

**THE FATTY ACID PROFILE OF *Sparus aurata* LARVAE IS  
CORRELATED TO THE COMPOSITION OF THE ENRICHMENT DIETS  
OF *Brachionus plicatilis* AND *Artemia* sp.**

**EL PERFIL DE LOS ÁCIDOS GRASOS DE LARVAS DE *Sparus aurata*  
SE CORRELACIONA CON LA COMPOSICIÓN DE DIETAS DE  
ENRIQUECIMIENTO DE *Brachionus plicatilis* Y *Artemia* sp.**

P. Pousão-Ferreira<sup>1</sup>

F. Cairrão<sup>2</sup>

F. Nery<sup>2</sup>

L. Narciso<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> IPIMAR/CIMSUL

Av. 5 de Outubro s/n, P-8700 Olhão, Portugal

<sup>2</sup> Departamento de Zoologia e Antropologia

Faculdade de Ciências

Universidade de Lisboa

Campo-Grande, P-1700 Lisboa, Portugal

*Recibido en febrero de 1996; aceptado en septiembre de 1996*

**ABSTRACT**

The objective of the present work was to determine the effect of the enrichment of rotifers (*Brachionus plicatilis*) and brine shrimp (*Artemia* sp.) with different commercial emulsions and microalgae on polyunsaturated fatty acid (PUFA) composition of gilthead sea bream larvae, *Sparus aurata*. Rotifers were fed four enrichment diets (marine *Chlorella* sp., and three commercial emulsions: Algal Rotífero<sup>TM</sup>, Frippak<sup>TM</sup> booster and Selco<sup>TM</sup>). The enrichment of *Artemia* sp. (Artemia Systems<sup>TM</sup>, AF type) was carried out with instar I nauplii at a density of 250-300 nauplii/ml in 20-l conical tanks, using two commercial emulsions (Troffice<sup>TM</sup> and Selco<sup>TM</sup>) and a microalgae (*Chlorella* sp.). The results showed that enriched preys were deficient in PUFA n-3 and may not provide the nutritional requirements of sea bream larvae, although the enrichment methodology seems to be efficient in order to incorporate in the larvae the fatty acid treatment.

*Key words:* *Sparus aurata*, larviculture, enrichment, polyunsaturated fatty acids (PUFA).

**RESUMEN**

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto del enriquecimiento de rotíferos (*Brachionus plicatilis*) y camarones de salina (*Artemia* sp.) con diferentes emulsiones comerciales y microalgas sobre la composición de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) de larvas de pargo dorado, *Sparus aurata*. Se alimentaron los rotíferos con cuatro dietas de enriquecimiento (*Chlorella* sp. marino y tres emulsiones comerciales: Algal Rotífero<sup>MR</sup>, Frippak<sup>MR</sup> Booster y Selco<sup>MR</sup>). Se realizó el enriquecimiento de *Artemia* sp. (Artemia Systems<sup>MR</sup>, tipo AF) con nauplios instar I a una densidad de 250-300 nauplios/ml en estanques cónicos de 20 l, usando dos emulsiones comerciales (Troffice<sup>MR</sup> y Selco<sup>MR</sup>) y una microalga (*Chlorella* sp.). A pesar de que el método de enriquecimiento parece ser eficiente para incorporar el tratamiento de ácidos grasos en las larvas, los resultados muestran que

\* Corresponding author.

las presas enriquecidas tuvieron una deficiencia de PUFA n-3 y que posiblemente no aportan los requisitos alimenticios de las larvas de pargo dorado.

*Palabras clave:* *Sparus aurata*, larvicultura, enriquecimiento, ácidos grasos poliinsaturados (PUFA).

## INTRODUCTION

The beginning of exogenous feeding is one of the critical periods in larval development for the majority of marine species used in aquaculture. At this stage, larvae are mainly pelagic and zooplankton feeders and need a diverse diet to suit the energetic demands as well as the anatomical, physiological and ethological changes that occur during development. In this regard, the larviculture of marine fishes needs to be complemented by an intensive culture of phytoplankton and zooplankton.

Due to the high costs of live food production, larval feeding is carried out with monospecific diets, mainly the rotifer *Brachionus plicatilis* and the branchiopod crustacean, *Artemia* sp. Although these species contain a high energetic value, they have nutritional deficiencies when compared to the natural prey. The solution for this problem has been sought through the manipulation of the nutritional profile of *Brachionus* and *Artemia* by the incorporation of specific nutrients in emulsions that are added to their culture medium (enrichment). Because of their non-specific filtration behaviour, they will ingest the emulsions and incorporate the required nutrients in their body, which will then be available for the fish larvae.

The artificial feeds now available for marine fishes (e.g., sea bass and sea bream) can be deficient in essential nutrients such as proteins, lipids, carbohydrates and vitamins, thereby inducing nutritional pathologies; a deficiency in fatty acids induces hepatic trouble (Mosconi, 1987).

The fatty acid deficiency on the linolenic series (n-3) has been pointed out as one of the most important factors that can interfere in the success of marine fish larviculture (Kowen *et al.*, 1993; Rodríguez *et al.*, 1993). In carnivorous species, it seems that the lipids are also very important as energetic sources instead of protein oxidation, that can be better used for growth and tissue renewal—protein-sparing

## INTRODUCCIÓN

El inicio de la alimentación exógena es uno de los periodos críticos durante el desarrollo larval en la mayoría de los peces marinos utilizados en la acuicultura. En esta etapa, las larvas son principalmente pelágicas, se alimentan de zooplancton y requieren de una dieta variada que cumpla con las demandas energéticas así como con los cambios anatómicos, fisiológicos y etológicos que ocurren durante su desarrollo. A este respecto, la larvicultura de peces marinos tiene que ser complementada con un cultivo intensivo de fitoplancton y zooplancton.

Debido a los altos costos de la producción de alimento vivo, la alimentación larval se lleva a cabo con dietas monoespecíficas, principalmente con el rotífero *Brachionus plicatilis* y el crustáceo branquiópodo *Artemia* sp. A pesar del alto valor energético de estas especies, tienen deficiencias alimenticias comparadas con las presas naturales. Se ha buscado una solución a este problema a través de la manipulación del perfil nutritivo de *Brachionus* y *Artemia*, con la incorporación de nutrientes específicos en las emulsiones que se añaden a su medio de cultivo (enriquecimiento). Debido a su comportamiento no específico de filtración, ingerirán las emulsiones e incorporarán los nutrientes requeridos, los cuales estarán disponibles para las larvas de peces.

Los alimentos artificiales actualmente disponibles para peces marinos (e.g., mero y pargo dorado) pueden tener deficiencias en nutrientes esenciales, tales como proteínas, lípidos, carbohidratos y vitaminas, por lo que causan patologías alimenticias; una deficiencia de ácidos grasos induce problemas hepáticos (Mosconi, 1987).

Se ha demostrado que las deficiencias de los ácidos grasos en la serie linolénica (n-3) es uno de los factores más importantes que puede interferir en el éxito de la larvicultura de peces marinos (Kowen *et al.*, 1993; Rodríguez *et al.*, 1993). En especies carnívoras, parece ser que

effect—which permits the reduction of protein levels in the diet (Watanabe, 1988).

## MATERIAL AND METHODS

Mass production of *Brachionus plicatilis* was carried out in 500-l conical tanks, at 20‰ salinity and a temperature of 26°C. They were fed on baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). Four enrichment products for the rotifers were used: marine *Chlorella* sp., and three commercial emulsions, Algal Rotífero™, Frippak™ booster and Selco™. The enrichment was carried out in 250-l conical tanks with strong aeration from the bottom and, during the enrichment procedure (table 1), the physical and chemical conditions were the same as in the production tank.

The enrichment of *Artemia* sp. (*Artemia* Systems™, AF type) was carried out with instar I nauplii at a density of 250-300 nauplii/ml in 20-l conical tanks, with aeration from the bottom (DO > 5 ppm), at 35‰ salinity and 26 ± 1°C temperature. Two commercial emulsions (Troffíc™ and Selco™) and a microalgae (*Chlorella* sp.) were used. The enrichment (18 h + 18 h) was made at a concentration of 0.6 g/l (300 nauplii/ml) with Selco, 0.1 ml/l (300 nauplii/ml) with Troffíc and 30 × 10<sup>6</sup> cel/ml with *Chlorella* sp. The control medium was filtered sea water. The nauplii were filtered and washed with sea water once during the enrichment period in order to renew the enriched medium to minimize the encapsulation of oxidized lipid components. The enrichment products, enriched rotifers and *Artemia* nauplii were sampled (1 g wet weight in duplicate) and stored in liquid nitrogen for fatty acid analysis.

*Sparus aurata* eggs were obtained through natural spawning of captive broodstock at IPIMAR/CIMSUL (Olhão, Portugal). Larvae were reared at an initial density of 60 larvae per litre in 200-l white conical fibreglass tanks, with a continuous through flow of aerated sea water filtered through 20 µm mesh size. The larvae were grown at 20 ± 1°C, 30‰ salinity and a photoperiod of 12 h. Oxygen content was measured daily and maintained at 7 mg/l. No green water was added in order to have a better

los lípidos también son fuentes energéticas muy importantes en lugar de la oxidación de proteínas que se pueden utilizar mejor para el crecimiento y la renovación de tejido—efecto de proteína limitada—lo cual permite reducir los niveles de proteínas en la dieta (Watanabe, 1988).

## MATERIAL Y MÉTODOS

La producción masiva de *Brachionus plicatilis* se realizó en estanques cónicos de 500 l, con una salinidad de 20‰ y temperatura de 26°C. Se alimentaron con levadura (*Saccharomyces cerevisiae*). Se utilizaron cuatro productos de enriquecimiento para los rotíferos: *Chlorella* sp. marino, y tres emulsiones comerciales, Algal Rotífero<sup>MR</sup>, Frippak<sup>MR</sup> Booster y Selco<sup>MR</sup>. El enriquecimiento se llevó a cabo en estanques cónicos de 250 l, con una fuerte aeración del fondo. Se usaron las mismas condiciones físicas y químicas del estanque de producción para el procedimiento de enriquecimiento (tabla 1).

El enriquecimiento de *Artemia* sp. (*Artemia* Systems<sup>MR</sup>, tipo AF) se realizó con nauplios instar I a una densidad de 250-300 nauplios/ml en estanques cónicos de 20 l, con aeración de fondo (OD > 5 ppm), una salinidad de 35‰ y una temperatura de 26 ± 1°C. Se usaron dos emulsiones comerciales (Troffíc<sup>MR</sup> y Selco<sup>MR</sup>) y una microalga (*Chlorella* sp.). Se llevó a cabo el enriquecimiento (18 h + 18 h) con concentraciones de 0.6 g/l (300 nauplios/ml) para Selco, 0.1 ml/l (300 nauplios/ml) para Troffíc y 30 × 10<sup>6</sup> cel/ml para *Chlorella* sp. El medio de control fue agua de mar filtrada. Los nauplios se filtraron y lavaron con agua de mar una vez durante el periodo de enriquecimiento para renovar el medio enriquecido y minimizar la encapsulación de componentes de lípidos oxidados. Se muestrearon los productos de enriquecimiento, rotíferos enriquecidos y nauplios de *Artemia* (1 g de peso húmedo por duplicado) y se almacenaron en nitrógeno líquido para el análisis de los ácidos grasos.

Se obtuvieron huevos de *Sparus aurata* a través de desoves naturales de un grupo cautivo de progenitores en el IPIMAR/CIMSUL

**Table 1.** *Brachionus plicatilis* enrichment methods.**Tabla 1.** Métodos de enriquecimiento de *Brachionus plicatilis*.

Product	Density (rot/ml)	Dose	No. of doses	Duration (h)
Algal Rotífero™	<350	1.3 g/l 10 <sup>6</sup> rot	2	18
<i>Chlorella</i> sp.	<350	>30 × 10 <sup>6</sup> ccl/ml	1	18
Frippak™ booster	<350	0.5 g/l 10 <sup>6</sup> rot	1	18
Selco™	<350	0.2 g/l	2	18

control of the enrichment conditions (Nery *et al.*, 1992).

Samples were ground in a Potter homogenizer with chloroform/methanol/water (2/2/1.8) (Bligh and Dyer, 1959). After saponification and esterification of the lipid extracts (Metcalf and Schmitz, 1961), the fatty acid methyl esters (FAME) were injected into a capillary column (30 m fused silica, 0.32 ID) installed in a Varian 3300 gas-liquid chromatograph. Helium was used as carrier gas at a flow rate of 1 ml/min; oven temperature was 180°C for 7 min, then 200°C (with a temperature gradient of 4°C/min) over a period of 71 min. Both the injector and FID detector were set at 250°C. Peak quantification was done with a Varian integrator 4290 and FAME identification was made by comparison with FAME standards and cod liver oil chromatograms.

## RESULTS AND DISCUSSION

Enriched *B. plicatilis* showed an increment in the percentage of fatty acids of the linolenic series (fig. 1) when compared to non-enriched controls fed on baker's yeast. The total PUFA n-3 was 3.3% for the control rotifers and varied between 8.4 and 15.8% with the different enrichments. It is important to notice the complete absence of 22:6n-3 in control rotifers. This deficiency was overcome with any of the three enrichment products: Frippak booster, Selco and Algal Rotífero.

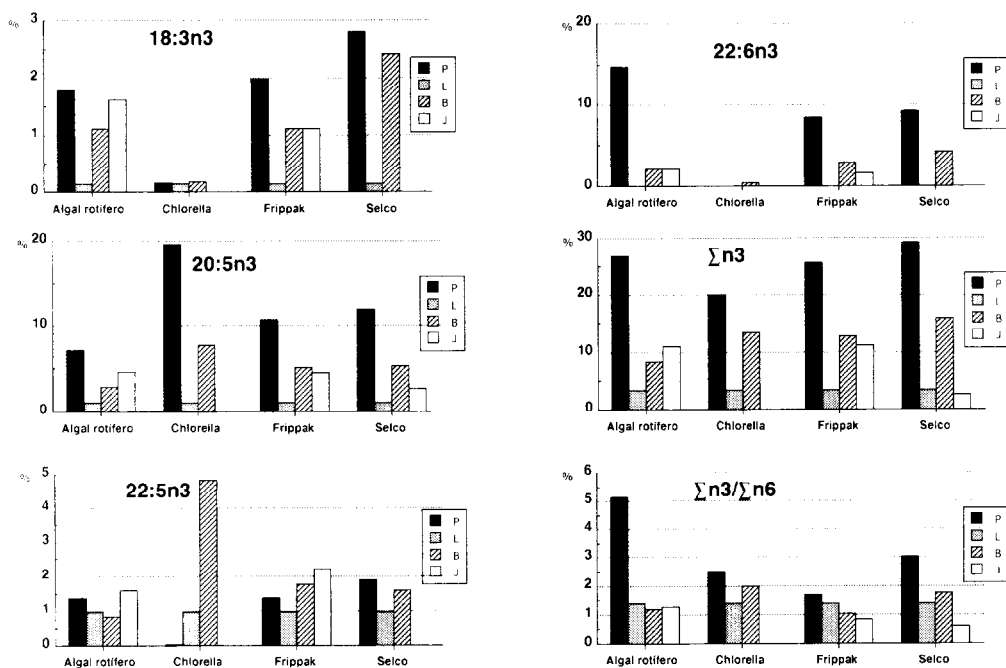
Enrichment products for *Artemia* showed high levels of the linolenic series, mainly the eicosapentanoic acid (20:5n-3) and docosahexanoic acid (22:6n-3), when compared with the microalgae *Chlorella* sp. Although this

(Olhão, Portugal). Las larvas fueron cultivadas a una densidad inicial de 60 larvas por litro en estanques blancos de fibra de vidrio de 200 l, con un flujo constante de agua de mar aireada y filtrada con una luz de malla de 20 µm. Se cultivaron las larvas a una temperatura de 20 ± 1°C, con una salinidad de 30‰ y un fotoperiodo de 12 h. Diariamente se midió el contenido de oxígeno, manteniéndolo a 7 mg/l. No se añadió agua verde para tener mejor control de las condiciones de enriquecimiento (Nery *et al.*, 1992).

Las muestras se trituraron en un homogeneizador Potter con cloroformo/metanol/agua (2/2/1.8) (Bligh y Dyer, 1959). Después de la saponificación y esterificación de los extractos lipídicos (Metcalf y Schmitz, 1961), los ésteres metílicos de los ácidos grasos (FAME) fueron inyectados en una columna capilar (30 m de sílica fundida, 0.32 DI), instalada en un cromatógrafo de gas-líquido Varian 3300. Se utilizó helio como el gas transportador, a una razón de flujo de 1 ml/min; la temperatura del horno fue de 180°C, durante 7 min, hasta 200°C (con un gradiente de temperatura de 4°C/min), durante un periodo de 71 min. Tanto el inyector como el detector FID se establecieron a 250°C. La cuantificación de los picos se realizó con un integrador Varian 4290 y la identificación de FAME se realizó mediante la comparación de los estándares de FAME con los cromatogramas de aceite de hígado de bacalao.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El rotífero *B. plicatilis* enriquecido mostró un incremento en el porcentaje de ácidos grasos



**Figure 1.** Fatty acid (PUFA) profile of enriched *Brachionus plicatilis*. P, product; L, *Brachionus* fed on baker's yeast; B, enriched *Brachionus*; J, enriched *Brachionus* + 24 h starvation.

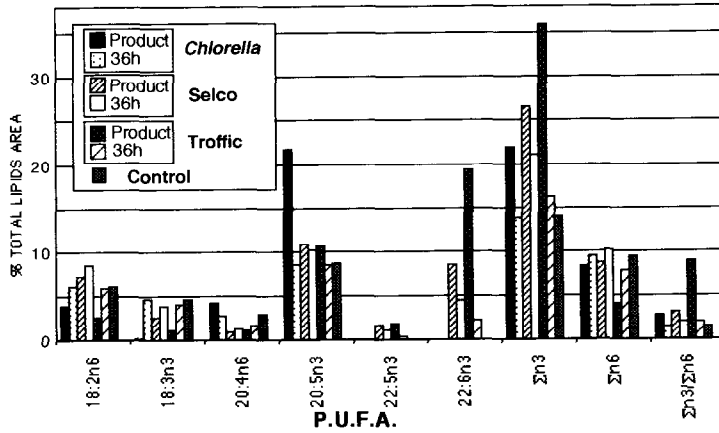
**Figura 1.** Perfil de ácidos grasos (PUFA) de *Brachionus plicatilis* enriquecido. P, producto; L, *Brachionus* alimentado con levadura; B, *Brachionus* enriquecido; J, *Brachionus* enriquecido + 24 h de inanición.

microalgae contained high levels of 20:5n-3, 22:6n-3 was not present, indicating its deficiency as a PUFA n-3 source.

Enrichment with Selco and Troffic increased the incorporation of 22:6n-3 and 20:5n-3, when compared with *Chlorella* or with the control treatment. Although the highest n-3 levels have been achieved with Troffic (35.99%), the incorporation of long chain fatty acids in *Artemia* nauplii was much more efficient with Selco (16.3 vs 21% with Troffic) (fig. 2). There were no significant differences ( $P > 0.05$ ) in the n-3/n-6 ratio between these two treatments, which could indicate a higher contribution of the n-6 series in the Selco treatment. No statistically significant differences ( $P > 0.05$ ) were found between total PUFA n-3 in eggs (28.6%) and newly hatched *S. aurata* larvae (fig. 3). This is similar to what has been

de la serie linolénica (fig. 1), en comparación con los controles no enriquecidos alimentados con levadura. El total de PUFA n-3 fue 3.3% para los rotíferos de control y varió entre 8.4 y 15.8% con los diferentes enriquecimientos. Es importante notar la ausencia completa de 22:6n-3 en los rotíferos de control. Esta deficiencia se superó con cualquiera de los tres productos de enriquecimiento: Frippak Booster, Selco y Algal Rotífero.

Los productos de enriquecimiento para *Artemia* mostraron altos niveles de la serie linolénica, principalmente en el ácido eicosa-pentanoico (20:5n-3) y el ácido docosahexa-noico (22:6n-3), comparados con la microalga *Chlorella* sp. Aunque esta microalga presentó altos niveles de 20:5n-3, el 22:6n-3 no se presentó, lo que indica su deficiencia como fuente de PUFA n-3.



**Figure 2.** FAME profile of enriched *Artemia* sp. metanauplii and enrichment products.  
**Figura 2.** Perfil de FAME de metanauplios de *Artemia* sp. enriquecidos y productos de enriquecimiento.

found by Mourente (1990) for the same species. Twenty-day-old larvae fed on enriched diets contained significantly less PUFA n-3 (5-15%) (fig. 4) than eggs.

The PUFA contents of the rotifers do not significantly affect the growth and survival of ten-day-old turbot larvae; it seems that the effect of rotifer enrichment may first be evident in older stages (Stottrup and Attramadal, 1992). So, the rotifers' PUFA profile must be changed in order to avoid later lethal effects during *Artemia* feeding.

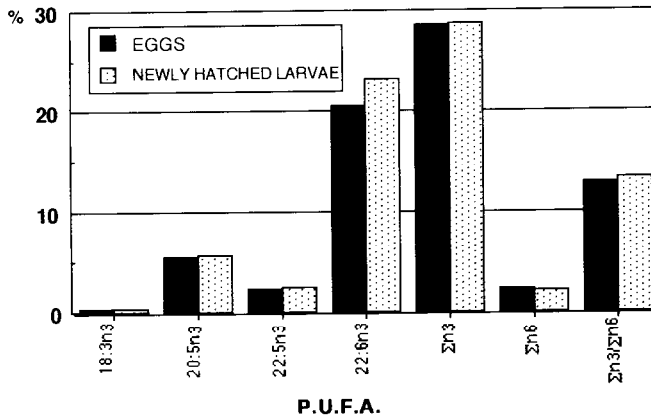
Forty-five-day-old *S. aurata* larvae had higher 22:6n-3 levels when fed on Trofflic enriched nauplii (fig. 5) and this was the only treatment where the concentration of n-3 fatty acids reached levels similar to those found in eggs (fig. 3). The larvae fed on *Chlorella* enriched nauplii had higher n-6 levels when compared with the other treatments, which reflects the fatty acid composition characteristic of the microalgae. On the whole, the fatty acid profile of *S. aurata* larvae was correlated with the composition of the enrichment treatments.

**CONCLUSIONS**

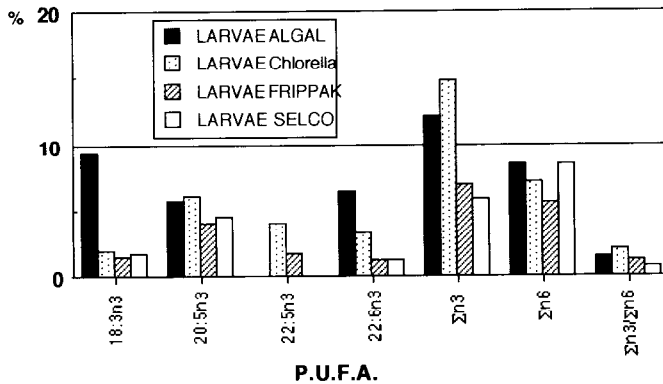
It can be concluded that the enriched preys and the commercial enrichment products that

El enriquecimiento con Selco y Trofflic incrementó la incorporación del 22:6n-3 y el 20:5n-3, comparados con *Chlorella* o con el tratamiento de control. A pesar de que los niveles más altos de n-3 se lograron con Trofflic (35.99%), la incorporación de ácidos grasos de cadena larga en nauplios de *Artemia* fue mucho más eficiente con Selco (16.3 vs 21% con Trofflic) (fig. 2). Estos dos tratamientos no presentaron diferencias significativas en la razón n-3/n-6 ( $P > 0.05$ ), lo que pudiera indicar una contribución mayor de la serie n-6 en el tratamiento Selco. No se encontraron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre el PUFA n-3 total en los huevos (28.6%) y las larvas recién eclosionadas de *S. aurata* (fig. 3). Esto es similar a lo encontrado por Mourente (1990) para la misma especie. Larvas de 20 días de edad, alimentadas con dietas enriquecidas, tuvieron un PUFA n-3 (5-15%) (fig. 4) significativamente menor que los huevos.

Los contenidos de PUFA en los rotíferos no afectan significativamente el crecimiento y supervivencia de las larvas de rodaballo de 10 días de edad; según parece, el efecto de enriquecimiento del rotífero se presenta por primera vez en los estadios más avanzados (Stottrup y Attramadal, 1992). Por tanto, se debe cambiar el perfil de PUFA de los rotíferos para evitar



**Figure 3.** PUFA profile of eggs and newly hatched larvae of *Sparus aurata*.  
**Figura 3.** Perfil de PUFA de huevos y larvas recién eclosionadas de *Sparus aurata*.

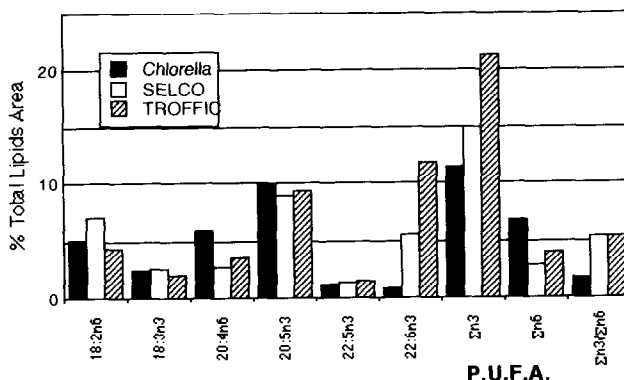


**Figure 4.** PUFA profile of 20-day *Sparus aurata* larvae, fed on enriched *Brachionus plicatilis*.  
**Figura 4.** Perfil de PUFA de las larvas de *Sparus aurata* de 20 días de edad, alimentadas con *Brachionus plicatilis* enriquecido.

are normally used in aquaculture do not seem to be optimized to the nutritional demands of marine fishes, mainly because of their deficiency in fatty acids of the linolenic series (n-3) that have been considered essential for a better growth and survival of marine fish larvae (Castell *et al.*, 1986). It is also important to point out that the high levels of the linoleic series (n-6) will interfere in the n-3/n-6 ratio, which seems to be more important than the levels of each acid or the total of each series (New, 1986).

efectos letales posteriores durante la alimentación con *Artemia*.

Las larvas de *S. aurata* de 45 días de edad tuvieron mayores niveles de 22:6n-3 cuando se alimentaron con nauplios enriquecidos de Trofflic (fig. 5) y éste fue el único tratamiento donde las concentraciones del ácido graso n-3 alcanzaron niveles similares a los encontrados en los huevos (fig. 3). Las larvas alimentadas con nauplios enriquecidos de *Chlorella* presentaron mayores niveles de n-6, comparados con los otros tratamientos, lo que refleja la



**Figure 5.** FAME composition of *Sparus aurata* larvae (45 days after hatching).

**Figura 5.** Composición de FAME de las larvas de *Sparus aurata* (45 días después de la eclosión).

All marine fishes have a very limited conversion capacity of *de novo* synthesis of PUFA, such as 20:4n-6, 20:5n-3 and 22:6n-3 (Watanabe, 1982; Kanazawa, 1985). It seems that 20:5n-3 can be easily converted to 22:5n-3 but not to 22:6n-3 and also that 22:6n-3 is not retroconverted to 22:5n-3 or 20:5n-3; it also seems that when the ratio between 20:5n-3/22:6n-3 is not correct, this can lead to high mortalities in fish larvae (Watanabe, 1993). The results suggest that rotifers and *Artemia* must be enriched with PUFA n-3, mainly 22:6n-3, in order that the requirements of *S. aurata* larvae are met. The same conclusion has been reached by Sorgeloos *et al.* (1988) for sea bass (*Dicentrarchus labrax*), Fraser *et al.* (1988) for cod (*Gadus morhua*) and Bell *et al.* (1985) for turbot (*Scophthalmus maximus*). Although the enrichment products do not seem to be optimized to the nutritional demands of marine fish larvae, the enrichment methodology seems to be efficient in order to incorporate in the larvae the fatty acids treatment.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

This work was possible due to the JNICT project STRD/MAR/226/92. We are grateful to Adelino Canário for reviewing this paper.

composición de ácidos grasos característica de la microalga. En general, el perfil de los ácidos grasos de las larvas de *S. aurata* se correlacionó con la composición de los tratamientos de enriquecimiento.

#### CONCLUSIONES

Se puede concluir que las presas enriquecidas y los productos de enriquecimiento comerciales de uso común en la acuicultura aparentemente no cumplen con las demandas alimenticias de los peces marinos, debido principalmente a su deficiencia de ácidos grasos en la serie linoléica (n-3), los cuales se consideran esenciales para un mejor crecimiento y supervivencia de las larvas de peces marinos (Castell *et al.*, 1986). También es importante indicar que los altos niveles de la serie linoleica (n-6) afectarán la razón n-3/n-6, la cual parece ser más importante que los niveles de cada ácido o del total de cada serie (New, 1986).

Todos los peces marinos tienen una capacidad de conversión muy limitada de síntesis *de novo* de PUFA, como 20:4n-6, 20:5n-3 y 22:6n-3 (Watanabe, 1982; Kanazawa, 1985). Según parece, el 20:5n-3 se puede convertir fácilmente en 22:5n-3, pero no en 22:6n-3, y este último no se retroconvierte en 22:5n-3 o 20:5n-3; asimismo, cuando la razón entre 20:5n-3/22:6n-3 no es correcta, puede haber



## REFERENCES

- Bell, M.V., Henderson, R.J. and Sargent, J.R. (1985). Changes in the fatty acid composition of phospholipids from turbot (*Scophthalmus maximus*) in relation to dietary polyunsaturated fatty acid deficiencies. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1B(1): 193-198.
- Bligh, E.G. and Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37: 911-917.
- Castell, J.D., Conklin, D.E., Craigie, J.S., Lall, S.P. and Norman-Boudreau, K. (1986). In: M. Bilio, H. Rosenthal and C. Sindermann (eds.), *Realism in Aquaculture: Achievements, Constraints, Perspectives*. E.A.S. Bredene, Belgium. pp. 251-305.
- Fraser, A.J., Gamble, J.C. and Sargent, J.R. (1988). Changes in lipid content, lipid class composition and fatty acid composition of developing eggs and unfed larvae of cod (*Gadus morhua*). *Mar. Biol.*, 99: 307-313.
- Kanazawa, A. (1985). Essential fatty acid and lipid requirements of fish. In: C.B. Cowey, A.M. Mackie and J.G. Bell (eds.), *Nutrition and Feeding in Fish*. Academic Press, London. pp. 281-298.
- Kowen, W.N., Tandler, A., Sklan, D. and Kissil, G.W. (1993). The association of eicosapentanoic and docosahexaenoic acids in the main phospholipids of different age *Sparus aurata* larvae with growth. *Aquaculture*, 116: 71-82.
- Metcalf, L.D. and Schmitz, A.A. (1961). The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatography analysis. *Anal. Chem.*, 33(3): 363.
- Mosconi, N. (1987). Nutritional pathology, a limiting factor in aquaculture. *Ten Years Research in Aquaculture. Part I: Fish*. L. Laubier (ed.), 13(1): 105-113
- Mourente, J.M. (1990). Effect of broodstock diets on total lipids and fatty acid composition of larvae of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) during yolk sac stage. *Fish Physiol. Biochem.*, 8(2): 103-110.
- Nery, F., Narciso, L., Pousão-Ferreira, P. and Barahona-Fernandes, H. (1992). Valor altas mortalidades en las larvas de peces (Watanabe, 1993). Los resultados sugieren que los rotíferos y *Artemia* deben ser enriquecidos con PUFA n-3, principalmente 22:6n-3, para lograr los requerimientos de las larvas de *S. aurata*. A esta misma conclusión llegaron Sorgeloos *et al.* (1988) para el mero (*Dicentrarchus labrax*), Fraser *et al.* (1988) para el bacalao (*Gadus morhua*) y Bell *et al.* (1985) para el rodaballo (*Scophthalmus maximus*). A pesar de que los productos de enriquecimiento aparentemente no satisfacen las demandas alimenticias de las larvas de peces marinos, el método de enriquecimiento parece ser eficiente para incorporar el tratamiento de ácidos grasos en las larvas.
- AGRADECIMIENTOS**
- Este trabajo se llevó a cabo como parte del proyecto STRD/MAR/226/92 del JNICT. Se agradece a Adelino Canário la revisión del escrito.
- Traducido al español por Jennifer Davis.
- 
- comparado de alguns produtos de bioencapsulação de *Brachionus plicatilis*: efeitos sobre a composição de PUFA n-3. *Publ. Avul. INIP*, 19: 153-156.
- New, M.B. (1986). Aquaculture diets of post-larval marine fish, with special reference to sea bass, sea bream, groupers and yellow-tail: a review. *Kuwait Bull. Mar. Sci.*, 7: 5-151.
- Rodríguez, C., Pérez, J.A., Izquierdo, M.S., Mora, J., Lorenzo, A. and Hernández-Palacios, H. (1993). Essential fatty acid requirements of larval gilthead sea bream, *Sparus aurata* (L.). *Aquaculture and Fisheries Management*, 24: 295-304.
- Sorgeloos, P., Léger, P. and Lavens, P. (1988). Improved larval rearing of European and Asian sea bass, sea bream, mahi-mahi, siganid and milkfish using enriched diets for *Brachionus* and *Artemia*. *J. World Aquaculture Soc.*, 19(4): 78-79.
- Stottrup, J.G. and Attramadal, Y. (1992). The influence of different rotifer enrichment

- diets on growth, survival and pigmentation in turbot. *J. World Aquaculture Soc.*, 23(4): 307-316.
- Watanabe, T. (1982). Lipid nutrition in fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 73B: 3-15.
- Watanabe, T. (1988). Nutrition and growth. In: *Intensive Fish Farming*. Shepherd and Bromage (ed.), pp. 154-195.
- Watanabe, T. (1993). Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. *J. World Aquaculture Soc.*, 24(2): 152-161.