Front. Plant Sci., 7, 440. <https://doi.org/10.3389/ fpls.2016.00440>
- Herrero M.J., Madrid J.A., Sánchez.Vázquez F.J. (2003) Entrainment to light of circadian activity rhythms in tench (*Tinca tinca*) Chronobiol. Int., 20 (6), 1001-17. <https://doi.org/10.1081/cbi-120025246>
- Hixson, S.M., Parrish, C.C. (2014) Substitution of fish oil with camelina oil and inclusion of camelina meal in diets fed to Atlantic cod (*Gadus morhua*) and their effects on growth, tissue lipid classes, and fatty acids. J. Anim. Sci., 92, 1055–1067. <https://doi.org/10.2527/jas2013-7146>
- Hixson, S.M., Parrish, C.C., Anderson, D.M. (2014) Full substitution of fish oil with camelina (*Camelina sativa*) oil, with partial substitution of fish meal with camelina meal, in diets for farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) and its effect on tissue lipids and sensory quality. Food Chem., 157, 51-61. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.026>
- Hua, K., Cobcroft, J.M., Cole, A., Condon, K., Jerry, D.R., Mangott, A., Praeger, C., Vucko, M. J., Zeng, C., Zenger, K., Strugnell, J.M. (2019) The future of aquatic protein: Implications for protein sources in aquaculture diets. One Earth, 1(3), 316–329. <https://doi.org/10.1016/j.oneear.2019.10.018>
- Hubenova, T., Fleig, R., Gottschalk, T. (2001). Raising larvae of the Tench (*Tinca tinca* L.). Bulgarian Journal of Agricultural Science, 7 (4-5), 479-488.
- Huyben, D., Rimoldi, S., Ceccotti, C., Montero, D., Betancor, M., Iannini, F., Terova, G. (2020) Effect of dietary oil from *Camelina sativa* on the growth performance, fillet fatty acid profile and gut microbiome of gilthead Sea bream (*Sparus aurata*). PeerJ., Dec9, 8:e10430. <https://doi.org/10.7717/peerj.10430>
- Imsland, A.K., Folkvord, A., Stefansson, S.O. (1995) Growth, oxygen consumption and activity of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) reared under different temperatures and photoperiods. Neth. J. Sea Res., 34, 149-159. [https://doi.org/10.1016/0077-7579\(95\)90023-3](https://doi.org/10.1016/0077-7579(95)90023-3)

- Jannathulla, R., Rajaram, V., Kalanjiam, R., Ambasankar, K., Muralidhar, M., Dayal, J.S. (2019) Fishmeal availability in the scenarios of climate change: Inevitability of fishmeal replacement in aquafeeds and approaches for the utilization of plant protein sources. *Aquac. Res.*, 50, 3493–3506. <https://doi.org/10.1111/are.14324>
- Jobling, M. (2001) Nutrient partitioning and the influence of feed composition on body composition. In: Food intake in fish. Houlihan, D., Boujard, T. y Jobling M. (Eds.), 354–375. Blackwell, Oxford, U.K.
- Kalhor, H., Zhou, J., Hua, Y., Ng, W.K., Ye, L., Zhang, J., Shao Q. (2018) Soy protein concentrate as a substitute for fish meal in diets for juvenile *Acanthopagrus schlegelii*: Effects on growth, phosphorus discharge and digestive enzyme activity. *Aquac. Res.*, 49 (5), 1896–906. <https://doi.org/10.1111/are.13645>
- Kamiński, R., Sikorska, J., Wolnicki, J. (2017) Diet and water temperature affect growth and body deformities in juvenile tench (*Tinca tinca* L.) reared under controlled conditions. *Aquac. Res.*, 48 (3), 1327-1337. <https://doi.org/10.1111/are.12974>
- Kamler E., Szlamińska M., Hamácková J., Kouřil J., Cachta R., Stibranyiova I., Muñoz C. (1995) Growth and metabolism during development of tench (*Tinca tinca* L.) embryos and larvae at 22 C. *Polish archives of Hydrobiology*, 42 (1-2), 97-108.
- Kamler, E., Myszkowski, L., Kamiński, R., Korwin-Kossakowski, M., Wolnicki J. (2006) Does overfeeding affect tench (*Tinca tinca* (L.) juveniles? *Aquac. Int.*, 14, 99–111. <https://doi.org/10.1007/s10499-005-9018-x>
- Kasumyan, A.O., Døving, K.B. (2003) Taste preferences in fishes. *Fish Fish (Oxf)*, 4 (4), 289-347. <https://doi.org/10.1046/j.1467-2979.2003.00121.x>
- Katsika, L., Tasbozan, O., Mastoraki, M., Karapanagiotis, S., Zalamitsou, C., Feidantsis, K., Antonopoulou, E., Chatzifotis, S. (2021) Effects of fish oil substitution by hazelnut oil on growth performance, whole-body fatty acid composition and enzymes of intermediary metabolism of juvenile meagre (*Argyrosomus regius* Asso, 1801). *Aquac Res.*, 52 (3), 5760–5776. <https://doi.org/10.1111/are.15452>
- Kaushik, S.J., Cravedi, J.P., Lalles, J.P., Sumpter, J., Fauconneau, B., Laroche, M. (1995) Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 133 (3–4), 257–274. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)00403-B](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)00403-B)
- Kennedy, M., Fitzmaurice P. (1970) The biology of the tench *Tinca tinca* (L.) in Irish waters. *Proceedings of the Royal Irish Academy*, 69B (3), 31–82.
- Korwin-Kossakowski M., Jezierska B (1984) The influence of termal conditions on postembryonic development of some species of Coregonidae and Cyprinidae. *Zoologica Poloniae*, 31(1-4), 43-56.
- Kujawa, R., Kucharczyk, D., Mamcarz, A., Żarski, D., Targońska, K. (2011) Artificial spawning of common tench *Tinca tinca* (Linnaeus, 1758) obtained from wild and domestic stocks. *Aquac. Int.*, 19, 513–521. <https://doi.org/10.1007/s10499-010-9366-z>
- Lazzarotto, V., Médale, F., Larroquet, L., Corraze, G. (2018) Long-term dietary replacement of fishmeal and fish oil in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects on growth, whole body fatty acids and intestinal and hepatic gene expression. *PLoS One*, 13(1), e0190730. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190730>

- Li, P. Y., Wang, J.Y., Song, Z.D., Zhang, L.M., Li, X.X., Pan, Q. (2015) Evaluation of soy protein concentrate as a substitute for fishmeal in diets for juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*) Aquaculture, 448 (1.4), 578–85. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.05.049>
- Linhart O., Billard R. (1995) Biology of gametes and artificial reproduction in common tench, *Tinca tinca* (L.) A review. Polish Archives of Hydrobiology, 42, 37-56.
- Linhartová, Z., Krejsa, J., Zajíc, T., Másilko, J., Sampels, S., Mráz, J. (2018) Proximate and fatty acid composition of 13 important freshwater fish species in central Europe. Aquac. Int., 26, 695–711. <https://doi.org/10.1007/s10499-018-0243-5>
- Lu, J., Tibbetts, S.M., Lall, S.P., Anderson, D.M. (2020) Use of dietary oil, solvent-extracted meal and protein concentrate from *Camelina sativa* for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, at the early fry stage. Aquaculture, 524, 735252. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735252>
- Lugert, V., Thaller, G., Tetens, J., Schulz, C., Krieter, J. (2016) A review on fish growth calculation: Multiple functions in fish production and their specific application. Rev Aquac., 8 (1), 30–42. <https://doi.org/10.1111/raq.12071>
- Lokowicz M., Proske C (1980) Production et reproduction de la tanche. La Pisciculture Française, 59, 5-7.
- Malcorps, W., Kok, B., van't Land, M., Fritz, M., van Doren, D., Servin, K., van der Heijden, P., Palmer, R., Auchterlonie, N., Rietkerk, M., Santos, M., Davies, S. (2019) The sustainability conundrum of fishmeal substitution by plant ingredients in shrimp feeds. Sustainability, 11, 1212. <https://doi.org/10.3390/su11041212>
- Maldonado-Othón, C.A., De La Re-Vega E., Perez-Velazquez, M., González-Félix, M.L. (2022) Replacement of fish oil by camelina and black soldier fly larvae oils in diets for juvenile *Totoaba macdonaldi* and their effect on growth, fatty acid profile, and gene expression of pancreatic lipases. Aquaculture, 552, 737985. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.737985>
- Mambrini, M., Roem, A.J., Cavèrdi, J.P., Lallès, J.P., Kaushik, S.J. (1999) Effects of replacing fish meal with soy protein concentrate and of DL-methionine supplementation in high-energy, extruded diets on the growth and nutrient utilization of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. J. Anim. Sci., 77 (11), 2990–99. <https://doi.org/10.2527/1999.77112990x>
- Mareš J., Jirásek J., Baránek V., Fiala J., Kopp R. (2007) Production effect of various feeds on two size classes of juvenile tench (*Tinca tinca*) under the conditions of intensive rearing. Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis, 55(1), 111-116. <https://doi.org/10.11118/actaun200755010111>
- Michel P., Oberdorff T. (1995) Feeding habitats of fourteen European freshwater fish species. Cybium 19 (1), 5-46.
- Milián-Sorribes, M.C., Martínez-Llorens, S., Cruz-Castellón, C., Jover-Cerdá, M., Tomás-Vidal, A. (2021) Effect of fish oil replacement and probiotic addition on growth, body composition and histological parameters of yellowtail (*Seriola dumerili*). Aquac. Nutr., 27, 3– 16. <https://doi.org/10.1111/anu.13171>

- Mohd Faudzi, N., Yong, A.S.K., Shapawi, R., Senoo, S., Biswas, A., Takii, K. (2018) Soy protein concentrate as an alternative in replacement of fish meal in the feeds of hybrid grouper, brown-marbled grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*)× giant grouper (*E. lanceolatus*) juvenile. *Aquac. Res.*, 49 (1), 431–41. <https://doi.org/10.1111/are.13474>
- Molnár T., Szabó, A., Szabó, G., Szabó, C., Hancz, C. (2006) Effect of different dietary fat content and fat type on the growth and body composition of intensively reared pikeperch *Sander lucioperca* (L.). *Aquac. Nutr.*, 12 (3), 173-182. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2006.00398.x>
- Morais, S., Edvardsen, R.B., Tocher, D.R., Bell, J.G. (2012) Transcriptomic analyses of intestinal gene expression of juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) fed diets with Camelina oil as replacement for fish oil. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 161 (3), 283-293. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2011.12.004>
- Morawska B. (1984) The effect of water temperature elevation on incipient and cumulative fecundity of batch-spawning tench, *Tinca tinca* (L.) *Aquaculture*, 42 (3–4), 273-288. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(84\)90107-8](https://doi.org/10.1016/0044-8486(84)90107-8)
- Morr, C.V., Ha, E.Y.W. (1991) Processing to prevent formation of off-flavours in soy products. *Comments on Agricultural and Food Chemistry*, 2, 247–60.
- Mu, H., Wei, C., Xu, W., Gao, W.; Zhang, W., Mai, K (2020) Effects of replacement of dietary fish oil by rapeseed oil on growth performance, anti-oxidative capacity and inflammatory response in large yellow croaker *Larimichthys crocea*. *Aquac. Rep.*, 16, 100251. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2019.100251>
- Myszkowski, L., Kamler, E., Kwiatkowski, S. (2010) Weak compensatory growth makes short-term starvation an unsuitable technique to mitigate body deformities of *Tinca tinca* juveniles in intensive culture. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 20 (3), 381–388. <https://doi.org/10.1007/s11160-009-9134-1>
- Mzengereza, K., Ishikawa, M., Koshio, S., Yokoyama, S., Yukun, Z., Shadrack, R.S., Seo, S., Duy Khoa, T.N., Moss, A.; Dossou, S., Basuini, M.F.E., Dawood, M.A.O. (2021) Effect of substituting fish oil with camelina oil on growth performance, fatty acid profile, digestibility, liver histology, and antioxidative status of red seabream (*Pagrus major*) *Animals*, 11(7), 1990. <https://doi.org/10.3390/ani11071990>
- Naghshi, S., Aune, D., Beyene, J., Mobarak, S., Asadi, M., Sadeghi, O. (2021) Dietary intake and biomarkers of alpha linolenic acid and risk of all cause, cardiovascular, and cancer mortality: systematic review and dose-response meta-analysis of cohort studies. *BMJ*, 375, n2213. <https://doi.org/10.1136/bmj.n2213>
- Nasopoulou, C., Zabetakis, I. (2012) Benefits of fish oil replacement by plant originated oils in compounded fish feeds. A review. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 47 (2), 217-224. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.01.018>
- Nayak, M., Saha, A., Pradhan, A., Samanta, M., Giri, S.S. (2017) Dietary fish oil replacement by linseed oil: Effect on growth, nutrient utilization, tissue fatty acid composition and desaturase gene expression in silver barb (*Puntius gonionotus*) fingerlings. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.*, 205, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2016.11.009>

- Neupane, D., Lohaus, R.H., Solomon, J.K.Q., Cushman, J.C. (2022) Realizing the Potential of *Camelina sativa* as a Bioenergy Crop for a Changing Global Climate. *Plants*, 1 (6), 772. <https://doi.org/10.3390/plants11060772>
- Ngandzali, B.O., Zhou, F., Xiong, W., Shao, Q.J., Xu, J.Z. (2011) Effect of dietary replacement of fish meal by soybean protein concentrate on growth performance and phosphorus discharging of juvenile black sea bream, *Acanthopagrus schlegelii*. *Aquac. Nutr.*, 17 (5), 526–35. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2010.00835.x>
- Nogales-Mérida, S., Tomás-Vidal, A., Moñino-López, A., Jover-Cerdá, J., Martínez-Llorens, S. (2016) Pea protein concentrate in diets for sharpsnout sea bream (*Diplodus puntazzo*): Effects on growth and health status. *Arch. Anim. Nutr.*, 70(6), 488–502. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2016.1229456>.
- NRC (2011) Nutrient requirements of fish and shrimp. Washington, DC: The National Academy Press.
- OECD/FAO (2022) OECD-FAO Agricultural Outlook 2022-2031. OECD Publishing, Paris, France; 363 pp. <https://doi.org/10.1787/f1b0b29c-en>.
- Ofori-Mensah, S., Yildiz, M., Arslan, M., Eldem, V. (2020a) Fish oil replacement with different vegetable oils in gilthead seabream, *Sparus aurata* diets: Effects on fatty acid metabolism based on whole-body fatty acid balance method and genes expression. *Aquaculture*, 529, 735609. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735609>
- Ofori-Mensah, S., Yildiz, M., Arslan, M., Eldem, V., Gelibolu, S. (2020b) Substitution of fish oil with camelina or chia oils in gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) diets: Effect on growth performance, fatty acid composition, haematology and gene expression. *Aquac. Nutr.*, 26 (6), 1943-1957. <https://doi.org/10.1111/anu.13136>
- Organización de Productores Piscicultores (2006) Estudio sobre caracterización y análisis de los procesos productivos empresariales de diversificación del cultivo de la tenca. España: Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación.
- Øverland, M., Sorensen, M., Storebakken, T., Penn, M., Krogdahl, A., Skrede, A. (2009) Pea protein concentrate substituting fish meal or soybean meal in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*) – Effect on growth performance, nutrient digestibility, carcass composition, gut health, and physical feed quality. *Aquaculture*, 288 (3-4), 305–311. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.12.012>
- Peisker, M. (2001) Manufacturing of soy protein concentrate for animal nutrition. *Cahiers Options Méditerranéennes (CIHEAM)*, 54, 103–07.
- Pelgrom, P.J.M., Vissers, A. M., Boom, R.M., Schutyser, M.A.I. (2013) Dry fractionation for production of functional pea protein concentrates. *Food Res. Int.*, 53(1), 232–239. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.05.004>
- Peng, X., Li, F., Lin, S., Chen, Y. (2016) Effects of total replacement of fish oil on growth performance, lipid metabolism and antioxidant capacity in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquac. Int.*, 24, 145–156. <https://doi.org/10.1007/s10499-015-9914-7>
- Peňáz M., Prokeš M., Kouřil J., Hamáčková J. (1989) Influence of water temperature on the early development and growth of the tench *Tinca tinca*. *Folia Zool.*, 38, 275-287.
- Penn, M.H., Bendiksen, E.Å., Campbell, P., Krogdahl, Å. (2011) High level of dietary pea protein concentrate induces enteropathy in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) *Aquaculture*, 310 (3–4), 267–273. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.10.040>



- Pérez-Regadera, J.J. (1987) Producción de Ciprínidos. En: Primeras Jornadas de Acuicultura de la Comunidad Autónoma de Cantabria. España.
- Popa, A.L., Jurcoane, Ș., Dumitriu, B. (2017) *Camelina sativa* oil-a review. Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies, 21, 233-238.
- Pula, H.J., Trenzado, C.E., García, S., Fallola, C., Sanz, A. (2018) Effects of different culture systems on growth, immune status, and other physiological parameters of tench (*Tinca tinca* L.). Aquaculture, 485, 101–110. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.11.042>
- Pyka, J. (1997) Daily feeding cycle tench, *Tinca tinca* (L.), in larval and fry stages in the conditions of pond culture. An attempt to determine daily food ration. Archives of Polish Fisheries, 5, 279–290.
- Quintero, H.E., Davis, D.A., Rhodes, M.A. (2012) Soy protein concentrate as an alternative ingredient in Florida pompano (*Trachinotus carolinus*) diets. J. Appl. Aquac., 24 (3), 247–61. <https://doi.org/10.1080/10454438.2012.679164>
- Quirós, M., Alvariño J.M.R. (1998) Growth of tench (*Tinca tinca* L.) fed with and without the addition of the cladoceran *Daphnia*. Polish Archives of Hydrobiology 45(3), 447-451.
- Quirós, M., Nicodemus, N., Alonso, M., Bartolomé, M., Écija, J.L., Alvariño, J.M.R. (2003) Survival and changes in growth of juvenile tench (*Tinca tinca* L.) fed defined diets commonly used to culture non-cyprinid species. J. Appl. Ichthyol., 19 (3), 149–51. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0426.2003.00459.x>
- Raggi, T., Tacon, A.G.J., Lemos, D. (2019) Feeding of juvenile cobia, *Rachycentron canadum*: Evaluation of practical feeds, comparison of commercial fishmeal replacers, and estimation of essential amino acid requirements. J. World Aquac. Soc. 50 (2), 317–35. <https://doi.org/10.1111/jwas.12587>
- Rennert, B., Kohlmann, K., Hack, H. (2003) A performance test with five different strains of tench (*Tinca tinca* L.) under controlled warm water conditions. J. of Applied Ichthyol., 19 (3), 161-164. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0426.2003.00464.x>
- Rodríguez, R. (2003) Técnicas de control de la reproducción de la tenca (*Tinca tinca* L.) en condiciones de laboratorio y de cultivo. León, España: Tesis Doctoral, Universidad de León.
- Rodríguez, R., Celada, J.D., Sáez-Royuela, M., Carral, J.M., Aguilera, A., Melendre, P.M. (2004) Artificial reproduction in 1-year-old tench (*Tinca tinca* L.) J. Appl. Ichthyol., 20 (6), 542–544. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2004.00584.x>
- Rodríguez, R., Celada, J.D., Carral, J.M., Sáez-Royuela, M., Aguilera A., Melendre, P.M. (2005) Identificación y cronología de determinadas fases del desarrollo embrionario y post-embrionario de la tenca (*Tinca tinca* L.) España: IX Congreso Nacional de Acuicultura, Libro de Resúmenes.
- Rodríguez, R., Celada, J.D., Sáez-Royuela, M., Carral, J.M., Aguilera, A., Pérez, J.R., Melendre P.M. (2008) Egg production of tench (*Tinca tinca* L.) kept in semi-intensive culture conditions. Knowl. Manag. Aquat., 388, 04. <https://doi.org/10.1051/kmae:2008007>
- Rowe, D., Moore, A., Giorgetti, A., Maclean, C., Grace, P., Wadhawa, S., Cooke, J. (2008) Review of the impacts of Gambusia Redfin Perch, Tench, Roach, Yellofin Goby and Streaked Goby in Australia. Australia. Australian Government Department of the Environment, Water, Heritage and the Arts.

- Sáez-Royuela, M., Celada, J.D., Carral, J.M., Aguilera, A., García, V., González, R., González, A. (2008) Possibilities of partial substitution of *Artemia salina* nauplii supplement with different microparticulated diets in tench juveniles (*Tinca tinca* L.). Fifth International Workshop on Biology and Culture of the Tench (*Tinca tinca* L.). Ceresole d'Alba, Italia.
- Sáez-Royuela, M., Casado, M., Celada, J.D., Carral, J.M. y González- Rodríguez, A. (2015) Effect of dietary lipid level on survival, growth performance and body composition of juvenile tench (*Tinca tinca* L.) fed practical diets. *Aquaculture*, 439, 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.01.017>
- Sáez-Royuela, M., García, T., Carral, J.M., Celada, J.D. (2022) Fish oil replacement by a blend of vegetable oils in diets for juvenile tench (*Tinca tinca* Linnaeus, 1758): Effects on growth performance and whole-body composition. *Animals*, 12 (9), 1113. <https://doi.org/10.3390/ani12091113>.
- Salze, G., McLean, P., Battle, P.R., Schwarz M.H., Craig, S.R. (2010) Use of soy protein concentrate and novel ingredients in the total elimination of fish meal and fish oil in diets for juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. *Aquaculture*, 298 (3–4), 294–99. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.11.003>
- Sánchez-Lozano, N., Martínez-Llorens, S., Tomás-Vidal, A., Jover-Cerdá, M. (2011) Amino acid retention of gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) fed with pea protein concentrate. *Aquac. Nutr.*, 17 (2), 604–614. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2010.00803.x>
- Sankian, Z., Khosravi, S., Kim, Y.O., Lee, S.M. (2019) Total replacement of dietary fish oil with alternative lipid sources in a practical diet for mandarin fish, *Siniperca scherzeri*, juveniles. *Fish Aquatic Sci.*, 22, 8. <https://doi.org/10.1186/s41240-019-0123-6>
- Sargent, J. R., Tocher, D.R., Bell, J.G. (2002) The lipids. In *Fish nutrition*, J. E. Halver and R. W. Hardy (Eds.), 181–257. Academic Press, San Diego, CA, USA.
- Schulz, C., Knaus, U., Wirth, M., Rennert, B. (2005) Effects of varying dietary fatty acid profile on growth performance, fatty acid, body and tissue composition of juvenile pike perch (*Sander lucioperca*) *Aquac. Nutr.*, 11 (6), 403–413. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2005.00369.x>
- Schulz, C., Wickert, M., Kijora, C., Ogunji, J., Rennert, B. (2007) Evaluation of pea protein isolate as alternative protein source in diets for juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquac. Res.*, 38 (5), 537–545. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01699.x>
- Schutyser, M.A.I., Pelgrom, P.J.M., van der Goot, A.J., Boom, R.M. (2015) Dry fractionation for sustainable production of functional legume protein concentrates. *Trends Food Sci Technol.*, 45(2), 327–335. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.04.013>
- Séité, S., Mourier, A., Camougrand, N., Salin, B., Figueiredo-Silva, A. C., Fontagné-Dicharry, S., Panserat, S., Seiliez, I. (2018) Dietary methionine deficiency affects oxidative status, mitochondrial integrity and mitophagy in the liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Sci. Rep.*, 8, 10151. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28559-8>
- Šestáková, I., Kouril, J., Faina, R., Vachta, R. (1989) Age dependence of tench (*Tinca tinca* L.) larvae on food selectivity in experimental conditions. *Buletin Vyzkumny Ustav Rybarsky a Hydrobiologicky Vodnany* 25 (4), 3–11.

- SGP-MAPA (2022). Contribución de España a las Directrices estratégicas para una acuicultura de la UE más sostenible y competitiva 2021-2030. Secretaría General de pesca. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid, España. 170 pp.
- Siegmund, R. (1969) Lokomotorische Aktivität und Ruhenverhalten bei einheimischen Süßwasserfischen (Pisces, Percidae, Cyprinidae). *Biologisches Zentralblatt*, 88, 295-312.
- Simopoulos, A.P. (2004) Omega-6/Omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. *Food Rev. Int.*, 20 (1), 77-90. <https://doi.org/10.1081/FRI-120028831>
- Singh, S.K., Rajpurohit, B., Singha, P. (2021) Camelina (*Camelina sativa*) seed. In: *Oilseeds: Health Attributes and Food Applications* Tanwar, B., Goyal, A. (Eds.). Springer, Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-4194-0\\_18](https://doi.org/10.1007/978-981-15-4194-0_18)
- Sonu, Babbar, B.K., Sehgal, G.K., Sehgal, H.S., Kondal, J.K. (2014) Effects of dietary fish oil substitution with sunflower oil on the survival, growth performance and proximate composition of *Cyprinus carpio* (Linn.). *Int. J. of Adv. Res.*, 2 (8), 737-742.
- Stickney, R. R., Hardy, R.W., Koch, K., Harrold, R., Seawright, D., Masee K.C. (1996) The effects of substituting selected oilseed protein concentrates for fish meal in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* diets. *J World Aquac. Soc.*, 27 (1), 57-63. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1996.tb00594.x>
- Storebakken, T., Kvien, I.S., Shearer, K.D, Grisdale-Helland, B., Helland, S.J., Berge, G. M. (1998) The apparent digestibility of diets containing fish meal, soybean meal or bacterial meal fed to Atlantic salmon (*Salmo salar*): Evaluation of different faecal collection methods. *Aquaculture*, 169 (3-4), 195-210. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00379-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00379-2)
- Strobel, C., Jahreis, G., Kuhnt, K. (2012) Survey of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids in fish and fish products. *Lipids Health Dis.*, 11, 144. DOI: 10.1186/1476-511X-11-144
- Sun, S., Ye, J., Chen, J., Wang, Y., Chen, L. (2011) Effect of dietary fish oil replacement by rapeseed oil on the growth, fatty acid composition and serum non-specific immunity response of fingerling black carp, *Mylopharyngodon piceus*. *Aquac. Nutr.*, 17 (4), 441-450. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2010.00822.x>
- Teoh, C.-Y., Ng, W-K. (2016) The implications of substituting dietary fish oil with vegetable oils on the growth performance, fillet fatty acid profile and modulation of the fatty acid elongase, desaturase and oxidation activities of red hybrid tilapia, *Oreochromis* sp. *Aquaculture*, 465, 311-322. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.09.023>
- Thiessen, D., Campbell, G., Adelizi, P. (2003) Digestibility and growth performance of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed with pea and canola products. *Aquac. Nutr.*, 9 (2), 67-75. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.2003.00203.x>
- Thorpe, J.E., Adams, C.E., Miles, M.S., Keay, D.S. (1989) Some influences of photoperiod and temperature on opportunity for growth in juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture*, 82, 119-126. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(89\)90400-6](https://doi.org/10.1016/0044-8486(89)90400-6)
- Tibaldi, E., Tulli, F., Messina, M., Franchin, C., Badini, E. (2005) Pea protein concentrate as a substitute for fish meal protein in sea bass diet. *Ital. J. Anim. Sci.*, 4, 597-599. <https://doi.org/10.4081/ijas.2005.2s.597>

- Tocher, D.R. (2010) Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. *Aquac. Res.*, 41 (5), 717-732. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02150.x>
- Tocher, D.R., Betancor, M.B., Sprague, M., Olsen, R.E., Napier, J.A. (2019) Omega-3 Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids, EPA and DHA: Bridging the Gap between Supply and Demand. *Nutrients*, 11 (1), 89. <https://doi.org/10.3390/nu11010089>
- Toncea, I., Necseriu, D., Prisecaru, T., Balint, L., Ghilvacs, M., Popa, M. (2013) The seed's and oil composition of Camelina - first romanian cultivar of camelina (*Camelina sativa*, L. Crantz). *Rom. Biotechnol. Lett.*, 18 (5), 8594-8602.
- Torstensen, B.E., Espe, M., Sanden, M., Stubhaug, I., Waagbø, R., Hemre, G.I., Fontanillas, R., Nordgarden, U., Hevrøy, E.M., Olsvik, P., Berntssen, M.H.G. (2008) Novel production of Atlantic salmon (*Salmo salar*) protein based on combined replacement of fish meal and fish oil with plant meal and vegetable oil blends. *Aquaculture*, 285 (1-4), 193–200. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.08.025>
- Toyes-Vargas, E.A., Parrish, C.C., Viana, M.T., Carreón-Palau, L., Magallón-Servín, P., Magallón-Barajas, F.J. (2020) Replacement of fish oil with camelina (*Camelina sativa*) oil in diets for juvenile tilapia (var. GIFT *Oreochromis niloticus*) and its effect on growth, feed utilization and muscle lipid composition. *Aquaculture*, 523, 735177. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735177>
- Turchini, G.M., Torstensen, B.E., Ng, W.K. (2009) Fish oil replacement in finfish nutrition. *Rev. Aquac.*, 1(1), 10-57. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2008.01001.x>
- Turchini, G.M., Mailer, R.J. (2010) Rapeseed (canola) oil and other monounsaturated fatty acid-rich vegetable oils. In: *Fish Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feeds*. Turchini, G.M., Ng, W.K., Tocher, D.R. (Eds.). CRC Press, Boca Raton, USA, pp. 161-208
- Turchini, G.M., Francis, D.S., Senadheera, S.P.S.D., Thanuthong, T., De Silva, S.S. (2011) Fish oil replacement with different vegetable oils in Murray cod: Evidence of an “omega-3 sparing effect” by other dietary fatty acids. *Aquaculture*, 315 (3–4), 250-259. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.02.016>
- Turchini, G.M., Trushenski, J.T., Glencross, B.D. (2019) Thoughts for the Future of Aquaculture Nutrition: Realigning Perspectives to Reflect Contemporary Issues Related to Judicious Use of Marine Resources in Aquafeeds. *N. Am. J. Aquac.*, 81, 13-39. <https://doi.org/10.1002/naaq.10067>
- Urán, P. A., Gonçalves, A.A., Taverne-Thiele, J.J., Schrama, J.W., Verreth, J.A., Rombout, J.H.W.M. (2008) Soybean meal induces intestinal inflammation in common carp (*Cyprinus carpio* L.) *Fish & Shellfish Immunol.*, 25 (6), 751–60. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2008.02.013>
- Vielma, J., Mäkinen, T., Ekholm, P., Koskela J. (2000) Influence of dietary soy and phytase levels on performance and body composition of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and algal availability of phosphorus load. *Aquaculture*, 183 (3–4), 349–62. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00299-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00299-9)
- Wedekind, H., Rennert, B., Kohlmann, K. (2003) Product quality in different strains of tench (*Tinca tinca*) tested under controlled environmental conditions. *J. Appl. Ichthyol.*, 19, 174–176. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0426.2003.00457.x>

- Wereńska, M., Haraf, G., Wołoszyn, J., Goluch, Z., Okruszek, A., Teleszko M. (2021) Fatty acid profile and health lipid indices of goose meat in relation to various types of heat treatment. *Poult. Sci.*, 100 (8), 101237. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101237>
- Wolnicki, J., Myszkowski L. (1998) Evaluation of four commercial dry diets for intensive production of tench *Tinca tinca* (L.) juveniles under controlled conditions. *Polish Archives of Hydrobiology*, 45, 453–58. ISSN : 0032-3764.
- Wolnicki, J., Kamiński, R., Myszkowski, L. (2003a) Survival, growth and condition of tench *Tinca tinca* (L.) larvae fed live food for 12, 18 or 24 h a day under controlled conditions. *J. Appl. Ichthyol.*, 19 (3), 146-148. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0426.2003.00461.x>
- Wolnicki, J., Myszkowski, L., Kamiński, R (2003b) Effect of supplementation of a dry feed with natural food on growth, condition and size distribution of juvenile tench *Tinca tinca* (L.) *J. Appl. Ichthyol.*, 19(3), 157-160. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0426.2003.00468.x>
- Wolnicki, J., Myszkowski, L., Korwin-kosakowski, M., Kamiński, R., Stanny, L.A. (2006) Effects of different diets on juvenile tench, *Tinca tinca* (L.) reared under controlled conditions. *Aquac. Int.*, 14, 89–98. <https://doi.org/10.1007/s10499-005-9017-y>
- Wood, J.D., Enser, M., Fisher, A.V., Nute, G.R., Sheard, P.R., Richardson, R.I., Hughes, S.I., Whittington, F.M. (2008) Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Sci.*, 78, 343–358. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.07.019>
- Wu, Y., Han, H., Qin, J., Wang, Y. (2015) Replacement of fishmeal by soy protein concentrate with taurine supplementation in diets for golden pompano (*Trachinotus ovatus*) *Aquac. Nutr.*, 21 (2), 214–22. <https://doi.org/10.1111/anu.12161>
- Xie, D., Chen, C., Dong, Y., You, C., Wang, S., Monroig, O., Tocher, D.R., Li, Y. (2021) Regulation of long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis in teleost fish. *Prog. Lipid Res.*, 82, 101095. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2021.101095>
- Ye, C.L., Anderson, D.M., Lall, S.P. (2016) The effects of camelina oil and solvent extracted camelina meal on the growth, carcass composition and hindgut histology of Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr in freshwater. *Aquaculture*, 450, 397-404. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.08.019>
- Yildirim, Ö., Acar, Ü., Türker, A., Sunar, M.C., Yilmaz, S. (2013) The Effects of Partial or Total Replacement of fish oil by unrefined peanut oil on growth performance and body chemical composition of common carp (*Cyprinus carpio*). *Isr. J. Aquac.*, 65, 1.
- Yu, J., Li, S., Niu, H., Chang, J., Hu, Z., Han, Y. (2019) Influence of dietary linseed oil as substitution of fish oil on whole fish fatty acid composition, lipid metabolism and oxidative status of juvenile Manchurian trout, *Brachymystax lenok*. *Sci. Rep.*, 9, 13846. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50243-8>
- Zakęś, Z., Jankowska B., Jarmołowic, S., Zmijewski, T., Partyka, K., Demska-Zakęś, K. (2010) Effects of different dietary fatty acids on the growth performance and body composition of juvenile tench (*Tinca tinca* L.). *Rev Fish Biol Fisheries*, 20, 389–401. <https://doi.org/10.1007/s11160-009-9146-x>
- Zanetti, F., Alberghini, B., Jeromela, A.M., Grahovac, N., Rajković, D., Kiprovski, B., Monti, A. (2021) Camelina, an ancient oilseed crop actively contributing to the rural renaissance in Europe. A review. *Agron. Sustain. Dev.*, 41, 2. <https://doi.org/10.1007/s13593-020-00663-y>

- Zhang, Y., Øverland, M., Xie, S., Dong, Z., Lv, Z., Xu, J., Storebakken, T. (2012) Mixtures of lupin and pea protein concentrates can efficiently replace high-quality fish meal in extruded diets for juvenile black sea bream (*Acanthopagrus schlegeli*). *Aquaculture*, 354–355, 68–74. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.03.038>
- Zhang, J., Zhong, L., Peng, M., Chu, W., Liu, Z., Dai, Z., Hu, Y. (2019) Replacement of fish meal with soy protein concentrate in diet of juvenile rice field eel *Monopterus albus*. *Aquac. Rep.*, 15, 100235. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2019.100235>
- Zhou, Z., Ringø, E., Olsen, R.E., Song S.K. (2018) Dietary effects of soybean products on gut microbiota and immunity of aquatic animals: A review. *Aquac. Nutr.*, 24 (1), 644–65. <https://doi.org/10.1111/anu.12532>
- Zohary, D., Hopf, M. (2000) Domestication of Plant in the Old World. The Origin and Spread of Cultivated Plants in West Asia, Europe and Nile Valley. Oxford University Press, Oxford, 316 pp.
- Zorlu, K., Gümüş, E. (2022) Effect of dietary fish oil replacement with grape seed oil on growth performance, feed utilization and fatty acid profile of mirror carp, *Cyprinus carpio*, fingerlings. *Aquac. Res.*, 53 (5), 1755–1765. <https://doi.org/10.1111/are.15704>.



