

# Alimentación y Nutrición de Moluscos Cefalópodos: Avances Recientes y Perspectivas Futuras

Pedro M. Domínguez<sup>1,2</sup>, Gabriela Gaxiola Cortés<sup>2</sup>, Carlos Rosas Vázquez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>CCMAR - Universidade do Algarve Campus de Gambelas - 8000-810 Faro – PORTUGAL

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias – UNAM, Sisal, Yucatán, México  
email: pdoming@ualg.pt

---

## Introducción

Los cefalópodos se reproducen apenas una vez en su vida (Mangold, 1983; Giménez and García, 2002). Son caracterizados por tener ciclos de vida cortos, que pueden hasta apenas llegar a 6 o 9 meses de edad (Okutani, 1990; Forsythe, 1981; Domingues *et al.*, 2001a, 2001b, 2002). Sin embargo, la mayoría de las especies vive de uno a dos años (Mangold, 1983). La duración del ciclo de vida está directamente asociado a la temperatura del agua (Domingues *et al.*, 2002). Son depredadores activos, que poseen un papel determinante en las estructuras tróficas en los océanos, y son también un importante recurso pesquero (Boletzky and Hanlon, 1983), siendo consumidos regularmente en diversas regiones de la tierra (Lee *et al.*, 1998). Todos los cefalópodos son carnívoros (Okutani, 1990; Boucher-Rodoni *et al.*, 1987; Lee *et al.*, 1994), desde las primeras fases de vida hasta el final de su ciclo de vida (Vecchione, 1991; Villanueva *et al.*, 2002, 2003, 2004). En los últimos años se ha incrementado el interés en diversas especies de cefalópodos, principalmente en las ciencias biológicas y médicas, siendo estos animales usados como modelos biológicos (Boletzky and Hanlon, 1983). Varias especies han sido utilizadas en los últimos años como modelos de investigación al nivel de las ciencias neurológicas, fisiología, inmunología, bioquímica nutricional, envejecimiento, ontología, etología y biología molecular (Gilbert *et al.*, 1990; Oestman *et al.*, 1997).

El metabolismo de los cefalópodos es esencialmente proteico y muy distinto de los de los peces o crustáceos (Lee, 1994). El requerimiento en amino ácidos para la producción de

proteínas es elevado (Houlihan *et al.*, 1990), y su metabolismo totalmente dependiente de proteínas (Lee, 1994), siendo únicos entre los poiquilotérmicos (Forsythe and Van Hewkelem, 1987; Lee *et al.*, 1998). Así, Lee (1994) defiende que la relación P/E, normalmente usada en otros animales, para definir la calidad de una dieta, no es fiable ni buena indicadora de una dieta apropiada para cefalópodos. Este autor propone que el balance de amino ácidos en la dieta es el mejor indicador de una buena dieta.

Las altas tasas de crecimiento resultan de una elevada tasa de síntesis de proteínas, siendo que por ejemplo, en el pulpo *Octopus vulgaris*, mas del 90% de las proteínas sintetizadas son retenidas y utilizadas para el crecimiento (Houlihan *et al.*, 1990). Para la misma especie, Mangold and Boletzky (1973) y Mangold (1983) determinaron que en media, apenas cerca de 50% de la dieta ingerida era utilizada para el crecimiento.

Las tasas de crecimiento suelen variar entre 3 y 10% peso día<sup>-1</sup> (Amaratunga, 1983; Lee, 1994; Lee *et al.*, 1998; Domingues *et al.*, 2002) siendo superiores al 10% peso día<sup>-1</sup> desde las primeras fases de vida hasta la madurez sexual (Domingues *et al.*, 2001a; 2001b; 2002; 2003; 2004). Para pulpos, tasas de crecimiento de 6 % peso día<sup>-1</sup> para individuos de más de 500 g suelen ser normales (Mangold and Boletzky, 1973; Mangold, 1983; Forsythe and Van Hewkelem, 1987). Villanueva *et al.*, (2002) indica tasas de crecimiento para el pulpo *O. vulgaris* de 5% peso día<sup>-1</sup> para individuos de más de 500 g. Tasas de hasta 13% peso día<sup>-1</sup> para juveniles fueran reportadas por Garcia and Aguado (2002).

Los cefalópodos se componen mayoritariamente de agua (80%); Las proteínas representan cerca de 16.6% del peso húmedo (Iwasaki and Harada, 1985). Los carbohidratos representan cerca de 1% (Vlieg, 1984) y los lípidos menos de 2%. Ninguno de estos dos componentes es utilizado para la producción de energía (Hochachka, *et al.*, 1975). Así, las proteínas son la mayor fuente de energía para estos organismos (Lee, 1994).

Su composición en peso seco es mayoritariamente proteica (75 a 85%). En comparación con los peces, poseen 20% más proteína, 80% menos de cenizas, entre 50 a 100% menos de lípidos y entre 50 a 100% menos de carbohidratos (Lee, 1994). Los lípidos neutros son muy

poco utilizados (Lee *et al.*, 1998). Una vez que las proteínas son utilizadas como energía y para todas las funciones vitales y el crecimiento, su asimilación es muy eficiente, con valores superiores al 90% (Lee, 1994).

## **Dietas Naturales**

Las dietas de cefalópodos en el medio natural pueden ser determinadas por desechos cerca de sus escondites, en el caso de los pulpos, aun que el método mas eficaz para determinarlas es analizar los contenidos estomacales de animales recién capturados (Altman, 1967; Coelho *et al.*, 1997). Las presas más comunes son crustáceos, como camarones y cangrejos (Guerra, 1978; Boucaud-Camou and Boucher-Rodoni, 1983; Boucher-Rodoni *et al.*, 1987; Hanlon and Messenger, 1996), aun que los peces y también otras especies de cefalópodos sean también parte importante de la dieta de algunos cefalópodos (Coelho *et al.*, 1997). El canibalismo de adulto sobre ejemplares más pequeños es común en muchas especies (Burukovsky, 1979; Worms, 1983; Baddy, 1988; Sauer and Lipinski, 1991; Guerra and Rocha, 1994; Coelho *et al.*, 1997). El rango de presas es mayor en los individuos más grandes, o de mayor edad (Nixon, 1987; Lipinski, 1992; Coelho *et al.*, 1997). Los adultos incluyen más cantidades de pescado y otros cefalópodos en sus dietas, mientras los juveniles se alimentan mayoritariamente de crustáceos (Nixon, 1987; Pierce *et al.*, 1994; Augustyn, 1990, 1991). Los pulpos prefieren cangrejos a cualquier otro tipo de presa (Taki, 1941), así como la sepia (*Sepia officinalis*) (Castro and Guerra, 1990). Pulpos y Sepia alimentados con crustáceos, como cangrejos o camarones, crecieron más que alimentados con peces (Nixon, 1966; Cagnetta and Sublimi, 1999; Domingues *et al.*, 2003; 2004). Aun así, la dieta de una misma especie puede variar grandemente entre regiones geográficas; la dieta del pulpo *O. vulgaris* en las costas de Cataluña (España) se compone en 80% por crustáceos, mientras que en el sur de Portugal (Algarve) su dieta está compuesta en 80% por bivalvos (Giménez and García, 2002).

En cautiverio, los cefalópodos suelen ser alimentados con presas vivas similares a las que capturan en el medio natural (Pascual, 1978; Boucaud-Camou and Boucher-Rodoni, 1983; Forsythe *et al.*, 1994; Domingues *et al.*, 2001a, 2001b, 2002, 2003a, 2003b, 2004). Algunas

especies, principalmente pulpos con desarrollo embrionario directo como *O. Maya*, aceptan alimento muerto desde los primeros días de vida; otras, como *S. Officinalis*, requieren presas vivas de tamaño apropiado, como misidáceos, durante las primeras fases de vida pero aceptan presas congeladas a partir de determinada edad (Richard, 1971; Pascual, 1978; Lee *et al.*, 1991; 1994; Forsythe *et al.*, 1994; Lee, 1998; Domingues *et al.*, 2001; 2002; 2003; 2004). Otras especies, principalmente los calamares pelágicos necesitan de presas vivas durante todo el ciclo de vida (Forsythe *et al.*, 2001). Algunas especies, como *S. officinalis*, han sido cultivadas exclusivamente con una presa (el camarón *Palaemonetes varians*), viva y/o congelada durante todo el ciclo de vida (Pedro Domingues, comunicación personal; Sykes *et al.*, 2003).

### **Dietas Artificiales**

La existencia de dietas apropiadas y económicas es uno de los requisitos básicos para el suceso en acuicultura comercial (Chen and Long, 1991). Estudios sobre costos de producción indican que el uso de dietas preparadas en substitución de dietas vivas o naturales pueden bajar los costes de producción en 40% en una primera fase, pudiendo estos ser posteriormente reducidos hasta 80% del costo inicial (Hanlon *et al.*, 1991). Sin embargo, hay muy pocas dietas alternativas que puedan ser usadas en el cultivo de cefalópodos, hecho que impide su cultivo en larga escala (LaRoe, 1971; DeRusha *et al.*, 1989; DiMarco *et al.*, 1993; Lee, 1994). Hasta el presente, la inexistencia de un alimento balanceado, fácilmente almacenadle y utilizable, para el cultivo de cefalópodos, sigue impidiendo el cultivo en larga escala de diversas especies, entre ellas las que poseen desarrollo embrionario directo, como *S. officinalis* o *O. Maya* (O'Dor and Wells, 1983; Domingues, 1999).

Hasta el presente, algunas especies de cefalópodos como *S. Officinalis* o *O. Maya* han sido mantenidos en cautiverio con dietas artificiales (Castro, 1991; Hanlon *et al.*, 1991; Castro *et al.*, 1993; Castro and Lee, 1994; Domingues, 1999), eso si con tasas de crecimiento bastante moderadas, insuficientes para ser rentables a la escala comercial. Estas dietas semi-húmedas estaban basadas en pasta de camarón (Lee *et al.*, 1991).

Así, el desarrollo de una dieta artificial balanceada de bajo precio, buena durabilidad, fácil almacenamiento y que promueva crecimiento aceptable es uno de los objetivos más importantes para la obtención del cultivo de cefalópodos a nivel comercial (Lee, 1994). Además, una dieta de composición conocida y determinada puede ayudar a entender la fisiología de la nutrición de cefalópodos, bien como ayudar a determinar los requisitos nutricionales de estos organismos, para la obtención de una dieta artificial de alto valor nutricional, que proporcione crecimiento aceptable.

Hasta el presente, pocos esfuerzos se han desarrollado para intentar elaborar dietas alternativas o artificiales para cefalópodos (Domingues, 1999). DeRusha *et al.*, (1989) intento cultivar juveniles de *S. officinalis* usando artemia adulta en substitución de misidaceos, con resultados bastante pobres. Castro (1991) intento cultivar *S. Officinalis* con dietas artificiales basadas en pasta de camarón, pero no obtuvo crecimiento y estas proporcionaran elevada mortalidad. En el inicio de la década del 90, en el Laboratorio del National resource Center for Cephalopods, en Galveston, Texas (EUA) se realizaron ensayos preliminares en palatabilidad y en el uso de dietas no naturales (surimi comercial) (Lee *et al.*, 1991), sin que se lograra que este fuera aceptado tanto por pulpos como por la sepia (*S. officinalis*). En estos ensayos fueron usados varios pellets semi-húmedos basados en pollo, camarón o misidaceo, bien como pollo crudo, salchichas, entre otros productos, sin que se haya obtenido una aceptación y consecuente crecimiento por parte de las especies alimentadas con los distintos alimentos. Después, Castro *et al* (1993) en el mismo laboratorio, elaboro un alimento artificial basado en filetes de pez gato que fue aceptado por la sepia, aun que este no produjera crecimiento aceptable. Las tasas de ingestión de las dietas artificiales, menores que 3% peso día<sup>-1</sup>, fueran bastante inferiores que los 7% peso día<sup>-1</sup> obtenidas cuando alimentando con filetes de pez gato congelado (Castro *et al.*, 1993). Sin embargo, esto fue un pequeño avance, una vez que esta especie no había aceptado otro tipo de dietas, como los piensos comerciales usados en la acuicultura de camarón. Se postulo que la ausencia de crecimiento se debía al bajo valor nutricional de las dietas, y que este podría ser incrementado con adición de suplementos proteicos, amino ácidos, vitaminas y sales minerales.

Castro and Lee (1994) utilizaron una dieta similar y otra suplementada con proteínas y amino ácidos, y obtuvieron crecimiento significativo solamente con la dieta suplementada, aun que este se revelo muy escaso, cuando comparado con el crecimiento de esta especie cuando alimentada con dietas naturales, vivas o congeladas. Aun así, las tasas de ingestión obtenidas en esos experimentos, menores de 3% peso día<sup>-1</sup>, son bastante menores que las obtenidas con dietas naturales (Domingues *et al.*, 2001a, 2001b, 2002, 2004).

Domingues (1999) en el mismo centro de investigación experimento distintas dietas artificiales, similares a las anteriores (basadas en filetes de pez gato congelado) pero suplementadas con proteína (caseína), vitaminas, minerales, y amino ácidos, usando concentraciones crecientes de los amino ácidos lisina y metionina; solamente las dietas con máximas concentraciones de lisina y metionina presentaron crecimiento significativo. Aun así, tal como había ocurrido con Castro *et al.*, (1993) y Castro and Lee (1994), este crecimiento, inferior al 0.5% peso día<sup>-1</sup>, fue muy inferior al obtenido con presas vivas o congeladas, superior al 7% peso día<sup>-1</sup> (Castro *et al.*, 1993; Castro and Lee, 1994; Forsythe *et al.*, 1994; Domingues *et al.*, 2002, 2003).

De todos modos, el alimento fue aceptado aún que con tasas de ingestión inferiores al 4% peso día<sup>-1</sup> (Domingues, 1999). Estas tasas son inferiores a las determinadas cuando alimentado *S. officinalis* con camarón congelado (6-8% peso día<sup>-1</sup>) (Castro *et al.*, 1993), y bastante inferiores a tasas de alimentación cuando usando camarón vivo, que sobrepasan los 15% peso día<sup>-1</sup> (Domingues *et al.*, 2001a, 2001b, 2002, 2003, 2004). Esta tasa de ingestión fue también inferior a la obtenida cuando alimentando estos animales con filete de pez gato congelado (9% peso día<sup>-1</sup>), que sirvió de base a la elaboración de las dietas (Domingues, 1999). También se verifico que la tasa de ingestión de estas dietas artificiales disminuyo al final de 2 semanas de los experimentos (Domingues, 1999), indicando que los animales percibieron que estas no eran adecuadas para ellos, y probablemente no serian suficientemente energéticas para ser consumidas.

También fueran probadas dietas artificiales micro encapsuladas para paralarvas de *O. vulgaris*, sin que se haya obtenido crecimiento, aún que las dietas hayan sido aceptadas y ingeridas por las paralarvas (Navarro and Villanueva, 2000).

De todas formas, los resultados obtenidos en estas fases pioneras en el intento de elaborar un alimento artificial para cefalópodos son similares a los obtenidos con los primeros intentos de cultivo de peces, con el cambio de dietas naturales para dietas artificiales (Dabrowski, 1978; Lindberg and Doroshov, 1986). A pesar de los resultados poco animadores obtenidos hasta la fecha, los pulpos aceptan mas fácilmente dietas preparadas comparativamente a otros cefalópodos (Boletzky and Hanlon, 1983; Hanlon *et al.*, 1991). Así, estos serán los primeros candidatos a ser considerados para ser utilizados en el desarrollo de dietas artificiales para cefalópodos.

## **Digestión**

Los cefalópodos tienen un modo de digestión similar a lo de los vertebrados, con secreciones pancreáticas de enzimas extracelulares y absorción tipo intestinal de pequeñas moléculas (en el ciego y el intestino); algunas especies presentan digestión intracelular (Boucaud-Camou and Boucher-Rodoni, 1983).

El tracto digestivo de los cefalópodos tiene forma de U (Fig. 1). El ramo descendiente, o parte anterior, incluye el esófago y el estomago. El ramo ascendiente, o parte posterior, es constituido por el ciego (en forma de espiral) y un intestino de pequeñas dimensiones (Bidder, 1966; Boucaud-Camou and Boucher-Rodoni, 1983). El anus se sitúa en posición posterior al sifón con excepción de los nautilus. La bolsa de tinta libera sus secreciones a través de un canal que está conectado al intestino, no muy alejado del anus (Bidder, 1966).

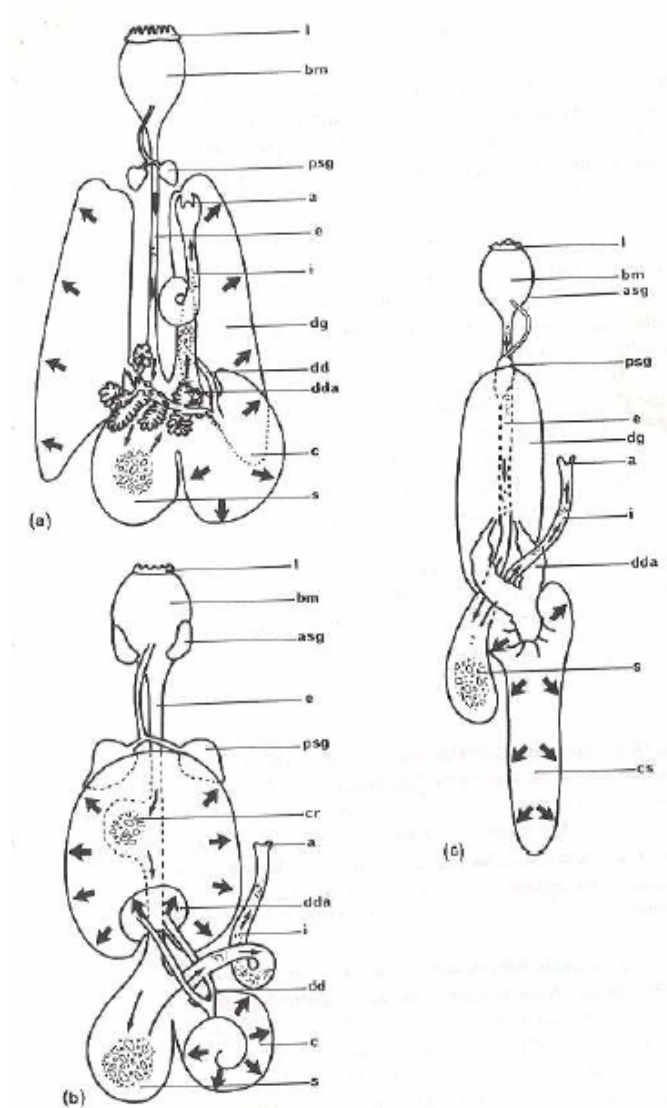


Figura 1 – Órganos digestivos de (a) *Sepia officinalis*, (b) *Octopus vulgaris* y (c) *Loligo vulgaris*. La bolsa de tinta no está representada. A, anus; asg, glándula salivar anterior; bm, masa bucal; c, ciego; crop; cs, bolsa del ciego; dd, canales digestivos; dda, apéndices de los canales digestivos; dg, glándula digestiva; i, intestino; l, labios; e, esófago; psg, glándula salivar posterior; s, estomago. Las flechas finas indican el flujo de las partículas sólidas en el tracto digestivo. Las lechas gruesas indicas sitios de absorción.

El esófago termina y el intestino comienza en donde se dobla el aparato digestivo, en el vestíbulo, que es la región hacia donde abren tanto el estomago como el ciego. Válvulas (esfínteres) permiten al estomago y el ciego estar aisladas del resto del aparato digestivo. Los dos canales digestivos, originados en la glándula digestiva, se unen justo antes del eje



de la espiral del ciego. Una estricta digestiva que conecta el ciego al vestíbulo permite que exista un pasaje libre entre la glándula intermedia y el estomago (Bidder, 1966). La estricta digestiva y los esfínteres permiten que sustancias presentes en el estomago pasen a los canales digestivos o al intestino, y el flujo inverso, de los canales digestivos al estomago directamente, sin pasar por el ciego. Este mecanismo es muy importante y debe tenerse en cuenta para que podamos entender los procesos digestivos en los cefalópodos (Boucaud-Camou and Boucher-Rodoni, 1983).

### **Glándula Intermedia**

En la mayoría de los cefalópodos (Coleoidea), la glándula intermedia se divide en dos partes de tamaño distinto, conectadas en serie; la parte anterior es la glándula digestiva, de color marrón, y la parte posterior es el páncreas, que consiste en que está constituido por apéndices formados a partir de los canales digestivos (Fig. 1). En los pulpos, el páncreas está localizado dentro de la cápsula de la glándula digestiva (Fig. 1). En los cefalópodos decápodos el páncreas se sitúa en la bolsa del riñón, mientras que en los sepioidea cada tubo está cubierto por un epitelio celómico.

### **Estructura de la Glándula Digestiva**

La glándula digestiva, además de sus funciones digestivas, es también un local de almacenamiento de reservas energéticas. Su color es acastañada, debido a la presencia de pigmentos (carotenos) provenientes de las presas que componen la dieta de los diferentes cefalópodos (Fox, 1966; Altman and Nixon, 1970). La glándula digestiva de los calamares, que se alimentan mayoritariamente de peces, no es tan rica en carotenos, en comparación con las de los pulpos o sepioidea, cuya dieta es mayoritariamente compuesta por crustáceos, ricos en este pigmento (Fisher *et al.*, 1956). Por ejemplo, la glándula digestiva de pulpos que se alimentan exclusivamente de peces tiene un color verde (Altman and Nixon, 1970).

En los adultos, la glándula digestiva es normalmente compuesta por un simple órgano, exceptuando los sepioidea (*Sepia* sp.), donde se distinguen fácilmente los dos lóbulos de la glándula. Este órgano se compone de diversos canales que abren en los canales digestivos.

## **Fisiología de la Digestión**

### **Enzimas Digestivas:**

Enzimas proteolíticas, amilásicas y lipolíticas existen en distintos órganos del aparato digestivo; Su actividad varía de acuerdo con cada órgano, y estado de digestión. A pesar de que se haya encontrado actividad enzimática en todos los niveles del aparato digestivo, apenas algunos órganos poseen este tipo de actividad a nivel epitelial.

Los principales órganos que segregan enzimas digestivas son las glándulas intermedias, la glándula digestiva, el ciego y los canales digestivos. Ni el estómago, ni el esófago segregan enzimas. Así, las enzimas digestivas que degradan los alimentos en estos dos órganos tienen proveniencia de otros órganos, principalmente de las glándulas salivares o digestiva (Boucaud-Camou and Boucher-Rodoni, 1983).

Información sobre actividad enzimática digestiva en adultos de pulpo (*O. vulgaris*) fue descrita por Morishita (1974) and Boucher-Rodini *et al.*, (1987). La localización de las enzimas digestivas en juveniles fue descrita por Boucaud-Camou and Roper (1995, 1998). En paralarvas salvajes, la actividad proteolítica fue detectada en las glándulas salivares posteriores, glándula digestiva, estómago y ciego (Boucaud-Camou and Roper, 1995).

### 1. **Digestión de proteínas:**

Según Lee (1994), la digestibilidad de proteínas en cefalópodos es alta (96%). La actividad proteolítica existe en el lumen del aparato digestivo, desde el esófago al intestino, usualmente más cerca del epitelio (Boucaud-Camou, 1973). Esta actividad se origina en varias secreciones de distintos órganos; las glándulas salivares y digestiva, el ciego y el intestino. En las glándulas salivares posteriores de *Sepia* no se encontró actividad

enzimático (Boucaud-Camou, 1969), mientras en los pulpos una actividad proteolítica fue descrita para las glándulas salivares posteriores (Sawano, 1935; Morishita, 1978), estando en este caso probablemente asociados a la digestión externa. Morishita (1978) indica que las glándulas salivares posteriores desempeñan un papel importante en la digestión de proteínas. También Best (1981) presentó fuerte evidencia de este hecho en pulpos.

En calamares, como *Todarodes* sp., que poseen glándulas salivares reducidas, la glándula digestiva, por su tamaño, es responsable por casi 90% de toda la actividad proteolítica (Takahashi, 1960). También Koslovskaya and Vaskovsky (1970) describen elevada actividad proteolítica en varias especies de cefalópodos.

Sawano (1935) y Takahashi (1960) encontraron actividad proteolítica también en los canales digestivos de pulpos y calamares,. El ciego también posee este tipo de actividad en *Sepia* sp. (Boucaud-Camou, 1973) y *Todarodes* sp. (Takahashi, 1960).

## 2. Digestión de carbohidratos:

Un incremento en el nivel de glucosa en la sangre, proporcional a la concentración de carbohidratos en la dieta fue descrito por Boucaud-Camou (1969). Un actividad enzimático de digestión de carbohidratos fue encontrada en los mismos locales descritos para la digestión proteica; lumina intestinal en *Sepia* (Boucaud-Camou, 1969; 1973), en la glándula digestiva para *Sepia* sp., *Todarodes* sp., *Loligo* sp. y *Eledone* sp. (Romijn, 1935; Takahashi, 1960; 1963; Boucaud-Camou, 1969; 1973). Como para las proteínas, no se pudo encontrar digestión de carbohidratos esófago o el estomago de cefalópodos, y las glándulas salivares de *Sepia*. Al revés, Romanini (1952) encontró este tipo de digestión en las glándulas salivares de pulpos.

La glándula digestiva presenta fuerte actividad en la digestión de carbohidratos. En *Sepia*, las amilasas fueron detectadas histoquímicamente en la lumina de los canales digestivos (Romijn, 1935; Boucaud-Camou, 1974), y la celulaza en la glándula digestiva de pulpos (d'Aniello and Scardi, 1971) y calamares (Okutani and Kimata, 1964).

### 3. Digestión de lípidos:

La glándula digestiva y el ciego son los mayores órganos de absorción de lípidos, aun que esta actividad sea reducida (Romijn, 1935; Takahashi, 1960; 1963). Lee (1994) indica tasas de digestión de lípidos de 46% para *O. vulgaris*. O'Dor *et al.*, (1983) refiere que los cefalópodos tienen baja digestibilidad de lípidos, y pobre eficacia en oxidarlos.

## **Fisiología de la Digestión**

### 1. Locales de absorción:

El ciego es el principal órgano de absorción en los cefalópodos. La superficie del epitelio del ciego está aumentada por numerosas doblas de la mucosa (Fig. 2), y este hecho, está directamente relacionado con los procesos digestivos (Bidder, 1950). Estos hechos fueran confirmados por Boucaud-Camou *et al.*, (1976) usando alimento marcado radiactivamente en *Sepia* y en pulpos. En *Sepia*, Boucaud-Camou (1977) comprobó la polaridad de la mucosa. La absorción ocurre en la parte elevada de la dobla, mientras que las enzimas digestivas se concentran en la ranura (Fig. 2). La importancia del ciego en la absorción es mayor en los pulpos que en la *Sepia* (Boucaud-Camou *et al.*, 1976). En los calamares (loliginidae), el largo ciego, pero también el intestino, son los principales órganos de absorción (Bidder, 1950).

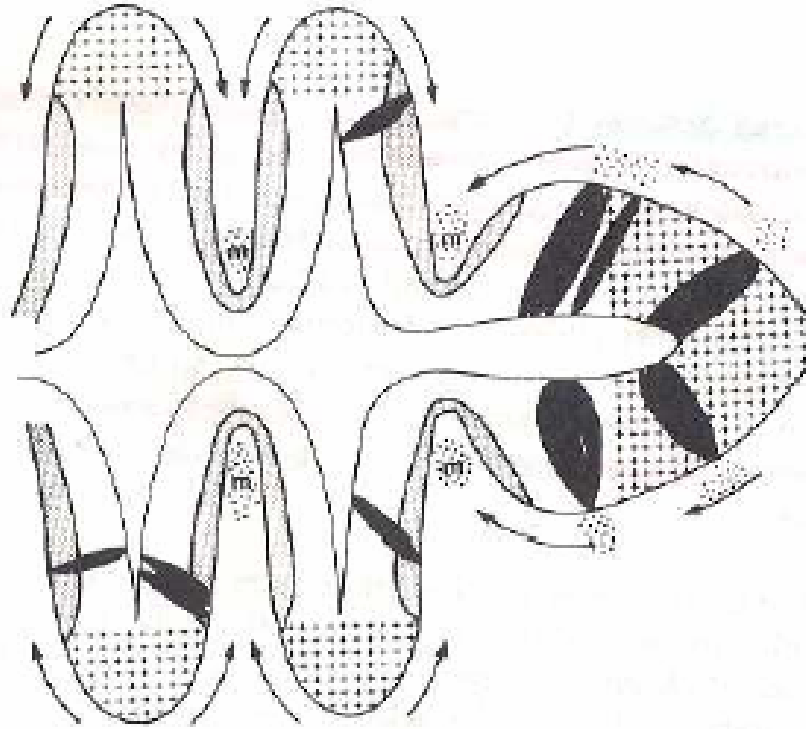


Figura 2 – Esquema del funcionamiento del ciego en *Sepia officinalis* L. Los sitios de absorción, situados en los topos de las doblas, están señalados con cruces. Las áreas de actividad enzimático (e.g. proteolíticas) con proteasas, esterases, tripsina, etc) se marcan con puntos. Las flechas representan los movimientos ciliados que juntan las partículas no digeridas en depresiones en donde son posteriormente eliminadas por el intestino (Bidder, 1950). Las células de la mucosa están representadas a negro (de Boucaud-Camou, 1977).

La glándula digestiva también tiene un papel muy importante en la absorción. Usando alimento marcado, Boucaud-Camou and Péquignat (1973) indican que la absorción tiene lugar temprano en *Sepia*, en este órgano. Contrariamente, en *Loligo* sp. (Calamares), en la glándula digestiva no hay absorción (Bidder, 1966).

Los canales digestivos son de los órganos más importantes en absorción en *Sepia* (Boucaud-Camou and Péquignat, 1973), pues siempre revelan gran actividad específica. Con efecto, fue en este epitelio interno donde se registró mayor absorción de alimento marcado radiactivamente.

En pulpos y *Sepia*, el intestino no parece tener un papel importante en la absorción de alimento, a pesar de que su estructura histológica ser semejante a la del ciego, pero en calamares (*Loligo* sp.) es un órgano importante de absorción de lípidos (Bidder, 195

## **Fisiología de la digestión**

### **1. Tasa de ingestión:**

Las tasas de ingestión dependen de la temperatura del agua (Richard, 1971; Boletzky, 1975; Domingues *et al.*, 2002), del alimento disponible (Borer, 1971) y del tipo de presa que sirve de alimento (Mangold, 1983). Las tasas de ingestión de los cefalópodos pueden llegar al 50% peso día<sup>-1</sup> (Mangold, 1983; Boucher-Rodoni *et al.*, 1987; Domingues *et al.*, 2001a), pero disminuyen con la edad (Nixon, 1966; Domingues *et al.*, 2002). La tasa de ingestión está también determinada por la cantidad de alimento disponible (Richard, 1966; 1971; Pascual, 1978; Domingues *et al.*, 2001b; 2002). La digestión es rápida y eficiente (Bidder, 1966).

García and Giménez (2002), reportan tasas de ingestión más elevadas para hembras antes de la fase de maduración. Una vez que las hembras necesitan más nutrientes y energía para la producción de huevos, comparado con los machos (O'Dor and Wells, 1978), esta elevada tasa de ingestión puede estar asociada a esta necesidad de las hembras.

### **2. Ruta del alimento:**

El alimento pasa de la cavidad bucal al esófago y por movimientos peristálticos al estomago. Aquí, este es parcialmente decompuesto, esencialmente por acción de enzimas elaboradas en la glándula digestiva, y también, en algunos casos, de glándulas salivares. El fluido digestivo entra seguidamente al ciego, a través de los canales digestivos y la glándula digestiva, por lo menos en *Sepia* y en los pulpos. El alimento que entra al ciego entra en las fases terminales de digestión, y es seguidamente absorbido en este órgano. En calamares como *Loligo* sp., el alimento no entra a la glándula digestiva, y es absorbido en los largos ciego y intestino (Bidder, 1966).

### **3. Duración de la digestión:**

La digestión en cefalópodos es más rápida que en peces (Boucher-Rodoni, 1975). La temperatura del agua es el factor de mayor importancia para determinar el tiempo de digestión, independiente de la especie de cefalópodo. El tiempo de digestión de una comida también varía grandemente de una especie para otra. Otro factor importante que determina la duración de la digestión es el tipo de vida del cefalópodo en cuestión (bentónico, semi-bentónico o pelágico, siendo generalmente asociados a este tipo de hábitat los pulpos, la *Sepia* y los calamares, respectivamente). A una determinada temperatura, el tiempo de digestión es más elevado para una especie bentónica, comparado con una especie pelágica (Boucaud-Camou and Boucher-Rodoni, 1983). La cantidad de alimento ingerido no parece tener efecto sobre el tiempo de digestión, a no ser que sea una cantidad bastante reducida.

En todas las especies de cefalópodos, la velocidad de digestión es muy elevada durante las fases iniciales de la digestión, disminuyendo considerablemente en fases posteriores. Estos animales pueden ingerir otra presa aun antes de haber terminado la absorción de la anterior (Bidder, 1966). Estos procesos digestivos en fases sucesivas, en el estómago, ciego, y por lo menos en pulpos y *Sepia*, en la glándula digestiva, hacen posible la digestión de dos comidas simultáneamente, lo que permite a los cefalópodos un potencial proceso digestivo de extraordinaria eficiencia (Bidder, 1966; Boucaud-Camou and Boucher-Rodoni, 1983).

La digestión del alimento es muy rápida; para que 80% del alimento sea digerido en *S. Officinalis*, son necesarias apenas 2 horas para temperaturas superiores a 25°C, y entre 4 y 7 horas, para temperaturas de casi 20°C (Quintela and Andrade, 2002a). Para la misma especie, a 23°C, son necesarias 10 horas para que la digestión sea completa, pero apenas 3 horas para que 75% del alimento sea digerido. Sin embargo, a temperaturas menores, las tasas de evacuación gástrica son bastante menores; a 15.5°C son necesarias 23 horas para que el alimento sea totalmente asimilado, y 7 horas para que 75% del alimento haya sido asimilado (Quintela and Andrade, 2002b). La digestión para especies pelágicas, como

calamares, es considerablemente más rápida; Bidder (1950) reporta para *L. vulgaris* entre 4 y 6 horas, a 18°C.

Esto es soportado por el elevado porcentaje de estómagos vacíos encontrados en los muestreos dedicados al análisis de contenidos estomacales de distintas dietas. Coelho *et al.*, (1997) indica que más de 60% de los estómagos del calamar *L. vulgaris* muestreados se encontraban vacíos. Otros autores indican también porcentajes elevadas de estómagos vacíos para esta especie (Lipinsky, 1987; Augustyn, 1990, 1991; Guerra and Rocha, 1994).

#### 4. **Tasas de conversión:**

Los cefalópodos son animales que presentan tasas de crecimiento muy rápidas (Nixon, 1966; Choe, 1966; Richard, 1971; Mangold and Boletzky, 1973; Van Hewkelem, 1983; Forsythe *et al.*, 1994; Lee, 1994; Domingues *et al.*, 2001a, 2001b, 2002, 2003). Durante el proceso de crecimiento, la ingestión, absorción y tasas de conversión de alimento son etapas sucesivas que transforman el alimento ingerido en tejido animal.

Las tasas de conversión son muy altas, en comparación con los peces, por ejemplo (Choe, 1966; Nixon, 1966; Mangold, 1983; Domingues *et al.*, 2003; 2004). Siendo de las más elevadas encontradas en el reino animal, y que suelen ser superiores al 50% (Amaratunga, 1983; Van Hewkelem, 1976, 1977; 1987; Mangold, 1983; Forsythe and Van Hewkelem, 1987; Domingues *et al.*, 2004). Choe (1966) indica tasas de conversión que varían entre 9 y 71% peso día<sup>-1</sup>, con promedios de 38.7%, aun que Domingues *et al.*, (2001a; 2004) reporta que estas suelen variar entre 35 y 50%. Según Nixon, (1966), en pulpos, la conversión de alimento varia entre 25 y 55% durante el ciclo de vida. Tasas de conversión suelen ser más altas con crustáceos ( $\pm 50\%$ ) que con peces (25 a 30%) (Domingues *et al.*, 2003; 2004).

Las tasas de conversión varían mucho entre especies, bien como dentro de la propia especie, debido a la variabilidad genética entre individuos (Wells *et al.*, 1983; O'Dor *et al.*, 1978). Aun así, no dependen de la temperatura del agua Mangold and Boletzky, 1973;



Pascual, 1978). Según Van Hewkelem (1976), para *Octopus cyanea*, y en valor calórico, el porcentaje convertido, usado para mantenimiento o funciones vitales, y no utilizado es de 60, 34 y 4%, respectivamente.

## **Requerimientos Nutricionales**

El conocimiento de la fisiología digestiva de nuevas especies potenciales para acuicultura es esencial, una vez que pueden ayudar a la formulación de dietas inertes eficientes.

Las paralarvas de algunas especies de cefalópodos, como el pulpo *O. vulgaris*, tienen la capacidad de ajustar sus enzimas digestivas a distintas dietas, e también a la cantidad de alimento. La actividad de enzimas proteolíticas se mantiene alta cuando la cantidad de dieta ingerida es elevada. La actividad de tripsina y chimo tripsina suelen mantenerse solo si el nivel de dieta se mantiene (Villanueva *et al.*, 2002). La disminución de su actividad refleja una dieta pobre o poco balanceada. La disminución de actividad de tripsina en el intestino y páncreas de larvas de peces no alimentadas fue observada por Zambonino-Infante *et al.*, (1996) y por Gawlicka *et al.* (2000).

En comparación con larvas de peces, el nivel de actividad de tripsina en pulpos es más elevado (Villanueva *et al.*, 2002). Las paralarvas de *O. vulgaris* tienen muy bajo o indetectable actividad de amilasa (Boucaud-Camou and Roper, 1995), en concordancia con el bajo contenido en carbohidratos en cefalópodos, de menos de 1% (Lee, 1994).

Otro problema de algunas dietas no naturales puede ser su bajo contenido en lípidos polinsaturados, que son esenciales para animales marinos (Navarro *et al.*, 1992, 1993). Este tipo de deficiencias pueden ser muy importantes, particularmente para el desarrollo de las primeras fases de vida de los cefalópodos (Navarro and Villanueva, 2000).

## Composición de Cefalópodos

### 1. Lípidos:

Todos los cefalópodos adultos son caracterizados por poseer grandes concentraciones de cadenas largas de PUFA (Nash *et al.*, 1978). Estos dos ácidos grasos son de vital importancia. Entre estos, el ácido decohexanóico (DHA), el ácido eicosapentaenóico (EPA) y ácido araquidónico (AA) son de gran importancia. El DHA tiene un papel multifuncional en varios procesos adaptativos que ocurren en las membranas, mientras el EPA y el AA son dos de los más importantes precursores del ácido ecosanóico, que está implicado en múltiples funciones. Estos ácidos grasos están implicados en la formación del sistema nervioso, visual, reproductivo, desarrollo larvario, entre otros (Sargent *et al.*, 1995; Almansa *et al.*, 1999; Arts *et al.*, 2001). Las proporciones DHA/EPA y EPA/AA son también muy importantes para el desarrollo de muchas especies Maríñas durante las primeras fases de vida (Watanabe *et al.*, 1989; Navarro and Villanueva, 2000; Domingues *et al.*, 2003b; 2004).

Navarro and Villanueva (2000) estudiaron los requerimientos de ácidos grasos para diferentes especies de cefalópodos y determinaron su composición también el las presas de que estos organismos se alimentan. Estos autores determinaron que los requerimientos en PUFA son muy elevados, siendo que el DHA, (22:6n-3) representa entre 20 a 30% de los ácidos grasos de los lípidos totales en larvas de *Sepia*, pulpos e calamares. Los n-3 PUFA, y en particular el DHA, colesterol y fosfolípidos son de vital importancia para el desarrollo de las primeras fases de la vida de cefalópodos (Villanueva, 1994, 1995; Domingues *et al.*, 2003b, 2004; Sargent *et al.*, 1995). La importancia de los n-3 HUFA para las primeras fases de vida de los cefalópodos también fue referida por Koueta *et al.* (2002).

La composición de ácidos grasos en el ovario maduro, huevos y pré-eclosionados del pulpo *O. vulgaris* se encuentra representada en la Tabla I. la de y juveniles salvajes de distintos pesos se encuentra en la Tabla II. Estas tablas fueran retiradas de Navarro and Villanueva (2003). La concentración de lípidos en el ovario maduro es de 15% del peso seco. Los más

abundantes son los ácidos grasos, con cerca de 50%, con los *n*-3 PUFA cerca de 5 veces más abundantes que los *n*-6 PUFA. El ácido graso más abundante es el DHA, con más de 20% del total de ácidos grasos, y los 16:0, con concentración similar; juntos representan cerca de la mitad de todos los ácidos grasos en el ovario. El EPA representaba entre 13 y 14% de los ácidos grasos del ovario, mientras que una relación de 1.7 entre DHA/EPA fue reportada para este órgano en *O. vulgaris*. El total de lípidos en las fases terminales del desarrollo embrionario varió entre 11 y 12%. Los PUFA eran también aquí los más abundantes, con 40% del total de lípidos. De estos, los ácidos grasos *n*-3 PUFA eran de 3 a 4 veces más abundantes que los *n*-6 PUFA. El ácido graso más abundante en los huevos es el 16:0, con 28% del total y decreció hasta el 25% en los estadios finales del desarrollo embrionario. El DHA es el segundo en importancia, con 20% del total; el EPA estaba presente en menor concentración que en el ovario, con 8 a 10%. El ácido araquidónico (AA) decreció de 9 a 6% durante el desarrollo embrionario. La relación EPA/DHA subió de 2 a 2.6 durante esta fase; las proporciones del grupo 18:0 también subió durante el desarrollo embrionario, de 5.1 a 7.6%.

En juveniles de *O. vulgaris* salvajes, los lípidos varían entre 6.6 y 12.5% del peso seco, disminuyendo con el tamaño del animal. Cerca de 50% de los ácidos grasos eran PUFA; de estos, los *n*-3 eran 6 veces más abundantes que los *n*-6. Como en el ovario, el DHA e los 16:0 eran los más abundantes, constituyendo entre 30 y 40% del total, y en proporciones idénticas entre si. El EPA varió entre 10.3 y 16.7%, y las proporciones DHA/EPA aumentó de 1.1 a 1.6. El grupo 18:0 también es menos abundante en los juveniles que en los huevos; el AA varió entre 3.8 y 6.9% en los juveniles.

La concentración de lípidos totales y mono insaturados tiende a aumentar durante las primeras fases de vida, y la de los lípidos polinsaturados (PUFA) tiende a disminuir, particularmente el DHA. La proporción entre este ácido y el EPA es de extrema importancia para el suceso del cultivo durante las primeras fases de vida, y su incorrecto balance suele ser responsable por elevada mortalidad y pobre crecimiento (Navarro and Villanueva, 2000, 2003).

El perfil de ácidos grasos en ovarios y huevos del pulpo *O. vulgaris* es similar al reportado por Navarro y Villanueva (2000) para recién eclosionados, y también de los juveniles. Este padrón se caracteriza por concentraciones de lípidos totales baja, con predominancia de PUFA's, (básicamente *n*-3, y principalmente EPA y DHA). Se encuentran también entre 15 y 20% del grupo 16:0, y concentraciones más bajas del AA y del grupo 18:0.

Tabla I – Lípidos totales (% peso seco) y ácidos grasos (% del total de ácidos grasos) y FAME total (mg / g de peso seco) de lípidos totales del ovario maduro y huevos de *O. vulgaris* en distintos estadios de desarrollos.

Fatty acid	Mature ovary	Eggs		
		Embryonic stages		
		XV – XVII	XVIII – XIX	XIX – XX
<14	0.5	1.0	1.3	1.3
14:0	3.3	3.0	2.1	1.7
14:1		0.0	0.1	0.1
15:0	0.4	0.2	0.5	0.4
15:1	0.1	0.1	0.1	0.1
16:0	22.6	28.6	28.1	24.6
16:1 <i>n</i> – 9	1.7	0.1		0.2
16:1 <i>n</i> – 7	0.8	0.2		0.2
17:0	0.8			
16:3	0.1	0.4	0.1	0.8
16:4		0.1	0.1	0.1
18:0	4.9	5.1	6.1	7.6
18:1 <i>n</i> – 11	1.1	0.6	0.8	1.3
18:1 <i>n</i> – 9	2.9	3.7	2.6	2.7
18:1 <i>n</i> – 7	1.5	1.7	2.2	1.5
18:2 <i>n</i> – 6	0.2	0.2	0.2	0.5
18:3 <i>n</i> – 6		0.1	0.1	0.2
18:3 <i>n</i> – 3		0.2	0.1	0.1
18:4 <i>n</i> – 3	0.1	0.1	0.0	
20:0	0.1	0.1	0.1	0.1
20:1 <i>n</i> – 11	4.2			
20:1 <i>n</i> – 9	0.2	2.5	2.7	3.4
20:1 <i>n</i> – 7		0.2	0.3	0.2
20:2 <i>n</i> – 6	0.4	0.5	0.5	0.6
20:3 <i>n</i> – 6			0.1	0.1
20:4 <i>n</i> – 6	5.2	8.7	8.6	6.0
20:3 <i>n</i> – 3		0.1		0.7
20:4 <i>n</i> – 3	0.2	0.1	0.1	0.0
20:5 <i>n</i> – 3	13.6	8.0	8.4	9.7
22:0				0.1
22:1 <i>n</i> – 11		0.2	0.2	0.2
22:1 <i>n</i> – 9	0.2		0.4	0.9
22:1 <i>n</i> – 7		0.3	0.1	0.1
22:2 <i>n</i> – 6	0.3	0.1	0.1	
22:4 <i>n</i> – 6	0.5	0.5	0.5	0.4
22:5 <i>n</i> – 6/22:3 <i>n</i> – 3	0.7	0.5	0.9	0.4
22:5 <i>n</i> – 3	1.5	0.8	0.8	0.7
22:6 <i>n</i> – 3	23.0	20.6	19.8	19.3
Saturated	32.0	37.0	36.9	34.4
Monoenes	12.6	9.7	9.6	10.7
Polyunsaturated	45.7	40.9	40.5	39.5
<i>n</i> – 3	38.3	29.7	29.3	30.5
<i>n</i> – 6	7.3	10.7	11.0	8.0
HUFA <i>n</i> – 3	38.2	29.5	29.2	30.5
HUFA <i>n</i> – 6	7.1	10.3	10.7	7.4
HUFA <i>n</i> – 3/HUFA <i>n</i> – 6	5.4	2.9	2.7	4.1

Fatty acid	Mature ovary	Eggs		
		Embryonic stages		
		XV – XVII	XVIII – XIX	XIX – XX
DHA/EPA	1.7	2.6	2.3	2.0
Total lipid	14.5	11.0	11.6	12.3
FAME	70.4	48.4	51.1	49.4

Datos a partir de un mínimo de 3 replicados; HUFA: Ácidos grasos polinsaturados; Desviación estándar < 10%. FAME: Metilo esteres de ácidos grasos. Adaptado de Navarro and Villanueva (2003).

Tabla II – Peso húmedo y seco (mg), lípidos totales, ácidos grasos (% del total de ácidos grasos), lípidos totales (% peso seco) y FAME (mg /g) de 10 juveniles de *O. vulgaris*.

Wet weight	321	355	430	3505	5012	5763	9240	10746	10960	14188
Dry weight	45	58	89	814	1128	1380	1419	1881	2189	3671
Fatty acid										
<14	0.5	0.8	1.5	3.2	3.2	3.2	0.5	1.9	0.8	2.0
14:0	0.7	0.7	0.7	1.0	0.7	0.8	1.2	0.7	0.7	0.9
14:1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2
15:0	0.4	0.7	0.3	1.0	0.4	0.6	0.8	0.3	0.4	0.5
15:1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1
16:0	18.3	19.5	16.9	16.8	17.5	21.6	19.6	16.5	17.4	21.0
16:1n – 9	0.1	0.1	0.2	0.2	0.3	0.1		0.2	0.2	0.3
16:1n – 7	0.4	0.4	0.2	1.6	1.2	0.7	2.3	0.2	0.3	0.6
16:2	0.1	0.2	0.1	0.5	0.3	0.2	0.6	0.1	0.1	0.2
17:0	0.1		0.1	1.6	1.7	1.6		0.1		1.5
16:3	0.2	0.1	0.1	3.4	3.7	4.3	0.2	0.1	0.2	4.3
16:4	0.1	3.2	4.3	0.2	0.1		0.1	4.7	4.2	0.1
18:0	9.1	9.2	9.5	8.7	9.7	10.4	7.9	9.3	10.6	8.9
18:1n – 11	0.8	0.8	0.8	0.6	0.7	0.5	0.5	0.8	0.8	0.5
18:1n – 9	2.4	1.9	1.8	1.8	1.6	2.1	2.3	1.8	1.9	2.0
18:1n – 7	1.0	1.0	1.4	1.9	2.1	2.2	2.3	1.4	1.5	2.2
18:2n – 6	2.0	0.4	0.4	0.6	0.6	0.6	0.6	0.4	0.6	0.6
18:3n – 6	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1			0.1
18:3n – 3	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2		0.1	0.2
18:4n – 3	0.1			0.1	0.1	0.1	0.2		0.0	0.1
20:0	0.2	0.2	0.1	0.2	0.3	0.3	0.3	0.1	0.2	0.2
20:1n – 11				0.4	0.5	0.5				0.5
20:1n – 9	2.7	2.8	2.9	1.4	1.8	2.1	2.7	2.9	2.9	1.8
20:1n – 7	0.1	0.3	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.4	0.2
20:2n – 6	0.9	1.0	1.0	0.5	0.4	0.5	0.8	1.2	1.2	0.5
20:3n – 6	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1
20:4n – 6	4.1	4.2	3.9	5.9	5.5	6.9	5.4	4.0	3.8	6.2
20:3n – 3	1.1	1.1	1.0	0.8	0.9	0.8	0.9	1.0	1.0	0.9
20:4n – 3		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1
20:5n – 3	15.4	15.7	16.0	10.3	11.7	11.3	15.7	16.7	15.9	11.7
22:0	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2		0.1	0.2
22:1n – 11	0.1	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2
22:1n – 9	1.0	0.9	0.5	0.7	0.9	1.0	1.1	0.6	0.6	1.1
22:1n – 7	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.2
22:2n – 6		0.2	0.2	0.1			0.3	0.2	0.2	0.1
22:4n – 6		0.3	0.2	0.6	0.5	0.6	0.7		0.2	0.6
22:5n – 6/22:3n – 3	0.5	0.5	0.6	0.7	0.7	0.8	0.7	0.5	0.5	0.7
22:5n – 3	0.7	0.9	1.1	1.4	1.4	1.5	0.1	0.9		1.6
22:6n – 3	25.1	23.9	25.2	16.6	15.3	16.2	17.7	24.9	23.8	15.7
Saturated	28.8	30.4	27.9	29.4	30.3	35.4	29.9	27.1	29.3	33.2
Monounsaturated	8.9	8.7	8.7	9.5	10.0	10.2	12.1	8.6	8.8	9.9
Polyunsaturated	50.5	52.1	54.3	42.1	41.7	44.2	44.5	54.8	52.0	43.8
n – 3	42.4	41.8	43.5	29.5	29.7	30.2	35.0	43.6	40.9	30.2
n – 6	9.1	8.3	7.6	8.8	8.2	9.7	9.7	8.2	8.5	9.2
HUFA n – 3	42.3	41.7	43.4	29.2	29.4	30.0	34.6	43.6	40.8	30.0
HUFA n – 6	5.6	6.3	5.9	7.9	7.3	8.9	8.0	6.0	6.0	8.2
Wet weight	321	355	430	3505	5012	5763	9240	10746	10960	14188
Dry weight	45	58	89	814	1128	1380	1419	1881	2189	3671
Fatty acid										
HUFA n – 3/HUFA n – 6	7.6	6.6	7.4	3.7	4.0	3.4	4.3	7.3	6.8	3.6
DHA/EPA	1.6	1.5	1.6	1.6	1.3	1.4	1.1	1.5	1.5	1.3
Total lipid	12	11.1	12.5	9.8	10.1	9.4	7.4	6.9	8.3	6.6
FAME	22.2	32.3	31.1	33.0	27.0	26.6	31.8	17.2	17.2	24.1

Domínguez, P., Gaxiola Cortés, G. y Rosas Vázquez, C. 2004. Alimentación y Nutrición de Moluscos Cefalópodos: Avances Recientes y Perspectivas Futuras. In: Cruz Suárez, L.E., Ricque Marie, D., Nieto López, M.G., Villarreal, D., Scholz, U. y González, M. 2004. Avances en Nutrición Acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola.16-19 Noviembre, 2004. Hermosillo, Sonora, México

Datos de un mínimo de 3 replicados; Desviación estándar < 10%.

En *S. officinalis*, los lípidos polares tienen elevadas concentraciones de fosfatidilcolina (PC) y fosfatidiletanolamina (PE) (Navarro and Villanueva, 2000; Domingues *et al.*, 2003b). Navarro and Villanueva (2000, 2002) y Domingues *et al.*, (2003a) sostienen que una alta concentración en PUFA, pero también un adecuado equilibrio en la proporción EPA/DHA son factores determinantes para el suceso de cultivo de las primeras fases de cefalópodos, y que el exceso de lípidos en las dietas deben ser un factor determinante para el peor desempeño de estas, comparadas con dietas con bajas concentraciones de lípidos neutros.

Domingues *et al.*, (2003b; 2004) analizaron la composición de juveniles la Sepia (*S. officinales*), con 30 días de edad, y de algunas de sus presas naturales (Tabla III), bien como la composición de ácidos grasos de los mismos (Tabla IV). Según estos autores, la composición en lípidos polares (LP) de juveniles de *S. officinalis*, principalmente en PC y PE, son bastante similares a la concentración de estos en crustáceos que sirven de sus presas en el medio natural, y bastante distintas que la encontrada en peces. La composición lipídica de la mayoría de las especies de peces es mayoritariamente ácidos grasos poliinsaturados y saturados (Shehata and Wassef, 1989). Así, esto puede ser uno de los motivos para el bajo crecimiento de muchas especies de cefalópodos alimentados con pescado, en comparación con los alimentados con crustáceos.

Otro aspecto fundamental para el desarrollo de organismos marinos es la proporción DHA/EPA; para juveniles de muchas especies de peces, una relación de 1:2 es considerada la más correcta, mientras una relación inversa de 2:1 se indica para larvas (Ibeas *et al.*, 1997; Rodríguez *et al.*, 1998). Una relación cerca de 1:2 fue encontrada por Domingues *et al.*, (2003b) para juveniles de *S. officinales*; esta misma relación fue encontrada en los crustáceos analizados, que sirven de presas a estos cefalópodos. Por otro lado, una relación de 1.2/1, casi inversa, fue encontrada en los peces analizados por Domingues *et al.* (2003b). Una vez que *S. officinalis* no posee estadio larvario, pero si desarrollo directo, esta relación de 1:2 para DHA/EPA puede ser la mas indicada par especies de cefalópodos con desarrollo directo. Por otro lado, Domingues *et al.*, (2003b, 2004) también determinaron las

proporciones EPA/AA en juveniles de *S. officinalis* y algunas de sus presas; esta proporción era, para *S. officinalis*, como en el caso de la anterior, más aproximada con el camarón, que con el pescado.

De hecho, las dietas de *S. officinalis* en el medio natural reflejan este aspecto; para juveniles con longitud de manto < 8.5 cm, las presas encontradas en los estómagos (89%) son mayoritariamente crustáceos, con apenas 4.6% de peces (Blanc *et al.*, 1998). La importancia del pescado en la dieta de esta especie aumenta con la talla y edad (Castro and Guerra, 1990), bien como para otras especies de cefalópodos (Coelho *et al.*, 1997), posiblemente debido a que la necesidad de lípidos polares en esta fase de la vida sea menos importante, y también la posibilidad y necesidad de capturar presas mayores, entre otros aspectos.

Así, la elaboración de dietas artificiales para cefalópodos debería tomar en consideración este aspecto, y las bases de dichas dietas no se deben basar en harinas de pescado. Aún que el metabolismo de los cefalópodos sea mayoritariamente proteico (Lee, 1994), los perfiles de ácidos grasos deben ser tomados en consideración, principalmente durante las primeras fases de vida (Domingues *et al.*, 2003b).



Tabla III – Composición en proteínas (% peso seco), humedad (%), lípidos totales (% peso seco), y clases lipídicas (% lípido total) de *S. officinalis* y algunas de sus presas.

	<i>Sepia</i> (30 días)	Misidáceo ( <i>P. Nouvelli</i> )	Camarón ( <i>P. Varians</i> )	Pescado	Camarón ( <i>C. Crangon</i> )
Proteína total	61.53 ± 8.34	72.29 ± 2.97	78.14 ± 3.32	70.75 ± 4.08	74.95 ± 3.67
Humedad	78.11 ± 0.79	82.31 ± 4.89	79.95 ± 0.78	80.07 ± 0.58	75.18 ± 0.47
Lípidos totales	7.80 ± 0.60	8.49 ± 1.91	5.58 ± 0.19	11.19 ± 0.84	5.91 ± 0.81
Sphingomyelina	0.18 ± 0.32	0.12 ± 0.11	0.41 ± 0.37	0.31 ± 0.15	0.22 ± 0.08
Phosphatidylcholina	14.18 ± 1.19	11.61 ± 1.53	14.73 ± 0.81	3.40 ± 1.62	21.44 ± 1.05
Phosphatidylserina	5.34 ± 0.64	3.01 ± 0.11	3.37 ± 1.45	1.50 ± 0.20	4.23 ± 0.48
Phosphatidylinositol	1.79 ± 0.05	1.40 ± 0.04	2.25 ± 1.31	0.48 ± 0.13	2.21 ± 0.57
Phosphatidylglycerol <sup>1</sup>	2.04 ± 0.12	2.28 ± 0.19	2.44 ± 0.29	0.20 ± 0.18	3.33 ± 0.41
Phosphatidylethanolamine	14.56 ± 0.89	12.16 ± 0.34	13.61 ± 0.94	4.50 ± 1.17	16.00 ± 0.83
Diacylglycerol	0.0	2.17 ± 0.34	4.74 ± 0.30	2.24 ± 0.78	2.36 ± 0.67
Colesterol	29.27 ± 0.79	16.26 ± 0.45	26.59 ± 1.35	16.34 ± 0.52	25.02 ± 2.93
Ácidos grasos libres	0.19 ± 0.34	20.19 ± 1.63	25.26 ± 0.49	31.77 ± 2.39	13.31 ± 1.46
Triacylglycerol	21.52 ± 1.88	28.08 ± 1.95	5.32 ± 3.12	30.33 ± 2.84	9.58 ± 5.97
Esterol Esteres	10.93 ± 0.26	2.71 ± 1.22	1.27 ± 0.23	8.94 ± 0.99	2.29 ± 0.78
Lípidos neutros	61.92 ± 2.79	69.41 ± 1.34	63.19 ± 1.35	89.62 ± 3.15	52.56 ± 1.46
Lípidos Polares	38.08 ± 2.79	30.59 ± 1.34	36.81 ± 1.35	10.38 ± 3.15	47.44 ± 1.47

Los resultados representan promedios ± Desv. Est.. (n = 3); <sup>1</sup> Contiene phosphatidylglycerol, ácido phosphatídico, y cardiolipina. Adaptado de Domingues *et al.* (2003b).

Tabla IV – Composición en ácidos grasos de lípido total (% área) de *S. officinalis* de 30 días de edad, y algunas de sus presas.

	Sepia (30 días)	Misidáceo ( <i>P. Nouvelli</i> )	Camarón <i>P. Varians</i> )	Pescado	Camarón ( <i>C. Crangon</i> )
14:0	2.04 ± 0.06	2.01 ± 0.09	1.80 ± 0.20	1.83 ± 0.15	1.50 ± 0.09
15:0	0.64 ± 0.06	1.32 ± 0.08	0.46 ± 0.03	0.67 ± 0.03	0.89 ± 0.12
16:0	18.14 ± 0.65	21.76 ± 0.65	18.89 ± 0.33	18.06 ± 0.50	16.50 ± 0.07
16:1 <sup>1</sup>	2.00 ± 0.09	10.20 ± 1.10	4.30 ± 0.45	8.55 ± 0.78	7.68 ± 4.10
18:0	9.59 ± 0.40	3.21 ± 0.10	6.24 ± 0.24	6.69 ± 0.36	6.02 ± 0.88
18:1 n-9	6.46 ± 0.39	5.61 ± 0.08	9.38 ± 0.54	9.52 ± 0.45	6.85 ± 0.12
18:1 n-7	5.56 ± 0.39	4.57 ± 0.30	9.42 ± 0.18	6.81 ± 0.21	6.85 ± 0.14
18:2 n-6	2.01 ± 0.34	1.28 ± 0.08	2.95 ± 0.10	2.89 ± 0.09	1.93 ± 0.06
18:3 n-3	1.05 ± 0.34	1.42 ± 0.05	2.28 ± 0.29	1.28 ± 0.24	1.16 ± 0.49
18:4 n-3	0.42 ± 0.12	0.86 ± 0.02	0.47 ± 0.14	0.80 ± 0.26	0.0
20:1 <sup>2</sup>	3.61 ± 0.04	0.57 ± 0.07	0.39 ± 0.11	0.44 ± 0.01	1.47 ± 0.58
20:4 n-6	3.16 ± 0.48	2.87 ± 0.16	4.00 ± 0.22	3.30 ± 0.48	5.29 ± 0.51
20:4 n-3	0.00	0.38 ± 0.00	0.00	0.00	0.00
20:5 n-3	20.06 ± 0.57	23.31 ± 0.89	20.68 ± 1.17	13.56 ± 0.53	22.60 ± 0.26
22:5 n-6	0.39 ± 0.01	1.06 ± 0.04	0.47 ± 0.09	0.67 ± 0.02	0.86 ± 0.17
22:5 n-3	1.72 ± 0.02	0.92 ± 0.02	0.62 ± 0.09	1.94 ± 0.07	2.58 ± 0.52
22:6 n-3	17.02 ± 0.64	12.48 ± 1.12	11.90 ± 1.08	16.75 ± 0.84	10.61 ± 0.55
Unknown	1.56 ± 0.75	1.54 ± 0.28	2.00 ± 0.50	1.99 ± 0.24	2.74 ± 1.02
Totales					
Saturates <sup>3</sup>	32.36 ± 0.91	29.37 ± 0.71	28.66 ± 0.39	28.29 ± 0.72	26.64 ± 1.55
Monoenes <sup>4</sup>	18.23 ± 0.89	22.34 ± 1.36	26.40 ± 1.48	26.51 ± 1.45	26.89 ± 3.66
n-3 <sup>5</sup>	41.12 ± 0.33	40.00 ± 2.09	36.53 ± 1.60	34.80 ± 0.77	37.37 ± 1.09
n-6 <sup>6</sup>	6.38 ± 0.36	6.36 ± 0.24	7.96 ± 0.26	7.90 ± 0.52	8.93 ± 0.78
n-3 HUFA	38.86 ± 0.26	37.51 ± 1.99	33.49 ± 2.08	32.71 ± 0.28	36.05 ± 0.83
n-3/n-6	6.46 ± 0.39	6.31 ± 0.55	4.60 ± 0.34	4.42 ± 0.35	4.20 ± 0.24
DHA/EPA <sup>7</sup>	0.85 ± 0.06	0.53 ± 0.03	0.57 ± 0.02	1.24 ± 0.11	0.47 ± 0.03
EPA/AA <sup>8</sup>	6.47 ± 1.20	8.14 ± 0.70	5.17 ± 0.32	4.16 ± 0.60	4.29 ± 0.46

Los resultados representan promedio ± Desv. Est. (n = 3); <sup>1</sup> contiene isómeros n-9 y n-7; <sup>2</sup> contiene isómeros n-11 y n-9. Los totales incluyen componentes menores no incluidos; <sup>3</sup> incluye 17:0 y 20:0; <sup>4</sup> incluye 14:1, 17:1n-7 y 22:1; <sup>5</sup> incluye 20:3 n-3 y 21:5n-3; <sup>6</sup> incluye 18:3n-6, 20:2n-6 y 22:4n-6; <sup>7</sup> 22:6n-3/20:5n-3; <sup>8</sup> 20:5n-3/20:4n-6; 0.0, valores < 0.3%. Adaptado de Dominguez *et al.* (2003b)

## **2. Proteínas:**

Como animales carnívoros de crecimiento rápido, las proteínas son el material orgánico de mayor concentración en los tejidos de los cefalópodos. Con su metabolismo casi totalmente dependiente de proteínas (Lee, 1994), el requerimiento en amino ácidos para la producción de las mismas es muy alto (Houlihan *et al.*, 1990). Los cefalópodos utilizan directamente las proteínas del músculo para producir energía durante períodos en que no pueden alimentarse; el uso de proteínas como reserva de energía se debe a que no poseen grandes reservas de glicógeno o lípidos en sus tejidos (Storey and Storey, 1978).

Análisis de contenidos estomacales en paralarvas y recién eclosionados indica que estos animales son carnívoros desde el inicio de su ciclo de vida (Vecchione, 1991); la elevada actividad proteolítica en las enzimas digestivas de paralarvas también indica una dieta rica en proteínas desde los primeros días (Boucaud-Camou and Roper, 1995).

El conocimiento de la composición en amino ácidos en cefalópodos fue determinado principalmente en adultos; se encuentran en la literatura la composición del músculo del manto y brazos (Iwasaki and Arada, 1985; Domingues, 1999; Rosa *et al.*, 2002), corazón branquial (Nakahara and Shimizu, 1985), ovario (O'Dor and Wells, 1973), huevos (Rossi *et al.*, 1985; Villanueva *et al.*, 2004), sistema nervioso (D'Aniello *et al.*, 1995), ojos (Siezen and Shaw, 1982; Seidou *et al.*, 1988), tinta (Shirai *et al.*, 1997), picos, concha y rádula (Hunt and Nixon, 1981). En paralarvas o juveniles, no existe mucha información sobre la composición de amino ácidos (Villanueva *et al.*, 2004).

Lee (1994) defiende que la relación P/E, normalmente usada en otros animales, para definir la calidad de una dieta no es fiable ni buena indicadora de una dieta apropiada para cefalópodos, y propone que el balance de amino ácidos en la dieta es el mejor indicador de una buena dieta. Por esto, es de vital importancia conocer la composición en amino ácidos de diversas especies de cefalópodos, principalmente de los de elevado potencial para acuicultura, como *S. officinalis* o *O. maya*, de desarrollo directo, o de *O. vulgaris*, con fases planctónicas, pero de elevado valor comercial en muchas partes del planeta.

Domingues (1999) determinó la composición en amino ácidos de adultos de *S. officinalis* (Tabla V), y la comparó con la composición de individuos alimentados con dietas artificiales, en peor condición, y también con individuos no alimentados durante 28 días (Tabla VI). Se verificó que el músculo tanto de animales sin alimentar, como los alimentados con dietas artificiales, claramente insuficientes energéticamente para promover crecimiento en *S. officinalis*, es el que presenta menor variación en comparación con animales alimentados con presas normales (camarón congelado) que les proporciona buen crecimiento y supervivencia. Aquí, los amino ácidos más rápidamente utilizados fueran prolina y alanina, ambos usados para energía como substratos del ciclo TCA (Ballantyne *et al.*, 1981). La prolina es el primer amino ácido que se oxida a glutamato para producir energía por deaminación o transaminación a  $\alpha$ -ketoglutamato para el ciclo TCA (Lehninger *et al.*, 1993), y por tanto el primer a ser usado si el cefalópodo no está bien alimentado o en buena condición. También alanina y histidina, precursores de glutamato, deben ser considerados, porque su utilización es más rápida, pues son usados para producir energía.

La glándula digestiva, fuertemente irrigada es el órgano más metabólicamente activo en *S. officinalis* (Domingues, 1999). Así, es aquí donde se encuentran las mayores diferencias entre animales en buena condición y los demás. Se verificó que los amino ácidos prolina, alanina, y otros usados para energía son los primeros en encontrarse en deficientes concentraciones; además de estos, prácticamente todos los amino ácidos esenciales están presentes en menor concentración en este órgano, si las dietas ministradas no son suficientemente energéticas (Domingues, 1999).

Una tendencia para la disminución en la concentración de amino ácidos esenciales del ovario maduro a los recién eclosionados fue observada, mientras los no esenciales no sufrieron disminución durante el desarrollo embrionario, pero si, de huevos a paralarvas, esto para *O. vulgaris*.

Tabla V – Composición, en amino ácidos (n=6), de diversos tejidos de adultos de *S. officinalis* (> 500 g) alimentados con camarón congelado. Amino ácidos totales del músculo e glándula digestiva están expresados en mg Kg<sup>-1</sup> y los amino ácidos libres de la sangre están representados en µg Kg<sup>-1</sup> (promedio, en negrito; desviación estándar abajo). Adaptado de Domingues (1999)

<i>S. officinalis</i>	ME T	CYS	AR G	LYS	AL A	PR O	ASP	GL U	GL Y	SER	TH R	VA L	LEU	ISO	TY R	PHE	HIS
<b>Manto (músculo)</b>	<b>41.7</b>	<b>24.8</b>	<b>84.1</b>	<b>106.</b>	<b>88.4</b>	<b>164.</b>	<b>130.</b>	<b>190.</b>	<b>64.3</b>	<b>56.6</b>	<b>57.0</b>	<b>52.3</b>	<b>98.6</b>	<b>51.3</b>	<b>39.2</b>	<b>46.6</b>	<b>21.5</b>
	13.4	9.8	30.7	<b>1</b>	12.8	<b>3</b>	<b>7</b>	<b>0</b>	19.7	17.8	17.1	13.2	22.4	12.6	12.5	13.4	5.6
<b>Glándula Digestiva</b>	<b>46.3</b>	<b>81.9</b>	<b>91.0</b>	31.3	<b>95.0</b>	18.9	40.3	46.5	<b>73.7</b>	<b>22.6</b>	<b>86.4</b>	<b>114.</b>	<b>56.6</b>	<b>79.1</b>	<b>37.0</b>	<b>91.0</b>	<b>46.2</b>
	21.4	36.5	79.7	<b>162.</b>	43.9	<b>65.9</b>	<b>224.</b>	<b>78.1</b>	31.4	28.1	39.0	<b>3</b>	24.5	37.3	16.8	79.7	34.3
<b>Sangre (libre)</b>	<b>11.9</b>	<b>45.6</b>	<b>1.2</b>	<b>0</b>	<b>26.4</b>	34.3	<b>7</b>	33.9	<b>12.7</b>	<b>18.3</b>	<b>21.8</b>	36.0	<b>16.7</b>	<b>36.9</b>	<b>11.9</b>	<b>11.6</b>	<b>15.8</b>
	0.9	7.9	0.3	73.0	9.4	<b>52.9</b>	86.1	<b>1.4</b>	0.6	5.7	6.8	<b>28.8</b>	3.3	3.2	3.2	3.3	0.7
				<b>17.5</b>		23.2	<b>0.7</b>	0.6				10.0					
				4.7			0.2										

Tabla VI – Comparación de la composición de varios tejidos de *S. officinalis* alimentados con 4 dietas de concentración creciente de lisina, con individuos alimentados con camarón congelados, y otros sin alimentar durante 28 días. Las señales “-“ y “+” indican que la concentración del amino ácido en el tejido es significativamente menor o mayor (p<0.05) comparada con individuos alimentados con camarón o no alimentados. Adaptado de Domingues (1999).

dieta vs. Camarón	MET	CYS	ARG	LYS	ALA	PRO	ASP	GLU	GLY	SER	THR	VAL	LEU	ISO	TYR	PHE	HIS
Músculo <b>DIETA 1</b>						-				-							
Glándula Digestiva	-	-		-	-		-	-	-	-		-	-	-	-	-	-
Sangre (libre)			-							-					-		-
Músculo <b>DIETA 2</b>																	
Glándula Digestiva			-														
Sangre (libre)			-				-			-					-	-	-
Músculo <b>DIETA 3</b>																	
Glándula Digestiva			-														

Sangre (libre)						-										-		-
Músculo <b>DIETA 4</b>																		
Glándula Digestiva	-	-		-	-			-		-			-	-	-		-	-
Sangre (libre)						-										-	-	-
<b>Dieta vs. no alimentados</b>	<b>MET</b>	<b>CYS</b>	<b>ARG</b>	<b>LYS</b>	<b>ALA</b>	<b>PRO</b>	<b>ASP</b>	<b>GLU</b>	<b>GLY</b>	<b>SER</b>	<b>THR</b>	<b>VAL</b>	<b>LEU</b>	<b>ISO</b>	<b>TYR</b>	<b>PHE</b>	<b>HIS</b>	
Músculo <b>DIETA 1</b>						+				-								
Glándula Digestiva		-				+				-								
Sangre (libre)		-				+				-		+	+	+			-	
Músculo <b>DIETA 2</b>																		
Glándula Digestiva			+	+	+	+		+				+	+	+			+	
Sangre (libre)		-				+								+			+	
Músculo <b>DIETA 3</b>																		
Glándula Digestiva																		
Sangre (libre)						+				+		+	+	+				
Músculo <b>DIETA 4</b>																		
Glándula Digestiva		-				+												
Sangre (libre)						+						+	+	+				

Así, la elaboración de dietas preparadas para cefalópodos debe tener en consideración la elevada necesidad de algunos amino ácidos que aun no sean esenciales (como prolina o alanina), por su intenso uso y requerimiento para la producción de energía, deben ser considerados como tales, en estos organismos de elevado metabolismo. Además de estos, concentraciones de todos los amino ácidos esenciales y su correcto balance debe ser incorporado en las dietas para que estas puedan dar resultados satisfactorios en el cultivo de cefalópodos. También debe tomarse en consideración la baja atracción que estas dietas artificiales provocan en algunas especies de cefalópodos, como *S. officinalis* (una vez que los pulpos suelen aceptar más fácilmente dietas preparadas, aún que su sabor o olor no sean de buena calidad). Se verificó que las tasas de ingestión de dietas artificiales, particularmente en *S. officinales*, son bastante bajas comparadas con alimento natural (Castro, 1991; Castro *et al.*, 1993; Castro and Lee, 1994; Domingues, 1999). Algunos nucleótidos, como el amino ácido prolina, revelaron ser atractivos para cefalópodos (Lee, 1992), y su uso en las dietas debería ser considerado para aumentar su atracción.

Villanueva *et al.*, (2002) determinó la composición en amino ácidos de 3 especies de cefalópodos, *L. vulgaris*, *O. vulgaris* y *S. officinalis* colectados del medio natural (Tabla VII). Los mismos autores determinaron la composición en amino ácidos del ovario, huevos y paralarvas de *O. vulgaris* (Tabla VIII). Estos son los primeros valores publicados sobre composición en amino ácidos para paralarvas de cefalópodos. De las especies analizadas, *S. officinalis* era la que tenía menor concentración en amino ácidos, posiblemente debido a la presencia del esqueleto calcáreo. Lisina, leucina y arginina representan 49, 48 y 49% de los amino ácidos esenciales de *S. officinalis*, *L. vulgaris* y *O. vulgaris*, respectivamente, mientras glutamato y aspartato representan 56 y 50 y 47% de los no esenciales para todas las especies.

## **Conclusiones y Perspectivas Futuras**

El estado de desarrollo de dietas artificiales para cefalópodos está en una fase bastante retrasada. A pesar de que se cultivan ya algunas especies de cefalópodos en cautiverio en varios acuarios y centros de investigación de todo el mundo desde hace más de 4 décadas, esta producción ha sido

baja, de hasta unos 30 o 40 animales a la vez. Algunas excepciones son el National Resource Center for Cephalopods (NRCC), en Galveston, Texas, EUA, donde se producen más de 2000 *Sepia* (*S. officinalis*) al año para uso en investigación médica y biológica, y en la Universidad del Algarve (Sur de Portugal), donde se han producido entre 2000 y 5000 adultos de *S. officinalis* cada año durante los últimos 4 años (a partir del 2000). De todas formas, esto no puede considerarse todavía producción a larga escala.

El retraso en la acuicultura de los cefalópodos se debe principalmente al poco interés de la mayoría de los laboratorios, y de la industria, en producir estos organismos, talvez debido a que este recurso no se encuentre todavía muy sobre explotado. También su particular metabolismo proteico, con necesidad de dietas vivas o naturales durante todo el ciclo de vida, bien como a la baja fertilidad particularmente de las especies de cultivo más fácil, con desarrollo directo, como *O. Maya* y *S. officinalis*, dificulta su producción a la escala comercial. Pocos estudios han sido desarrollados, particularmente en los años 90 en el NRCC, con resultados muy pobres, cuando alimentando *S. officinalis* y algunas especies de pulpos con dietas preparadas. En esos experimentos, la parte de los requerimientos en lípidos fue negligenciada, debido principalmente a la idea de que el metabolismo es mayoritariamente proteico, y que los lípidos tendrían poca importancia para estos organismos. Esta idea a cambiado en los últimos 5 años principalmente, y se incrementó el conocimiento sobre la importancia de los lípidos polares, particularmente los ácidos grasos, principalmente para el desarrollo de las primeras fases de vida.

También el conocimiento de la composición en amino ácidos, de vital importancia para estos organismos, es poco conocida, particularmente en las paralarvas, donde los primeros resultados apenas fueran publicados en el presente año, por Villanueva *et al.*, (2004). Desde los experimentos realizados en el NRCC que se comprendió la necesidad e importancia de conocer los requerimientos en amino ácidos para los cefalópodos para poder producirse una buena dieta artificial; sin embargo, poco se hizo desde esas fechas hasta el momento, para entender el metabolismo, principalmente proteico, y sus requerimientos, con el objetivo de producir dietas artificiales. Este es un campo de investigación vital para la obtención de la producción en larga escala.



Aún así, en los últimos 4 años se nota un creciente interés en el conocimiento de los requerimientos tanto en lípidos como proteínas, por parte de algunas especies, y particularmente en las primeras fases de vida. Este interés de los investigadores debe ser respaldado por financiación por parte de la industria para que se generen recursos suficientes para desarrollar estas dietas.

Presentemente estamos trabajando en la Universidad Nacional Autónoma de México, en Sisal, Yucatán, con el pulpo de Yucatán (*O. maya*); se trabaja con dietas artificiales y su efecto en el crecimiento, supervivencia, conocimiento del metabolismo, composición de los pulpos y dietas usadas, bien como la asimilación de dichas dietas, y otros aspectos de la fisiología de esta especie (respiración, excreción, etc), para mejor comprender su metabolismo, sus requerimientos, y así mejorar las dietas que se van elaborando y utilizando. Además, los pulpos aceptan más fácilmente dietas preparadas comparativamente a otros cefalópodos, por lo que deben ser los primeros candidatos a ser considerados para ser utilizados en el desarrollo de dietas artificiales para cefalópodos.

A pesar de que los resultados obtenidos en estos últimos 15 años en el intento de elaborar un alimento artificial para cefalópodos sean similares a los obtenidos con los primeros intentos de cultivo de peces, con el cambio de dietas naturales para dietas artificiales, debemos entender que el esfuerzo dedicado a la obtención de dichas dietas no es comparable al desarrollado para desarrollarlas para peces y camarones hace años. Aún así, el creciente interés por parte de los centros de investigación es una garantía de que el trabajo está avanzando y posiblemente se podrá encontrar una o varias dietas que permitan la producción a gran escala de algunas especies de cefalópodos.

Tabla VII – Promedio  $\pm$  desviación estándar del contenido en amino (mg/100 mg de peso seco) de juveniles del medio natural de *S. officinalis*, *L. vulgaris* y *O. vulgaris*.

	Hatchlings			Wild juveniles					Wild juveniles				
	<i>Sepia officinalis</i>	<i>Loligo vulgaris</i>	<i>Octopus vulgaris</i>	<i>Loligo vulgaris</i>					<i>Octopus vulgaris</i>				
Wet weight	82.1 $\pm$ 5.3	3.5 $\pm$ 0.1	2.1 $\pm$ 0.1	1993	2051	2068	2637	2779	3505	5012	5763	10,960	14,188
Dry weight	20.8 $\pm$ 1.0	0.8 $\pm$ 0.0	0.3 $\pm$ 0.0	394	421	413	559	571	814	1128	1380	2189	3671
<i>Amino acid</i>													
Arg	3.3 $\pm$ 0.4	3.9 $\pm$ 0.3	3.2 $\pm$ 0.1	4.1 $\pm$ 0.4	4.4 $\pm$ 0.1	4.0 $\pm$ 0.7	4.6 $\pm$ 0.2	3.8 $\pm$ 0.2	3.0 $\pm$ 1.0	4.5 $\pm$ 0.2	4.5 $\pm$ 0.3	4.5 $\pm$ 0.5	4.3 $\pm$ 0.3
His	1.0 $\pm$ 0.3	1.3 $\pm$ 0.1	1.2 $\pm$ 0.0	1.2 $\pm$ 0.1	1.2 $\pm$ 0.1	1.2 $\pm$ 0.2	1.4 $\pm$ 0.0	1.2 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.1	1.0 $\pm$ 0.0	1.2 $\pm$ 0.1	1.3 $\pm$ 0.1	1.4 $\pm$ 0.1
Ile	2.6 $\pm$ 0.3	3.3 $\pm$ 0.1	2.1 $\pm$ 0.0	2.7 $\pm$ 0.2	2.7 $\pm$ 0.2	2.6 $\pm$ 0.4	2.7 $\pm$ 0.1	2.5 $\pm$ 0.5	2.1 $\pm$ 0.1	2.1 $\pm$ 0.1	2.3 $\pm$ 0.1	2.5 $\pm$ 0.4	2.5 $\pm$ 0.2
Leu	4.0 $\pm$ 0.4	4.8 $\pm$ 0.1	3.5 $\pm$ 0.1	4.6 $\pm$ 0.3	4.6 $\pm$ 0.2	4.3 $\pm$ 0.6	4.6 $\pm$ 0.0	4.6 $\pm$ 0.4	3.6 $\pm$ 0.0	3.7 $\pm$ 0.1	4.0 $\pm$ 0.2	4.0 $\pm$ 0.4	4.4 $\pm$ 0.2
Val	1.8 $\pm$ 1.4	3.3 $\pm$ 0.1	2.1 $\pm$ 0.0	2.7 $\pm$ 0.1	2.7 $\pm$ 0.2	2.5 $\pm$ 0.3	3.0 $\pm$ 0.0	2.6 $\pm$ 0.2	1.8 $\pm$ 0.2	1.8 $\pm$ 0.2	2.2 $\pm$ 0.1	2.2 $\pm$ 0.3	2.3 $\pm$ 0.2
Lys	3.8 $\pm$ 0.5	4.9 $\pm$ 0.2	3.5 $\pm$ 0.1	4.7 $\pm$ 0.2	4.8 $\pm$ 0.1	4.4 $\pm$ 0.6	5.1 $\pm$ 0.2	4.8 $\pm$ 0.3	3.6 $\pm$ 0.2	3.6 $\pm$ 0.2	4.0 $\pm$ 0.2	4.1 $\pm$ 0.5	4.4 $\pm$ 0.3
Phe	1.8 $\pm$ 0.3	2.2 $\pm$ 0.1	2.1 $\pm$ 0.0	2.4 $\pm$ 0.2	2.4 $\pm$ 0.1	2.3 $\pm$ 0.3	2.7 $\pm$ 0.0	2.4 $\pm$ 0.2	2.0 $\pm$ 0.1	2.0 $\pm$ 0.1	2.2 $\pm$ 0.1	2.2 $\pm$ 0.2	2.4 $\pm$ 0.2
Met	1.2 $\pm$ 0.2	1.3 $\pm$ 0.2	0.8 $\pm$ 0.1	1.6 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.4	1.3 $\pm$ 0.2	1.8 $\pm$ 0.1	1.6 $\pm$ 0.1	1.2 $\pm$ 0.1	1.2 $\pm$ 0.1	1.2 $\pm$ 0.2	1.4 $\pm$ 0.2	1.5 $\pm$ 0.1
Thr	2.9 $\pm$ 0.1	3.1 $\pm$ 0.1	2.2 $\pm$ 0.1	2.5 $\pm$ 0.3	2.7 $\pm$ 0.4	2.4 $\pm$ 0.4	2.5 $\pm$ 0.2	2.5 $\pm$ 0.3	2.1 $\pm$ 0.1	2.1 $\pm$ 0.1	2.2 $\pm$ 0.2	2.4 $\pm$ 0.3	2.5 $\pm$ 0.2
Ala	2.2 $\pm$ 0.3	3.0 $\pm$ 0.2	2.2 $\pm$ 0.0	3.4 $\pm$ 0.2	3.3 $\pm$ 0.1	3.1 $\pm$ 0.4	3.5 $\pm$ 0.2	3.7 $\pm$ 0.1	2.7 $\pm$ 0.1	2.7 $\pm$ 0.1	2.9 $\pm$ 0.2	3.1 $\pm$ 0.4	3.2 $\pm$ 0.2
Asp	5.5 $\pm$ 0.5	5.4 $\pm$ 0.1	4.3 $\pm$ 0.0	6.1 $\pm$ 0.3	6.1 $\pm$ 0.2	5.2 $\pm$ 0.7	5.7 $\pm$ 0.5	6.1 $\pm$ 0.7	5.0 $\pm$ 0.2	5.1 $\pm$ 0.3	5.3 $\pm$ 0.5	5.7 $\pm$ 0.6	6.0 $\pm$ 0.4
Cys	0.3 $\pm$ 0.2	0.5 $\pm$ 0.0	0.7 $\pm$ 0.0	0.5 $\pm$ 0.0	0.4 $\pm$ 0.1	0.4 $\pm$ 0.0	0.7 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.3	0.8 $\pm$ 0.1	0.6 $\pm$ 0.2	0.6 $\pm$ 0.1
Glu	7.9 $\pm$ 0.3	9.0 $\pm$ 0.2	6.4 $\pm$ 0.1	9.6 $\pm$ 0.7	9.9 $\pm$ 0.3	9.3 $\pm$ 1.2	10.1 $\pm$ 1.1	9.1 $\pm$ 1.7	8.2 $\pm$ 0.4	8.4 $\pm$ 0.5	9.0 $\pm$ 0.7	9.8 $\pm$ 1.1	10.1 $\pm$ 0.4
Gly	1.5 $\pm$ 0.2	2.4 $\pm$ 0.2	2.5 $\pm$ 0.0	2.7 $\pm$ 0.2	2.7 $\pm$ 0.1	2.5 $\pm$ 0.3	2.7 $\pm$ 0.1	2.7 $\pm$ 0.2	2.8 $\pm$ 0.2	2.8 $\pm$ 0.1	3.0 $\pm$ 0.3	3.7 $\pm$ 0.5	3.4 $\pm$ 0.2
HxPro	–	–	–	–	–	–	–	–	0.2 $\pm$ 0.0	0.2 $\pm$ 0.0	0.4 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.2
Pro	1.6 $\pm$ 0.8	3.2 $\pm$ 1.4	2.0 $\pm$ 0.1	6.1 $\pm$ 0.7	4.0 $\pm$ 1.1	3.0 $\pm$ 0.6	3.1 $\pm$ 0.2	6.1 $\pm$ 1.3	1.8 $\pm$ 0.1	2.0 $\pm$ 0.2	2.0 $\pm$ 0.1	2.3 $\pm$ 0.3	2.3 $\pm$ 0.2
Ser	2.7 $\pm$ 0.1	2.5 $\pm$ 0.1	2.5 $\pm$ 0.1	2.3 $\pm$ 0.2	2.3 $\pm$ 0.1	2.1 $\pm$ 0.3	2.3 $\pm$ 0.2	2.1 $\pm$ 0.4	2.5 $\pm$ 0.1	2.5 $\pm$ 0.1	2.6 $\pm$ 0.2	2.8 $\pm$ 0.4	3.0 $\pm$ 0.2
Tyr	2.2 $\pm$ 0.3	2.6 $\pm$ 0.1	2.3 $\pm$ 0.0	2.9 $\pm$ 0.2	2.9 $\pm$ 0.2	2.8 $\pm$ 0.3	3.3 $\pm$ 0.0	2.5 $\pm$ 0.8	2.1 $\pm$ 0.1	2.1 $\pm$ 0.1	2.3 $\pm$ 0.1	2.3 $\pm$ 0.2	2.5 $\pm$ 0.3
EAA	22.7 $\pm$ 3.7	28.1 $\pm$ 1.2	20.8 $\pm$ 0.3	26.3 $\pm$ 1.6	26.5 $\pm$ 0.8	25.0 $\pm$ 3.4	28.5 $\pm$ 0.5	26.0 $\pm$ 2.0	20.5 $\pm$ 1.4	22.2 $\pm$ 0.8	23.7 $\pm$ 1.4	24.6 $\pm$ 3.0	25.7 $\pm$ 1.6
NEAA	23.9 $\pm$ 0.6	28.6 $\pm$ 2.3	22.9 $\pm$ 0.1	33.7 $\pm$ 2.4	31.7 $\pm$ 1.7	28.3 $\pm$ 3.9	31.4 $\pm$ 1.9	32.9 $\pm$ 3.8	25.8 $\pm$ 1.2	26.4 $\pm$ 1.5	28.4 $\pm$ 2.1	30.8 $\pm$ 3.8	31.4 $\pm$ 1.9
Protein	62.6 $\pm$ 0.0	73.5 $\pm$ 1.1	72.7 $\pm$ 0.7	74.3 $\pm$ 0.9	74.6 $\pm$ 0.2	73.7 $\pm$ 0.1	75.6 $\pm$ 0.5	75.7 $\pm$ 1.5	69.5 $\pm$ 1.8	68.8 $\pm$ 0.5	73.5 $\pm$ 1.2	71.3 $\pm$ 1.1	76.1 $\pm$ 1.7

Fueran utilizados un mínimo de 3 replicados por amino ácido; EAA – amino ácidos esenciales; NEAA – amino ácidos no esenciales. Proteínas como N x 6.25. Pesos secos y húmedos (mg / individuo) corresponden a Promedio  $\pm$  desviación estándar; 0.0 son valores  $< 0.05$ . Adaptado de Villanueva *et al.* (2004).

Tabla VIII - Promedio  $\pm$  desviación estándar del contenido en amino (mg / 100 mg de peso seco) del ovario maduro, huevos en estadios I-II y X-XII y paralarvas alimentadas o sin alimentar durante 2 y 4 días de *O. vulgaris*.

	Mature ovary	Eggs stage I-II	Eggs stage X-XII	Hatchlings 0 day	Hatchlings fasted 2 days	Hatchlings fasted 4 days
Dry weight				337.9 $\pm$ 10.1 <sup>a</sup>	284 $\pm$ 4.3 <sup>b</sup>	244 $\pm$ 5.9 <sup>c</sup>
<i>Amino acid</i>						
Arg	4.0 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	3.9 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	4.0 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	3.2 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	3.1 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	3.0 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>
His	1.5 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>	1.6 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	1.4 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	1.2 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	1.1 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	1.0 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>
Ile	3.5 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	3.7 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	2.9 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	2.1 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	1.9 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	1.9 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>
Leu	6.4 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	6.7 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	5.0 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	3.5 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	3.3 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>	3.2 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>
Val	3.6 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	3.7 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	2.8 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	2.1 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	1.9 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	1.7 $\pm$ 0.1 <sup>c</sup>
Lys	5.4 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	5.5 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	4.7 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	3.5 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	3.4 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	3.2 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>
Phe	2.1 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	2.0 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	2.0 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	2.1 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	2.0 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	2.0 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>
Met	1.2 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	1.1 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	1.1 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	0.8 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	0.9 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	0.9 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>
Thr	3.5 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	3.7 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	3.2 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	2.2 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	2.0 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	1.8 $\pm$ 0.1 <sup>c</sup>
Ala	2.3 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	2.2 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	2.3 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	2.2 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	2.0 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	2.0 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>
Asp	5.6 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	5.6 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	5.4 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	4.3 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	4.0 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	4.0 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>
Cys	1.2 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	1.3 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>	1.5 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	0.7 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	0.7 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	0.6 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>
Glu	10.5 $\pm$ 0.8 <sup>a</sup>	10.4 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	8.8 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	6.4 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	6.0 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>	5.6 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>
Gly	1.5 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	1.4 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	1.9 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	2.5 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	2.4 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	2.5 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>
Pro	2.5 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	2.5 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	2.3 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	2.0 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	1.8 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	1.9 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>
Ser	3.6 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	3.6 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	3.2 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	2.5 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	2.2 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	2.1 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>
Tyr	2.2 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	2.1 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	2.2 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	2.3 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	2.2 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	2.1 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>
EAA	33.1 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup>	31.9 $\pm$ 1.5 <sup>a</sup>	27.1 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup>	20.8 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	19.5 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	18.8 $\pm$ 0.5 <sup>b</sup>
NEAA	29.3 $\pm$ 1.7 <sup>a</sup>	29.2 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup>	27.6 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	22.9 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	21.3 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	20.7 $\pm$ 1.0 <sup>b</sup>

Pesos secos en  $\mu\text{g}$  / individuo en paralarvas corresponde a Promedio  $\pm$  desviación estándar. Usados un mínimo de 3 replicados por amino ácido. EAA – amino ácidos esenciales. NEAA – amino ácidos no esenciales; 0.0 son valores  $< 0.05$ . Adaptado de Villanueva *et al.* (2004).

## Bibliografía

- Almansa, E. Cejas, M.J., Badía, P., Villamandos, J.R. and Lorenzo, A. 1999. Influence of broodstock gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) dietary fatty acids on egg quality and egg fatty acid composition throughout the spawning season. *Aquaculture* 170, 323-336.
- Altman, J.S. 1967. The behavior of *Octopus vulgaris* Lam. in its natural habitat: A pilot study. *Underwater Assoc. Rep.* 77-83.
- Altman, J.S. and Nixon, M. 1970. Use of the beak and radula by *Octopus vulgaris* in feeding. *Zool* 161, 25-38.
- Amaratunga, T. 1983. The role of cephalopods in marine ecosystem. In: *Advances in assessments of World Cephalopod Resources*. FAO Fish. Tech. Pap. 23, 379-415.
- Arts, M.T., Ackman, R.G. and Holub, B.J. 2001. Essential fatty acids. In: *Aquatic ecosystems. A crucial link between diet and human health and evolution*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 58, 122-137.

- Augustyn, C.J. 1990. Biological studies of the chokker squid *Loligo vulgaris reunaudii* (Cephalopoda: Myopsida) on spawning grounds off Southwest coast of South Africa. *S. Afr. Mar. Sci.* 9, 11-26.
- Augustyn, C.J. 1991. The biomass and ecology of the squid *Loligo vulgaris reunaudii* off the West coast of South Africa. *S. Afr. J. Zool.* 26, 164-181.
- Baddy, M. 1988. The biology of the squid *Loligo vulgaris* in relation to the artisanal fishing site of Tifnit, Morocco. Doctoral Thesis, Institute Agronomy et veterinaire Hassan II. Rabat, 93 p.
- Ballantyne J.S., Hochachka P.W., Mommsen T.P. 1981. Studies on the metabolism of the migratory squid, *Loligo opalescens*: enzymes of tissues and heart mitochondria. *Mar. Biol. Letts.*, 2, 75-85.
- Best, E.H.M. 1981. Aspects of the digestive system and its control in *Octopus vulgaris*. Ph. D. Thesis, Cambridge University, England.
- Bidder, A. 1950. The digestive mechanism of the European squids *Loligo forbesi*, *Alloteuthis media* and *Alloteuthis subulata*. *Q. J. Microsc. Sci.* 91, 1-43.
- Bidder, A. 1966. Feeding and digestion in cephalopods. In: *Physiology of Mollusca*. (Ed. K.M. Wilbur, C.M. Young), Vol. 2, 97-124. Academic Press, New York & London.
- Blanc, A., Pinczon du Sel, G., Daguzan, J. 1998. Habitat and diet of early stages of *Sepia officinalis* L. (Cephalopoda) in Morbihan Bay, France. *J. Mollus. Stud.* 64, 263-274.
- Boucaud-Camou, E. 1969. Etude histologique et histochimique de l'appareil digestif de *Sepiolo atlantica* d'orbigny et *Sepia officinalis* L. *Bull. Soc. Linn. Normandie* 9, 220-243.
- Boucaud-Camou, E. 1972. Etude infrastructurale du pancreas de *Sepia officinalis* L. *Bull. Soc. Zool.Fr.* 97, 197-205.
- Boucaud-Camou, E. 1973. Etude de l'appareil digestif de *Sepia officinalis* L. (Mollusque: Cephalopode). Essai d'analyse experimentale des phenomenes digestifs. Ph. D. Dissertation, Univ. Of Caen, France.
- Boucaud-Camou, E. 1974. Localization d'activites enzymatiques impliquees dans la digestion chez *Sepia officinalis* L. *Arch. Zool. Exp. Gen.* 115, 5-27.
- Boucaud-Camou, E. 1977. Structure et fonction de l'epitele caecal de *Sepia officinalis* L. *Biol. Cell.* 29, 55-60.
- Boucaud-Camou, E., Boucher-Rodoni, R. And Mangold, K. 1976. Digestive absorption in *Octopus vulgaris* (Cephalopoda: Octopoda). *J. Zool.* 179, 261-271.
- Boucaud-Camou, E. and Pequignat, E. 1973. Etude experimentale de l'absorption digestive chez *Sepia officinalis* L. *Forma & Functio* 6, 93-112.
- Boucaud-Camou, E. and Boucher-Rodoni, R. 1983. Feeding and digestion in cephalopods. In: *The Mollusca*, Vol. 5, Academic Press, 149-187.
- Boucaud-Camou, E. And Roper, C.F.E. 1995. Digestive enzymes in paralarvae cephalopods. *Bull. Mar. Sci.* 57, 313-327.
- Boucaud-Camou, E. And Roper, C.F.E. 1998. The digestive system of *rhyctoteuthion* paralarvae (Cephalopoda: Ommastrephidae). *Bull. Mar. Sci.* 62, 81-88.
- Bouche-Rodoni, R. 1975. Vitesse de digestion chez les cephalopodes *Eledone cirrosa* (Lamarck) et *Illex illecebrosus* (Lesueur). *Cah. Biol. Mar.* 16, 159-175.
- Boucher-Rodoni R, Boucaud-Camou E, Mangold K. 1987. Feeding and digestion. In: Boyle, PR (ed) *Cephalopod Life Cycles*, Vol. II. Academic Press, London, pp. 85-108.
- Boletzky S., 1975. The reproductive cycle of Sepioidae. *Pubblicazione Stazione Zoologica Napoli* 39, 84-95.
- Boletzky S. and Hanlon R.T. 1983. A review of the laboratory maintenance, rearing and culture of cephalopod mollusks. *Mem. Nat. Mus. Vic.* 44, 147-187.
- Burukovsky, R.N., Gaevskaya, A.V., Domanevsky, L.N., Nigmatulin, Ch. M. and Panfilov, B.G. 1979. Main resource of research in squid carried out by the AtlantNIRO in the Central East Atlantic. *ICES. CM* 1979 / K:11.
- Cagnetta, P. and Sublimi, A. 1999. Productive performance on the common octopus (*Octopus vulgaris* C.) when fed on a monodiet. *Eminar on Mediterranean Marine aquaculture finfish species diversification. CIHEAM – IAMZ and FAO, Zaragoza, Spain*, 1-3.
- Castro, B. And Guerra, A. 1990. The diet of *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758) y *Sepia elegans* (Blainville, 1827) (Cephalopoda: Sepioidea) from the Ría de Vigo (NW Spain). *Scienza Marina* 54, 375-388.
- Castro, B. 1991. Can *Sepia officinalis* L. Be reared on artificial food? *Mar. Behav. Physiol.* 19, 35-38.

- Castro B.G., DiMarco F.P., DeRusha R. and Lee P.G. 1993. The effects of surimi and pelleted diets on the laboratory survival, growth and feeding rate of the cuttlefish *Sepia officinalis*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 170, 241-252.
- Castro B.G. and Lee P.G. 1994. The effects of semi-purified diets on growth and condition of *Sepia officinalis* L. (Mollusca: Cephalopoda). *Comp. Biochem. Physiol.* 109A(4), 1007- 1016.
- Chen, X.K. and Long, L.J. 1991. Research and production of live feeds in China. In: Rotifer and microalgae culture systems. Ed. By W. Fulks and K.L. Main. 187-202.
- Choe, S., 1966. On the eggs, rearing, habits of fry, and growth of some Cephalopoda. *Bull. Mar. Sci.* 16, 330-348.
- Coelho, M., Domingues, P., Balguerías, E., Fernández, M. and Andrade, J.P. 1997. A comparative study of the diet of *Loligo vulgaris* (Lamarck, 1799) (Mollusca: cephalopoda) from the South coast of Portugal and the Saharan Bank (Central-East Atlantic). *Fisheries Research* 29, 245-255.
- Dabrowski K., Dabrowska H. and Grundniewski C. 1978. A study of the feeding of the common carp larvae with artificial food. *Aquaculture* 13, 257-264.
- D'Aniello, A. and Scardi, V. 1971. Attività cellulastica nel polipo (*Octopus vulgaris*). *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* 47, 481-483.
- D'Aniello, A., Nardi, G., De Santis, A. Vetere, A., di Cosmo, A., Marchelli, R., Docenas, A. and Fisher, G. 1995. Free L-amino acids and D-aspartate content in nervous system of cephalopoda. A Comparative Study. *Comp. Chem. Physiol.* 122, 661-666.
- DeRusha R.H., Forsythe J.W., DiMarco F.P. and Hanlon R.T. 1989. Alternative diets for maintaining and rearing cephalopods in captivity. *J. Lab. Anim. Sci.* 39, 306-312.
- DiMarco F.P., Turk P.E., Scimeca J.M., Browning W.J. and Lee P.G. 1993. Laboratory survival, growth and digestive gland histology of squids reared on living and non-living fish diets. *J. Lab. Anim. Sci.* 43, 226-231.
- Domingues, P.M. 1999. Development of alternative diets for the mass culture of the European cuttlefish *Sepia officinalis*. Ph D. thesis. University of the Algarve, Portugal, 95 p.
- Domingues, P.M., Kingston, T., Sykes, A., and Andrade, J.P., 2001a. Growth of young cuttlefish, *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758) at the upper end of the biological distribution temperature range. *Aquacult. Res.* 32, 923-930.
- Domingues, P.M., T., Sykes, A., and Andrade, J.P., 2001b. The use of artemia or mysids as food for hatchlings of the cuttlefish *Sepia officinalis* Linnaeus, 1758; effects on growth and survival throughout the life cycle. *Aquacult. Int.* 9, 319-331.
- Domingues, P.M., T., Sykes, A., and Andrade, J.P., 2002. The effects of temperature in the life cycle of two consecutive generations of the cuttlefish *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758), cultured in the Algarve (South Portugal). *Aquacult. Int.* 10, 207-220.
- Domingues, P.M., Poirier, R., Dickel, L. Almansa, E. Sykes, A. and Andrade, J. 2003. Effects of culture density and live prey on growth and survival of juvenile cuttlefish, *Sepia officinalis*. *Aquaculture International* 11, 225-242.
- Domingues, P., Sykes, A., Sommerfield, A., Almansa, E., Lorenzo, A. and Andrade, P. 2004. Growth and survival of cuttlefish, *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758) of different ages fed crustaceans and fish. Effects of frozen and live prey. *Aquaculture* 229, 239-254.
- Fisher, L.R., Kon, S.K. and Thompson, S.Y. 1956. Vitamin A and carotenoids in certain invertebrates. V. Mollusca: Cephalopoda. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 35, 63-80.
- Forsythe, J.W. and Hanlon, R.T. 1981. First rearing of *Octopus joubini* Robson, 1929 on mysidacean and Caridean shrimps. 1981. *Bulletin of the American Malacological Union for 1980*, 42-45.
- Forsythe, J. W. 1981. A study on the growth of *Octopus joubini* Robson, 1929 reared in controlled closed seawater systems. M. Sc. Thesis, Texas A&M University, College Station, Texas, 79 p.
- Forsythe, J. W. and Van Heukelem, W.F. 1987. Growth. In: Boyle, P.R. (Ed.), *Cephalopod Life Cycles*. Vol. II. Academic Press, London, pp: 135-156.
- Forsythe, J.W., DeRusha, R. and Hanlon, R.T., 1994. Growth, reproduction and life span of *Sepia officinalis* (Cephalopoda: Mollusca) cultured through seven consecutive generations. *J. Zool. Lond.* 233, 175-192.

- Forsythe, J.W., Walsh, L.S., Turk, P.E. and Lee, P.G. 2001. Impact of temperature on juvenile growth and age at first egg-laying of the Pacific reef squid *Sepioteuthis lessoniana* reared in captivity. *Marine Biology* 138, 103-112.
- Fox, D.L. 1966. Pigmentation of molluscs. In: *Physiology of Mollusca*. (Ed. K.M. Wilbur, C.M. Young), Vol. 2, 249-274. Academic Press, New York and London.
- García B.G. and Giménez, F.A. 2002. Influence of diet on growing and nutrient utilization in the common octopus (*Octopus vulgaris*). *Aquaculture* 211, 173-184.
- Gilbert DL, Adelman WJ, Arnold JM (Eds) 1990. Squid as experimental animals. Plenum Press, New York.
- Giménez, F.A. and García, B.G. 2002. Growth and food intake models in *Octopus vulgaris* Cuvier (1797): Influence of body weight, temperature, sex and diet. *Aquaculture International* 10, 361-377.
- Gawlicka, A., Parent, B., Hom, M.H., Ross, N., Opsdad, I. and Torrissen, O.J. 2000. Activity of digestive enzymes in yolk-sac larvae of atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Indication of readiness for first feeding. *Aquaculture* 184, 303-314.
- Guerra, A. 1978. Sobre la alimentación y comportamiento alimentario de *Octopus vulgaris*. *Investigación Pesquera* 42, 351-364.
- Guerra, A. D Rocha, F. 1994. The life history of *Loligo vulgaris* and *Loligo forbesi* (Cephalopoda: Loliginidae) in Galician waters (NW Spain). *Fisheries research* 21, 43-69.
- Hanlon R.T., Turk P.E. and Lee P.G., 1991. Squid and cuttlefish mariculture: An update perspective. *J. Ceph. Biol.* 2(1), 31-40.
- Hanlon, R.T. and Messenger, J.B. 1996. *Cephalopod behaviour*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Hochachka PW, Moon TW, Mustafa T. and Storey KB. 1975. Metabolic sources of power for mantle muscle of a fast swimming squid. *Comp. Biochem. Physiol.* 52B, 151-158.
- Houlihan DF, McMillan DN, Agnisola C, Genoino IT, Foti L. 1990. Protein synthesis and growth in *Octopus vulgaris*. *Mar. Biol.*, 106, 251-259.
- Hunt, S. and Nixon, M. 1981. A comparative study of protein composition in the chitin-protein complexes of the beak, pen, sucker, radula and oesophageal cuticle of the cephalopods. *Comp. Biochem. Physiol. B.* 68, 535-546.
- Ibeas, C., Cejas, J.R., Fores, R., Badía, P., Gómez, T. and Lorenzo-Hernández, A. 1997. Influence to eicosapentanoic to docosahexaenoic acid ratio (EPA/DHA) of the dietary lipids on growth and fatty acid composition of the gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Aquaculture* 150, 91-102.
- Iwasaki M, Harada R. 1985. Proximate and amino acid composition of the roe and muscle of selected marine species. *J. Food Sci.* 1585 (50).
- Koslovskaya, E.P. and Vaskovsky, V.E. 1970. A comparative study of proteinases of marine invertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.* 34, 137-142.
- Koueta, N., Boucaud-Camou, E. and Noel, B. 2002. Effect of enriched natural diet on survival and growth of juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* L. *Aquaculture* 203, 293-310.
- LaRoe, E.T. 1971. The culture and maintenance of the loliginid squids *Sepioteuthis sepioidea* and *Doryteuthis plei*. *Mar. Biol.* 9, 9-25.
- Lee P.G., Forsythe J.W., DiMarco F.P., DeRusha R. and Hanlon R.T. 1991. Initial palatability and growth trials on pelleted diets for cephalopods. *Bull. Mar. Sci.* 49, 362-372.
- Lee P.G., 1994. Nutrition of cephalopods: fueling the system. *Mar. Freshw. Behav. Physiol.* 25, 35-51.
- Lee P.G., Turk P.E., Forsythe J.W. and DiMarco, F.P., 1998. *Cephalopod Culture: Pysiological, Behavioral and Environmental requirements*. Suisan Zoshoku 46(3), 417-422.
- Lehninger A.L., Nelson D.L., Cox M.M. (eds). 1993. *Principles of biochemistry*. 2<sup>nd</sup> Edition. Worth Publishers, New York.
- Lindberg J.C. and Doroshov S.I. 1986. Effects of diets switch between natural and prepared foods on growth and survival of white sturgeon juveniles. *Trans. Am. Fish. Soc.* 115, 166-171.
- Lipinski. M.R. 1987. Food and feeding of *Loligo vulgaris reynaudii* from St. Francis Bay, South Africa. *S. Afr. Mar. Sci.* 5, 557-564.
- Lipinski, M.R. 1992. Cephalopods of the Benguela ecosystem: Trophic relationship and impact. *S. Afr. J. Mar.Sci.* 12, 791-802.
- Mangold, K. and Boletzky, S. 1973. New data on reproductive biology and growth of *Octopus vulgaris*. *Mar. Biol.* 19, 7-12.

- Mangold K., 1983. Food, feeding and growth in cephalopods. *Memoirs of the National Museum Victoria* 44, 81-93.
- Morishita, T. 1974. Participation in digestion by proteolytic enzymes of the posterior salivary gland in *Octopus*. I. Confirmation of the existence of protein digestive enzymes in the posterior salivary gland. *Nippon Suisan Gakkaishi* (Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.). 40, 601-607.
- Nakahara, M. and Shimizu, C. 1985. Cobalt-binding substances in the branchial heart of *Octopus vulgaris*. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 51, 1195-1199.
- Nash, D.M., Eaton, C.A. and Crewe, N.F. 1978. Lipid classes and fatty acid composition of squid (*Illex illecebrosus*). Technical Report of the Fisheries and Marine Service of Canada. 8 p.
- Navarro, J.C., Amat, F. and Sargent, J.R. 1992. Fatty acid composition of coastal and inland *Artemia*. *Aquaculture* 109, 219-230.
- Navarro, J.C., Amat, F. and Sargent, J.R. 1993. The lipids of cysts of freshwater-and marine -type *Artemia*. *Aquaculture* 109, 327-336.
- Navarro, J.C. and Villanueva, R. 2000. Lipid and fatty acid composition of early stages of cephalopods: an approach to their lipid requirements. *Aquaculture* 183, 161-177.
- Nixon, M. 1966. Changes in body weight and intake of food by *Octopus vulgaris*. *Pubbl. Stn. Zool. Napoli* 34, 329-339.
- Nixon M. 1987. Cephalopod diets. In: Boyle, PR (ed) *Cephalopod Life Cycles*, Vol. II. Academic Press, London, pp. 201-219.
- O'Dor, R.K. and Wells, M.J. 1973. Yolk protein synthesis in the ovary of *Octopus vulgaris* and its control by the optic gland gonadotropin. *J. Exp. Biol.* 59, 665-674.
- O'Dor, R.K. and Wells, M.J. 1978. Reproduction vs. Somatic growth: Hormonal control in *Octopus vulgaris*. *J. Exp. Biol.* 77, 529-540.
- O'Dor R.K. and Wells M.J. 1987. Energy and nutrient flow. In: *Cephalopod life cycles* (Boyle, P.R. ed), Vol. 2, pp. 109-133. Academic Press, London.
- O'Dor, R.K., Mangold, K., Boucher-Rodoni, R., Wells, M.J. and Wells, J. 1983. Nutrient absorption, storage and remobilization in *Octopus vulgaris*. *Marine Behavior and Physiology* 11, 239-258.
- Oestmann D.J., Scimeca J.W., Forsythe J.W., Hanlon R.T. and Lee P.G. 1997. Special considerations for keeping cephalopods in laboratory facilities. *Contemporary Topics Lab. Anim. Sci.* 36, 89-93.
- Okutani, T. 1990. Squids, cuttlefish and octopuses. *Mar. Behav. Physiol.* 18, 1-17.
- Okutani, K. and Kimata, M. 1964. Studies on chitinolytic enzymes present in aquatic animals. III. Distribution of chitinase digestive organs of a few kinds of aquatic animals. *Nippon Suisan Gakkaishi* (Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.). 30, 574-576.
- Pascual, E. 1978. Crecimiento y alimentación de tres generaciones de *Sepia officinalis* en cultivo. *Investigación Pesquera* 42, 421-442.
- Pierce, G.J., Boyle, P.R., Hastie, L.C. and Santos, M.B. 1994. Diets of squid *Loligo forbesi* and *Loligo vulgaris* in the North East Atlantic. *Fish. Res.* 21, 149-163.
- Quintela, J. And Andrade, J.P. 2002a. Diel feeding rhythms, daily ration and gastric evacuation rates of *Sepia officinalis* in the Ria Formosa lagoon (South Portugal). *Bull. Mar. Sci.* 71, 665-680.
- Quintela, J. And Andrade, J.P. 2002b. Effects of temperature in gastric evacuation rates in *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758) in laboratory conditions. *Bull. Mar. Sci.* 71, 681-689.
- Richard, A. 1971. Contribution à l'étude expérimentale de la croissance et de la maturation sexuelle de *Sepia officinalis* L. (Mollusque, Céphalopode). Thèse n° 248: Univ. Lille. 264 p.
- Rodríguez, C. Perez, J.A., Badía, P., Izquierdo, M.S., Fernández-Palacios, H. and Lorenzo-Hernández, A. 1998. The n-3 highly unsaturated fatty acids requirements of the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) larvae when using appropriate DHA/EPA ratios in the diet. *Aquaculture* 169, 9-23.
- Romanini, M.G. 1952. Osservazioni istochimicamente rivelabili dei fermenti delle ghiandole salivari anteriori e posteriori di *Octopus vulgaris*. *Boll. Soc. Ital. Sper.* 25, 1179-1180.
- Romjin, C. 1935. Die Verdaunngsenzyme bei einigen ephalopoden. *Arch. Neerl. Zool.* 1, 373-431.
- Rosa, R., Nunes, L. and Sousa Reis, C. 2002. Seasonal changes in the biochemical composition of *Octopus vulgaris* Cuvier 1797, from three areas of the Portuguese coast. *Bull. Mar. Sci.* 71, 739-751.
- Rossi, F., Nardi, G., Palumbo, A. and Grota, G. 1985. 5-Thiolhistidine, a new amino acid from eggs of *Octopus vulgaris*. *Comp. Biochem. Physiol.* 80, 843-845.



- Sargent, J.R., Bell, M.B., Bell, J.G., Henderson, R.J. and Tocher, D.R. 1995. Origins and function of n-3 polyunsaturated fatty acids in marine organisms. In: Phospholipids: characterization, metabolism and novel biochemical applications. (Ed. Cebe G. and Paltauf F.). American Oil Chemical association Press, Champaign, IL., USA, 248, 259.
- Sauer, W.H. and Lipinski, M.R. 1991. Food of squid *Loligo vulgaris reunaudii* (Cephalopoda: Loliginidae) on their spawning grounds off the Eastern Cape, South Africa. S. Afr. J. Mar. Sci. 10, 193-201.
- Sawano, E. 1935. Proteolytic enzymes in *polypus vulgaris* Lamarck. Sci. Rep. Zool. Inst. Tokyo. 34, 101-126.
- Seidou, M., Kubota, L. Hiraki, K. and Kito, Y. 1988. Amino acid sequence of the retinal binding site of the squid visual pigment. Biochim. Biophys. Acta 957, 318, 321.
- Shehata M.B. and Wassef, E.A. 1989. Fatty acid composition of muscle lipids of gilthead bream (*Sparus aurata* L.). Third Egyptian British Conference on Animal, Fish and Poultry production, 797-804.
- Shirai, T., Kikuchi, N., Matsuo, N., Inada, H., Suzuki, T. and Hirano, T. 1997. Extractive components of the squid ink. Fish. Sci. 63, 939-944.
- Siezen, R.J. and Shaw, D.C. 1982. Physicochemical characterization of lens proteins of the squid *Nototodarus gouldi* and comparison with vertebrate crystallins. Biochim. Biophys. Acta 704, 304-320.
- Storey K.B. and Storey J.M. 1978. Energy metabolism in the mantle muscle of the squid, *Loligo pealei*. J. Comp. Physiol. 123B, 311-319.
- Sykes, A., Domingues, P., Loyd, M., Sommerfield, A., and Andrade, P., 2003. The influence of culture density and enriched environments on the first stage culture of young cuttlefish, *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758). Aquac. Int. 11, 531-544.
- Takahashi, T. 1960. Biochemical studies on the viscera of cuttlefish, *Omastrephes sloani pacificus*. III. Nippon Suisan Gakkaishi (Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.). 26, 500-507.
- Takahashi, T. 1963. Studies on the viscera enzymes of cuttlefish *Omastrephes sloani pacificus*. J. Fac. Fish. Prefect. Univ. Mie. 5, 384-411.
- Taki, I. 1941. On keeping octopuses in an aquarium for physiological experiments, with remarks on some operative techniques. Venus 10, 139-156.
- Van Heukelem, W.F. 1973. Growth and life span of *Octopus cyanea* (Mollusca: Cephalopoda). J. Zool. 169, 299-315.
- Van Heukelem, W.F. 1976. Growth, bioenergetics and life span of *Octopus cyanea* and *Octopus maya*. Ph. D. thesis, Univ. Hawaii, 224 p.
- Van Heukelem, W.F. 1977. Laboratory maintenance, breeding, rearing and biomedical research potential of the Yucatan octopus (*Octopus maya*). Lab. Anim. Sci. 27, 852-859.
- Van Heukelem, W.F. 1983. *Octopus maya* In: Boyle, P.R. (Ed.), Cephalopod Life Cycles. Vol. I. Academic Press, London, pp: 311-323.
- Vecchione, M. 1991. A method for examining the structure and contents of the digestive tract in paralarvae squids. Bull. Ma. Sci. 49, 300-308.
- Villanueva, R. 1994. Decapod crab zoeae as food for rearing cephalopod paralarvae. Aquaculture 128, 143-152.
- Villanueva, R. 1995. Experimental rearing and growth of planktonic *Octopus vulgaris* from hatching to settlement. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 52, 2639-2650.
- Villanueva, R., Koueta, N., Riba, J. and Boucaud-Camou, E. 2002. Growth and proteolytic activity of *Octopus vulgaris* paralarvae with different food rations during first feeding, using *Artemia* nauplii and compound diets. Aquaculture 205, 269-286.
- Villanueva, R. and Navarro, J.C. 2003. The fatty acid composition of *Octopus vulgaris* paralarvae reared with live and inert food: Deviation from their natural fatty acid profile. Aquaculture 219, 613-631.
- Villanueva, R., Riba, J., Ruiz-Capillas, C., González, A.V. and Baeta, M. In press. Amino acid composition of early stages of cephalopods and effects of amino acid dietary treatments on *Octopus vulgaris* paralarvae. Aquaculture. 24 p.
- Vlieg P. 1984. Proximate composition of New Zealand squid species. N. Z. J. Sci., 27, 45-150.
- Watanabe, T., Izquierdo, M.S. Takeushi, T. Satoh, H. and Kitajima, C. 1989. Comparison between eicosapentanoic and docosahexaenoic acids in terms of essential fatty acid efficiency in larval red seabream. Nippon Suisan Gakkaishi (Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.) 55, 1635-1640.
- Wells, M.J., O'dor, R.K., Mangold, K. And Wells, J. 1983. Diurnal changes in activity and metabolic rate in *Octopus vulgaris*. Marine Behavior and Physiology 9, 275-287.

- Worms, J. 1983. *Loligo vulgaris*. In: Cephalopod life cycles (Ed. P.R. Boyle). Vol. I. Species accounts. Academic Press, London, 143-157.
- Zambonino-Infante, J.L., Cahu, C.L., Péres, A., Quazuguel, P. And Le Gall, M.M. 1996. Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae fed different Artemia rations: Growth, páncreas ezymatic response and development of digestive functions. Aquaculture 139, 129-138.