

Universidad de la República  
Facultad de Ciencias

Tesis de Maestría PEDECIBA  
Área Biología - Subárea Zoología

**Metabolismo de los ácidos grasos poliinsaturados en los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1839) en agua salobre**

Lic. Juan Gadea<sup>1</sup>

Director de tesis: Dr. Martín Bessonart<sup>2</sup>

Miembros del Tribunal:

Dr. Walter Norbis  
Presidente

Dra. María Salhi  
Dr. Marcelo Borges Tesser

Montevideo, diciembre de 2019

---

<sup>1</sup> jgadea@fcien.edu.uy

<sup>2</sup> martinb@fcien.edu.uy

## RESUMEN

Ante un escenario de incertidumbre en cuanto a precios y disponibilidad de harina y aceite de pescado, la industria acuícola ha recurrido a fuentes alternativas de proteína y de lípidos, lo que ha derivado en una reducción en los porcentajes de inclusión de harina y aceite de pescado en las raciones. En este contexto el conocimiento del metabolismo y de los requerimientos nutricionales de las especies en cultivo se han convertido en el centro de un intenso esfuerzo de investigación enfocado fuertemente hacia la regulación del metabolismo de los ácidos grasos (AG) y la capacidad de biosíntesis *in vivo* de los AG n-3 y n-6 poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFA) en los peces cultivados. En su forma biológicamente activa los AG esenciales (AGE) son el DHA (22:6n-3), el EPA (20:5n-3) y el ARA (20:4n-6). Muchos vertebrados, incluidos la mayoría de los peces de agua dulce, son capaces de obtener DHA y EPA a partir de LNA (18:3n-3) y ARA a partir de LA (18:2n-6). No obstante, la mayoría de los peces marinos no son capaces de realizar estas conversiones eficientemente. *Paralichthys orbignyanus* es un pez eurihalino marino/estuarino de hábito carnívoro que se alimenta en las lagunas costeras de agua salobre pero que se reproduce en el mar. Las larvas nacen y se desarrollan en zonas marinas costeras, pero luego de la metamorfosis los alevines migran hacia el agua salobre. Tal estilo de vida plantea interrogantes acerca de los requerimientos de AGE de esta especie, ya que la disponibilidad de los LC-PUFA en el mar y en el estuario son diferentes. El objetivo de este trabajo fue estudiar en agua salobre la respuesta de los juveniles de *P. orbignyanus* a distintos grados de sustitución en la dieta de los n-3 HUFA por el LNA a fin de obtener información acerca de los requerimientos de AGE de estos peces en baja salinidad y de determinar si esta especie presenta las actividades elongasas y desaturasas necesarias para la biosíntesis de DHA, EPA y ARA a partir de sus precursores de 18 carbonos. Para esto se alimentaron juveniles de *P. orbignyanus* mantenidos en agua salobre con 4 dietas experimentales en las que se sustituyó el aceite de pescado por aceites vegetales en las siguientes proporciones: 0% (V0), 25% (V25), 60% (V60) y 100% (V100). Los peores desempeños se obtuvieron con la dieta V0 ( $p < 0,05$ ), mientras que no se observaron diferencias entre los resultados obtenidos con las dietas V25, V60 y V100 ( $p > 0,05$ ). La composición de AG de las dietas se reflejó en el perfil de AG de los peces sin que se observe la acumulación de productos intermedios de la síntesis de DHA, EPA y ARA, con la excepción del 20:3n-3, el cual se acumuló independientemente de su contenido en la dieta. Las proporciones de DHA, EPA y ARA se redujeron con el tiempo en los peces alimentados con la dieta V100 ( $p < 0,05$ ). Los resultados indican que el desempeño de los peces no se vió perjudicado por el reemplazo en la dieta de los n-3 HUFA por el LNA y que la dieta V0 probablemente presentó un exceso de n-3 HUFA para esta especie. La acumulación de 20:3n-3 no solo es un fuerte indicio de la actividad Elovl5 en *P. orbignyanus*, sino que además sugiere que en este lenguado la actividad  $\Delta 8$  Fads es muy reducida. La disminución de las proporciones de HUFA en los peces alimentados con la dieta V100 con el avance del experimento podría estar indicando que dicha dieta no fue capaz de satisfacer los requerimientos de AGE de los juveniles de *P. orbignyanus* en las condiciones experimentales. Los resultados de este trabajo contribuyen al conocimiento del metabolismo de los PUFA en las especies eurihalinas/estuarinas y a la diversificación de la acuicultura hacia las especies eurihalinas/estuarinas con poca dependencia de aceite de pescado en la dieta.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Dr. Martín Bessonart, quien dirigió la presente tesis, por su compromiso con la formación académica de los estudiantes.

A los miembros del tribunal, Walter Norbis, María Salhi y Marcelo Tesser por aceptar participar de la evaluación del presente trabajo y por sus valiosas contribuciones al mejoramiento de esta Tesis.

Al PEDECIBA por su apoyo institucional que permitió llevar adelante mi posgrado.

A la ANII por el valioso apoyo económico brindado a través de la beca de Maestría.

Al Director General de la DINARA, Andrés Domingo por facilitar las instalaciones de la Estación Experimental de Investigaciones Marinas y Acuicultura (EEIMA) de la DINARA en Cabo Polonio donde se llevó a cabo toda la fase experimental para este trabajo.

Al personal de la EEIMA por todo el apoyo brindado durante la realización del experimento.

A todos mis compañeros y amigos que siempre estuvieron dispuestos a colaborar con lo que hiciera falta durante todo el proceso de realización de este posgrado.

Finalmente, mi más especial agradecimiento a Gabriela, mi compañera de vida, por su apoyo incondicional y su paciencia infinita.

## ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>4</b>
Panorama general del estado actual de la pesca y la acuicultura a nivel mundial	4
Los lípidos en la dieta de los peces	5
Los ácidos grasos esenciales en los peces	6
Principales funciones de los ácidos grasos esenciales en los peces	7
La biosíntesis de ácidos grasos en los peces	9
La regulación de la biosíntesis de HUFA en los peces	12
Los requerimientos de AGE de los peces eurihalinos/estuarinos	13
El lenguado <i>Paralichthys orbignyanus</i> y su estilo de vida	14
<b>OBJETIVOS E HIPÓTESIS</b>	<b>15</b>
Objetivo general:	15
Hipótesis:	15
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>16</b>
Estrategia de investigación	16
Dietas experimentales	16
Peces y diseño experimental	18
Evaluación del desempeño de los peces	21
Composición bioquímica de dietas y peces	21
Análisis estadísticos	23
Aspectos éticos	24
<b>RESULTADOS</b>	<b>25</b>
Composición de las dietas experimentales	25
Desempeño de los peces	27
Composición bioquímica de los peces	30
Composición bioquímica de los peces luego de 34 días del experimento	34
Composición bioquímica de los peces luego de 60 días de experimento	42
Variación temporal de la composición bioquímica de los peces	48
Variación temporal de la composición de ácidos grasos de los peces	48
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>55</b>
<b>CONCLUSIONES:</b>	<b>60</b>
<b>PERSPECTIVAS:</b>	<b>60</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>61</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>70</b>
Resultados de los análisis estadísticos	70

## INTRODUCCIÓN

### 1. Panorama general del estado actual de la pesca y la acuicultura a nivel mundial

De acuerdo a los datos de Naciones Unidas la población mundial ha crecido de 2500 millones de personas en la década de 1950 a 7500 millones en el 2017 y se espera que continúe creciendo de manera sostenida llegando a superar los 8500 millones para el 2030 (United Nations, 2017). Tal crecimiento poblacional ha provocado entre otras cosas, un aumento en la demanda de los productos pesqueros<sup>3</sup>, cuya producción mundial ha crecido de aproximadamente 20 millones de toneladas anuales en la década de 1950 a 171 millones de toneladas en el 2016. Sin embargo, este gran aumento en la demanda por los productos pesqueros no se explica sólo por el crecimiento de la población mundial, sino que también contribuye el aumento del consumo per cápita que ha crecido de 9,0 kg en 1961 a 20,5 kg en el 2017 (FAO, 2018).

Ante la estabilidad de la pesca de captura en aproximadamente 90 millones de toneladas anuales desde finales de la década de 1980, la acuicultura ha sido la desencadenante del enorme crecimiento que ha mostrado la producción pesquera en las últimas décadas. A pesar de que el crecimiento anual promedio de la acuicultura disminuyó de 10,0% en la década de 1990 a 5,8% durante el período 2000 - 2016, sigue creciendo más rápido que otros sectores principales de producción de alimentos (FAO, 2018).

De los 171 millones de toneladas de productos pesqueros producidos en 2016 el 47% corresponde a la producción acuícola, pero este porcentaje se eleva a 53% si se toma en cuenta sólo la producción destinada para consumo humano. De la producción pesquera total registrada en 2016, alrededor del 88% (más de 151 millones de toneladas) se utilizó para el consumo humano directo, un porcentaje que ha aumentado significativamente en las últimas décadas. El 12% restante (alrededor de 20 millones de toneladas) se destinó principalmente a la fabricación de harina y aceite de pescado (FAO, 2018).

El desembarque de pescado destinado a la producción de harina en 2016 fue de menos de 15 millones de toneladas, menos de la mitad de la cifra máxima histórica de 30 millones de toneladas alcanzada en 1994. Debido a la tendencia decreciente y altamente fluctuante del recurso y a la creciente demanda, en particular por la industria acuícola, junto

---

<sup>3</sup> A menos que se indique lo contrario, a lo largo de la introducción de este trabajo por “productos pesqueros” y “producción pesquera” se entenderá peces, crustáceos, moluscos y otros animales acuáticos, pero se excluirán mamíferos acuáticos, reptiles, algas y plantas acuáticas.

con el incremento de los precios, es cada vez mayor el porcentaje de harina y aceite de pescado obtenidos de subproductos de la pesca que anteriormente se desperdiciaban. Se estima que actualmente los subproductos de la pesca representan entre el 25% y el 35% del volumen total de harina y aceite de pescado producidos. Por lo tanto, la harina y el aceite de pescado, que siguen siendo los insumos indispensables para la acuicultura, provienen en su mayor parte de la pesca de captura. Es debido a esta relación de dependencia que en la actualidad la industria acuícola se enfrenta a un escenario de incertidumbre en cuanto a precios y disponibilidad de sus principales insumos lo que representa un “cuello de botella” para continuar creciendo de manera sustentable. Como respuesta a esta problemática la industria acuícola se ha visto obligada a utilizar de manera más selectiva la harina y el aceite de pescado y ha recurrido a fuentes alternativas de proteína y de lípidos provenientes principalmente de plantas terrestres, lo que se ha traducido en una tendencia a la baja en los porcentajes de inclusión de harina y aceite de pescado en las raciones (FAO, 2018). Tales alteraciones en la composición de las raciones pueden acarrear graves problemas de crecimiento, reproducción y salud en los peces en cultivo si no se toman en cuenta sus requerimientos nutricionales (Halver y Hardy, 2002). Pero además impactan directamente sobre la calidad nutricional del producto final, ya que la composición de los peces depende de la interacción entre la composición de la dieta y el metabolismo endógeno del individuo (Tocher, 2015). En este contexto el conocimiento del metabolismo y de los requerimientos nutricionales de las especies en cultivo se han convertido en el centro de un intenso esfuerzo de investigación global enfocado fuertemente hacia la regulación del metabolismo de los ácidos grasos (AG) y la capacidad de biosíntesis *in vivo* de los AG n-3 y n-6 poliinsaturados de cadena larga en los peces cultivados (Monroig *et al.*, 2018).

## **2. Los lípidos en la dieta de los peces**

Los lípidos son un grupo diverso de compuestos químicos cuya característica común y definitoria es que son insolubles en agua pero solubles en solventes no polares. Las funciones biológicas de los lípidos son tan diversas como su química. Las grasas y aceites son la principal forma de almacenar energía metabólica de los organismos, los fosfolípidos y esteroides son los principales elementos estructurales de las membranas biológicas, mientras que otros lípidos que se encuentran en relativamente pequeñas cantidades desempeñan roles cruciales como cofactores de enzimas, transportadores de electrones, pigmentos fotosensibles, anclajes hidrofóbicos de proteínas, agentes emulsificantes del

tracto digestivo, hormonas y mensajeros intracelulares y extracelulares, entre otras funciones (Nelson y Cox, 2004).

Los lípidos dietarios en los peces, como en los animales en general, desempeñan un rol central en los procesos de producción de energía metabólica y como fuente de ácidos grasos esenciales (AGE) (Watanabe, 1982). Los lípidos, y más específicamente los AG, son la fuente preferida de energía metabólica para crecer, nadar y reproducirse de los peces, especialmente de los peces marinos que actualmente se cultivan, que en su mayoría son carnívoros (Sargent *et al.*, 2002; Tocher, 2003). Los peces carnívoros dependen casi exclusivamente de los lípidos y de las proteínas de su dieta como fuente de energía, ya que en general no son capaces de digerir y utilizar eficientemente los carbohidratos (Watanabe, 1982; Wilson, 1994; Sargent *et al.*, 2002).

### **3. Los ácidos grasos esenciales en los peces**

Los peces, al igual que todos los vertebrados estudiados, requieren de ciertos ácidos grasos poliinsaturados (PUFA, "*polyunsaturated fatty acids*") para su normal crecimiento, desarrollo y reproducción. Estos PUFA son los denominados AGE e incluyen miembros de la serie n-3 y n-6 (Watanabe, 1982; Sargent *et al.*, 1997; 1999). En su forma biológicamente activa los AGE son el ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6n-3), el ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3) y el ácido araquidónico (ARA, 20:4n-6), los cuales son conocidos también, en el campo de la nutrición acuícola, como ácidos grasos altamente insaturados (HUFA, "*highly unsaturated fatty acids*"), denominación que se utiliza para aquellos PUFA con un largo de cadena  $\geq$  a 20 átomos de carbono y con 3 o más insaturaciones (Sargent *et al.*, 2002; Tocher, 2010).

Las marcadas similitudes químicas que existen entre el DHA, el EPA y el ARA conducen a que se produzcan interacciones competitivas en muchas de las reacciones bioquímicas y fisiológicas en las que tanto ellos como sus precursores y productos participan. Por esta razón los requerimientos de AGE de un individuo sólo pueden determinarse teniendo en cuenta las relaciones entre los diferentes AGE (DHA:EPA:ARA), no siendo posible determinar los requerimientos de cada uno por separado. Esto no es fácil de conseguir en la práctica, y puede ser aún más complicado debido a que muchos vertebrados, incluidos la mayoría de los peces de agua dulce, son capaces de obtener DHA y EPA a partir del ácido linolénico (LNA, 18:3n-3) y ARA a partir del ácido linoleico (LA, 18:2n-6) mediante la acción de una serie de enzimas desaturasas y elongasas que actúan

tanto sobre los n-3 PUFA como sobre los n-6 PUFA, aunque por lo general tienen preferencia por los n-3 PUFA. En tales especies, el LNA y el LA son los AGE de la dieta y la relación dietaria de LNA:LA es el principal determinante de las proporciones finales de DHA:EPA:AA en los tejidos del individuo (Sargent *et al.*, 1999; 2002).

#### **4. Principales funciones de los ácidos grasos esenciales en los peces**

Las funciones biológicas de los AGE son aparentemente las mismas para todos los vertebrados: a) un papel generalizado en el mantenimiento de la integridad estructural y funcional de las membranas celulares, y b) un papel más específico como precursores del grupo de hormonas paracrinas denominadas eicosanoides (Sargent *et al.*, 1999).

##### **4.a) Los AGE en la integridad estructural y funcional de las membranas celulares:**

La estructura de la membrana celular es críticamente afectada por la composición de la bicapa de lípidos de la que está formada, cuyo principal componente son fosfolípidos (Nelson y Cox, 2004). A su vez, la composición de AG de cada fosfolípido individual varía de acuerdo a una serie de factores. Estos factores incluyen la selectividad de la célula para adquirir los diferentes AG, la capacidad de la célula para sintetizar *de novo* los AG, la selectividad de la célula para incorporar AG en los fosfolípidos sintetizados *de novo*, potenciales reacciones de intercambio de AG entre fosfolípidos y la selectividad de la célula para incorporar los distintos fosfolípidos en la membrana (Sargent *et al.*, 1993; Glencross, 2009). Al igual que los demás AG, los HUFA cumplen un rol estructural fundamental en las células ya que forman parte de los fosfolípidos que componen las membranas celulares. Por lo tanto están directamente involucrados con las propiedades fisicoquímicas de las membranas, como la fluidez, que afectan las propiedades funcionales de las membranas y también las funciones de las proteínas de membrana (Das, 2006; Tocher, 2015).

La esencialidad del DHA está relacionada, al menos en parte, con las propiedades que su estructura es capaz de conferir a las membranas celulares. El DHA, con sus seis enlaces dobles, proporciona una estructura que es fuerte pero flexible, lo que le permite sufrir transiciones conformacionales (Wassall y Stillwell, 2008). Con su estructura, el DHA es el AG más apropiado para aquellos tipos de células que están sujetas a una reorganización rápida y repetida de la membrana como son las células del cerebro, la retina y las membranas sinápticas en las células nerviosas. Otra propiedad importante del DHA es que su conformación es estable en un amplio rango de temperatura. Tal estabilidad conformacional permite que las membranas celulares ricas en DHA mantengan su

estructura y funcionalidad independientemente de las variables ambientales (Sargent *et al.*, 1993; Glencross, 2009).

En varias especies animales, y particularmente en peces, se ha observado la acumulación selectiva de DHA en la retina, el cerebro y en células espermáticas (Mourente *et al.*, 1991; Masuda *et al.*, 1999; Benítez-Santana *et al.*, 2007; Glencross, 2009). Tal acumulación sugiere que el DHA desempeña un rol importante en las células de dichos tejidos. Esto se ha comprobado en larvas de peces en las que se ha observado que cuando son alimentadas con dietas deficientes en AGE muestran un comportamiento anormal que se relaciona con una menor acumulación de DHA en el cerebro y con un desarrollo anormal de la vista y el sistema nervioso en comparación con las larvas alimentadas con una dieta rica en AGE (Masuda *et al.*, 1998; 1999; Benítez-Santana *et al.*, 2007).

#### 4.b) *Los AGE en la regulación del metabolismo celular y la fisiología animal:*

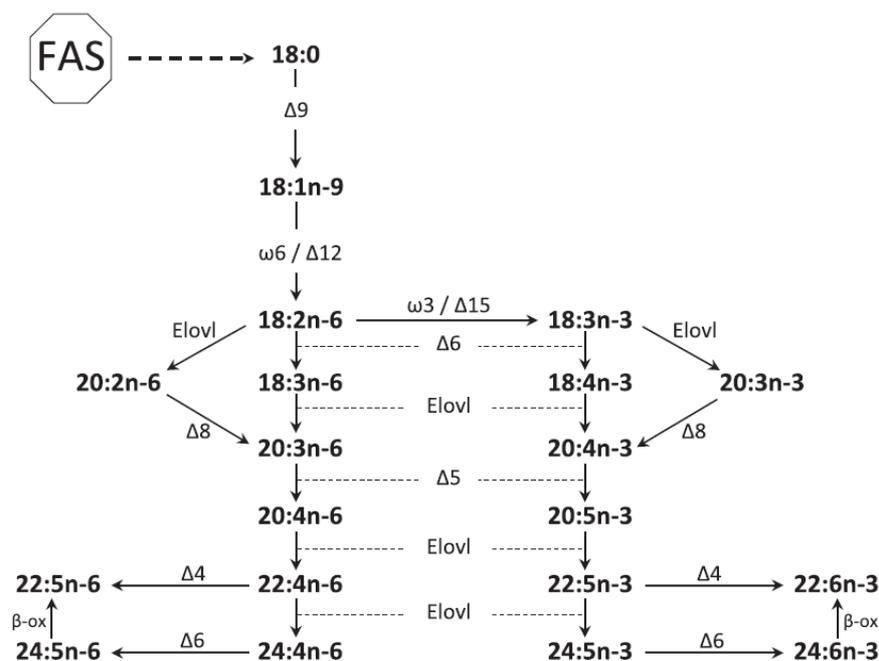
Además de las funciones vinculadas con la integridad estructural y funcional de la membrana celular, los AGE desempeñan otras funciones de gran importancia relacionadas con la regulación del metabolismo celular y la fisiología animal (Tocher, 2010). Los eicosanoides son un grupo de compuestos de 20 carbonos de corta vida media que se producen en poca cantidad, pero que tiene gran efecto sobre las células vecinas. Pueden ser producidos prácticamente por todas las células del cuerpo de los vertebrados y participan en una gran variedad de funciones fisiológicas tales como la coagulación sanguínea, las respuestas inmunes e inflamatorias, el tono cardiovascular, la reproducción y las funciones renales y neurales (Schmitz y Ecker, 2008). Los eicosanoides son producidos a partir de ARA y de EPA mediante la acción de enzimas ciclooxigenasas y lipoxigenasas. El ARA da lugar a prostaglandina-2, tromboxano-2 y leucotrieno-4, mientras que a partir de EPA se produce prostaglandina-3, tromboxano-3 y leucotrieno-5. Los eicosanoides derivados de ARA y de EPA tienen efectos opuestos. Por ejemplo, los eicosanoides derivados de ARA tienen efecto inflamatorio, mientras que los derivados de EPA tienen efecto antiinflamatorio. Por otro lado, los eicosanoides producidos a partir de ARA son biológicamente más activos que los producidos a partir de EPA y existe competencia entre los respectivos eicosanoides por los mismos receptores de membrana en las células. Del mismo modo, el EPA inhibe competitivamente la producción de eicosanoides a partir de ARA, con lo cual la acción de los eicosanoides en el organismo está determinada por la relación EPA:ARA en las células (Schmitz y Ecker, 2008).

## 5. La biosíntesis de ácidos grasos en los peces

Las vías de síntesis de AG son esencialmente las mismas en plantas y animales. En la biosíntesis de AG participan dos sistemas de enzimas citosólicas: la acetil-CoA carboxilasa y el complejo multienzima de AG sintasa que utiliza acetil-CoA como fuente de carbono para producir ácidos grasos saturados (SAFA, “*saturated fatty acids*”). El producto final de este proceso es principalmente 16:0 en animales y 18:0 en plantas (Nelson y Cox, 2004).

La elongación de AG para producir AG con más de 18 átomos de carbono (C18) involucra cuatro reacciones secuenciales para agregar cada par de carbonos y ocurren en el retículo endoplasmático (Leonard *et al.*, 2004; Guillou *et al.*, 2010). Estas reacciones son análogas a las de síntesis *de novo* de los AG y son catalizadas por cuatro enzimas unidas a la membrana (Castro *et al.*, 2016). Por su parte, la biosíntesis de ácidos grasos insaturados puede ocurrir por dos vías. La primera vía, que se encuentra en muchas bacterias, genera los dobles enlaces esencialmente dejando aquellos formados durante la biosíntesis del AG. La segunda vía, que se encuentra en los eucariotas y en algunas bacterias, involucra enzimas desaturadas aeróbicas que introducen de forma selectiva los dobles enlaces tanto en los AG producidos *de novo* como en los obtenidos de la dieta (Castro *et al.*, 2016).

Los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA, “*monounsaturated fatty acids*”) como el 16:1n-7 y el 18:1n-9 se obtienen a partir del 16:0 y 18:0 respectivamente, mediante la actividad  $\Delta 9$  acil desaturasa (Figura 1), una actividad enzimática aparentemente extendida a todos los seres vivos (Castro *et al.*, 2011). En muchos organismos tales como plantas, algas, hongos y algunos invertebrados, el 18:1n-9 sirve de precursor para la síntesis de LA y LNA (Harwood, 1996; Zhang *et al.*, 2007; Zhou *et al.*, 2008; Harwood y Guschina, 2009; Zhou *et al.*, 2011). En estos organismos el 18:1n-9 es desaturado por la acción de una  $\omega 6$  o de una  $\Delta 12$  desaturasa para obtener LA. Luego, el LA obtenido es desaturado nuevamente por la acción de una  $\omega 3$  o de una  $\Delta 15$  desaturasa para obtener LNA (Figura 1) (Castro *et al.*, 2016).



**Figura 1.** Vía de síntesis de los ácidos grasos poliinsaturados n-3 y n-6. Complejo ácido graso sintasa (FAS, “*fatty acid synthase*”). Las reacciones de desaturación de AG se señalan con “ $\omega$ ” o “ $\Delta$ ” respectivamente, según si el doble enlace es colocado en el carbono de la posición ( $\omega$ ) desde el extremo metilo o en el carbono de la posición ( $\Delta$ ) desde el extremo carboxilo. Las reacciones de elongación se señalan con la sigla “Elovl” (*elongation of very long-chain fatty acid*). Modificado de Castro *et al.* (2016).

Los vertebrados no son capaces de sintetizar *de novo* los AG n-3 y n-6 debido a que no cuentan con las enzimas específicas que se requieren para colocar las insaturaciones correspondientes ( $\omega 3/\Delta 15$  y  $\omega 6/\Delta 12$  desaturasa respectivamente). Por tal motivo todos los vertebrados requieren de AG n-3 y n-6 en su dieta (Tocher, 2010). Como se mencionó anteriormente, la mayoría de los peces de agua dulce son capaces de obtener DHA y EPA a partir del LNA, y ARA a partir del LA. Por lo tanto, estas especies son capaces de satisfacer sus requerimientos de AGE ingiriendo LNA y LA (Sargent *et al.*, 2002). Por su parte, los peces marinos en general no tienen la capacidad de realizar estas conversiones eficientemente y por lo tanto no son capaces de satisfacer sus requerimientos de AGE con LNA y LA, sino que deben ingerir directamente DHA, EPA y ARA (Tocher, 2010).

Mediante estudios llevados a cabo principalmente en vertebrados se ha demostrado que en la vía de síntesis de los HUFA a partir de sus correspondientes C18 PUFA participan dos tipos de enzimas: las desaturasas de AG (Fads, “*fatty acyl desaturases*”) y las elongasas de AG de cadena larga (Elovl, “*elongation of very long-chain fatty acid*”). Por lo tanto, la limitada capacidad que en general muestran los peces marinos para sintetizar HUFA se atribuye a la deficiencia de una o de varias de sus Fads y/o de sus Elovl (Bell y Tocher, 2009a; Castro *et al.*, 2016; Monroig *et al.*, 2018).

Las Fads y las Elovl actúan tanto sobre los AG de la serie n-3 como sobre los de la serie n-6, aunque generalmente presentan mayor afinidad por los n-3 (Castro *et al.*, 2016). La  $\Delta 6$  Fads actúa sobre el LNA y el LA para producir 18:4n-3 y 18:3n-6 respectivamente, pero también actúa al final de la vía de síntesis sobre el 24:5n-3 y el 24:4n-6 para producir 24:6n-3 y 24:5n-6 respectivamente. Por su parte, la  $\Delta 5$  Fads actúa sobre el 20:4n-3 y el 20:3n-6, los productos de la elongación del 18:4n-3 y el 18:3n-6 respectivamente, para producir EPA y ARA respectivamente (Figura 1) (Tocher, 2010). Además de la  $\Delta 5$  y la  $\Delta 6$  Fads, los teleósteos también pueden presentar  $\Delta 8$  y  $\Delta 4$  Fads. La  $\Delta 8$  Fads actúa sobre el 20:3n-3 y el 20:2n-6, los productos de la elongación del LNA y el LA respectivamente, para producir 20:4n-3 y 20:3n-6 respectivamente, mientras que la  $\Delta 4$  Fads actúa sobre el 22:5n-3 y el 22:4n-6 para producir DHA y 22:5n-6 respectivamente (Figura 1) (Castro *et al.*, 2016).

Con respecto a las Elovl, se ha demostrado que en los teleósteos la Elovl5 tiene la habilidad de elongar con gran eficiencia los sustratos C18 (LNA, LA, 18:4n-3 y 18:3n-6) y C20 (20:4n-3 y 20:3n-6) PUFA, pero que esa eficiencia cae para los sustratos de C22 o más carbonos. Por su parte, la Elovl2 es particularmente eficiente para elongar sustratos C20 (EPA y ARA) y C22 (22:5n-3 y 22:4n-6) PUFA, pero muy poco eficiente para elongar sustratos de C18 (Tocher, 2010; Castro *et al.*, 2016).

Se ha especulado que la diferencia entre peces marinos y de agua dulce en cuanto a sus capacidades para sintetizar HUFA a partir de sus precursores C18 PUFA puede ser el resultado de un proceso evolutivo de adaptación a la diferente disponibilidad de HUFA en los distintos ambientes (Sargent *et al.*, 2002; Tocher, 2010). Los PUFA presentes en los diferentes ecosistemas son producidos principalmente por los productores primarios (bacterias, algas y plantas) (Harwood, 1996; Bell y Tocher, 2009a; Gladyshev *et al.*, 2009). El fitoplancton marino es rico en DHA y EPA, mientras que en agua dulce el fitoplancton y las plantas terrestres son ricas en LA, LNA y EPA, pero muy pobres en DHA (Brown *et al.*, 1997; Hixson *et al.*, 2015; Li-Beisson *et al.*, 2019). Por lo tanto, se cree que al haber evolucionado en un ambiente rico en HUFA, los peces marinos han perdido la capacidad de producirlos debido a que no tuvieron la presión evolutiva que los forzara a retener tal capacidad, mientras que el nivel más bajo de HUFA, particularmente de DHA, en los ambientes de agua dulce ha mantenido esta presión sobre los peces que evolucionaron en agua dulce (Bell y Tocher, 2009a; Tocher, 2010). Sin embargo, los estudios recientes indican que la realidad puede ser más complicada. Se ha establecido que en teleósteos la capacidad para sintetizar HUFA varía notablemente entre especies asociada a las diferencias en el complemento de genes Fads y Elovl y a la actividad enzimática presente

en cada especie. Claramente, la capacidad de biosíntesis de HUFA en los teleósteos es mucho más diversa que en los otros grupos de vertebrados, posiblemente reflejando la diversidad de hábitats y estrategias tróficas que han ocupado durante la evolución (Castro *et al.*, 2016; Monroig *et al.*, 2018).

## **6. La regulación de la biosíntesis de HUFA en los peces**

La capacidad biosintética de HUFA de los peces puede ser regulada por los AG de la dieta (regulación nutricional) y por factores ambientales, principalmente por la salinidad y la temperatura (Vagner y Santigosa, 2011). La regulación nutricional se ha demostrado ampliamente en salmónidos y en peces de agua dulce, en los cuales la actividad biosintética de HUFA aumenta cuando en la dieta se sustituye el aceite de pescado rico en HUFA por aceites vegetales ricos en C18 PUFA (Zheng *et al.*, 2005; Torstensen and Tocher, 2011; Vagner y Santigosa, 2011; Kuah *et al.*, 2015; Monroig *et al.*, 2018). Este mismo tipo de regulación se ha verificado también en algunos peces marinos, aunque solo a nivel de la síntesis de DHA a partir de EPA (Seilliez *et al.*, 2003; Tocher *et al.*, 2006; Morais *et al.*, 2012). Si bien los peces marinos, como se dijo antes, por lo general tienen muy limitada su capacidad de síntesis de HUFA, tal limitación al parecer se debe a que la mayoría de estos peces carecen de actividad  $\Delta 5$  Fads, que es la requerida para convertir 20:3n-6 y 20:4n-3 en ARA y EPA respectivamente (Figura 1) (Tocher, 2010). Sin embargo, la parte final de la vía de síntesis de HUFA, que involucra la actividad  $\Delta 6$  Fads para la obtención de DHA a partir EPA (Figura 1), aparentemente es funcional en la mayoría de los teleósteos, incluidos todos los peces marinos estudiados, aunque en estos últimos generalmente aparece restringida a órganos específicos tales como ojos y cerebro (Tocher *et al.*, 2006; Zheng *et al.*, 2009; Tocher, 2010; Kabeya *et al.*, 2017). Es importante destacar que este aumento en la biosíntesis de HUFA debido a la regulación nutricional no es suficiente para mantener el EPA y el DHA en los tejidos al mismo nivel que en los peces alimentados con aceite de pescado, independientemente si se trata de peces marinos o de agua dulce (Bell y Tocher, 2009b; Tocher *et al.*, 2011).

Los factores ambientales como la temperatura y la salinidad también tienen efecto sobre la capacidad biosintética de HUFA en los peces (Vagner y Santigosa, 2011; Monroig *et al.*, 2018). En especies de agua dulce y en salmónidos se ha observado una disminución en la actividad de esta vía de síntesis con el aumento de la temperatura del agua (Schünke y Wodtke, 1983; Tocher *et al.*, 2004; Moya-Falcón *et al.*, 2006). Con respecto a la salinidad, se ha observado que la respuesta a la salinidad baja o alta es muy variable entre las

especies de peces, sin que sea evidente identificar un patrón claro que la relacione con factores tales como el hábitat, el hábito alimenticio o el nivel trófico (Monroig *et al.*, 2018). Los salmónidos diádromos muestran un aumento en la actividad de la vía de síntesis de HUFA en agua dulce con un pico alrededor de la transferencia al agua de mar y una reducción posterior durante la fase de agua de mar (Bell *et al.*, 1997; Tocher *et al.*, 2000; 2003), mientras que en el pez carnívoro de agua dulce *Chirostoma estor* el aumento en la salinidad provoca un aumento en la actividad de biosíntesis de EPA y de DHA (Fonseca-Madrigal *et al.*, 2012). En los peces marinos eurihalinos carnívoros *Lateolabrax japonicus* y *Dicentrarchus labrax* se ha observado que la disminución en la salinidad resulta en una disminución en el nivel de DHA y de EPA en los tejidos (Xu *et al.*, 2010; Hunt *et al.*, 2011). En cambio, en el pez marino carnívoro *Pagrus major* y en el marino eurihalino herbívoro *Siganus canaliculatus* la actividad biosintética de HUFA se ve favorecida en baja salinidad (Li *et al.*, 2008; Sarker *et al.*, 2011; Xie *et al.*, 2015).

## **7. Los requerimientos de AGE de los peces eurihalinos/estuarinos**

Dejando de lado la dicotomía más o menos general de que los peces de agua dulce son capaces de sintetizar HUFA eficientemente mientras que los marinos no, nos encontramos con el poco conocimiento que tenemos acerca de los requerimientos de AGE de los peces eurihalinos/estuarinos.

Los ambientes estuarinos se caracterizan por ser ecosistemas altamente variables en sus parámetros físicos y biológicos, con alta productividad y que reciben aportes de nutrientes de origen marino y de agua dulce con grandes fluctuaciones temporales y espaciales (McLusky y Elliott, 2004; Gonçalves *et al.*, 2012). Entonces, teniendo en cuenta la gran variabilidad que existe en las capacidades biosintéticas de HUFA en los teleósteos, aquellos adaptados a vivir en ambientes tan variables como son los estuarios son mucho mejores candidatos que los peces estrictamente marinos para tener la capacidad de sintetizar HUFA eficientemente como lo hacen los peces de agua dulce. En este sentido, se ha observado que algunos peces marinos eurihalinos efectivamente son capaces de sintetizar HUFA eficientemente a partir de sus precursores C18 PUFA y que tal capacidad está modulada principalmente por la composición de AG de la dieta y por la salinidad del medio. Tal es el caso de *Siganus canaliculatus* (Li *et al.*, 2008; Monroig *et al.*, 2012; Xie *et al.*, 2015) y de *Chanos chanos* (Benitez y Gorrecita, 1985; Bautista y De la Cruz, 1988).

## 8. El lenguado *Paralichthys orbignyanus* y su estilo de vida

*Paralichthys orbignyanus* es un pez eurihalino marino/estuarino (Sampaio y Bianchini, 2002) de hábito carnívoro que se alimenta en las lagunas costeras de agua salobre (Rivera *et al.*, 2001; Norbis y Galli, 2004; Lopez y Forte, 2005; Magnone *et al.*, 2015a y 2015b), pero que se reproduce en el mar (Silveira *et al.*, 1995; Cerqueira, 2005; Sampaio *et al.*, 2007). Las larvas nacen y se desarrollan en zonas marinas costeras (Silveira *et al.*, 1995; Cerqueira, 2005; Sampaio *et al.*, 2007), pero luego de la metamorfosis los alevines migran hacia el agua salobre (Rivera *et al.*, 2001; Sampaio *et al.*, 2007) donde aparentemente permanecen durante su primer año. Tal estilo de vida plantea interrogantes acerca de la capacidad de *P. orbignyanus* para satisfacer sus requerimientos de AGE con los C18 PUFA de la dieta, ya que alimentándose en ambientes estuarinos caracterizados por un importante aporte de nutrientes de origen dulceacuícola, no queda claro cómo los alevines consiguen satisfacer sus requerimientos de AGE, ni cómo los reproductores obtienen los altos niveles de HUFA, particularmente de DHA, que requieren para reproducirse (Gadea *et al.*, 2015).

Recientemente se observó que en agua de mar los juveniles de *P. orbignyanus* crecen mejor con una dieta rica en n-3 HUFA diseñada para el engorde de lenguados en agua marina que con una dieta pobre en n-3 HUFA pero enriquecida en LNA diseñada en base al perfil de AG de sus presas naturales en las lagunas costeras. Sin embargo, cuando se ensayaron las mismas dietas en agua salobre se observó exactamente lo opuesto, los juveniles de *P. orbignyanus* que mejor crecieron fueron los alimentados con la dieta pobre en n-3 HUFA pero rica en LNA (Bessonart *et al.*, 2016). Esto indicaría que los requerimientos de AGE de *P. orbignyanus* en agua de mar y en agua salobre son diferentes. Este resultado, junto con el hecho de que los juveniles de esta especie pasan sus primeras etapas de crecimiento post-metamorfosis alimentándose en ambientes estuarinos, nos condujo a plantearnos que el agua salobre sería más apropiada que el agua marina para el desarrollo de los juveniles de *P. orbignyanus*, siempre y cuando se los alimente con la dieta adecuada. Para probar esto sería necesario identificar la composición de AG que debe tener la dieta para que los juveniles de *P. orbignyanus* alcancen su óptimo desempeño<sup>4</sup> en agua salobre. Conocer las capacidades de los juveniles de *P. orbignyanus* para crecer en agua salobre puede ser un insumo importante para el desarrollo de la tecnología de cultivo de esta especie. Si el desempeño de este lenguado en agua salobre y en agua de mar es equivalente, esto probablemente permita disminuir los costos operativos de su cultivo, ya

---

<sup>4</sup> A menos que se indique lo contrario, a lo largo de todo este trabajo el “desempeño” estará definido como una función de los parámetros sobrevivencia, crecimiento y conversión alimentaria.

que permitiría independizarse del agua marina y de las restricciones geográficas asociadas a su acceso, pudiendo utilizar en su lugar el agua salobre del extenso sistema de estuarios y lagunas costeras existente en Uruguay.

## **OBJETIVOS E HIPÓTESIS**

### **Objetivo general:**

El objetivo de este trabajo fue estudiar en agua salobre la respuesta de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* a distintos grados de sustitución en la dieta de los n-3 HUFA por LNA a fin de obtener información acerca de los requerimientos de AGE de estos peces en baja salinidad y de determinar si esta especie presenta las actividades elongasas y desaturasas necesarias para la biosíntesis de DHA, EPA y ARA a partir de sus precursores de 18 carbonos.

### Objetivo específico:

- Identificar el nivel de sustitución de n-3 HUFA por LNA en la dieta de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* que permita obtener el mejor desempeño en agua salobre.

### **Hipótesis:**

La hipótesis de este trabajo es que en agua salobre los juveniles de *P. orbignyanus* son capaces de satisfacer sus requerimientos de AGE con LNA y LA, y que contarían con la batería completa de enzimas desaturasas y elongasas de AG implicadas en la biosíntesis de DHA, EPA y ARA a partir de sus precursores de 18 carbonos.

En función de esta hipótesis, las predicciones son las siguientes:

1. En agua salobre la sustitución en la dieta de los n-3 HUFA (particularmente DHA y EPA) por LNA no perjudicará el desempeño de los juveniles de *P. orbignyanus*.
2. En agua salobre y en presencia de abundante precursor (LNA y LA), la reducción de los niveles de DHA, EPA y ARA en la dieta no se reflejará en el perfil de AG de los juveniles de *P. orbignyanus*.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **1. Estrategia de investigación**

La estrategia de investigación propuesta para probar la hipótesis planteada y lograr el objetivo consistió en formular, fabricar y poner a prueba 4 dietas experimentales que solo diferían en la composición de los lípidos. Dichas dietas se emplearon para alimentar juveniles de *P. orbignyanus* de aproximadamente 60 días de edad en agua salobre (5 g/L) durante 60 días. La respuesta fisiológica de los peces a los diferentes grados de sustitución en la dieta del aceite de pescado rico en n-3 HUFA por aceites vegetales ricos en LNA se evaluó a través del análisis del desempeño y del análisis de la composición corporal de AG.

### **2. Dietas experimentales**

#### *2.1. Formulación de las dietas experimentales:*

Con harina de pescado desengrasada y harina de krill como fuentes de proteína, y con aceite de pescado y una mezcla de aceites vegetales como fuentes de lípidos, se formularon 4 dietas experimentales que solo diferían en la composición de los lípidos. El porcentaje de sustitución del aceite de pescado por la mezcla de aceites vegetales fue de 0%, 25%, 60% y 100%, con lo cual las dietas experimentales fueron denominadas V0, V25, V60 y V100 respectivamente (Tabla 1). Dado que la harina de pescado desengrasada y la harina de krill contenían 0.93% y 17.52% de lípidos respectivamente, los porcentajes de sustitución finales resultaron 0%, 22.36%, 53.66% y 89.44% respectivamente. Los ingredientes que se utilizaron en la formulación de las dietas experimentales, así como las proporciones en las que se empleó cada uno se detallan en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Ingredientes de las dietas experimentales <sup>1</sup>

	V0	V25	V60	V100
Harina de pescado <sup>2</sup>	797,2	797,2	797,2	797,2
Harina de krill	30,0	30,0	30,0	30,0
Lípidos	107,3	107,3	107,3	107,3
Almidón de maíz	50,0	50,0	50,0	50,0
Premix minerales	5,0	5,0	5,0	5,0
Premix vit (s/vitC y s/Cl Col)	5,0	5,0	5,0	5,0
Ácido ascórbico (vit. C)	2,0	2,0	2,0	2,0
Cloruro de colina (Cl Col)	3,5	3,5	3,5	3,5
<i>Ingredientes de la fracción lipídica de las dietas experimentales</i>				
Aceite de lino	0	26,8	48,3	80,5
Aceite de chía	0	0	0	13,4
Aceite de girasol <sup>3</sup>	0	0	16,1	13,4
Aceite de pescado Vit. <sup>4</sup>	80,5	53,7	42,9	0
Aceite de pescado Verus <sup>5</sup>	26,8	26,8	0	0

<sup>1</sup> Valores expresados en g/kg.

<sup>2</sup> Harina de pescado desengrasada.

<sup>3</sup> Aceite de girasol alto oleico.

<sup>4</sup> Aceite de pescado de uso veterinario marca Vitamex.

<sup>5</sup> Aceite de pescado para consumo humano marca VerusBiotech omega-3.

## 2.2. Desengrasado de la harina de pescado:

La harina de pescado utilizada para elaborar las dietas experimentales fue desengrasada previamente con el objetivo de disminuir al mínimo posible la interferencia de su composición lipídica original. Para esto la harina de pescado fue lavada sucesivas veces con cloroformo en una relación de 3 partes de cloroformo por cada parte de harina y filtrando a través de filtro de papel el cloroformo luego de cada lavado. Finalmente, luego de realizados 3 lavados y filtrados sucesivos, la harina desengrasada se dejó durante 12 horas extendida en bandejas expuesta al aire dentro de una habitación ventilada para evaporar el exceso de cloroformo.

## 2.3. Elaboración de las dietas experimentales:

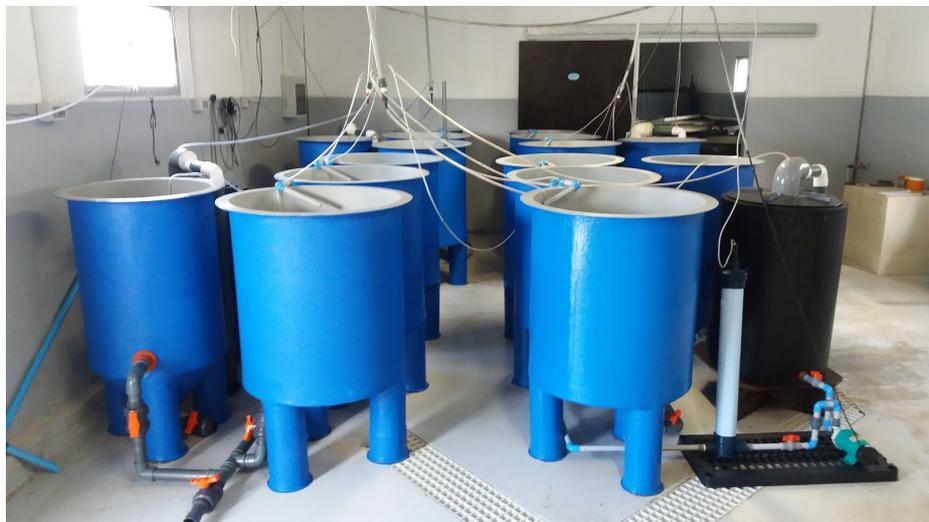
Las dietas experimentales se elaboraron en la Estación Experimental de Investigaciones Marinas y Acuicultura de la DINARA en Cabo Polonio (EEIMA), donde se cuenta con el equipamiento necesario para tal fin. Para la elaboración de dichas dietas, en primer lugar se hizo la mezcla en seco de la harina de pescado desengrasada, la harina de krill y el almidón de maíz en sus respectivas proporciones y en la cantidad suficiente para elaborar 4 Kg de dieta experimental. Una vez homogeneizada, la mezcla fue separada en 4 partes de igual peso, cada una destinada a dar lugar a una de las 4 dietas experimentales.

Las proporciones correspondientes de los distintos aceites para cada dieta se obtuvieron gravimétricamente utilizando una balanza de precisión (0,01 g). Las proporciones correspondientes de vitaminas y minerales se obtuvieron por peso seco, pero luego se mezclaron y disolvieron en agua para finalmente incorporarlas a los demás ingredientes de las dietas experimentales. Una vez que se agregaron todos los ingredientes a cada una de las mezclas se procedió a homogeneizarlas manualmente agregando agua hasta lograr la consistencia apropiada. Para obtener los pellets (4 mm) se utilizó una peletizadora eléctrica de carga manual. Los pellets obtenidos se dejaron secar durante 36 horas a 35 °C en un secador de ración. Finalmente, las 4 dietas se guardaron a -20 °C hasta su utilización.

### 3. Peces y diseño experimental

#### 3.1. *Sistemas de cultivo experimentales:*

Toda la fase experimental de este trabajo se realizó en las instalaciones de la EEIMA. Para el experimento se utilizaron 4 sistemas de recirculación de agua independientes, cada uno de ellos equipado con decantador, filtro biológico, espumador, lampara ultra violeta y 3 tanques para los peces con 150 L de capacidad cada uno (Figura 2).



**Figura 2.** Los 4 sistemas de recirculación de agua utilizados para el experimento de alimentación con juveniles de *P. orbignyanus*. Cada sistema independiente está equipado con decantador, filtro biológico, espumador, lampara ultra violeta y 3 tanques para los peces con 150 L de capacidad cada uno.

El flujo de agua en los tanques de los peces fue de ~1 L/min. (~10 renovaciones diarias del volumen total) y a cada sistema se le recambio el 10% del agua diariamente durante todo el experimento. El agua utilizada para el experimento se mantuvo con una salinidad que osciló entre 5,0 y 5,7 g/L en los 4 sistemas por igual. Para obtener el agua con

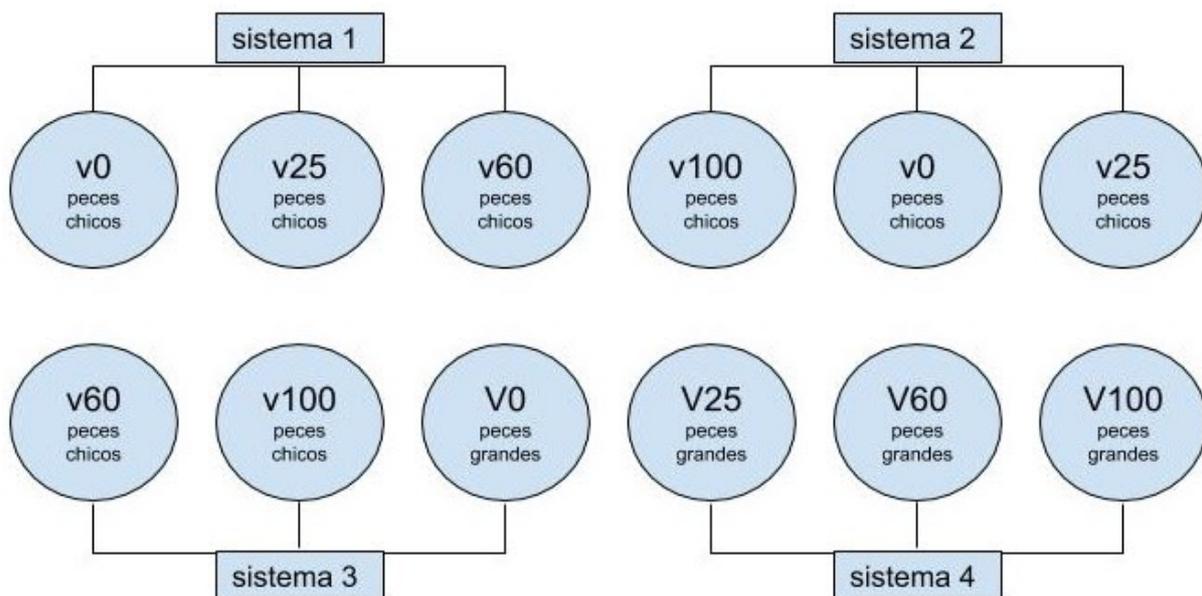
dicha salinidad se mezcló agua de mar tomada directamente de la playa de Cabo Polonio, con agua de lluvia colectada en un depósito subterráneo. La temperatura y el pH del agua oscilaron entre 18 y 22 °C, y entre 7,6 y 8,3 respectivamente. El registro diario de la temperatura, la salinidad y el pH se realizó con un medidor de calidad de agua multiparámetro HORIBA U-50 debidamente calibrado.

### 3.2. *Peces, desarrollo del experimento y muestreo:*

Para el experimento se utilizaron en total 300 juveniles de *P. orbignyanus* de aproximadamente 60 días de edad que se obtuvieron a partir de puestas naturales provenientes del plantel de reproductores de *P. orbignyanus* mantenidos en cautiverio en la EEIMA.

Antes de comenzar el experimento los peces se encontraban distribuidos en 2 tanques de cultivo de 500 L cada uno, mantenidos en agua de mar filtrada en circuito abierto con una salinidad que osciló entre 26 y 30 g/L, y alimentados con la dieta comercial (DC) Otohime EP-F2, manufacturada en Japón (Marubeni Nisshin Feed CO., LTDA.), cuya composición proximal y perfil de AG se detallan en las Tablas 2 y 3 respectivamente. Previo a repartir los peces en sus respectivos tanques experimentales se los pesó individualmente a todos a fin de conocer el número exacto de peces disponibles y la dispersión de los pesos individuales, ya que en esta especie hemos observado que el aumento de la dispersión de pesos viene acompañado de un aumento de la mortalidad debida principalmente al canibalismo. Los resultados de dicha biometría mostraron gran dispersión en los pesos individuales ( $n=391$ ;  $2,42 \pm 1,48$  g) y valores extremos de hasta 4 veces el promedio. Con el fin de no trasladar tales diferencias de pesos a los tanques experimentales se decidió descartar los peces más grandes (“valores extremos”) y separar arbitrariamente los peces restantes en dos clases de tamaño. De esta manera los peces de hasta 2,00 g de peso fueron denominados “chicos” y los peces de más de 2,00 g de peso fueron denominados “grandes”. El procedimiento para repartir los peces en sus respectivos tanques experimentales consistió en capturarlos manualmente de los tanques de cultivo de 500 L con la ayuda de un calderín, sedarlos con benzocaína (50 mg/L) y pesarlos individualmente, y según si su peso estaba por encima o por debajo de los 2,00 g se los fue colocando en los tanques experimentales para peces grandes o para peces chicos, respectivamente. Este procedimiento se repitió con cada pez hasta completar 25 peces en cada uno de los 12 tanques experimentales. Finalmente, para el experimento se emplearon 200 peces “chicos” ( $1,39 \pm 0,32$  g) repartidos en 8 tanques experimentales (2 réplicas para cada tratamiento) y 100 peces “grandes” ( $2,50 \pm 0,35$  g) repartidos en 4 tanques experimentales (sólo una

réplica para cada tratamiento) (Figura 3). Los peces fueron alimentados 2 veces al día con su correspondiente dieta experimental en una cantidad equivalente al 5% de su peso. El ajuste de la cantidad de alimento se hizo semanalmente asumiendo un crecimiento en peso del 2% diario, que es la tasa de crecimiento promedio observada anteriormente en peces de la misma edad. El fotoperiodo fue de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Antes de comenzar con el experimento no se realizó aclimatación alguna a los peces, sin embargo, pese a la importante diferencia de salinidad entre los sistemas de cultivo y los sistemas experimentales no se registró ninguna muerte. El experimento tuvo una duración total de 60 días. Se realizó una biometría a los 34 y otra a los 60 días de experimento para tomar datos de peso y longitud total (LT) de todos los individuos. Al mismo tiempo también se sacrificó 3 peces al inicio del experimento (no incluidos en los 300 del experimento) y 2 de cada tanque luego de 34 y de 60 días experimento para análisis químico. Previo a cada biometría los peces permanecieron 24 horas en ayuno. En todos los casos los peces fueron sacrificados mediante sobredosis de anestésico (benzocaína: 1 g/L) y guardados a -20 °C para posterior análisis químico.



**Figura 3.** Esquema del diseño del experimento de alimentación con juveniles de *P. orbignyus*.

#### 4. Evaluación del desempeño de los peces

Para evaluar el desempeño de los peces se utilizó el peso, la longitud total (LT), el factor de condición de Fulton (K) (Ricker, 1975), el crecimiento relativo (CR), la tasa de crecimiento específico (TCE) (Hopkins, 1992), la tasa de conversión alimentaria (TCA) y la incorporación relativa de lípidos (IRL):

$$K = 100 \times [\text{peso (g)} / \text{longitud total}^3 \text{ (cm)}]$$

$$\text{CR} = \text{peso final} / \text{peso inicial}$$

$$\text{TCE} = 100 \times [\ln(\text{peso final}) - \ln(\text{peso inicial})] / \text{días de experimento}$$

$$\text{TCA} = \text{total de alimento seco consumido en el tanque} / \text{ganancia total de peso vivo en el tanque}$$

$$\text{IRL} = \text{porcentaje final de lípidos} / \text{porcentaje inicial de lípidos}$$

El procedimiento para calcular el CR y la TCE consistió en ordenar de manera creciente los valores de peso inicial de los peces de cada tanque experimental, adjudicando a cada pez un número del 1 al 25, donde el pez de menor peso se identificó con el número 1 y el de mayor peso con el 25. A continuación se asumió que el orden creciente así obtenido de los peces se mantuvo durante todo el experimento. Mediante este procedimiento se consiguió que el número de datos de CR y de TCE coincidiera con el número de peces en cada tanque experimental, lo que significó un número de datos suficiente para la aplicación de los análisis estadísticos correspondientes.

Con respecto a la TCA, cabe señalar que no se obtuvo un valor para cada pez, sino que se calculó para cada tanque experimental. Esto significa que por cada tratamiento se obtuvieron 2 datos de TCA para los peces chicos y sólo uno para los peces grandes. Con tan pocos datos no fue posible la aplicación de ningún test estadístico para comparar entre tratamientos. Por lo tanto, los valores de TCA que se presentan en las tablas más abajo son solo descriptivos.

#### 5. Composición bioquímica de dietas y peces

##### 5.1. *Determinación de la composición bioquímica:*

El contenido proteico de las dietas fue calculado a través de la determinación del contenido total de nitrógeno mediante el método de Kjeldahl. El contenido de ceniza de las dietas se obtuvo a través de la combustión de muestras en mufla a 550 °C durante 12 horas. El contenido total de humedad de dietas y peces se obtuvo mediante el secado de

muestras en horno a 105 °C durante 24 horas y hasta verificar la estabilización del peso (AOAC, 1990). Para el caso de la humedad de los peces, posteriormente fue necesario recomponer la humedad original ya que los mismos fueron previamente liofilizados con el objetivo de facilitar el homogeneizado de las muestras. El contenido total de lípidos de dietas y peces se obtuvo mediante la extracción de los lípidos con una mezcla de cloroformo:metanol (2:1; v/v) de acuerdo con el método de Folch *et al.* (1957). Los lípidos obtenidos de esta manera se utilizaron posteriormente para los análisis de lípidos y de AG. Para el caso de los 3 peces muestreados al inicio del experimento, para los análisis posteriores se utilizó un “pool” de lípidos, el cual se consiguió mezclando cantidades iguales de los lípidos extraídos de cada individuo. En todos los casos los análisis para la determinación de la composición bioquímica se hicieron por duplicado o triplicado. Si bien para estudiar el desempeño de los peces del experimento se optó por separarlos en dos clases de tamaño (peces chicos y peces grandes), dicha división no se tomó en cuenta a la hora de estudiar la composición bioquímica de los peces.

#### 5.2. *Análisis de lípidos y ácidos grasos:*

Los lípidos extraídos de los peces enteros fueron separados en lípidos polares (LP, mayoritariamente fosfolípidos) y lípidos neutros (LN, mayoritariamente triglicéridos) utilizando cartuchos de sílica (Sep-Pack; Waters, Milford, MA, USA) y lavando con cloroformo primero para eluir los LN y con metanol luego para eluir los LP (Juaneda y Rocquelin, 1985). Brevemente, el procedimiento empleado consistió en cargar en el cartucho aproximadamente 30 mg de los lípidos a separar diluidos en 1 ml de cloroformo. Utilizando una jeringa de vidrio se hizo pasar 20 ml de cloroformo por el cartucho para eluir los LN y a continuación 10 ml de solución cloroformo:metanol (49:1; v/v) para eluir los LN que presentan algo de polaridad. El cloroformo con los LN se recogió en un matraz de evaporación pasando antes a través de un embudo de vidrio con un filtro de papel para evitar recoger en el matraz restos de sílice. Luego, para eluir los LP se hizo pasar 30 ml de metanol por el cartucho recogiendo el metanol de la misma manera que se recogió el cloroformo con los LN. Los solventes de los matraces se evaporaron en un rotavapor y los lípidos fueron recuperados con pipeta Pasteur lavando con una pequeña cantidad de cloroformo y colocados en tubos de vidrio previamente pesados. Finalmente se evaporó el cloroformo utilizando gas nitrógeno y se pesaron los tubos con los lípidos para conocer la cantidad de LP y de LN en cada muestra. Los ésteres metílicos de AG se obtuvieron mediante transesterificación en metanol con ácido sulfúrico (Christie, 1982). Para separarlos se utilizó un cromatógrafo de gases (Hewlett Packard 5890; Hewlett-Packard Company, Wilmington, DE, USA) equipado con un detector de ionización de llama y columna capilar

Zebron (30 m, 0.25 mm ID, Phenomenex, USA), con nitrógeno como gas transportador. Las muestras se inyectaron con el "split" a 250 °C. La temperatura de la columna se mantuvo a 190 °C durante 12 min, luego aumentó a 212 °C a una tasa de 2 °C/min y se mantuvo a 212 °C durante 13 min. Los AG fueron identificados comparando con los tiempos de retención de ésteres metílicos estándar (Supelco®) y utilizando un aceite de pescado bien caracterizado como referencia. Para cuantificar los AG, a cada muestra se le agregó el AG 19:0 como estándar interno en una proporción del 7% de los lípidos de la muestra.

## 6. Análisis estadísticos

Para las comparaciones entre tratamientos con las variables de desempeño se utilizó análisis de varianza (ANOVA) de una vía, y en los casos que se detectó diferencias significativas se aplicó el test de Tukey como test a posteriori. Dado que la composición química de los peces se estudió a los 34 y a los 60 días de experimento, se optó por utilizar en primer lugar ANOVA de dos vías, donde la dieta con sus 4 niveles (V0, V25, V60 y V100) fue el factor 1 y el tiempo con sus 2 niveles (biometría a los 34 días y biometría a los 60 días) fue el factor 2. De esta manera se buscó determinar si la composición lipídica de la dieta y/o la duración del experimento tienen efecto sobre la composición química de los juveniles de *P. orbignyanus* y si existe interacción entre ambos factores. Los datos de composición química de los peces tomados a la mitad (34 días) y al final (60 días) del experimento también fueron analizados por separado con ANOVA de una vía y test de Tukey como test a posteriori con la dieta como factor, a fin de determinar si la composición lipídica de la dieta tiene efecto sobre la composición química de los juveniles de *P. orbignyanus* a los 34 o a los 60 días de experimento y cuales son dichos efectos. Finalmente, se utilizó el test t de Student para comparar la media de cada variable de composición química para cada tratamiento obtenida a los 34 días de experimento con la obtenida a los 60 días de experimento. De esta manera se determinó el efecto del tiempo sobre la composición química de los peces de cada tratamiento.

Previo a los análisis de comparaciones entre muestras se estudió la normalidad y la homogeneidad de varianza de los datos mediante la aplicación del test de Shapiro-Wilk y el de Levene, respectivamente. En los casos que los datos no cumplieron con alguno de estos supuestos se buscó la transformación más adecuada que permitiera el cumplimiento de ambos. Cuando mediante la transformación de los datos no se consiguió normalizarlos se aplicó también el test de Kruskal-Wallis, un ANOVA no paramétrico de comparación entre medianas que no asume la normalidad de los datos (Zar, 2010). Cuando mediante la

transformación de los datos no se consiguió la homogeneidad de las varianzas se aplicó también el test de Welch, una versión del ANOVA que no asume homogeneidad de varianzas (Zar, 2010). Los datos obtenidos como proporciones fueron normalizados mediante la aplicación de la transformación  $p' = \arcsin\sqrt{p}$  (Zar, 2010). El nivel de significancia estadística utilizado fue  $p=0,05$ . Los resultados de todos los análisis estadísticos realizados en este trabajo se presentan en la sección Anexos. Para todos los análisis estadísticos de este trabajo se utilizó el programa PAST (Hammer *et al.*, 2001) versiones 3.15 y 4.0.

## **7. Aspectos éticos**

La metodología de manejo de los peces de experimentación y el sacrificio de los mismos para análisis bioquímico se realizó de acuerdo al protocolo aprobado por la CEUA de la Dirección Nacional de Recursos Acuáticos (DINARA) con fecha del 29 de marzo de 2017 y con el número de registro 001/2017, en el cumplimiento de la Ley N.º 18.611.

## RESULTADOS

### 1. Composición de las dietas experimentales

Las 4 dietas experimentales resultaron muy similares entre sí en su composición proximal de acuerdo a la formulación teórica. Sin embargo, corresponde destacar que el porcentaje de lípidos en la dieta V60 y el porcentaje de humedad en la dieta V100 fueron algo menores que en las demás dietas. La dieta DC (dieta comercial) presentó un contenido proteico y lipídico menor al de las dietas experimentales (Tabla 2).

**Tabla 2.** Composición proximal de las dietas experimentales <sup>1</sup>

	DC <sup>2</sup>	Dietas experimentales			
		V0	V25	V60	V100
Humedad	10,19	9,58	9,84	9,24	8,83
Proteína	49,50	57,50	58,42	59,35	59,83
Lípidos	8,39	11,45	11,93	10,28	11,16
Ceniza	13,60	16,50	16,10	15,72	15,80
Fibra bruta + ELN <sup>3</sup>	18,32	4,97	3,71	5,41	4,37

<sup>1</sup> Valores expresados en porcentaje.

<sup>2</sup> Dieta comercial con la que se alimentó a los peces antes de comenzar el experimento con las dietas experimentales.

<sup>3</sup> ELN (extracto libre de nitrógeno): constituido principalmente por carbohidratos digeribles, vitaminas y otros compuestos orgánicos solubles no nitrogenados.

En cuanto a la composición de AG de las dietas experimentales, se consiguió el resultado buscado de acuerdo a la formulación teórica. Las proporciones de LNA y de LA aumentaron mientras que las de DHA, EPA y ARA disminuyeron conforme aumentó el porcentaje de sustitución del aceite de pescado por las mezclas de aceites vegetales en la dieta tal como se planteó en el diseño teórico (Tabla 3). La relación DHA/EPA también disminuyó con el aumento del porcentaje de sustitución del aceite de pescado por los aceites vegetales (Tabla 3). Este efecto fue causado principalmente por los lípidos presentes en la harina de krill, la cual era más rica en EPA que en DHA. Tal como se mencionó anteriormente, la harina de krill que se utilizó para la elaboración de las dietas experimentales contenía 17,52% de lípidos, dentro de los cuales el EPA representaba el 9,65%, mientras que el DHA solo el 5,90% (datos no presentados en este trabajo). Por lo tanto, la relación DHA/EPA de las dietas con bajo o nulo contenido de aceite de pescado agregado resultó afectada ya que los lípidos presentes en las harinas fueron sus únicos aportes de EPA y de DHA. Por su parte, la dieta DC mostró un perfil de AG típico de una dieta para peces marinos con relativamente alto contenido de n-3 HUFA, particularmente de DHA, bajo contenido de LNA y con una relación DHA/EPA cercana a 2 (Tabla 3).

**Tabla 3.** Composición de ácidos grasos de las dietas experimentales <sup>1</sup>

AG	DC <sup>2</sup>	Dietas experimentales			
		V0	V25	V60	V100
14:0	3,22 (5,28)	3,82 (3,95)	2,92 (2,92)	1,73 (1,90)	0,65 (0,63)
16:0	11,54 (18,90)	17,08 (17,68)	15,08 (15,08)	10,37 (11,38)	8,05 (7,79)
16:1n-7	3,26 (5,34)	7,95 (8,23)	5,83 (5,82)	3,17 (3,48)	0,53 (0,52)
18:0	2,76 (4,52)	3,28 (3,40)	3,92 (3,92)	3,84 (4,21)	4,82 (4,66)
18:1n-9	6,33 (10,37)	18,17 (18,80)	18,59 (18,58)	25,25 (27,73)	26,20 (25,34)
18:1n-7	2,12 (3,47)	3,35 (3,47)	2,89 (2,89)	1,76 (1,93)	1,19 (1,15)
18:2n-6 (LA)	2,73 (4,47)	1,65 (1,70)	4,62 (4,62)	7,47 (8,20)	13,41 (12,97)
18:3n-6	tr.	0,15 (0,16)	0,12 (0,12)	0,08 (0,09)	tr.
18:3n-3 (LNA)	0,55 (0,89)	0,93 (0,96)	13,59 (13,58)	20,83 (22,87)	43,32 (41,90)
18:4n-3	1,07 (1,76)	1,76 (1,82)	1,53 (1,53)	0,70 (0,77)	0,22 (0,21)
20:1n-9	0,98 (1,61)	2,84 (2,94)	2,11 (2,11)	1,10 (1,21)	0,26 (0,25)
20:2n-6	0,13 (0,22)	0,35 (0,37)	0,29 (0,29)	0,19 (0,21)	tr.
20:3n-6	0,14 (0,22)	0,22 (0,23)	0,22 (0,22)	0,15 (0,16)	0,06 (0,06)
20:4n-6 (ARA)	0,69 (1,13)	1,15 (1,19)	1,07 (1,07)	0,49 (0,53)	0,16 (0,15)
20:3n-3	0,08 (0,14)	0,21 (0,22)	0,27 (0,27)	0,10 (0,11)	0,07 (0,07)
20:4n-3	0,38 (0,62)	0,73 (0,76)	0,60 (0,60)	0,31 (0,34)	tr.
20:5n-3 (EPA)	5,79 (9,48)	6,43 (6,66)	5,42 (5,42)	2,63 (2,89)	0,95 (0,91)
22:4n-6	0,11 (0,19)	0,32 (0,33)	0,24 (0,24)	0,14 (0,15)	tr.
22:5n-6	0,35 (0,58)	0,59 (0,61)	0,59 (0,59)	0,25 (0,28)	0,10 (0,10)
22:5n-3	1,27 (2,07)	1,85 (1,92)	1,23 (1,23)	0,77 (0,85)	0,35 (0,34)
22:6n-3 (DHA)	9,88 (16,19)	13,16 (13,62)	10,31 (10,30)	4,87 (5,35)	1,17 (1,13)
SAFA	19,20 (31,45)	26,70 (27,64)	24,05 (24,03)	17,38 (19,08)	14,25 (13,78)
MUFA	16,66 (27,29)	36,88 (38,17)	33,19 (33,17)	33,10 (36,35)	28,79 (27,85)
PUFA	25,19 (41,27)	33,04 (34,20)	42,82 (42,80)	40,60 (44,58)	60,34 (58,37)
n-3	19,04 (31,20)	25,15 (26,04)	32,98 (32,96)	30,25 (33,21)	46,08 (44,57)
n-6	4,18 (6,85)	4,49 (4,64)	7,16 (7,15)	8,76 (9,62)	13,74 (13,29)
n-3HUFA	17,42 (28,54)	22,45 (23,24)	17,84 (17,83)	8,70 (9,65)	2,54 (2,45)
n-6HUFA	1,30 (2,12)	2,29 (2,37)	2,12 (2,12)	1,03 (1,13)	0,32 (0,31)
n-3/n-6	4,55	5,61	4,61	3,45	3,35
DHA/EPA	1,71	2,05	1,90	1,85	1,24
DHA/ARA	14,30	11,43	9,67	10,01	7,51
EPA/ARA	8,37	5,59	5,08	4,41	6,05

<sup>1</sup> Valores expresados como mg/g de materia seca y como % del total de los ácidos grasos (entre paréntesis y en itálica).

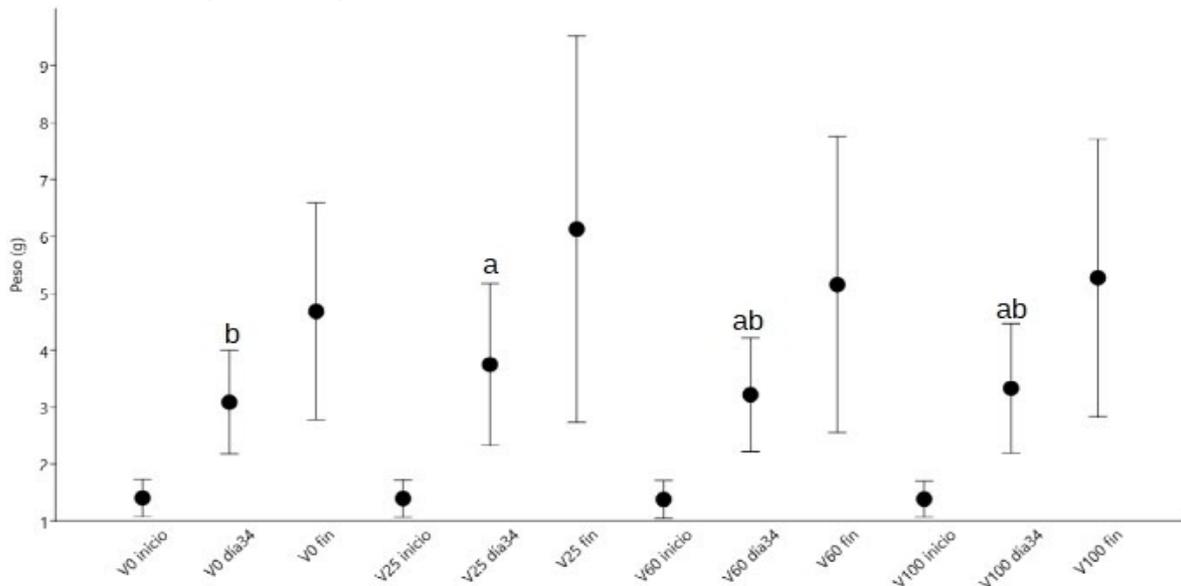
<sup>2</sup> Dieta comercial con la que se alimentó a los peces antes de comenzar el experimento con las dietas experimentales.

tr. (traza): <0,01 mg/g

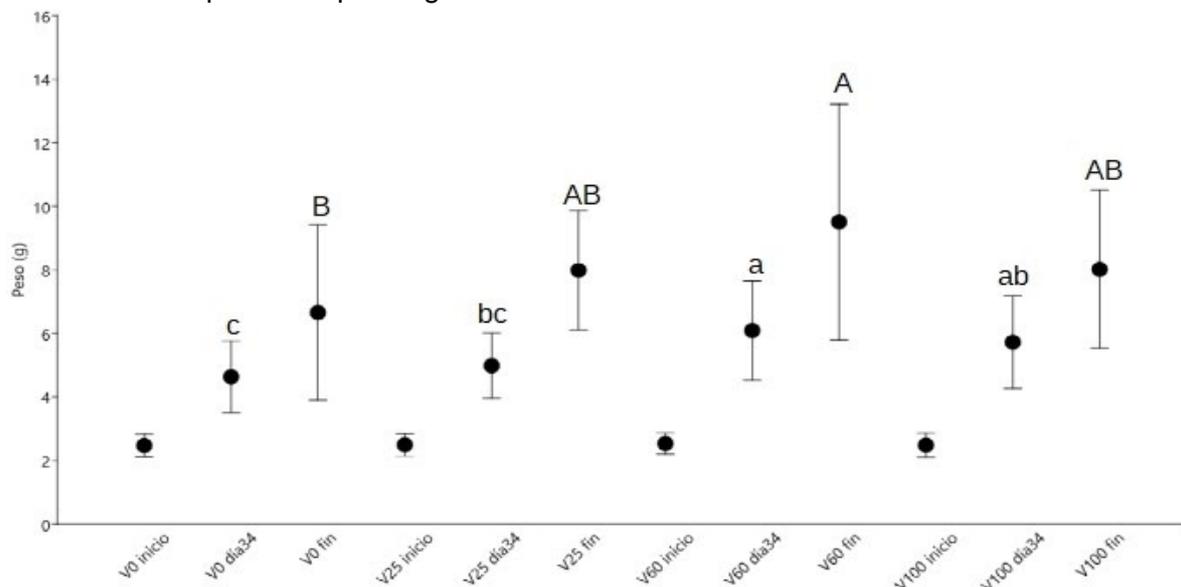
## 2. Desempeño de los peces

Los peces de los 4 tratamientos, independientemente de su clase de tamaño, consiguieron duplicar su peso en tan solo 34 días. Luego de los 60 días que duró el experimento, los peces chicos de los 4 tratamientos llegaron prácticamente a cuadruplicar su peso (Figura 4A), mientras que los peces grandes lo triplicaron (Figura 4B).

### A. Crecimiento promedio peces chicos



### B. Crecimiento promedio peces grandes



**Figura 4.** Crecimiento promedio de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* de las dos clases de tamaño alimentados con cada una de las dietas experimentales: V0, V25, V60 y V100. A) Grupo de los peces “chicos”. B) Grupo de los peces “grandes”. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos luego de 34 días de experimento. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos luego de 60 días de experimento.

No se observaron diferencias significativas entre los pesos iniciales de los peces en ninguna de las 2 clases de tamaño ( $p>0,05$ ) (Tablas 4 y 6). En la primera mitad del experimento (día 0 al día 34) los peces chicos alimentados con la dieta V25 presentaron mayor CR y TCE que los demás ( $p<0,05$ ), y mayor peso que los alimentados con la dieta V0 ( $p<0,05$ ). El peso de los alimentados con las dietas V60 y V100 no se diferenciaron significativamente de los demás ( $p>0,05$ ). La LT y el K no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos ( $p>0,05$ ). El mejor resultado de la TCA se obtuvo con la dieta V25, mientras que el peor se obtuvo con la V0 (Tabla 4).

**Tabla 4.** Desempeño de los *Paralichthys orbignyanus* “chicos” durante los primeros 34 días del experimento

	Tratamientos			
	V0 (n=50)	V25 (n=50)	V60 (n=50)	V100 (n=50)
Peso día 0 (g)	1,41 ± 0,33	1,40 ± 0,32	1,38 ± 0,33	1,39 ± 0,31
Peso día 34 (g)	3,09 ± 0,91b	3,75 ± 1,42a	3,22 ± 1,00ab	3,33 ± 1,14ab
LT día 34 (cm)	6,36 ± 0,68	6,76 ± 0,88	6,43 ± 0,65	6,48 ± 0,77
K día 34	1,17 ± 0,07	1,17 ± 0,07	1,19 ± 0,10	1,19 ± 0,07
CR 0-34	2,17 ± 0,16c	2,62 ± 0,40a	2,32 ± 0,23b	2,36 ± 0,29b
TCE 0-34	2,27 ± 0,21c	2,80 ± 0,41a	2,46 ± 0,26b	2,50 ± 0,33b
TCA 0-34 (n=2)	1,63 ± 0,08	1,17 ± 0,01	1,50 ± 0,08	1,43 ± 0,03

Valores (media ± desvío estándar de las 2 réplicas) en la misma fila con letras diferentes indican diferencias significativas ( $p<0,05$ ). LT= longitud total en cm; K= factor de condición; CR (crecimiento relativo); TCE= tasa de crecimiento específico; TCA (tasa de conversión alimentaria); n= tamaño de la muestra.

Cuando analizamos el desempeño total de los peces chicos durante los 60 días que duró el experimento observamos que los alimentados con la dieta V0 presentaron menor CR y TCE que los demás ( $p<0,05$ ), mientras que no se observaron diferencias significativas entre los peces alimentados con las dietas V25, V60 y V100 en ninguna de las variables estudiadas ( $p>0,05$ ). El mejor resultado de la TCA se obtuvo con la dieta V25, mientras que el peor se obtuvo con la V0 (Tabla 5).

**Tabla 5.** Desempeño total de los *Paralichthys orbignyanus* “chicos” durante los 60 días que duró el experimento

	Tratamientos			
	V0 (n=46)	V25 (n=46)	V60 (n=46)	V100 (n=46)
Peso día 60 (g)	4,68 ± 1,90	6,13 ± 3,39	5,15 ± 2,60	5,27 ± 2,44
LT día 60 (cm)	7,00 ± 1,14	7,61 ± 1,49	7,20 ± 1,18	7,27 ± 1,23
K día 60	1,34 ± 0,16	1,30 ± 0,16	1,32 ± 0,12	1,31 ± 0,12
CR Total	3,28 ± 0,57b	4,16 ± 1,16a	3,67 ± 0,94a	3,71 ± 0,82a
TCE Total	1,99 ± 0,27b	2,35 ± 0,46a	2,17 ± 0,34a	2,19 ± 0,33a
TCA Total (n=2)	2,08 ± 0,12	1,48 ± 0,03	1,85 ± 0,35	1,78 ± 0,04

Valores (media ± desvío estándar de las 2 réplicas) en la misma fila con letras diferentes indican diferencias significativas ( $p<0,05$ ). LT= longitud total en cm; K= factor de condición; CR (crecimiento relativo); TCE= tasa de crecimiento específico; TCA (tasa de conversión alimentaria); n= tamaño de la muestra.

En la primera mitad del experimento (día 0 al día 34) los peces grandes alimentados con las dietas V60 y V100 presentaron mayor CR y TCE que los demás ( $p < 0,05$ ), y los alimentados con la dieta V60 también presentaron mayor peso y LT que los alimentados con las dietas V0 y V25 ( $p < 0,05$ ). Los peces alimentados con la dieta V100 presentaron mayor peso que los alimentados con la V0 ( $p < 0,05$ ), mientras que en la LT no se diferenciaron de los demás ( $p > 0,05$ ). El K no mostró diferencias significativas entre los tratamientos ( $p > 0,05$ ). El mejor resultado de la TCA se obtuvo con la dieta V60, mientras que el peor se obtuvo con la V0 (Tabla 6).

**Tabla 6.** Desempeño de los *Paralichthys orbignyanus* “grandes” durante los primeros 34 días del experimento

	Tratamientos			
	V0 (n=25)	V25 (n=25)	V60 (n=25)	V100 (n=25)
Peso día 0 (g)	2,48 ± 0,36	2,50 ± 0,35	2,54 ± 0,34	2,49 ± 0,38
Peso día 34 (g)	4,64 ± 1,13c	4,99 ± 1,03bc	6,10 ± 1,56a	5,73 ± 1,45ab
LT día 34 (cm)	7,27 ± 0,63b	7,36 ± 0,49b	7,93 ± 0,68a	7,70 ± 0,65ab
K día 34	1,19 ± 0,07	1,23 ± 0,07	1,20 ± 0,04	1,24 ± 0,07
CR 0-34	1,85 ± 0,19b	1,95 ± 0,14b	2,39 ± 0,32a	2,27 ± 0,23a
TCE 0-34	1,79 ± 0,30b	1,96 ± 0,22b	2,54 ± 0,41a	2,40 ± 0,29a
TCA 0-34 (n=1)	2,19	1,78	1,42	1,47

Valores (media ± desvío estándar) en la misma fila con letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). LT= longitud total en cm; K= factor de condición; CR (crecimiento relativo); TCE= tasa de crecimiento específico; TCA (tasa de conversión alimentaria); n= tamaño de la muestra.

Cuando analizamos el desempeño total de los peces grandes durante los 60 días que duró el experimento observamos que los alimentados con la dieta V0 presentaron menor CR y TCE que los demás ( $p < 0,05$ ), y menor peso y LT que los alimentados con la dieta V60 ( $p < 0,05$ ). Por su parte, los alimentados con las dietas V25, V60 y V100 no presentaron diferencias significativas en ninguna de las variables estudiadas ( $p > 0,05$ ). El K de los peces alimentados con la dieta V0 fue significativamente mayor que el de aquellos alimentados con las dietas V25 y V100 ( $p < 0,05$ ). El mejor resultado de la TCA se obtuvo con la dieta V60, mientras que el peor se obtuvo con la dieta V0 (Tabla 7). No hubo mortalidad de peces en ninguno de los tanques durante el desarrollo del experimento.

**Tabla 7.** Desempeño total de los *Paralichthys orbignyanus* “grandes” durante los 60 días que duró el experimento

	Tratamientos			
	V0 (n=23)	V25 (n=23)	V60 (n=23)	V100 (n=23)
Peso día 60 (g)	6,66 ± 2,76b	7,99 ± 1,88ab	9,51 ± 3,71a	8,02 ± 2,49ab
LT día 60 (cm)	8,03 ± 1,09b	8,70 ± 0,77ab	9,10 ± 1,13a	8,67 ± 0,86ab
K día 60	1,23 ± 0,05a	1,19 ± 0,03b	1,21 ± 0,03ab	1,20 ± 0,03b
CR Total	2,67 ± 0,70b	3,17 ± 0,40a	3,50 ± 1,22a	3,22 ± 0,50a
TCE Total	1,61 ± 0,40b	1,94 ± 0,24a	2,15 ± 0,43a	1,96 ± 0,24a
TCA Total (n=1)	2,65	2,12	1,77	2,20

Valores (media ± desvío estándar) en la misma fila con letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). LT= longitud total en cm; K= factor de condición; CR (crecimiento relativo); TCE= tasa de crecimiento específico; TCA (tasa de conversión alimentaria); n= tamaño de la muestra.

### 3. Composición bioquímica de los peces

La proporción de lípidos de los peces se vió afectada solo por la dieta ( $p < 0,05$ ), mientras que el porcentaje de humedad, la proporción de LP, de LN y la IRL se vieron afectadas tanto por la dieta como por el tiempo ( $p < 0,05$ ). Finalmente, la IRL fue la única variable que presentó interacción entre los 2 factores considerados ( $p < 0,05$ ) (Tabla 8).

**Tabla 8.** Resultados de los ANOVA de 2 vías de los contenidos de lípidos y de humedad de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus*

Variables	Factor 1 (Dieta)		Factor 2 (Tiempo)		Interacción	
	Estadístico (F)	p-valor	Estadístico (F)	p-valor	Estadístico (F)	p-valor
Lípidos (%PH)	8,9750	0,0001	0,0338	0,8551	0,6419	0,5926
Lípidos (%PS)	5,2710	0,0037	1,8330	0,1834	0,8338	0,4833
Humedad %	7,1540	0,0006	11,9500	0,0013	1,5450	0,2178
% LP	10,1000	<0,0001	35,3400	<<0,0001	1,8590	0,1529
% LN	11,0700	<0,0001	37,4900	<<0,0001	1,8550	0,1528
IRL	3,5600	0,0267	68,7400	<<0,0001	3,9090	0,0189

El factor 1 (Dietas) tiene 4 niveles (las 4 dietas experimentales: V0, V25, V60 y V100). El factor 2 (Tiempo) tiene 2 niveles (las 2 biometrías: luego de 34 y de 60 días de experimento). %PH= % del peso húmedo; %PS= % del peso seco; % LP= % de lípidos polares; % LN= % de lípidos neutros; IRL= incorporación relativa de lípidos.

#### 3.1. Composición de ácidos grasos de los lípidos totales de los peces

La relación EPA/ARA es la única variables dentro de las consideradas que no resultó afectada por la dieta ( $p > 0,05$ ). Las proporciones de LA, LNA, ARA, DHA, 18:1n-9, 20:3n-6, 20:3n-3, 22:4n-6, 22:5n-3 y MUFA resultaron afectadas tanto por la dieta como por el tiempo ( $p < 0,05$ ), mientras que las proporciones de 16:1n-7, 20:3n-6, 20:4n-3, 22:4n-6, 22:5n-3, ARA, EPA y DHA presentaron interacción entre los 2 factores considerados (Tabla 9).

**Tabla 9.** Resultados de los ANOVA de 2 vías de la composición de ácidos grasos de los lípidos totales de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus*

AG (mg/g)	Factor 1 (Dieta)		Factor 2 (Tiempo)		Interacción	
	Estadístico (F)	p-valor	Estadístico (F)	p-valor	Estadístico (F)	p-valor
14:0	23,0200	<<0,0001	0,0016	0,9678	2,1030	0,1151
16:0	12,9100	<0,0001	1,4410	0,2371	0,4824	0,6964
16:1n-7	132,9000	<<0,0001	0,5196	0,4752	4,1520	0,0119
18:0	7,0250	0,0007	3,0850	0,0867	0,2216	0,8808
18:1n-9	28,6100	<<0,0001	8,8660	0,0049	0,9034	0,4480
18:1n-7	18,2000	<<0,0001	0,0005	0,9825	1,3910	0,2595
18:2n-6 (LA)	131,1000	<<0,0001	6,1480	0,0175	0,8544	0,4726
18:3n-6	10,7500	<0,0001	2,3000	0,1377	0,1633	0,9204
18:3n-3 (LNA)	228,6000	<<0,0001	9,8260	0,0032	0,4530	0,7166
18:4n-3	62,1600	<<0,0001	0,0025	0,9606	2,5230	0,0713
20:1n-9	73,7200	<<0,0001	0,0060	0,9385	2,1230	0,1125
20:2n-6	7,8720	0,0003	0,0027	0,9585	0,4224	0,7380
20:3n-6	20,8700	<<0,0001	9,3530	0,0040	3,2170	0,0328
20:4n-6 (ARA)	74,7100	<<0,0001	5,8120	0,0206	3,3060	0,0297
20:3n-3	101,1000	<<0,0001	17,2900	0,0002	0,5174	0,6727
20:4n-3	81,4200	<<0,0001	0,0443	0,8343	3,1340	0,0360
20:5n-3 (EPA)	48,8100	<<0,0001	2,4760	0,1235	2,8560	0,0490
22:4n-6	44,8600	<<0,0001	6,3780	0,0156	3,6760	0,0198
22:5n-6	32,6300	<<0,0001	1,1000	0,3005	0,8416	0,4792
22:5n-3	28,3400	<<0,0001	4,4380	0,0415	3,3310	0,0289
22:6n-3 (DHA)	61,8500	<<0,0001	4,9050	0,0325	2,8560	0,0490
SAFA	10,7100	<0,0001	1,1120	0,2979	0,5635	0,6423
MUFA	11,9300	<0,0001	5,9550	0,0192	0,8215	0,4897
PUFA	17,7800	<<0,0001	1,6650	0,2043	0,2231	0,8798
n-3	13,9900	<0,0001	2,3510	0,1331	0,2564	0,8563
n-6	56,4400	<<0,0001	3,0070	0,0606	0,6233	0,6041
n-3HUFA	48,2900	<<0,0001	2,4700	0,1239	2,4340	0,0789
n-6HUFA	66,3800	<<0,0001	3,3920	0,0729	2,6750	0,0601
n-3/n-6	53,5900	<<0,0001	0,2347	0,6307	1,5590	0,2142
DHA/EPA	6,8480	0,0008	2,2880	0,1383	1,0480	0,3819
DHA/ARA	5,3290	0,0035	0,4829	0,4911	0,8547	0,4724
EPA/ARA	1,5980	0,2050	1,2970	0,2616	0,2925	0,8305

El factor 1 (Dietas) tiene 4 niveles (las 4 dietas experimentales: V0, V25, V60 y V100). El factor 2 (Tiempo) tiene 2 niveles (las 2 biometrías: luego de 34 y de 60 días de experimento).

### 3.2. Composición de ácidos grasos de los lípidos polares de los peces

La proporción de PUFA es la única variable dentro de las consideradas que no resultó afectada por la dieta ( $p>0,05$ ). Las proporciones de 18:0, LA, 18:4n-3, 20:1n-9 y la relación DHA/EPA resultaron afectadas por la dieta ( $p<0,05$ ) pero no por el tiempo ( $p>0,05$ ),

mientras que las proporciones de LNA, DHA, 22:5n-3, n-3 HUFA y las relaciones n-3/n-6, DHA/EPA, DHA/ARA y EPA/ARA presentaron interacción entre los 2 factores considerados ( $p < 0,05$ ) (Tabla 10).

**Tabla 10.** Resultados de los ANOVA de 2 vías de la composición de ácidos grasos de los lípidos polares de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus*

AG (% de área)	Factor 1 (Dieta)		Factor 2 (Tiempo)		Interacción	
	Estadístico (F)	p-valor	Estadístico (F)	p-valor	Estadístico (F)	p-valor
14:0	29,1400	<<0,0001	28,5900	<0,0001	1,8720	0,1499
16:0	31,6700	<<0,0001	10,3800	0,0025	0,4878	0,6927
16:1n-7	183,5000	<<0,0001	11,9100	0,0013	1,1460	0,3424
18:0	17,5400	<<0,0001	1,6320	0,2089	0,2103	0,8887
18:1n-9	91,2400	<<0,0001	30,4400	<0,0001	1,7320	0,1760
18:1n-7	48,8600	<<0,0001	9,4420	0,0038	2,0950	0,1161
18:2n-6 (LA)	909,0000	<<0,0001	2,4240	0,1274	0,9003	0,4495
18:3n-6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
18:3n-3 (LNA)	1478,0000	<<0,0001	39,2800	<<0,0001	4,9070	0,0054
18:4n-3	30,4200	<<0,0001	0,6252	0,4338	1,0500	0,3811
20:1n-9	64,2900	<<0,0001	0,6392	0,4287	0,6858	0,5660
20:2n-6	10,4000	<0,0001	43,6800	<<0,0001	0,9827	0,4106
20:3n-6	18,6800	<<0,0001	26,2100	<0,0001	1,8920	0,1465
20:4n-6 (ARA)	131,7000	<<0,0001	155,2000	<<0,0001	1,2350	0,3097
20:3n-3	263,3000	<<0,0001	11,3300	0,0017	1,9750	0,1332
20:4n-3	54,0300	<<0,0001	14,0300	0,0006	0,8353	0,4825
20:5n-3 (EPA)	67,6700	<<0,0001	76,5800	<<0,0001	1,4140	0,2528
22:4n-6	63,3700	<<0,0001	17,2300	0,0002	1,9790	0,1331
22:5n-6	34,1000	<<0,0001	17,5400	0,0001	2,4720	0,0756
22:5n-3	30,3800	<<0,0001	31,9700	<0,0001	6,4490	0,0012
22:6n-3 (DHA)	119,7000	<<0,0001	40,7700	<<0,0001	6,2780	0,0014
SAFA	10,2200	<0,0001	17,0500	0,0002	0,0908	0,9647
MUFA	8,0820	0,0002	28,4500	<0,0001	1,5170	0,2249
PUFA	0,8821	0,4585	26,7100	<0,0001	0,2916	0,8312
n-3	3,5140	0,0237	9,9020	0,0031	0,8985	0,4504
n-6	167,0000	<<0,0001	49,9100	<<0,0001	0,2631	0,8515
n-3HUFA	89,3600	<<0,0001	43,3500	<<0,0001	4,3020	0,0101
n-6HUFA	101,5000	<<0,0001	93,5300	<<0,0001	2,0080	0,1283
n-3/n-6	211,1000	<<0,0001	15,0300	0,0004	6,1600	0,0015
DHA/EPA	43,7200	<<0,0001	0,1110	0,7408	10,5800	<0,0001
DHA/ARA	8,6100	0,0002	31,6300	<0,0001	3,5120	0,0237
EPA/ARA	62,2300	<<0,0001	68,9400	<<0,0001	7,2620	0,0005

El factor 1 (Dietas) tiene 4 niveles (las 4 dietas experimentales: V0, V25, V60 y V100). El factor 2 (Tiempo) tiene 2 niveles (las 2 biometrías: luego de 34 y de 60 días de experimento). n.d.: no detectado.

### 3.3. Composición de ácidos grasos de los lípidos neutros de los peces

La relación EPA/ARA es la única variables dentro de las consideradas que no resultó afectada por la dieta ( $p>0,05$ ). Las proporciones de 16:0, 18:0, 18:1n-9, 20:2n-6, 20:4n-3, ARA, 22:4n-6, SAFA, MUFA, PUFA, n-3, n-6, n-6 HUFA y las relaciones n-3/n-6, DHA/EPA y DHA/ARA resultaron afectadas por la dieta ( $p<0,05$ ) pero no por el tiempo ( $p>0,05$ ). Las proporciones de 16:1n-7, 18:4n-3, ARA, EPA, 20:4n-3, 22:5n-3 y n-6 HUFA presentaron interacciones entre los 2 factores considerados ( $p<0,05$ ) (Tabla 11).

**Tabla 11.** Resultados de los ANOVA de 2 vías de la composición de ácidos grasos de los lípidos neutros de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus*

AG (% de área)	Factor 1 (Dieta)		Factor 2 (Tiempo)		Interacción	
	Estadístico (F)	p-valor	Estadístico (F)	p-valor	Estadístico (F)	p-valor
14:0	71,9600	<<0,0001	9,8970	0,0031	2,5320	0,0706
16:0	49,2900	<<0,0001	0,3641	0,5496	0,0703	0,9755
16:1n-7	270,7000	<<0,0001	5,8260	0,0205	4,2280	0,0109
18:0	5,3790	0,0033	3,2480	0,0790	0,8008	0,5008
18:1n-9	50,3100	<<0,0001	3,7940	0,0585	1,3920	0,2592
18:1n-7	60,8100	<<0,0001	7,3690	0,0097	2,0270	0,1254
18:2n-6 (LA)	371,6000	<<0,0001	4,6010	0,0381	1,9480	0,1374
18:3n-6	37,9700	<<0,0001	28,6900	<0,0001	1,6070	0,2047
18:3n-3 (LNA)	606,3000	<<0,0001	6,9010	0,0121	0,6740	0,5731
18:4n-3	187,6000	<<0,0001	11,9000	0,0013	4,3910	0,0092
20:1n-9	188,6000	<<0,0001	5,8640	0,0201	1,3740	0,2645
20:2n-6	31,9700	<<0,0001	1,1910	0,2816	0,1327	0,9400
20:3n-6	19,6800	<<0,0001	5,1610	0,0290	0,9650	0,4195
20:4n-6 (ARA)	149,3000	<<0,0001	1,2720	0,2660	5,7910	0,0022
20:3n-3	187,3000	<<0,0001	23,2800	<0,0001	1,0720	0,3717
20:4n-3	251,2000	<<0,0001	4,0430	0,0511	5,0650	0,0046
20:5n-3 (EPA)	131,1000	<<0,0001	11,6400	0,0015	3,9190	0,0152
22:4n-6	41,4900	<<0,0001	0,7023	0,4074	1,5190	0,2256
22:5n-6	68,4900	<<0,0001	8,9900	0,0047	0,7550	0,5260
22:5n-3	55,9100	<<0,0001	10,1800	0,0028	2,9260	0,0453
22:6n-3 (DHA)	109,9000	<<0,0001	5,6080	0,0228	2,4330	0,0790
SAFA	58,4400	<<0,0001	1,5530	0,2199	0,1361	0,9379
MUFA	17,8400	<<0,0001	0,1728	0,6798	0,2811	0,8387
PUFA	53,6900	<<0,0001	0,2629	0,6109	0,0886	0,9659
n-3	31,4600	<<0,0001	0,9093	0,3460	0,5616	0,6435
n-6	214,0000	<<0,0001	3,4580	0,0703	1,5260	0,2225
n-3HUFA	126,9000	<<0,0001	6,8370	0,0125	2,7330	0,0563
n-6HUFA	205,8000	<<0,0001	2,1360	0,1517	5,1220	0,0043
n-3/n-6	37,2900	<<0,0001	0,0016	0,9687	1,5600	0,2140
DHA/EPA	6,9910	0,0007	0,0193	0,8902	0,1948	0,8993
DHA/ARA	5,3380	0,0035	3,8390	0,0571	0,2932	0,8301
EPA/ARA	0,4471	0,7207	5,2110	0,0278	0,2066	0,8912

El factor 1 (Dietas) tiene 4 niveles (las 4 dietas experimentales: V0, V25, V60 y V100). El factor 2 (Tiempo) tiene 2 niveles (las 2 biometrías: luego de 34 y de 60 días de experimento).

#### 4. Composición bioquímica de los peces luego de 34 días del experimento

Luego de la primera mitad del experimento (día 0 al día 34) los tratamientos V25 y V60 presentaron mayor proporción de lípidos que el V0 ( $p < 0,05$ ). Esto se reflejó también en una mayor proporción de LN en los tratamientos V25 y V60 con respecto al V0 ( $p < 0,05$ ). La proporción de LN en el tratamiento V60 también fue mayor que en el V100 ( $p < 0,05$ ). La proporción de lípidos en peso seco y la IRL en el tratamiento V25 fueron mayores que en el V100 ( $p < 0,05$ ). Los tratamientos V0 y V100 presentaron mayor porcentaje de humedad que el V60 ( $p < 0,05$ ), mientras que no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos V0 y V100 en ninguna de las variables estudiadas ( $p > 0,05$ ). Luego de 34 días de experimento los peces mostraron mayor proporción de lípidos totales y de LN, pero menor porcentaje de humedad que al inicio (Tabla 12).

**Tabla 12.** Contenido de lípidos y humedad de los *Paralichthys orbignyanus* al comienzo y luego de 34 días de experimento

	Tratamientos				
	Inicial ( $n=3$ ) <sup>1</sup>	V0 ( $n=6$ )	V25 ( $n=6$ )	V60 ( $n=6$ )	V100 ( $n=6$ )
Lípidos (%PH)	1,71 ± 0,11	2,67 ± 0,36b	3,74 ± 0,24a	3,64 ± 0,40a	2,92 ± 0,50b
Lípidos (%PS)	8,50 ± 0,57	11,46 ± 0,73c	15,14 ± 1,49a	13,98 ± 1,20ab	12,82 ± 1,94bc
Humedad %	79,89 ± 0,03	76,81 ± 1,77a	75,22 ± 1,82ab	74,00 ± 1,35b	77,24 ± 1,61a
% LP	33,43	31,90 ± 4,33a	25,18 ± 2,68b	24,31 ± 2,84b	30,06 ± 4,19ab
% LN	66,57	68,10 ± 4,33c	74,82 ± 2,68ab	75,69 ± 2,84a	69,94 ± 4,19bc
IRL	-	1,35 ± 0,09c	1,78 ± 0,18a	1,64 ± 0,14ab	1,51 ± 0,23bc

<sup>1</sup> Composición de los peces al inicio del experimento (alimentados con la dieta DC en agua de mar).

Valores (media ± desvío estándar de las 3 réplicas) en la misma fila con letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). %PH= % del peso húmedo; %PS= % del peso seco; % LP= % de lípidos polares; % LN= % de lípidos neutros; IRL= incorporación relativa de lípidos.  $n$ = tamaño de la muestra.

##### 4.1. Composición de ácidos grasos de los lípidos totales de los peces luego de 34 días de experimento

La composición de AG de los peces en general reflejó la composición de las dietas que consumieron. Las proporciones de LNA y LA aumentaron ( $p < 0,05$ ) mientras que las de n-3 HUFA, DHA y EPA disminuyeron ( $p < 0,05$ ) conforme aumentó el porcentaje de sustitución del aceite de pescado por las mezclas de aceites vegetales en la dieta. Las proporciones de 18:4n-3, 20:4n-3 y 22:5n-3, y la relación n-3/n-6 disminuyeron significativamente ( $p < 0,05$ ) con la disminución del porcentaje de aceite de pescado en la dieta, mientras que la proporción de 20:3n-3 aumentó ( $p < 0,05$ ). La proporción de n-3 en el

tratamiento V0 fue significativamente menor que en los demás ( $p < 0,05$ ). Las proporciones de ARA y de n-6 HUFA disminuyeron significativamente ( $p < 0,05$ ) con la reducción del porcentaje de aceite de pescado en la dieta, mientras que la proporción de n-6 aumentó ( $p < 0,05$ ). Las proporciones de 22:4n-6 y 22:5n-6 en los tratamientos V0 y V25 fueron significativamente mayores que en el V100 ( $p < 0,05$ ). La proporción de 20:2n-6 en los tratamientos V0 y V100 fue significativamente menor que en el V25 ( $p < 0,05$ ), mientras que la proporción de 20:3n-6 fue significativamente mayor en el V25 que en el V100 ( $p < 0,05$ ). Los MUFA fueron los AG predominantes en los peces del tratamiento V0, mientras que en los demás tratamientos los AG predominantes fueron los PUFA seguidos de los MUFA. La relación DHA/EPA en el tratamiento V100 fue significativamente menor que en el V0 ( $p < 0,05$ ). La proporción de 18:3n-6 y las relaciones DHA/ARA y EPA/ARA no mostraron diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0,05$ ) (Tabla 13).

**Tabla 13.** Composición de ácidos grasos de los lípidos totales de los *Paralichthys orbignyanus* al comienzo y luego de 34 días de experimento <sup>1</sup>

AG (mg/g)	Inicial (n=1) <sup>2</sup>	Tratamientos			
		V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)
14:0	2,50	2,78 ± 0,46ab	3,39 ± 0,38a	2,55 ± 0,23b	1,72 ± 0,51c
16:0	9,59	14,28 ± 1,56b	17,58 ± 1,62a	14,47 ± 1,03b	10,58 ± 2,05c
16:1n-7	2,69	5,53 ± 0,57a	6,05 ± 0,57a	4,09 ± 0,26b	1,90 ± 0,65c
18:0	2,79	3,07 ± 0,36b	4,41 ± 0,34a	4,24 ± 0,41a	4,08 ± 0,55a
18:1n-9	6,85	12,64 ± 1,25c	17,68 ± 1,73b	24,53 ± 1,76a	19,11 ± 2,88b
18:1n-7	2,07	2,78 ± 0,26ab	3,51 ± 0,35a	2,60 ± 0,28bc	2,01 ± 0,61b
18:2n-6 (LA)	1,99	1,55 ± 0,29c	4,38 ± 0,32b	6,96 ± 0,48a	8,34 ± 1,47a
18:3n-6	0,08	0,12 ± 0,02	0,12 ± 0,02	0,09 ± 0,04	0,06 ± 0,03
18:3n-3 (LNA)	0,49	0,70 ± 0,08d	8,72 ± 1,28c	15,08 ± 1,59b	19,22 ± 4,12a
18:4n-3	0,62	0,98 ± 0,14ab	1,21 ± 0,14a	0,76 ± 0,07b	0,49 ± 0,16c
20:1n-9	0,59	1,27 ± 0,17ab	1,56 ± 0,17a	1,02 ± 0,13b	0,50 ± 0,15c
20:2n-6	0,15	0,22 ± 0,02b	0,29 ± 0,05a	0,24 ± 0,02ab	0,19 ± 0,05b
20:3n-6	0,09	0,12 ± 0,03ab	0,15 ± 0,03a	0,13 ± 0,04ab	0,08 ± 0,03b
20:4n-6 (ARA)	0,86	0,99 ± 0,15a	1,08 ± 0,14a	0,65 ± 0,06b	0,45 ± 0,13c
20:3n-3	0,10	0,15 ± 0,02c	0,49 ± 0,12b	0,77 ± 0,12a	0,89 ± 0,22a
20:4n-3	0,25	0,42 ± 0,05ab	0,51 ± 0,06a	0,33 ± 0,04b	0,16 ± 0,06c
20:5n-3 (EPA)	3,08	3,77 ± 0,69ab	4,42 ± 0,63a	2,72 ± 0,30b	1,88 ± 0,73c
22:4n-6	0,10	0,22 ± 0,04a	0,28 ± 0,08a	0,18 ± 0,06	0,10 ± 0,06b
22:5n-6	0,27	0,40 ± 0,07ab	0,45 ± 0,08a	0,31 ± 0,04b	0,21 ± 0,06c
22:5n-3	1,53	1,46 ± 0,36ab	1,88 ± 0,49a	1,19 ± 0,20bc	0,84 ± 0,38c
22:6n-3 (DHA)	6,56	8,56 ± 1,69a	9,31 ± 1,83a	5,58 ± 0,83b	3,55 ± 1,40c
SAFA	16,49	22,12 ± 2,55b	27,69 ± 2,57a	23,14 ± 1,90ab	17,86 ± 3,46c
MUFA	13,71	24,68 ± 2,46b	31,97 ± 3,03a	34,22 ± 2,50a	24,85 ± 4,60b
PUFA	17,61	21,60 ± 3,69b	35,49 ± 4,59a	36,48 ± 3,30a	37,50 ± 8,90a
n-3	12,63	16,08 ± 2,87b	26,55 ± 3,89a	26,45 ± 2,63a	27,06 ± 6,94a
n-6	3,57	3,66 ± 0,55c	6,79 ± 0,58b	8,58 ± 0,58a	9,46 ± 1,74a
n-3HUFA	11,52	14,39 ± 2,72ab	16,61 ± 2,97a	10,61 ± 1,36bc	7,34 ± 2,78c
n-6HUFA	1,32	1,73 ± 0,28a	1,96 ± 0,32a	1,26 ± 0,16b	0,83 ± 0,26c
n-3/n-6	3,54	4,39 ± 0,31a	3,91 ± 0,38b	3,08 ± 0,12c	2,83 ± 0,24c
DHA/EPA	2,13	2,27 ± 0,19a	2,09 ± 0,16ab	2,05 ± 0,15ab	1,89 ± 0,21b
DHA/ARA	7,59	8,65 ± 0,72	8,57 ± 0,68	8,63 ± 0,70	7,72 ± 1,19
EPA/ARA	3,56	3,82 ± 0,28	4,10 ± 0,23	4,22 ± 0,22	4,09 ± 0,56

<sup>1</sup> Valores expresados como mg/g de materia seca.

<sup>2</sup> Composición de AG de los peces al inicio del experimento (alimentados con la dieta DC en agua de mar).

Valores (media ± desvío estándar de las 3 réplicas) en la misma fila con letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05). n= tamaño de la muestra.

#### 4.2. *Composición de ácidos grasos de los lípidos polares de los peces luego de 34 días de experimento*

Los LP de los peces en general reflejaron la composición de AG de las dietas. Las proporciones de LNA y LA aumentaron mientras que las de 18:4n-3, 20:4n-3, DHA, EPA, ARA, n-3 HUFA y n-6 HUFA disminuyeron ( $p < 0,05$ ) conforme aumentó el porcentaje de sustitución del aceite de pescado por las mezclas de aceites vegetales en la dieta. Los porcentajes de 18:3n-6, 20:2n-6, 20:3n-6, 22:5n-3 y n-3 no mostraron diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0,05$ ). Los porcentajes de 20:3n-3 y de n-6, así como la relación EPA/ARA aumentaron significativamente ( $p < 0,05$ ) con el incremento de la proporción de aceites vegetales en la dieta, mientras que el porcentaje de 22:4n-6 y la relación n-3/n-6 disminuyeron ( $p < 0,05$ ). La proporción de 22:5n-6 y la relación DHA/EPA en el tratamiento V100 fueron significativamente menores que en los demás ( $p < 0,05$ ). Los PUFA fueron los AG predominantes en los 4 tratamientos, seguidos de los SAFA. No se observaron diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0,05$ ) en los porcentajes de SAFA, MUFA y PUFA, ni en la relación DHA/ARA (Tabla 14).

**Tabla 14.** Composición de ácidos grasos de los lípidos polares de los *Paralichthys orbignyanus* al comienzo y luego de 34 días de experimento <sup>1</sup>

AG (% de área)	Inicial (n=1)	Tratamientos			
		V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)
14:0	2,65	1,88 ± 0,28a	1,83 ± 0,30a	1,63 ± 0,33ab	1,30 ± 0,21b
16:0	22,54	22,05 ± 1,81a	21,06 ± 1,39ab	18,95 ± 1,03bc	17,67 ± 1,61c
16:1n-7	2,08	3,02 ± 0,29a	2,58 ± 0,09b	1,88 ± 0,28c	1,07 ± 0,16d
18:0	10,12	8,11 ± 0,96b	8,71 ± 0,44ab	8,76 ± 0,35ab	9,70 ± 0,57a
18:1n-9	12,73	14,30 ± 0,60b	14,50 ± 1,27b	18,34 ± 0,41a	19,48 ± 1,89a
18:1n-7	3,34	3,46 ± 0,30a	3,18 ± 0,16a	2,48 ± 0,23b	2,21 ± 0,19b
18:2n-6 (LA)	2,60	1,78 ± 0,16d	3,33 ± 0,37c	6,04 ± 0,38b	9,85 ± 0,66a
18:3n-6	0,11	0,17 ± 0,10	0,09 ± 0,02	0,14 ± 0,10	0,10 ± 0,02
18:3n-3 (LNA)	0,48	0,47 ± 0,10d	3,14 ± 0,22c	6,01 ± 0,59b	12,11 ± 1,41a
18:4n-3	0,41	0,41 ± 0,07a	0,39 ± 0,04ab	0,31 ± 0,03bc	0,26 ± 0,05c
20:1n-9	0,80	1,04 ± 0,09a	0,97 ± 0,11a	0,79 ± 0,03b	0,63 ± 0,14b
20:2n-6	0,29	0,36 ± 0,07	0,33 ± 0,02	0,39 ± 0,05	0,38 ± 0,06
20:3n-6	0,17	0,18 ± 0,04	0,18 ± 0,04	0,14 ± 0,04	0,12 ± 0,05
20:4n-6 (ARA)	2,31	2,64 ± 0,35a	2,43 ± 0,40a	1,68 ± 0,16b	1,20 ± 0,20c
20:3n-3	0,17	0,18 ± 0,03d	0,47 ± 0,08c	0,79 ± 0,11b	1,39 ± 0,24a
20:4n-3	0,27	0,37 ± 0,05a	0,29 ± 0,04b	0,23 ± 0,02b	0,15 ± 0,03c
20:5n-3 (EPA)	4,65	4,96 ± 0,81a	4,24 ± 0,56ab	3,54 ± 0,27bc	2,83 ± 0,43c
22:4n-6	0,31	0,41 ± 0,04a	0,36 ± 0,04ab	0,29 ± 0,02b	0,18 ± 0,08c
22:5n-6	0,79	1,01 ± 0,20a	1,04 ± 0,28a	0,98 ± 0,23a	0,57 ± 0,19b
22:5n-3	2,62	2,29 ± 0,47	2,17 ± 0,45	2,00 ± 0,24	1,62 ± 0,48
22:6n-3 (DHA)	19,60	21,38 ± 3,19a	18,77 ± 3,03ab	15,46 ± 1,69b	9,98 ± 2,31c
SAFA	39,97	36,11 ± 3,44	36,24 ± 2,67	33,94 ± 2,14	32,25 ± 2,71
MUFA	21,35	24,12 ± 1,42	23,50 ± 1,78	25,35 ± 0,86	24,89 ± 2,49
PUFA	38,68	39,77 ± 4,52	40,26 ± 4,06	40,71 ± 2,80	42,87 ± 5,18
n-3	28,19	30,11 ± 4,19	29,50 ± 3,95	28,37 ± 2,66	28,38 ± 4,56
n-6	6,58	6,55 ± 0,71c	7,78 ± 0,90c	9,74 ± 0,54b	12,44 ± 1,10a
n-3HUFA	27,31	29,21 ± 4,29a	25,94 ± 3,89ab	22,04 ± 2,13b	15,99 ± 3,35c
n-6HUFA	3,58	4,23 ± 0,57a	4,01 ± 0,69a	3,09 ± 0,29b	2,06 ± 0,49c
n-3/n-6	4,29	4,59 ± 0,26a	3,81 ± 0,43b	2,91 ± 0,17c	2,27 ± 0,20d
DHA/EPA	4,21	4,35 ± 0,53a	4,45 ± 0,62a	4,37 ± 0,30a	3,51 ± 0,55b
DHA/ARA	8,47	8,12 ± 0,75	7,86 ± 1,47	9,25 ± 0,94	8,28 ± 1,21
EPA/ARA	2,01	1,88 ± 0,15c	1,76 ± 0,14c	2,11 ± 0,09b	2,37 ± 0,15a

<sup>1</sup> Valores expresados como % del total de los ácidos grasos presentes en los lípidos polares.

Valores (media ± desvío estándar de las 3 réplicas) en la misma fila con letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05). n= tamaño de la muestra.

#### 4.3. *Composición de ácidos grasos de los lípidos neutros de los peces luego de 34 días de experimento*

La composición de AG de los LN de los peces también reflejó de manera general la composición de las dietas. Los porcentajes de LNA y LA aumentaron ( $p < 0,05$ ) mientras que los de 18:4n-3, 20:4n-3, DHA, EPA, ARA, 22:5n-3, 20:2n-6, 22:4n-6, 22:5n-6, n-3 HUFA y n-6 HUFA disminuyeron ( $p < 0,05$ ) con el aumento del porcentaje de sustitución del aceite de pescado por las mezclas de aceites vegetales en la dieta. El porcentaje de 18:3n-6 en el tratamiento V0 fue significativamente mayor que en los tratamientos V60 y V100 ( $p < 0,05$ ), mientras que el porcentaje de 20:3n-6 en los tratamientos V0 y V25 fue mayor que en el V100 ( $p < 0,05$ ). Los porcentajes de 20:3n-3, n-3 y n-6 aumentaron significativamente ( $p < 0,05$ ) con el incremento de la proporción de aceites vegetales en la dieta, mientras que la relación n-3/n-6 disminuyó significativamente ( $p < 0,05$ ). La relación DHA/EPA en el tratamiento V100 fue significativamente menor que en los tratamientos V0 y V25 ( $p < 0,05$ ), mientras que no se observaron diferencias significativas entre tratamientos en las relaciones DHA/ARA ni EPA/ARA ( $p > 0,05$ ). Los MUFA fueron los AG predominantes en el tratamiento V0, mientras que en los demás tratamientos los AG predominantes fueron los PUFA seguidos de los MUFA. Los porcentajes de SAFA y MUFA disminuyeron significativamente ( $p < 0,05$ ) con el incremento de la proporción de aceites vegetales en la dieta, mientras que el porcentaje de PUFA aumentó significativamente ( $p < 0,05$ ) (Tabla 15).

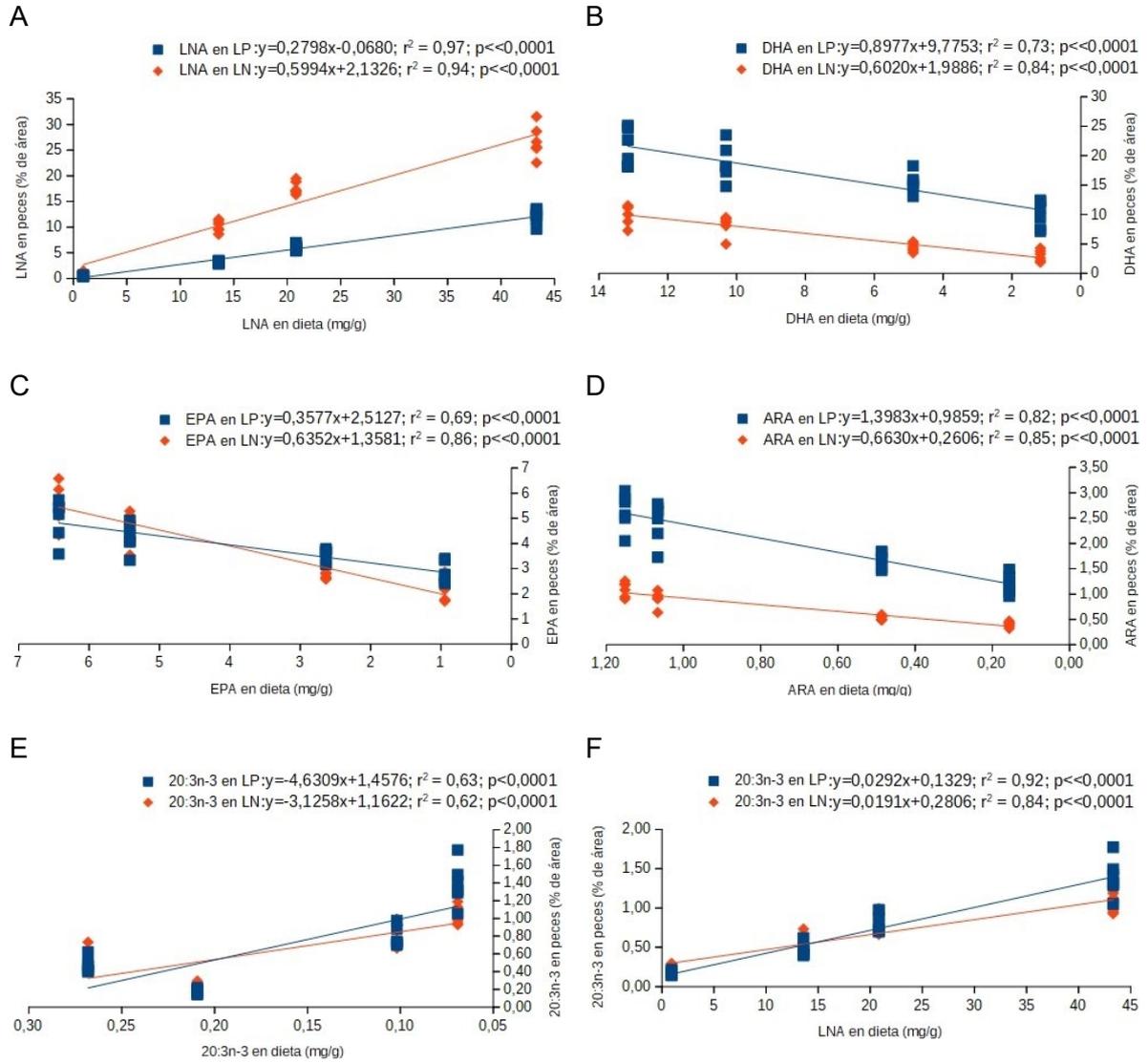
El aumento del contenido de LNA en la dieta provocó el aumento de su proporción tanto en los AG de los LP como en los AG de LN de los peces ( $p < 0,05$ ), resultando mayor la proporción de LNA en los AG de los LN (Figura 5A). La disminución de los contenidos de DHA, EPA y ARA en la dieta provocaron la disminución de sus proporciones tanto en los AG de los LP como en los AG de los LN de los peces ( $p < 0,05$ ), pero a diferencia de lo observado para el LNA, las proporciones de DHA y de ARA resultaron mayores en los AG de los LP (Figura 5B, 5C y 5D). En lo que respecta al EPA, se observa que cuando sus niveles dietarios fueron elevados, su proporción fue mayor en los AG de los LN de los peces, pero cuando los valores dietarios de EPA fueron bajos, su proporción fue mayor en los AG de los LP de los peces (Figura 5C). Los porcentajes de 20:3n-3 en los AG de los LP y de los LN de los peces muestran una relación negativa con el contenido de 20:3n-3 de la dieta ( $p < 0,05$ ) (Figura 5E), pero muestran una relación positiva con el contenido de LNA de la dieta ( $p < 0,05$ ) (Figura 5F).

**Tabla 15.** Composición de ácidos grasos de los lípidos neutros de los *Paralichthys orbignyanus* al comienzo y luego de 34 días de experimento <sup>1</sup>

AG (% de área)	Inicial (n=1)	Tratamientos			
		V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)
14:0	5,94	4,64 ± 0,34a	3,87 ± 0,42b	2,90 ± 0,38c	2,31 ± 0,40d
16:0	19,38	20,60 ± 1,15a	18,05 ± 1,01b	14,91 ± 1,03c	12,19 ± 1,33d
16:1n-7	6,60	9,49 ± 0,69a	7,00 ± 0,40b	4,75 ± 0,27c	2,62 ± 0,54d
18:0	4,67	3,52 ± 0,21b	3,70 ± 0,23ab	3,86 ± 0,26ab	4,10 ± 0,46a
18:1n-9	14,78	19,66 ± 1,52b	19,27 ± 1,13b	27,34 ± 0,71a	25,08 ± 1,94a
18:1n-7	4,60	4,22 ± 0,12a	3,78 ± 0,23a	2,82 ± 0,26b	2,51 ± 0,39b
18:2n-6 (LA)	4,60	2,38 ± 0,36d	4,82 ± 0,22c	7,62 ± 0,25b	10,59 ± 0,72a
18:3n-6	0,19	0,17 ± 0,02a	0,14 ± 0,02ab	0,11 ± 0,03b	0,10 ± 0,02b
18:3n-3 (LNA)	1,17	1,18 ± 0,14d	10,16 ± 1,09c	17,61 ± 1,26b	26,73 ± 3,08a
18:4n-3	1,55	1,71 ± 0,15a	1,42 ± 0,12b	0,89 ± 0,06c	0,68 ± 0,10d
20:1n-9	1,34	2,08 ± 0,26a	1,75 ± 0,11b	1,12 ± 0,10c	0,61 ± 0,12d
20:2n-6	0,31	0,31 ± 0,03a	0,30 ± 0,03a	0,23 ± 0,02b	0,20 ± 0,04b
20:3n-6	0,19	0,18 ± 0,03a	0,15 ± 0,03a	0,13 ± 0,05ab	0,09 ± 0,04b
20:4n-6 (ARA)	1,67	1,10 ± 0,15a	0,91 ± 0,15a	0,53 ± 0,04b	0,40 ± 0,05b
20:3n-3	0,21	0,23 ± 0,03d	0,52 ± 0,11c	0,83 ± 0,12b	1,04 ± 0,11a
20:4n-3	0,59	0,68 ± 0,05a	0,57 ± 0,02b	0,36 ± 0,03c	0,20 ± 0,05d
20:5n-3 (EPA)	6,93	5,60 ± 0,80a	4,71 ± 0,65a	2,80 ± 0,25b	2,14 ± 0,49b
22:4n-6	0,18	0,31 ± 0,06a	0,29 ± 0,08a	0,17 ± 0,07b	0,11 ± 0,05b
22:5n-6	0,50	0,47 ± 0,07a	0,37 ± 0,06a	0,24 ± 0,04b	0,19 ± 0,03b
22:5n-3	3,36	2,08 ± 0,50a	1,93 ± 0,48a	1,15 ± 0,18b	0,88 ± 0,27b
22:6n-3 (DHA)	12,12	10,02 ± 1,68a	8,24 ± 1,67a	4,45 ± 0,71b	3,01 ± 0,94b
SAFA	33,00	31,40 ± 1,70a	27,94 ± 1,78b	23,29 ± 1,83c	20,05 ± 2,23d
MUFA	30,69	39,43 ± 2,77a	35,32 ± 1,86bc	38,20 ± 0,92ab	32,51 ± 2,37c
PUFA	36,32	29,17 ± 3,97c	36,75 ± 3,50b	38,51 ± 2,55b	47,44 ± 4,51a
n-3	25,94	21,56 ± 3,03c	27,59 ± 3,12b	28,09 ± 2,05b	34,73 ± 3,84a
n-6	7,70	4,98 ± 0,56d	7,02 ± 0,35c	9,04 ± 0,34b	11,69 ± 0,74a
n-3HUFA	23,22	18,64 ± 2,92a	15,99 ± 2,74a	9,59 ± 1,16b	7,31 ± 1,81b
n-6HUFA	2,55	2,05 ± 0,25a	1,72 ± 0,26a	1,07 ± 0,15b	0,79 ± 0,12c
n-3/n-6	3,37	4,32 ± 0,33a	3,93 ± 0,39a	3,10 ± 0,14b	2,97 ± 0,24b
DHA/EPA	1,75	1,79 ± 0,11a	1,74 ± 0,17a	1,59 ± 0,15ab	1,39 ± 0,17b
DHA/ARA	7,26	9,13 ± 0,95	9,04 ± 0,94	8,34 ± 0,80	7,34 ± 1,61
EPA/ARA	4,15	5,11 ± 0,35	5,22 ± 0,46	5,26 ± 0,18	5,27 ± 0,77

<sup>1</sup> Valores expresados como % del total de los ácidos grasos presentes en los lípidos neutros.

Valores (media ± desvío estándar de las 3 réplicas) en la misma fila con letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).  $n$  = tamaño de la muestra.



**Figura 5.** Efecto de los diferentes niveles de LNA, DHA, EPA, ARA y 20:3n-3 sobre su acumulación en los LP y en los LN de los juveniles de *P. orbignyanus* luego de 34 días de experimento.  $r^2$ : coeficiente de determinación.  $H_0: b=0$ ;  $H_1: b \neq 0$ , siendo "b" la pendiente de la recta.

## 5. Composición bioquímica de los peces luego de 60 días de experimento

Luego de 60 días de experimento, el tratamiento V60 presentó mayor proporción de LN que los demás ( $p < 0,05$ ), mientras que no se observaron diferencias significativas en el contenido de lípidos, el porcentaje de humedad ni en la IRL entre los tratamientos ( $p > 0,05$ ). Luego de 60 días de experimento los peces presentaron mayor proporción de lípidos totales y de LN, pero menor porcentaje de humedad que al inicio (Tabla 16).

**Tabla 16.** Contenido de lípidos y humedad de los *Paralichthys orbignyanus* al comienzo y luego de los 60 días que duró el experimento

	Inicial (n=3) <sup>1</sup>	Tratamientos			
		V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)
Lípidos (%PH)	1,71 ± 0,11	2,73 ± 0,31	3,36 ± 0,98	3,71 ± 0,33	3,13 ± 0,86
Lípidos (%PS)	8,50 ± 0,57	12,69 ± 1,35	14,48 ± 3,51	15,71 ± 1,12	13,62 ± 2,75
Humedad %	79,89 ± 0,03	78,43 ± 1,16	77,11 ± 1,41	76,40 ± 0,67	77,28 ± 1,71
% LP	33,43	24,24 ± 2,33a	23,05 ± 3,65a	19,33 ± 1,27b	23,36 ± 1,66a
% LN	66,57	75,76 ± 2,33b	76,95 ± 3,65b	80,67 ± 1,27a	76,64 ± 1,66b
IRL	-	1,11 ± 0,11	0,96 ± 0,26	1,12 ± 0,08	1,06 ± 0,24

<sup>1</sup> Composición de los peces al inicio del experimento (alimentados con la dieta DC en agua de mar).

Valores (media ± desvío estándar de las 3 réplicas) en la misma fila con letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). %PH= % del peso húmedo; %PS= % del peso seco; % LP= % de lípidos polares; % LN= % de lípidos neutros; IRL= incorporación relativa de lípidos. n= tamaño de la muestra.

### 5.1. Composición de ácidos grasos de los lípidos totales de los peces luego de 60 días de experimento

Las proporciones de LNA, LA, 20:3n-3 y n-6 aumentaron ( $p < 0,05$ ), mientras que las proporciones de 18:4n-3, DHA, EPA, ARA, 20:4n-3, 22:4n-6, 22:5n-6, 22:5n-3, n-3 HUFA, n-6 HUFA y la relación n-3/n-6 disminuyeron ( $p < 0,05$ ) conforme aumentó el porcentaje de sustitución del aceite de pescado por las mezclas de aceites vegetales en la dieta. La proporción de 18:3n-6 y la relación DHA/EPA fueron mayores en los tratamientos V0 y V25 ( $p < 0,05$ ) que en el V100, mientras que el porcentaje de 20:3n-6 en el tratamiento V100 fue significativamente menor que en los demás ( $p < 0,05$ ). El porcentaje de n-3 y de PUFA en el tratamiento V0 fue significativamente menor que en los demás ( $p < 0,05$ ), mientras que la proporción de SAFA en el tratamiento V25 fue mayor que en el V100 ( $p < 0,05$ ) y el porcentaje de MUFA en el V60 fue mayor que en el V0 y el V100 ( $p < 0,05$ ). La relación DHA/ARA fue significativamente mayor en el tratamiento V60 que en el V100 ( $p < 0,05$ ), mientras que la proporción de 20:2n-6 y la relación EPA/ARA no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ( $p > 0,05$ ). Los MUFA fueron los AG predominantes en los peces del tratamiento V0, mientras que en los demás tratamientos los AG predominantes fueron los PUFA seguidos de los MUFA (Tabla 17).

**Tabla 17.** Composición de ácidos grasos de los lípidos totales de los *Paralichthys orbignyana* al comienzo y luego de 60 días de experimento <sup>1</sup>

AG (mg/g)	Inicial (n=1) <sup>2</sup>	Tratamientos			
		V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)
14:0	2,50	3,52 ± 0,92a	3,14 ± 0,90a	2,70 ± 0,54a	1,33 ± 0,61b
16:0	9,59	16,89 ± 3,94a	17,83 ± 5,76a	16,06 ± 2,15ab	10,76 ± 2,68b
16:1n-7	2,69	6,71 ± 0,34a	6,12 ± 1,23a	4,61 ± 0,25b	1,33 ± 0,64c
18:0	2,79	3,53 ± 0,80	4,36 ± 1,23	4,76 ± 0,99	4,56 ± 0,74
18:1n-9	6,85	15,17 ± 3,25c	18,28 ± 4,47bc	29,93 ± 4,51a	23,90 ± 6,52ab
18:1n-7	2,07	3,31 ± 0,25a	3,36 ± 1,15a	2,74 ± 0,67a	1,67 ± 0,43b
18:2n-6 (LA)	1,99	1,89 ± 0,51c	4,54 ± 1,57b	8,28 ± 1,56a	10,08 ± 1,69a
18:3n-6	0,08	0,10 ± 0,02a	0,11 ± 0,04a	0,08 ± 0,01	0,05 ± 0,01b
18:3n-3 (LNA)	0,49	0,96 ± 0,15c	10,88 ± 2,71b	18,87 ± 4,78a	22,68 ± 4,19a
18:4n-3	0,62	1,15 ± 0,12a	1,20 ± 0,23a	0,82 ± 0,22b	0,34 ± 0,13c
20:1n-9	0,59	1,50 ± 0,10a	1,46 ± 0,40a	1,12 ± 0,25a	0,38 ± 0,12b
20:2n-6	0,15	0,24 ± 0,06	0,28 ± 0,10	0,25 ± 0,04	0,17 ± 0,05
20:3n-6	0,09	0,13 ± 0,03a	0,12 ± 0,04a	0,10 ± 0,01a	0,03 ± 0,03b
20:4n-6 (ARA)	0,86	1,06 ± 0,21a	1,01 ± 0,27a	0,56 ± 0,04b	0,24 ± 0,08c
20:3n-3	0,10	0,21 ± 0,06c	0,64 ± 0,17b	1,06 ± 0,13a	1,14 ± 0,30a
20:4n-3	0,25	0,53 ± 0,07a	0,49 ± 0,12ab	0,35 ± 0,09b	0,11 ± 0,04c
20:5n-3 (EPA)	3,08	4,30 ± 1,08a	4,00 ± 0,81a	2,61 ± 0,66b	1,04 ± 0,38c
22:4n-6	0,10	0,26 ± 0,04a	0,24 ± 0,04a	0,14 ± 0,04b	0,03 ± 0,03c
22:5n-6	0,27	0,47 ± 0,03a	0,43 ± 0,09ab	0,33 ± 0,07b	0,22 ± 0,06c
22:5n-3	1,53	1,74 ± 0,54a	1,51 ± 0,37ab	1,07 ± 0,11b	0,38 ± 0,22c
22:6n-3 (DHA)	6,56	9,02 ± 0,70a	8,66 ± 2,76a	5,03 ± 0,95b	1,59 ± 0,59c
SAFA	16,49	25,87 ± 5,41ab	27,51 ± 8,27a	25,29 ± 3,23ab	17,95 ± 3,99b
MUFA	13,71	29,58 ± 3,89b	32,09 ± 7,49ab	40,39 ± 5,01a	28,20 ± 7,50b
PUFA	17,61	24,16 ± 3,11b	36,14 ± 8,59a	41,15 ± 8,05a	39,03 ± 7,14a
n-3	12,63	18,76 ± 2,26b	28,14 ± 6,51a	30,40 ± 6,88a	27,53 ± 5,28a
n-6	3,57	4,17 ± 0,80c	6,73 ± 2,06b	9,74 ± 1,68a	10,83 ± 1,84a
n-3HUFA	11,52	15,80 ± 1,92a	15,31 ± 3,83a	10,13 ± 1,84b	4,26 ± 1,36c
n-6HUFA	1,32	1,92 ± 0,24a	1,79 ± 0,41a	1,14 ± 0,12b	0,52 ± 0,15c
n-3/n-6	3,54	4,57 ± 0,59a	4,29 ± 0,67a	3,14 ± 0,50b	2,54 ± 0,15b
DHA/EPA	2,13	2,20 ± 0,53a	2,16 ± 0,55a	1,95 ± 0,15ab	1,54 ± 0,18b
DHA/ARA	7,59	8,79 ± 1,77ab	8,45 ± 0,61ab	8,90 ± 1,18a	6,69 ± 1,54b
EPA/ARA	3,56	4,03 ± 0,24	4,07 ± 0,84	4,61 ± 0,91	4,30 ± 0,62

<sup>1</sup> Valores expresados como mg/g de materia seca.

<sup>2</sup> Composición de AG de los peces al inicio del experimento (alimentados con la dieta DC en agua de mar).

Valores (media ± desvío estándar de las 3 réplicas) en la misma fila con letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05). n= tamaño de la muestra.

### 5.2. *Composición de ácidos grasos de los lípidos polares de los peces luego de 60 días de experimento*

Los porcentajes de LNA, LA, 20:3n-3 y n-6 aumentaron mientras que los de 18:4n-3, 20:3n-6, 20:4n-3, DHA, EPA, ARA, 22:4n-6, 22:5n-6, 22:5n-3, n-3, n-3 HUFA, n-6 HUFA y las relaciones n-3/n-6 y DHA/EPA disminuyeron ( $p < 0,05$ ) con el aumento del porcentaje de sustitución del aceite de pescado por las mezclas de aceites vegetales en la dieta. El porcentaje de 20:2n-6 en el tratamiento V60 fue significativamente mayor que en los demás ( $p < 0,05$ ), mientras que en el V100 fue significativamente mayor que en el V0 y el V25 ( $p < 0,05$ ). El 18:3n-6 solo se detectó en los peces de la dieta V25. En el tratamiento V100 los PUFA fueron los AG predominantes seguidos de los SAFA, mientras que en los demás tratamientos los predominantes fueron los SAFA seguidos de los PUFA. El porcentaje de SAFA en el V100 fue menor que en los demás ( $p < 0,05$ ), mientras que en el V60 fue menor que en el V25 ( $p < 0,05$ ). La proporción de MUFA en el tratamiento V100 fue significativamente mayor que en el V0 y el V25 ( $p < 0,05$ ), mientras que en el V60 fue mayor que en el V25 ( $p < 0,05$ ). El porcentaje de PUFA no presentó diferencias significativas entre los tratamientos ( $p > 0,05$ ). La relación DHA/ARA en el tratamiento V100 fue significativamente menor que en los demás ( $p < 0,05$ ), mientras que en el V25 fue significativamente menor que en el V60 ( $p < 0,05$ ). La relación EPA/ARA aumentó con el incremento de la proporción de los aceites vegetales en la dieta ( $p < 0,05$ ) (Tabla 18).

### 5.3. *Composición de ácidos grasos de los lípidos neutros de los peces luego de 60 días de experimento*

Las proporciones de LA, LNA, 20:3n-3, PUFA, n-3 y n-6 aumentaron ( $p < 0,05$ ) mientras que las de 18:3n-6, 18:4n-3, 20:2n-6, 20:3n-6, ARA, 20:4n-3, EPA, 22:4n-6, 22:5n-6, 22:5n-3, DHA, SAFA, n-3 HUFA, n-6 HUFA y la relación n-3/n-6 disminuyeron ( $p < 0,05$ ) con el aumento del porcentaje de sustitución del aceite de pescado por las mezclas de aceites vegetales en la dieta. El porcentaje de MUFA en el tratamiento V100 fue significativamente menor que en los tratamientos V0 y V60 ( $p < 0,05$ ). No se observaron diferencias significativas entre tratamientos en las relaciones DHA/EPA, DHA/ARA y EPA/ARA ( $p > 0,05$ ). En los tratamientos V25 y V100 los AG predominantes fueron los PUFA seguidos de los MUFA, mientras que en los V0 y V60 los predominantes fueron los MUFA pero seguidos de los SAFA y de los PUFA respectivamente (Tabla 19).

**Tabla 18.** Composición de ácidos grasos de los lípidos polares de los *Paralichthys orbignyanus* al comienzo y luego de 60 días de experimento <sup>1</sup>

AG (% de área)	Inicial (n=1)	Tratamientos			
		V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)
14:0	2,65	2,37 ± 0,15a	2,43 ± 0,26a	1,99 ± 0,21b	1,39 ± 0,15c
16:0	22,54	22,73 ± 0,79a	22,60 ± 0,62a	20,57 ± 1,46b	18,39 ± 0,47c
16:1n-7	2,08	3,41 ± 0,13a	3,02 ± 0,40a	2,14 ± 0,20b	1,10 ± 0,28c
18:0	10,12	8,21 ± 0,32b	8,97 ± 0,51b	8,84 ± 0,50b	10,16 ± 0,89a
18:1n-9	12,73	15,55 ± 0,61c	15,61 ± 0,74c	19,88 ± 1,02b	22,68 ± 1,54a
18:1n-7	3,34	3,56 ± 0,15a	3,17 ± 0,17ab	2,85 ± 0,34bc	2,59 ± 0,34c
18:2n-6 (LA)	2,60	1,51 ± 0,13d	3,10 ± 0,18c	6,10 ± 0,59b	9,76 ± 0,81a
18:3n-6	0,11	n.d.	0,10 ± 0,04	n.d.	n.d.
18:3n-3 (LNA)	0,48	0,46 ± 0,03d	4,07 ± 0,28c	7,25 ± 0,30b	14,33 ± 1,05a
18:4n-3	0,41	0,39 ± 0,02ab	0,45 ± 0,07a	0,32 ± 0,03bc	0,26 ± 0,04c
20:1n-9	0,80	1,07 ± 0,08a	0,92 ± 0,07b	0,79 ± 0,06c	0,57 ± 0,05d
20:2n-6	0,29	0,26 ± 0,01c	0,26 ± 0,03c	0,35 ± 0,02a	0,31 ± 0,01b
20:3n-6	0,17	0,15 ± 0,01a	0,12 ± 0,01bc	0,11 ± 0,01c	0,05 ± 0,02d
20:4n-6 (ARA)	2,31	1,89 ± 0,06a	1,65 ± 0,15b	1,02 ± 0,06c	0,53 ± 0,11d
20:3n-3	0,17	0,19 ± 0,06d	0,66 ± 0,09c	0,98 ± 0,17b	1,46 ± 0,14a
20:4n-3	0,27	0,31 ± 0,05a	0,23 ± 0,02bc	0,19 ± 0,02c	0,14 ± 0,05d
20:5n-3 (EPA)	4,65	3,92 ± 0,19a	3,18 ± 0,12b	2,81 ± 0,26c	1,69 ± 0,24d
22:4n-6	0,31	0,38 ± 0,03a	0,29 ± 0,03b	0,19 ± 0,03c	0,13 ± 0,05d
22:5n-6	0,79	0,98 ± 0,06a	0,88 ± 0,12a	0,65 ± 0,10b	0,31 ± 0,06c
22:5n-3	2,62	2,23 ± 0,32a	1,66 ± 0,04bc	1,57 ± 0,15c	0,67 ± 0,16d
22:6n-3 (DHA)	19,60	19,98 ± 1,49a	16,40 ± 1,21b	11,84 ± 1,20c	4,37 ± 0,81d
SAFA	39,97	38,17 ± 0,98ab	39,23 ± 0,35a	36,48 ± 1,50b	34,66 ± 1,12c
MUFA	21,35	25,92 ± 0,96bc	24,86 ± 1,00c	27,36 ± 1,00ab	28,65 ± 1,26a
PUFA	38,68	35,91 ± 1,64	35,92 ± 0,81	36,15 ± 1,29	36,69 ± 2,04
n-3	28,19	28,74 ± 1,70a	27,67 ± 0,87ab	25,74 ± 1,42b	23,53 ± 1,34c
n-6	6,58	5,18 ± 0,21d	6,36 ± 0,28c	8,42 ± 0,66b	11,07 ± 0,78a
n-3HUFA	27,31	26,67 ± 1,72a	22,16 ± 1,26b	17,40 ± 1,47c	8,38 ± 1,03d
n-6HUFA	3,58	3,41 ± 0,12a	2,95 ± 0,24b	1,97 ± 0,13c	1,01 ± 0,17d
n-3/n-6	4,29	5,57 ± 0,52a	4,35 ± 0,21b	3,08 ± 0,38c	2,13 ± 0,11d
DHA/EPA	4,21	5,10 ± 0,49a	5,15 ± 0,21a	4,24 ± 0,46b	2,58 ± 0,27c
DHA/ARA	8,47	10,57 ± 0,94ab	9,94 ± 0,53b	11,58 ± 1,03a	8,28 ± 1,19c
EPA/ARA	2,01	2,08 ± 0,14c	1,93 ± 0,12c	2,74 ± 0,15b	3,23 ± 0,45a

<sup>1</sup> Valores expresados como % del total de los ácidos grasos presentes en los lípidos polares.

Valores (media ± desvío estándar de las 3 réplicas) en la misma fila con letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05). n.d.: no detectado. n= tamaño de la muestra.

**Tabla 19.** Composición de ácidos grasos de los lípidos neutros de los *Paralichthys orbignyanus* al comienzo y luego de 60 días de experimento <sup>1</sup>

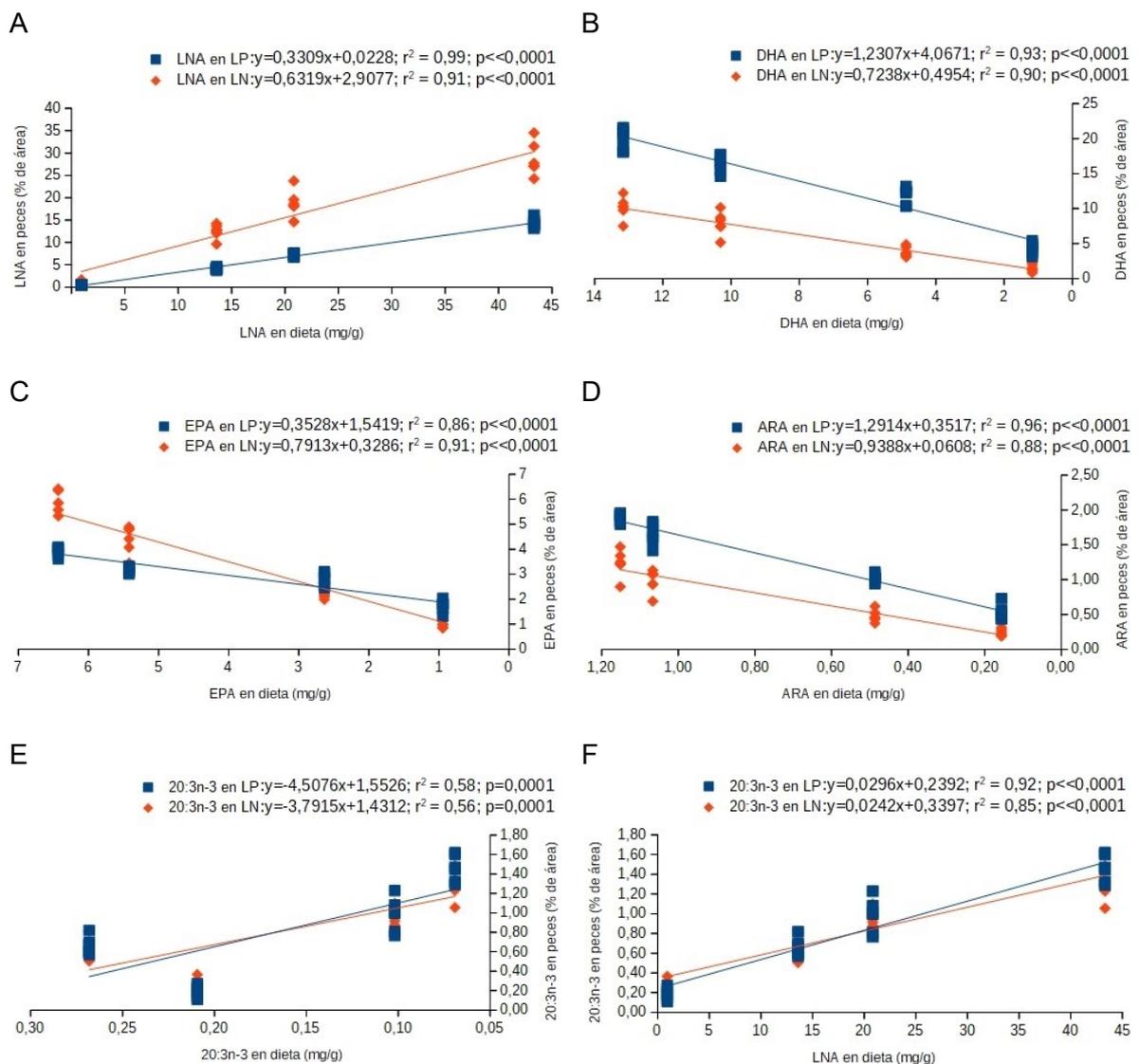
AG (% de área)	Inicial (n=1)	Tratamientos			
		V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)
14:0	5,94	4,73 ± 0,82a	3,40 ± 0,50bc	2,57 ± 0,26c	1,52 ± 0,51d
16:0	19,38	20,73 ± 2,63a	17,78 ± 2,98ab	14,42 ± 1,57bc	11,77 ± 2,13c
16:1n-7	6,60	9,41 ± 1,23a	7,00 ± 0,73b	4,66 ± 0,71c	1,56 ± 0,49d
18:0	4,67	3,80 ± 0,68	3,88 ± 0,65	3,87 ± 0,59	4,73 ± 0,50
18:1n-9	14,78	19,45 ± 1,95b	19,72 ± 2,65b	29,11 ± 3,08a	28,56 ± 3,65a
18:1n-7	4,60	4,34 ± 0,68a	3,49 ± 0,64a	2,52 ± 0,44b	1,87 ± 0,24b
18:2n-6 (LA)	4,60	2,47 ± 0,35d	4,92 ± 0,95c	7,89 ± 0,72b	12,29 ± 1,52a
18:3n-6	0,19	0,14 ± 0,01a	0,13 ± 0,02a	0,08 ± 0,01b	0,06 ± 0,01b
18:3n-3 (LNA)	1,17	1,34 ± 0,19d	12,48 ± 1,59c	18,82 ± 2,95b	28,69 ± 3,68a
18:4n-3	1,55	1,64 ± 0,20a	1,41 ± 0,18a	0,81 ± 0,16b	0,41 ± 0,07c
20:1n-9	1,34	2,06 ± 0,32a	1,61 ± 0,25b	1,07 ± 0,14c	0,42 ± 0,10d
20:2n-6	0,31	0,31 ± 0,03a	0,29 ± 0,05a	0,22 ± 0,02b	0,18 ± 0,04b
20:3n-6	0,19	0,17 ± 0,03a	0,12 ± 0,02bc	0,09 ± 0,02c	0,05 ± 0,02d
20:4n-6 (ARA)	1,67	1,24 ± 0,19a	0,98 ± 0,16b	0,48 ± 0,08c	0,24 ± 0,05d
20:3n-3	0,21	0,27 ± 0,05d	0,68 ± 0,12c	1,00 ± 0,15b	1,31 ± 0,16a
20:4n-3	0,59	0,73 ± 0,10a	0,56 ± 0,07b	0,34 ± 0,05c	0,12 ± 0,03d
20:5n-3 (EPA)	6,93	5,60 ± 0,86a	4,41 ± 0,56b	2,39 ± 0,44c	1,13 ± 0,33d
22:4n-6	0,18	0,32 ± 0,07a	0,24 ± 0,03a	0,12 ± 0,02b	0,05 ± 0,02c
22:5n-6	0,50	0,54 ± 0,08a	0,39 ± 0,06b	0,27 ± 0,04c	0,25 ± 0,04c
22:5n-3	3,36	2,14 ± 0,45a	1,58 ± 0,21a	0,96 ± 0,19b	0,40 ± 0,21c
22:6n-3 (DHA)	12,12	10,14 ± 1,55a	7,88 ± 1,66a	3,83 ± 0,71b	1,50 ± 0,54c
SAFA	33,00	31,30 ± 2,21a	26,97 ± 4,19a	22,11 ± 1,30b	19,09 ± 2,29b
MUFA	30,69	39,11 ± 1,59a	34,93 ± 2,96ab	39,25 ± 2,95a	33,39 ± 3,29b
PUFA	36,32	29,59 ± 1,95c	38,10 ± 1,83b	38,64 ± 4,11b	47,52 ± 4,37a
n-3	25,94	22,90 ± 2,17c	29,77 ± 1,68ab	28,66 ± 4,36b	33,82 ± 3,13a
n-6	7,70	5,21 ± 0,25d	7,07 ± 1,04c	9,15 ± 0,65b	13,09 ± 1,43a
n-3HUFA	23,22	18,89 ± 1,85a	15,11 ± 1,23b	8,51 ± 1,31c	4,47 ± 1,03d
n-6HUFA	2,55	2,26 ± 0,18a	1,73 ± 0,14b	0,96 ± 0,09c	0,55 ± 0,08d
n-3/n-6	3,37	4,42 ± 0,62a	4,30 ± 0,75a	3,16 ± 0,57b	2,59 ± 0,16b
DHA/EPA	1,75	1,86 ± 0,47	1,85 ± 0,62	1,60 ± 0,04	1,30 ± 0,19
DHA/ARA	7,26	8,42 ± 2,05	8,06 ± 0,80	8,16 ± 1,68	6,18 ± 1,63
EPA/ARA	4,15	4,54 ± 0,15	4,68 ± 1,27	5,10 ± 1,10	4,68 ± 0,80

<sup>1</sup> Valores expresados como % del total de los ácidos grasos presentes en los lípidos neutros.

Valores (media ± desvío estándar de las 3 réplicas) en la misma fila con letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05). n= tamaño de la muestra.

El aumento del contenido de LNA en la dieta provocó el aumento de su proporción tanto en los AG de los LP como en los AG de LN de los peces (p<0,05), resultando mayor la proporción de LNA en los AG de los LN (Figura 6A). La disminución de los contenidos de DHA, EPA y ARA en la dieta provocaron la disminución de sus proporciones tanto en los AG

de los LP como en los AG de los LN de los peces ( $p < 0,05$ ), pero a diferencia de lo observado para el LNA, las proporciones de DHA y de ARA resultaron mayores en los AG de los LP de los LP (Figura 6B, 6C y 6D). En lo que respecta al EPA, se observa que cuando sus niveles dietarios fueron elevados, su proporción fue mayor en los AG de los LN de los peces, pero cuando los valores dietarios de EPA fueron bajos, su proporción fue mayor en los AG de los LP de los peces (Figura 6C). Los porcentajes de 20:3n-3 en los AG de los LP y de los LN de los peces muestran una relación negativa con el contenido de 20:3n-3 de la dieta ( $p < 0,05$ ) (Figura 6E), pero muestran una relación positiva con el contenido de LNA de la dieta ( $p < 0,05$ ) (Figura 6F).



**Figura 6.** Efecto de los diferentes niveles de LNA, DHA, EPA, ARA y 20:3n-3 sobre su acumulación en los LP y en los LN de los juveniles de *P. orbignyanus* luego de 60 días de experimento.  $r^2$ : coeficiente de determinación.  $H_0$ :  $b = 0$ ;  $H_1$ :  $b \neq 0$ , siendo "b" la pendiente de la recta.

## 6. Variación temporal de la composición bioquímica de los peces

El porcentaje de lípidos en peso seco y la humedad aumentaron con el tiempo en el tratamiento V60 ( $p < 0,05$ ), mientras que el porcentaje de LN aumentó significativamente en los tratamientos V0, V60 y V100 ( $p < 0,05$ ). Por su parte, la IRL disminuyó significativamente en los 4 tratamientos ( $p < 0,05$ ) (Tabla 20).

**Tabla 20.** Contenido de lípidos y humedad de los *Paralichthys orbignyanus* luego de 34 y de 60 días de experimento

	Tratamientos							
	V0		V25		V60		V100	
	34 días	60 días	34 días	60 días	34 días	60 días	34 días	60 días
Líp(%PH)	2,67 ± 0,36	2,73 ± 0,31	3,74 ± 0,24	3,36 ± 0,98	3,64 ± 0,40	3,71 ± 0,33	2,92 ± 0,50	3,13 ± 0,86
Líp(%PS)	11,46 ± 0,73	12,69 ± 1,35	15,14 ± 1,49	14,48 ± 3,51	13,98 ± 1,20	15,71 ± 1,12*	12,82 ± 1,94	13,62 ± 2,75
Hum.(%)	76,81 ± 1,77	78,43 ± 1,16	75,22 ± 1,82	77,11 ± 1,41	74,00 ± 1,35	76,40 ± 0,67*	77,24 ± 1,61	77,28 ± 1,71
% LP	31,90 ± 4,33	24,24 ± 2,33*	25,18 ± 2,68	23,05 ± 3,65	24,31 ± 2,84	19,33 ± 1,27*	30,06 ± 4,19	23,36 ± 1,66*
% LN	68,10 ± 4,33	75,76 ± 2,33*	74,82 ± 2,68	76,95 ± 3,65	75,69 ± 2,84	80,67 ± 1,27*	69,94 ± 4,19	76,64 ± 1,66*
IRL	1,35 ± 0,09	1,11 ± 0,11*	1,78 ± 0,18	0,96 ± 0,26*	1,64 ± 0,14	1,12 ± 0,08*	1,51 ± 0,23	1,06 ± 0,24*

\* Indica diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre pares de valores.

Valores (media ± desvío estándar de las 3 réplicas). %PH= % del peso húmedo; %PS= % del peso seco; Hum.(%)= porcentaje de humedad; % LP= lípidos polares en %; % LN= lípidos neutros en %; IRL= incorporación relativa de lípidos.

## 7. Variación temporal de la composición de ácidos grasos de los peces

### 7.1. Variación temporal de la composición de ácidos grasos de los lípidos totales de los peces

Los perfiles de AG de los peces luego de 34 y de 60 días de experimento fueron diferentes. La proporción de LNA aumentó con el tiempo en el tratamientos V0 ( $p < 0,05$ ), mientras que la proporción de 20:3n-3 lo hizo en los tratamientos V0 y V60 ( $p < 0,05$ ). Las proporciones de n-3 HUFA, DHA y EPA disminuyeron en el tratamiento V100 ( $p < 0,05$ ), mientras que la proporción de ARA lo hizo en los tratamientos V60 y V100 ( $p < 0,05$ ) (Tabla 21 y Figura 7). Las proporciones de 18:4n-3 y 20:4n-3 aumentaron con el tiempo en el tratamientos V0 ( $p < 0,05$ ), mientras que la proporción de MUFA lo hizo en el tratamiento V0 y V60 ( $p < 0,05$ ). Las proporciones de 20:3n-6, 22:4n-6, 22:5n-3, n-6 HUFA y las relaciones n-3/n-6 y DHA/EPA disminuyeron en el tratamiento V100 ( $p < 0,05$ ). Por su parte, las proporciones de LA, 18:3n-6, 20:2n-6, 22:5n-6, SAFA, PUFA, n-3, n-6 y las relaciones DHA/ARA y EPA/ARA no variaron con el tiempo en ninguno de los tratamientos ( $p > 0,05$ ) (Tabla 21).

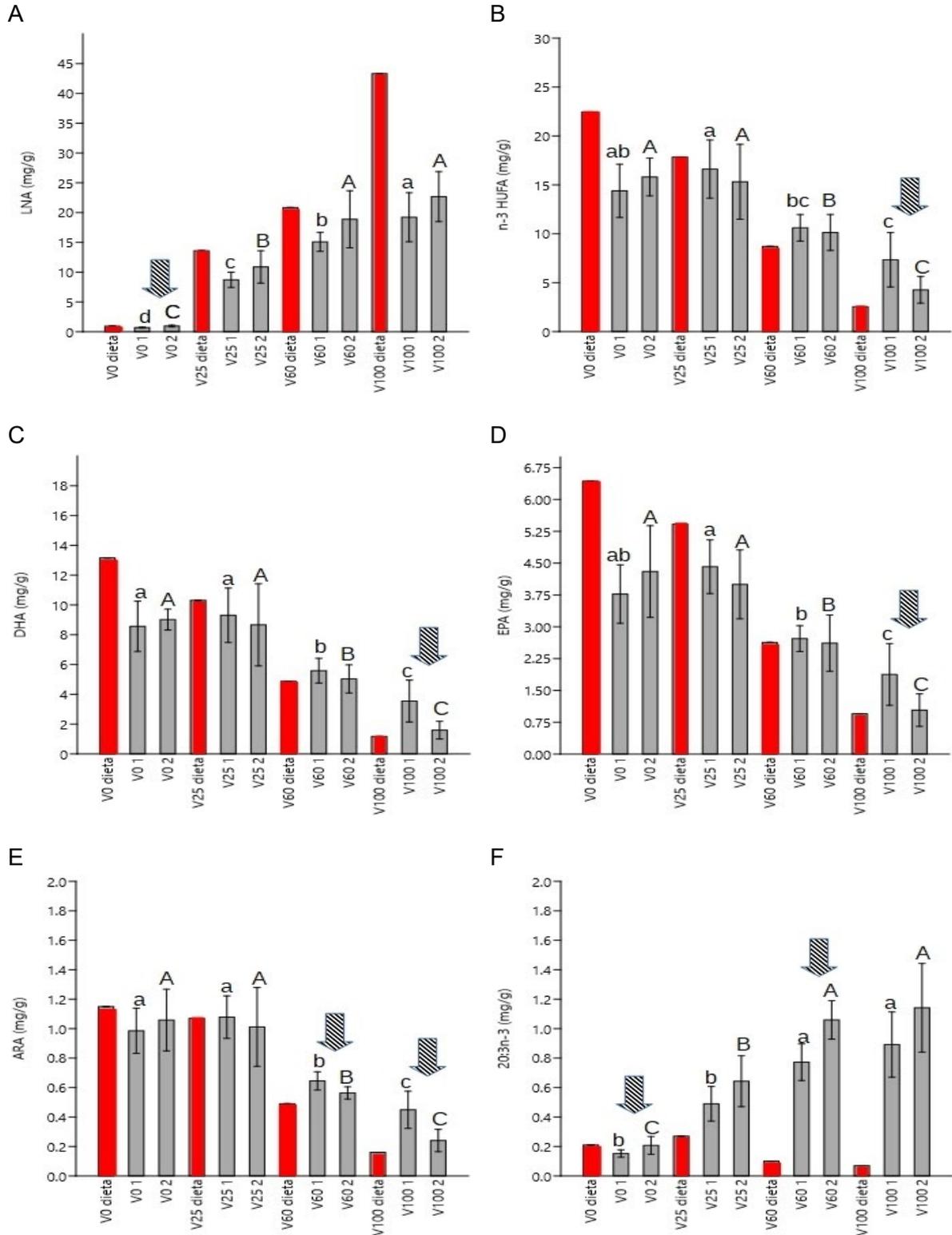
**Tabla 21.** Composición de ácidos grasos de los lípidos totales de los *Paralichthys orbignyanus* luego de 34 y de 60 días de experimento <sup>1</sup>

AG	Tratamientos							
	V0		V25		V60		V100	
	34 días	60 días	34 días	60 días	34 días	60 días	34 días	60 días
14:0	2,78 ± 0,46	3,52 ± 0,92	3,39 ± 0,38	3,14 ± 0,90	2,55 ± 0,23	2,70 ± 0,54	1,72 ± 0,51	1,33 ± 0,61
16:0	14,28 ± 1,56	16,89 ± 3,94	17,58 ± 1,62	17,83 ± 5,76	14,47 ± 1,03	16,06 ± 2,15	10,58 ± 2,05	10,76 ± 2,68
16:1n-7	5,53 ± 0,57	6,71 ± 0,34*	6,05 ± 0,57	6,12 ± 1,23	4,09 ± 0,26	4,61 ± 0,25*	1,90 ± 0,65	1,33 ± 0,64
18:0	3,07 ± 0,36	3,53 ± 0,80	4,41 ± 0,34	4,36 ± 1,23	4,24 ± 0,41	4,76 ± 0,99	4,08 ± 0,55	4,56 ± 0,74
18:1n-9	12,64 ± 1,25	15,17 ± 3,25	17,68 ± 1,73	18,28 ± 4,47	24,53 ± 1,76	29,93 ± 4,51*	19,11 ± 2,88	23,90 ± 6,52
18:1n-7	2,78 ± 0,26	3,31 ± 0,25*	3,51 ± 0,35	3,36 ± 1,15	2,60 ± 0,28	2,74 ± 0,67	2,01 ± 0,61	1,67 ± 0,43
18:2n-6	1,55 ± 0,29	1,89 ± 0,51	4,38 ± 0,32	4,54 ± 1,57	6,96 ± 0,48	8,28 ± 1,56	8,34 ± 1,47	10,08 ± 1,69
18:3n-6	0,12 ± 0,02	0,10 ± 0,02	0,12 ± 0,02	0,11 ± 0,04	0,09 ± 0,04	0,08 ± 0,01	0,06 ± 0,03	0,05 ± 0,01
18:3n-3	0,70 ± 0,08	0,96 ± 0,15*	8,72 ± 1,28	10,88 ± 2,71	15,08 ± 1,59	18,87 ± 4,78	19,22 ± 4,12	22,68 ± 4,19
18:4n-3	0,98 ± 0,14	1,15 ± 0,12*	1,21 ± 0,14	1,20 ± 0,23	0,76 ± 0,07	0,82 ± 0,22	0,49 ± 0,16	0,34 ± 0,13
20:1n-9	1,27 ± 0,17	1,50 ± 0,10*	1,56 ± 0,17	1,46 ± 0,40	1,02 ± 0,13	1,12 ± 0,25	0,50 ± 0,15	0,38 ± 0,12
20:2n-6	0,22 ± 0,02	0,24 ± 0,06	0,29 ± 0,05	0,28 ± 0,10	0,24 ± 0,02	0,25 ± 0,04	0,19 ± 0,05	0,17 ± 0,05
20:3n-6	0,12 ± 0,03	0,13 ± 0,03	0,15 ± 0,03	0,12 ± 0,04	0,13 ± 0,04	0,10 ± 0,01	0,08 ± 0,03	0,03 ± 0,03*
20:4n-6	0,99 ± 0,15	1,06 ± 0,21	1,08 ± 0,14	1,01 ± 0,27	0,65 ± 0,06	0,56 ± 0,04*	0,45 ± 0,13	0,24 ± 0,08*
20:3n-3	0,15 ± 0,02	0,21 ± 0,06*	0,49 ± 0,12	0,64 ± 0,17	0,77 ± 0,12	1,06 ± 0,13*	0,89 ± 0,22	1,14 ± 0,30
20:4n-3	0,42 ± 0,05	0,53 ± 0,07*	0,51 ± 0,06	0,49 ± 0,12	0,33 ± 0,04	0,35 ± 0,09	0,16 ± 0,06	0,11 ± 0,04
20:5n-3	3,77 ± 0,69	4,30 ± 1,08	4,42 ± 0,63	4,00 ± 0,81	2,72 ± 0,30	2,61 ± 0,66	1,88 ± 0,73	1,04 ± 0,38*
22:4n-6	0,22 ± 0,04	0,26 ± 0,04	0,28 ± 0,08	0,24 ± 0,04	0,18 ± 0,06	0,14 ± 0,04	0,10 ± 0,06	0,03 ± 0,03*
22:5n-6	0,40 ± 0,07	0,47 ± 0,03	0,45 ± 0,08	0,43 ± 0,09	0,31 ± 0,04	0,33 ± 0,07	0,21 ± 0,06	0,22 ± 0,06
22:5n-3	1,46 ± 0,36	1,74 ± 0,54	1,88 ± 0,49	1,51 ± 0,37	1,19 ± 0,20	1,07 ± 0,11	0,84 ± 0,38	0,38 ± 0,22*
22:6n-3	8,56 ± 1,69	9,02 ± 0,70	9,31 ± 1,83	8,66 ± 2,76	5,58 ± 0,83	5,03 ± 0,95	3,55 ± 1,40	1,59 ± 0,59*
SAFA	22,12 ± 2,55	25,87 ± 5,41	27,69 ± 2,57	27,51 ± 8,27	23,14 ± 1,90	25,29 ± 3,23	17,86 ± 3,46	17,95 ± 3,99
MUFA	24,68 ± 2,46	29,58 ± 3,89*	31,97 ± 3,03	32,09 ± 7,49	34,22 ± 2,50	40,39 ± 5,01*	24,85 ± 4,60	28,20 ± 7,50
PUFA	21,60 ± 3,69	24,16 ± 3,11	35,49 ± 4,59	36,14 ± 8,59	36,48 ± 3,30	41,15 ± 8,05	37,50 ± 8,90	39,03 ± 7,14
n-3	16,08 ± 2,87	18,76 ± 2,26	26,55 ± 3,89	28,14 ± 6,51	26,45 ± 2,63	30,40 ± 6,88	27,06 ± 6,94	27,53 ± 5,28
n-6	3,66 ± 0,55	4,17 ± 0,80	6,79 ± 0,58	6,73 ± 2,06	8,58 ± 0,58	9,74 ± 1,68	9,46 ± 1,74	10,83 ± 1,84
n-3HUFA	14,39 ± 2,72	15,80 ± 1,92	16,61 ± 2,97	15,31 ± 3,83	10,61 ± 1,36	10,13 ± 1,84	7,34 ± 2,78	4,26 ± 1,36*
n-6HUFA	1,73 ± 0,28	1,92 ± 0,24	1,96 ± 0,32	1,79 ± 0,41	1,26 ± 0,16	1,14 ± 0,12	0,83 ± 0,26	0,52 ± 0,15*
n-3/n-6	4,39 ± 0,31	4,57 ± 0,59	3,91 ± 0,38	4,29 ± 0,67	3,08 ± 0,12	3,14 ± 0,50	2,83 ± 0,24	2,54 ± 0,15*
DHA/EPA	2,27 ± 0,19	2,20 ± 0,53	2,09 ± 0,16	2,16 ± 0,55	2,05 ± 0,15	1,95 ± 0,15	1,89 ± 0,21	1,54 ± 0,18*
DHA/ARA	8,65 ± 0,72	8,79 ± 1,77	8,57 ± 0,68	8,45 ± 0,61	8,63 ± 0,70	8,90 ± 1,18	7,72 ± 1,19	6,69 ± 1,54
EPA/ARA	3,82 ± 0,28	4,03 ± 0,24	4,10 ± 0,23	4,07 ± 0,84	4,22 ± 0,22	4,61 ± 0,91	4,09 ± 0,56	4,30 ± 0,62

<sup>1</sup> Valores expresados como mg/g de materia seca.

\* Indica diferencia significativa (p<0,05) entre pares de valores.

El incremento del nivel dietario de LNA provocó un aumento en el nivel de LNA de los peces. Sin embargo, a pesar de que el nivel de LNA en la dieta V100 fue más del doble que el de la dieta V60, tal incremento en el nivel dietario de LNA solo provocó un aumento poco mayor a 1/4 en el nivel de LNA de los peces en los primeros 34 días de experimento ( $p < 0,05$ ). Pero además, dicha diferencia en los contenidos de LNA entre los peces de ambos tratamientos se diluyó luego de 60 días de experimento ( $p > 0,05$ ) (Figura 7A). Por otro lado, la reducción de los niveles dietarios de n-3 HUFA, DHA, EPA y ARA provocaron un descenso en los niveles de dichos AG en los peces. Sin embargo, a pesar de que el nivel de n-3 HUFA en la dieta V60 fue más del triple que el de la dieta V100, tal diferencia en el nivel dietario de n-3 HUFA no afectó significativamente el nivel de n-3 HUFA de los peces luego de 34 días de experimento ( $p > 0,05$ ), aunque luego de 60 días el nivel de n-3 HUFA en los peces alimentados con la dieta V100 cayó significativamente ( $p < 0,05$ ) (Figura 7B). El nivel de DHA en la dieta V60 fue más del cuádruple que el de la dieta V100, sin embargo, luego de 34 días de experimento el nivel de DHA en los peces alimentados con la dieta V60 no llegó a ser el doble que en los alimentados con la dieta V100. No obstante, luego de 60 días de experimento la diferencia en el nivel dietario de DHA entre los peces alimentados con las dietas V60 y V100 se hizo más importante (Figura 7C). Los niveles de ARA y de EPA en la dieta V60 fueron aproximadamente el triple que en la dieta V100. A pesar de eso, luego de 34 días de experimento los niveles de ARA y de EPA en los peces alimentados con la dieta V60 no llegaron a ser el doble que en los alimentados con la dieta V100. No obstante, luego de 60 días de experimento la diferencia en los niveles dietarios de ARA y de EPA entre los peces alimentados con las dietas V60 y V100 se incrementó (Figura 7D y 7E). A diferencia de lo observado para los demás AG, el nivel de 20:3n-3 en los peces aumentó a pesar de su disminución en la dieta. Los peces alimentados con las dietas V0 y V60 presentaron mayor nivel de 20:3n-3 luego de 60 días de experimento ( $p < 0,05$ ) (Figura 7F).



**Figura 7.** Efecto de los diferentes niveles dietarios de LNA, n-3 HUFA, DHA, EPA, ARA y 20:3n-3 sobre su acumulación en los juveniles de *P. orbignyanus* de cada tratamiento luego de 34 y de 60 días de experimento (1 y 2 respectivamente). Columnas en color rojo: dietas; columnas en gris: peces. Letras minúscula diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos en el día 34 del experimento. Letras mayúscula diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos en el día 60 del experimento. Las flechas indican diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre el día 34 y el día 60 en el mismo tratamiento.

### 7.2. *Variación temporal de la composición de ácidos grasos de los lípidos polares de los peces*

El porcentaje de LNA aumentó ( $p < 0,05$ ) con el tiempo en los tratamientos V25, V60 y V100, mientras que el de LA disminuyó en el V0 ( $p < 0,05$ ). Los porcentajes de 20:4n-3 y 22:4n-6 disminuyeron en los tratamientos V25 y V60 ( $p < 0,05$ ), mientras que los porcentajes de 20:2n-6, ARA, EPA, n-6 y n-6 HUFA disminuyeron en los 4 tratamientos ( $p < 0,05$ ). El porcentaje de 20:3n-6 disminuyó sólo en los tratamientos V25 y V100 ( $p < 0,05$ ). Los porcentajes de 22:5n-3, PUFA y n-3 HUFA disminuyeron en los tratamientos V25, V60 y V100 ( $p < 0,05$ ), mientras que los porcentajes de 22:5n-6 y de DHA disminuyeron en el V60 y el V100 ( $p < 0,05$ ). El porcentaje de n-3 disminuyó sólo en el tratamiento V100 ( $p < 0,05$ ). Los porcentajes de 20:3n-3 y de SAFA aumentaron en los tratamientos V25 y V60 ( $p < 0,05$ ), mientras que el porcentaje de MUFA aumento en los tratamientos V0, V60 y V100 ( $p < 0,05$ ). La relación n-3/n-6 aumentó en los tratamientos V0 y V25 ( $p < 0,05$ ). La relación DHA/EPA también aumentó en los tratamientos V0 y V25 ( $p < 0,05$ ), pero disminuyó en el V100 ( $p < 0,05$ ). La relación DHA/ARA aumentó en los tratamientos V0, V25 y V60 ( $p < 0,05$ ), mientras que la relación EPA/ARA lo hizo en los 4 tratamientos ( $p < 0,05$ ). Finalmente, el porcentaje de 18:4n-3 no varió con el tiempo en ninguno de los tratamientos ( $p > 0,05$ ). El 18:3n-6 en los LP de la segunda biometría solo se detectó en los peces de la dieta V25 (Tabla 22).

### 7.3. *Variación temporal de la composición de ácidos grasos de los lípidos neutros de los peces*

Los porcentajes de 18:4n-3, ARA, EPA, DHA, 20:4n-3, 22:5n-3, n-3 HUFA, n-6 HUFA y la relación n-3/n-6 disminuyeron con el tiempo en el tratamiento V100 ( $p < 0,05$ ), mientras que el porcentaje de 18:3n-6 y la relación EPA/ARA se redujeron en el V0 ( $p < 0,05$ ). El porcentaje de LA aumentó en el tratamiento V100 ( $p < 0,05$ ), mientras que el porcentaje de LNA lo hizo en el V25 ( $p < 0,05$ ). El porcentaje de 20:3n-3 aumentó en los tratamientos V25, V60 y V100 ( $p < 0,05$ ). Por su parte, los porcentajes de 20:2n-6, 20:3n-6, 22:4n-6, 22:5n-6, SAFA, MUFA, PUFA, n-3, n-6 y las relaciones DHA/EPA y DHA/ARA no variaron con el tiempo en ninguno de los tratamientos ( $p > 0,05$ ) (Tabla 23).

**Tabla 22.** Composición de ácidos grasos de los LP de los *Paralichthys orbignyanus* luego de 34 y de 60 días de experimento <sup>1</sup>

AG	Tratamientos							
	V0		V25		V60		V100	
	34 días	60 días						
14:0	1,88 ± 0,28	2,37 ± 0,15*	1,83 ± 0,30	2,43 ± 0,26*	1,63 ± 0,33	1,99 ± 0,21	1,30 ± 0,21	1,39 ± 0,15
16:0	22,05 ± 1,81	22,73 ± 0,79	21,06 ± 1,39	22,60 ± 0,62*	18,95 ± 1,03	20,57 ± 1,46	17,67 ± 1,61	18,39 ± 0,47
16:1n-7	3,02 ± 0,29	3,41 ± 0,13*	2,58 ± 0,09	3,02 ± 0,40*	1,88 ± 0,28	2,14 ± 0,20	1,07 ± 0,16	1,10 ± 0,28
18:0	8,11 ± 0,96	8,21 ± 0,32	8,71 ± 0,44	8,97 ± 0,51	8,76 ± 0,35	8,84 ± 0,50	9,70 ± 0,57	10,16 ± 0,89
18:1n-9	14,30 ± 0,60	15,55 ± 0,61*	14,50 ± 1,27	15,61 ± 0,74	18,34 ± 0,41	19,88 ± 1,02*	19,48 ± 1,89	22,68 ± 1,54*
18:1n-7	3,46 ± 0,30	3,56 ± 0,15	3,18 ± 0,16	3,17 ± 0,17	2,48 ± 0,23	2,85 ± 0,34*	2,21 ± 0,19	2,59 ± 0,34*
18:2n-6	1,78 ± 0,16	1,51 ± 0,13*	3,33 ± 0,37	3,10 ± 0,18	6,04 ± 0,38	6,10 ± 0,59	9,85 ± 0,66	9,76 ± 0,81
18:3n-6	0,17 ± 0,10	n.d.	0,09 ± 0,02	0,10 ± 0,04	0,14 ± 0,10	n.d.	0,10 ± 0,02	n.d.
18:3n-3	0,47 ± 0,10	0,46 ± 0,03	3,14 ± 0,22	4,07 ± 0,28*	6,01 ± 0,59	7,25 ± 0,30*	12,11 ± 1,41	14,33 ± 1,05*
18:4n-3	0,41 ± 0,07	0,39 ± 0,02	0,39 ± 0,04	0,45 ± 0,07	0,31 ± 0,03	0,32 ± 0,03	0,26 ± 0,05	0,26 ± 0,04
20:1n-9	1,04 ± 0,09	1,07 ± 0,08	0,97 ± 0,11	0,92 ± 0,07	0,79 ± 0,03	0,79 ± 0,06	0,63 ± 0,14	0,57 ± 0,05
20:2n-6	0,36 ± 0,07	0,26 ± 0,01*	0,33 ± 0,02	0,26 ± 0,03*	0,39 ± 0,05	0,35 ± 0,02*	0,38 ± 0,06	0,31 ± 0,01*
20:3n-6	0,18 ± 0,04	0,15 ± 0,01	0,18 ± 0,04	0,12 ± 0,01*	0,14 ± 0,04	0,11 ± 0,01	0,12 ± 0,05	0,05 ± 0,02*
20:4n-6	2,64 ± 0,35	1,89 ± 0,06*	2,43 ± 0,40	1,65 ± 0,15*	1,68 ± 0,16	1,02 ± 0,06*	1,20 ± 0,20	0,53 ± 0,11*
20:3n-3	0,18 ± 0,03	0,19 ± 0,06	0,47 ± 0,08	0,66 ± 0,09*	0,79 ± 0,11	0,98 ± 0,17*	1,39 ± 0,24	1,46 ± 0,14
20:4n-3	0,37 ± 0,05	0,31 ± 0,05	0,29 ± 0,04	0,23 ± 0,02*	0,23 ± 0,02	0,19 ± 0,02*	0,15 ± 0,03	0,14 ± 0,05
20:5n-3	4,96 ± 0,81	3,92 ± 0,19*	4,24 ± 0,56	3,18 ± 0,12*	3,54 ± 0,27	2,81 ± 0,26*	2,83 ± 0,43	1,69 ± 0,24*
22:4n-6	0,41 ± 0,04	0,38 ± 0,03	0,36 ± 0,04	0,29 ± 0,03*	0,29 ± 0,02	0,19 ± 0,03*	0,18 ± 0,08	0,13 ± 0,05
22:5n-6	1,01 ± 0,20	0,98 ± 0,06	1,04 ± 0,28	0,88 ± 0,12	0,98 ± 0,23	0,65 ± 0,10*	0,57 ± 0,19	0,31 ± 0,06*
22:5n-3	2,29 ± 0,47	2,23 ± 0,32	2,17 ± 0,45	1,66 ± 0,04*	2,00 ± 0,24	1,57 ± 0,15*	1,62 ± 0,48	0,67 ± 0,16*
22:6n-3	21,38 ± 3,19	19,98 ± 1,49	18,77 ± 3,03	16,40 ± 1,21	15,46 ± 1,69	11,84 ± 1,20*	9,98 ± 2,31	4,37 ± 0,81*
SAFA	36,11 ± 3,44	38,17 ± 0,98	36,24 ± 2,67	39,23 ± 0,35*	33,94 ± 2,14	36,48 ± 1,50*	32,25 ± 2,71	34,66 ± 1,12
MUFA	24,12 ± 1,42	25,92 ± 0,96*	23,50 ± 1,78	24,86 ± 1,00	25,35 ± 0,86	27,36 ± 1,00*	24,89 ± 2,49	28,65 ± 1,26*
PUFA	39,77 ± 4,52	35,91 ± 1,64	40,26 ± 4,06	35,92 ± 0,81*	40,71 ± 2,80	36,15 ± 1,29*	42,87 ± 5,18	36,69 ± 2,04*
n-3	30,11 ± 4,19	28,74 ± 1,70	29,50 ± 3,95	27,67 ± 0,87	28,37 ± 2,66	25,74 ± 1,42	28,38 ± 4,56	23,53 ± 1,34*
n-6	6,55 ± 0,71	5,18 ± 0,21*	7,78 ± 0,90	6,36 ± 0,28*	9,74 ± 0,54	8,42 ± 0,66*	12,44 ± 1,10	11,07 ± 0,78*
n-3HUFA	29,21 ± 4,29	26,67 ± 1,72	25,94 ± 3,89	22,16 ± 1,26*	22,04 ± 2,13	17,40 ± 1,47*	15,99 ± 3,35	8,38 ± 1,03*
n-6HUFA	4,23 ± 0,57	3,41 ± 0,12*	4,01 ± 0,69	2,95 ± 0,24*	3,09 ± 0,29	1,97 ± 0,13*	2,06 ± 0,49	1,01 ± 0,17*
n-3/n-6	4,59 ± 0,26	5,57 ± 0,52*	3,81 ± 0,43	4,35 ± 0,21*	2,91 ± 0,17	3,08 ± 0,38	2,27 ± 0,20	2,13 ± 0,11
DHA/EPA	4,35 ± 0,53	5,10 ± 0,49*	4,45 ± 0,62	5,15 ± 0,21*	4,37 ± 0,30	4,24 ± 0,46	3,51 ± 0,55	2,58 ± 0,27*
DHA/ARA	8,12 ± 0,75	10,57 ± 0,94*	7,86 ± 1,47	9,94 ± 0,53*	9,25 ± 0,94	11,58 ± 1,03*	8,28 ± 1,21	8,28 ± 1,19
EPA/ARA	1,88 ± 0,15	2,08 ± 0,14*	1,76 ± 0,14	1,93 ± 0,12*	2,11 ± 0,09	2,74 ± 0,15*	2,37 ± 0,15	3,23 ± 0,45*

<sup>1</sup> Valores expresados como % del total de los ácidos grasos presentes en los lípidos polares.

\* Indica diferencia significativa (p<0,05) entre pares de valores.

n.d.: no detectado.

**Tabla 23.** Composición de ácidos grasos de los LN de los *Paralichthys orbignyanus* luego de 34 y de 60 días de experimento <sup>1</sup>

AG	Tratamientos							
	V0		V25		V60		V100	
	34 días	60 días	34 días	60 días	34 días	60 días	34 días	60 días
14:0	4,64 ± 0,34	4,73 ± 0,82	3,87 ± 0,42	3,40 ± 0,50	2,90 ± 0,38	2,57 ± 0,26	2,31 ± 0,40	1,52 ± 0,51*
16:0	20,60 ± 1,15	20,73 ± 2,63	18,05 ± 1,01	17,78 ± 2,98	14,91 ± 1,03	14,42 ± 1,57	12,19 ± 1,33	11,77 ± 2,13
16:1n-7	9,49 ± 0,69	9,41 ± 1,23	7,00 ± 0,40	7,00 ± 0,73	4,75 ± 0,27	4,66 ± 0,71	2,62 ± 0,54	1,56 ± 0,49*
18:0	3,52 ± 0,21	3,80 ± 0,68	3,70 ± 0,23	3,88 ± 0,65	3,86 ± 0,26	3,87 ± 0,59	4,10 ± 0,46	4,73 ± 0,50*
18:1n-9	19,66 ± 1,52	19,45 ± 1,95	19,27 ± 1,13	19,72 ± 2,65	27,34 ± 0,71	29,11 ± 3,08	25,08 ± 1,94	28,56 ± 3,65
18:1n-7	4,22 ± 0,12	4,34 ± 0,68	3,78 ± 0,23	3,49 ± 0,64	2,82 ± 0,26	2,52 ± 0,44	2,51 ± 0,39	1,87 ± 0,24*
18:2n-6	2,38 ± 0,36	2,47 ± 0,35	4,82 ± 0,22	4,92 ± 0,95	7,62 ± 0,25	7,89 ± 0,72	10,59 ± 0,72	12,29 ± 1,52*
18:3n-6	0,17 ± 0,02	0,14 ± 0,01*	0,12 ± 0,06	0,13 ± 0,02	0,09 ± 0,05	0,08 ± 0,01	0,10 ± 0,02	0,06 ± 0,01
18:3n-3	1,18 ± 0,14	1,34 ± 0,19	10,16 ± 1,09	12,48 ± 1,59*	17,61 ± 1,26	18,82 ± 2,95	26,73 ± 3,08	28,69 ± 3,68
18:4n-3	1,71 ± 0,15	1,64 ± 0,20	1,42 ± 0,12	1,41 ± 0,18	0,89 ± 0,06	0,81 ± 0,16	0,68 ± 0,10	0,41 ± 0,07*
20:1n-9	2,08 ± 0,26	2,06 ± 0,32	1,75 ± 0,11	1,61 ± 0,25	1,12 ± 0,10	1,07 ± 0,14	0,61 ± 0,12	0,42 ± 0,10*
20:2n-6	0,31 ± 0,03	0,31 ± 0,03	0,30 ± 0,03	0,29 ± 0,05	0,23 ± 0,02	0,22 ± 0,02	0,20 ± 0,04	0,18 ± 0,04
20:3n-6	0,18 ± 0,03	0,17 ± 0,03	0,15 ± 0,03	0,12 ± 0,02	0,13 ± 0,05	0,09 ± 0,02	0,09 ± 0,04	0,05 ± 0,02
20:4n-6	1,10 ± 0,15	1,24 ± 0,19	0,91 ± 0,15	0,98 ± 0,16	0,53 ± 0,04	0,48 ± 0,08	0,40 ± 0,05	0,24 ± 0,05*
20:3n-3	0,23 ± 0,03	0,27 ± 0,05	0,52 ± 0,11	0,68 ± 0,12*	0,83 ± 0,12	1,00 ± 0,15*	1,04 ± 0,11	1,31 ± 0,16*
20:4n-3	0,68 ± 0,05	0,73 ± 0,10	0,57 ± 0,02	0,56 ± 0,07	0,36 ± 0,03	0,34 ± 0,05	0,20 ± 0,05	0,12 ± 0,03*
20:5n-3	5,60 ± 0,80	5,60 ± 0,86	4,71 ± 0,65	4,41 ± 0,56	2,80 ± 0,25	2,39 ± 0,44	2,14 ± 0,49	1,13 ± 0,33*
22:4n-6	0,31 ± 0,06	0,32 ± 0,07	0,29 ± 0,08	0,24 ± 0,03	0,17 ± 0,07	0,12 ± 0,02	0,11 ± 0,05	0,05 ± 0,02
22:5n-6	0,47 ± 0,07	0,54 ± 0,08	0,37 ± 0,06	0,39 ± 0,06	0,24 ± 0,04	0,27 ± 0,04	0,19 ± 0,03	0,25 ± 0,04*
22:5n-3	2,08 ± 0,50	2,14 ± 0,45	1,93 ± 0,48	1,58 ± 0,21	1,15 ± 0,18	0,96 ± 0,19	0,88 ± 0,27	0,40 ± 0,21*
22:6n-3	10,02 ± 1,68	10,14 ± 1,55	8,24 ± 1,67	7,88 ± 1,66	4,45 ± 0,71	3,83 ± 0,71	3,01 ± 0,94	1,50 ± 0,54*
SAFA	31,40 ± 1,70	31,30 ± 2,21	27,94 ± 1,78	26,97 ± 4,19	23,29 ± 1,83	22,11 ± 1,30	20,05 ± 2,23	19,09 ± 2,29
MUFA	39,43 ± 2,77	39,11 ± 1,59	35,32 ± 1,86	34,93 ± 2,96	38,20 ± 0,92	39,25 ± 2,95	32,51 ± 2,37	33,39 ± 3,29
PUFA	29,17 ± 3,97	29,59 ± 1,95	36,75 ± 3,50	38,10 ± 1,83	38,51 ± 2,55	38,64 ± 4,11	47,44 ± 4,51	47,52 ± 4,37
n-3	21,56 ± 3,03	22,90 ± 2,17	27,59 ± 3,12	29,77 ± 1,68	28,09 ± 2,05	28,66 ± 4,36	34,73 ± 3,84	33,82 ± 3,13
n-6	4,98 ± 0,56	5,21 ± 0,25	7,02 ± 0,35	7,07 ± 1,04	9,04 ± 0,34	9,15 ± 0,65	11,69 ± 0,74	13,09 ± 1,43
n-3HUFA	18,64 ± 2,92	18,89 ± 1,85	15,99 ± 2,74	15,11 ± 1,23	9,59 ± 1,16	8,51 ± 1,31	7,31 ± 1,81	4,47 ± 1,03*
n-6HUFA	2,05 ± 0,25	2,26 ± 0,18	1,72 ± 0,26	1,73 ± 0,14	1,07 ± 0,15	0,96 ± 0,09	0,79 ± 0,12	0,55 ± 0,08*
n-3/n-6	4,32 ± 0,33	4,42 ± 0,62	3,93 ± 0,39	4,30 ± 0,75	3,10 ± 0,14	3,16 ± 0,57	2,97 ± 0,24	2,59 ± 0,16*
DHA/EPA	1,79 ± 0,11	1,86 ± 0,47	1,74 ± 0,17	1,85 ± 0,62	1,59 ± 0,15	1,60 ± 0,04	1,39 ± 0,17	1,30 ± 0,19
DHA/ARA	9,13 ± 0,95	8,42 ± 2,05	9,04 ± 0,94	8,06 ± 0,80	8,34 ± 0,80	8,16 ± 1,68	7,34 ± 1,61	6,18 ± 1,63
EPA/ARA	5,11 ± 0,35	4,54 ± 0,15*	5,22 ± 0,46	4,68 ± 1,27	5,26 ± 0,18	5,10 ± 1,10	5,27 ± 0,77	4,68 ± 0,80

<sup>1</sup> Valores expresados como % del total de los ácidos grasos presentes en los lípidos neutros.

\* Indica diferencia significativa (p<0,05) entre pares de valores.

## DISCUSIÓN

Existen varios trabajos que estudian los efectos de la sustitución del aceite de pescado por aceites vegetales en las dietas de peces marinos, y lo que se ha observado es que la sustitución parcial de hasta un 60% muchas veces no tiene efectos negativos sobre el desempeño de los peces (Izquierdo *et al.*, 2003; Montero *et al.*, 2003; Bell *et al.*, 2006; Haugen *et al.*, 2006; Shapawi *et al.*, 2008; Sarker *et al.*, 2011; Xu *et al.*, 2012; Borges *et al.*, 2014). En cambio, con reemplazos del 80% o más se han observado reducciones en el crecimiento y en la eficiencia alimentaria (Menoyo *et al.*, 2004; Izquierdo *et al.*, 2005; Montero *et al.*, 2003; 2008; Badillo-Zapata *et al.*, 2010).

El presente trabajo muestra que los juveniles de *P. orbignyanus* alimentados con dietas con distintos niveles de sustitución del aceite de pescado por aceites vegetales tuvieron igual o incluso mejor desempeño que los alimentados con una dieta 100% aceite de pescado. Pero a diferencia de los trabajos anteriores, en este caso se trabajó en agua salobre y el desempeño de los peces no se vio perjudicado por el reemplazo en la dieta del 90% del aceite de pescado por aceites vegetales ricos en LNA. El hecho de que el agua salobre permita llevar tan lejos el límite del porcentaje de sustitución del aceite de pescado podría estar indicando que en esta especie la salinidad tiene efecto sobre los requerimientos de n-3 HUFA y/o sobre la capacidad de biosintetizarlos, tal como se ha observado en otros peces marinos eurihalinos como *Lateolabrax japonicus* (Xu *et al.*, 2010), *Dicentrarchus labrax* (Hunt *et al.*, 2011) y *Siganus canaliculatus* (Li *et al.*, 2008; Xie *et al.*, 2015).

Es importante destacar que la gran mayoría de los trabajos que estudian los efectos de la sustitución del aceite de pescado en la dieta y los requerimientos de AGE de peces marinos eurihalinos se han hecho con los peces mantenidos en agua de mar (Izquierdo *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2003; Regost *et al.*, 2003; Kim y Lee, 2004; Badillo-Zapata *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2012; Borges *et al.*, 2014, Morais *et al.*, 2015). Hasta donde llega nuestro conocimiento la información disponible acerca de dichos aspectos en peces marinos eurihalinos mantenidos en agua salobre proviene solo de trabajos con los peces herbívoros *Siganus canaliculatus* (Li *et al.*, 2008; Xie *et al.*, 2015) y *Chanos chanos* (Alava y Kanazawa, 1996; Alava, 1998). Por lo tanto, el presente estudio aporta información novedosa sobre el metabolismo de los PUFA en los peces eurihalinos carnívoros.

Los resultados de nuestro experimento muestran diferencias significativas en el desempeño entre los peces de los distintos tratamientos, con algunas diferencias entre las

dos clases de tamaño. Sin embargo, independientemente del tamaño de los peces, los peores desempeños se obtuvieron con la dieta de mayor contenido de DHA, EPA y ARA, mientras que prácticamente no se observaron diferencias entre los desempeños obtenidos con las dietas que contenían niveles intermedios o bajos de dichos HUFA. Estos resultados parecen algo contradictorios ya que el DHA, el EPA y el ARA son los AGE para la mayoría de los peces marinos, es decir que una dieta deficiente en alguno de estos HUFA debería tener efectos negativos sobre la salud y el desempeño de estos peces (Sargent *et al.*, 2002; Tocher, 2010). No obstante, es probable que la explicación para tales resultados en nuestro experimento tenga que ver con un exceso de n-3 HUFA (principalmente DHA y EPA) en la dieta V0 (100% aceite de pescado). Se ha observado que el exceso de n-3 HUFA en la dieta provoca la disminución del crecimiento en juveniles de *Oreochromis* sp. (Huang *et al.*, 1998), *Ctenopharyngodon idella* (Du *et al.*, 2008), *Clarias gariepinus* (Ng *et al.*, 2003) y *Paralichthys olivaceus* (Kim y Lee, 2004). Por lo tanto, es probable que los 22,45 mg/g de n-3 HUFA que contenía la dieta V0 resulten un exceso para esta especie en agua salobre, ya que las dietas V25, V60 y V100, las cuales consiguieron mejores desempeños en nuestro experimento, contenían 17,84, 8,70 y 2,54 mg/g respectivamente. Además, los contenidos de n-3 HUFA de las dietas V25 y V60 fueron cercanos a los requerimientos de n-3 HUFA en agua de mar reportados para los juveniles de *Paralichthys olivaceus* (8,0 y 10,0 mg/g de dieta) (Kim y Lee, 2004) y de *Platichthys stellatus* (9,0 mg/g de dieta) (Lee *et al.*, 2003).

Kim y Lee, 2004 sugieren que los efectos negativos del exceso de n-3 HUFA en la dieta pueden deberse a la alteración de los lípidos polares de las membranas causada por la acumulación excesiva de EPA y de DHA en los tejidos. En nuestros resultados observamos que el aumento del nivel dietario de n-3 HUFA provocó el aumento del nivel de n-3 HUFA en los tejidos de los peces, y que los n-3 HUFA, y en particular el DHA, alcanzaron mayor proporción en los LP que en los LN. Por lo tanto, es razonable pensar que el exceso de n-3 HUFA en la dieta pueda traducirse en un exceso de DHA y de EPA en los LP, lo cual afectaría la estructura y funcionalidad de las membranas celulares. Por su parte, Huang *et al.*, 1998 sugieren que los efectos negativos del exceso de n-3 HUFA en la dieta probablemente se deban al aumento de la actividad de peroxidación de los lípidos en el retículo sarcoplasmático observada en los peces alimentados con exceso de n-3 HUFA, ya que la alta actividad de peroxidación de los lípidos en el retículo sarcoplasmático podría causar la destrucción de los antioxidantes naturales tales como las vitaminas A, C y E. Por otro lado, Du *et al.*, 2008 también observaron que el exceso de HUFA en la dieta reduce el consumo de alimento en carpa herbívora. Por consiguiente, estos autores sugieren que el

efecto negativo de un exceso de HUFA sobre el crecimiento podría explicarse también en parte por la reducción en el consumo de alimento. En nuestro experimento observamos que los peces de la dieta V0 presentaron los mayores valores de TCA (tasa de conversión alimentaria). Dicho parámetro, utilizado para estimar la eficiencia con la que los peces utilizaron el alimento, se calculó en base al alimento ofrecido en cada tanque experimental sin restar el alimento no consumido. Es decir que los elevados valores de TCA obtenidos con la dieta V0 tal vez estén reflejando una menor tasa de consumo. Esto a su vez también podría explicar el hecho de que los peces alimentados con la dieta V0 hayan acumulado menos lípidos totales y lípidos neutros que los alimentados con las dietas V25 y V60.

En nuestro experimento, el desempeño de los peces no se vio perjudicado por la sustitución parcial en la dieta del DHA y el EPA por el LNA. Esto sugiere que los juveniles de *P. orbignyanus* fueron capaces de satisfacer sus requerimientos de AGE aún con la dieta que no contenía aceite de pescado agregado (dieta V100). Esto implica que en las condiciones experimentales ensayadas, los requerimientos de n-3 HUFA de los juveniles de *P. orbignyanus* son tan bajos que pudieron ser cubiertos satisfactoriamente aún por el bajo contenido de n-3 HUFA de la dieta V100 (2,54 mg/g), o bien que en agua salobre estos peces son capaces de satisfacer sus requerimientos de AGE con LNA y LA, los cuales fueron particularmente abundantes en las dietas V60 y V100.

Los peces marinos generalmente no tienen la capacidad de satisfacer sus requerimientos de AGE con LNA y LA. Dicha limitación se debe a que estos peces no presentan las actividades  $\Delta 5$  Fads y Elovl2 (Tocher, 2010). Sin embargo, las actividades  $\Delta 6$  Fads y Elovl5 parecen ser funcionales en todos los peces marinos (Tocher, 2010). Por lo tanto, si un pez marino es alimentado con una dieta rica en LNA y LA sería esperable observar la acumulación de alguno de los productos metabólicos de las actividades  $\Delta 6$  Fads y/o Elovl5 sobre el LNA y el LA. Curiosamente, en nuestro experimento solo se observó la acumulación de 20:3n-3, el producto de la actividad Elovl5 directamente sobre el LNA. Esta acumulación relativamente importante de 20:3n-3 no solo representa un fuerte indicio de la existencia de la actividad Elovl5 en *P. orbignyanus*, sino que además sugiere que en este lenguado la actividad  $\Delta 8$  Fads es muy reducida o inexistente. Este dato es interesante ya que parece ir en contra de los resultados de Monroig *et al.* (2011), quienes demostraron que la actividad  $\Delta 8$  Fads está más extendida entre los teleósteos de lo que se pensaba y que la misma es considerablemente mayor en los peces marinos que en los diádromos y que en los de agua dulce. Por lo tanto, en este aspecto del metabolismo de los PUFA los juveniles

de *P. orbignyanus* mantenidos en agua salobre aparentemente se parecen más a los peces diádromos y a los de agua dulce que a los marinos.

El hecho de que el 18:4n-3 y el 18:3n-6 no se hayan acumulado, ni siquiera en los peces alimentados con exceso de LNA y LA (dieta V100), podría estar indicando que la actividad  $\Delta 6$  Fads en *P. orbignyanus* es muy baja o que el 18:4n-3 y el 18:3n-6 fueron consumidos como sustrato en otras reacciones. Con nuestros resultados no tenemos manera de estimar el nivel de actividad de la  $\Delta 6$  Fads en este lenguado, pero asumimos que presenta actividad Elovl5 ya que la misma está presente en todos los teleósteos estudiados actuando de manera generalizada sobre los sustratos C18 y C20 PUFA (Castro *et al.*, 2016). Por lo tanto, cabe la posibilidad de que el 18:4n-3 y el 18:3n-6 no se hayan acumulado debido a que fueron elongados a 20:4n-3 y 20:3n-6 respectivamente, por medio de la actividad Elovl5. Sin embargo, tampoco encontramos acumulación de 20:4n-3 ni de 20:3n-6 en los peces, lo cual nuevamente podría estar indicando que estos AG también fueron consumidos como sustrato en otras reacciones. El 20:4n-3 y el 20:3n-6 son el sustrato de la actividad  $\Delta 5$  Fads para dar lugar al EPA y al ARA respectivamente, sin embargo los peces marinos generalmente no presentan actividad  $\Delta 5$  Fads, lo que limita su capacidad para utilizar el LNA y el LA para sintetizar HUFA (Tocher, 2010). No obstante, la actividad  $\Delta 5$  Fads está presente en los peces de agua dulce (Henderson y Tocher, 1987; Tocher, 2010) y en los peces diádromos como los salmónidos (Bell *et al.*, 1997; Tocher *et al.*, 2000; 2003), pero también en el pez herbívoro marino eurihalino *Siganus canaliculatus* (Li *et al.*, 2010). Por lo tanto no podemos descartar por completo la posibilidad de que los juveniles de *P. orbignyanus* cuenten con actividad  $\Delta 5$  Fads.

Tal como muestra la figura 7, las abruptas reducciones de los niveles dietarios de n-3 HUFA, DHA, EPA y ARA se reflejaron de manera atenuada en los perfiles de AG de los peces. Tal atenuación puede deberse ya sea a la capacidad de estos peces para retener y acumular los HUFA obtenidos de la dieta, o a la biosíntesis de los mismos a partir de sus precursores C18 PUFA obtenidos de la dieta. Con nuestro estudio no podemos descartar ninguna de las dos posibilidades dado que las dietas con bajos niveles de DHA, EPA y ARA tenían altos niveles de sus precursores. Es decir que no podemos asegurar que los mg de DHA, EPA y ARA encontrados en los peces provinieron todos de la dieta, pero tampoco que fueron todos producto de la biosíntesis a partir de sus precursores C18 PUFA. No obstante, cuando se trata de los HUFA, el porcentaje de retención de los mismos en los tejidos de los peces puede llegar a ser muy importante, especialmente cuando los niveles de estos AG en la dieta son bajos. Stubhaug *et al.* (2007) observaron en *Salmo salar* que durante la fase de

crecimiento en agua de mar, los peces alimentados con una dieta basada en aceite de pescado retuvieron aproximadamente el 20% del EPA y el 30% del DHA que ingirieron, mientras que los alimentados con una dieta basada en aceites vegetales retuvieron aproximadamente el 70% del EPA y el 80% del DHA. Resultados similares, donde el porcentaje de retención de DHA y de EPA en los peces aumentó cuando sus niveles dietarios disminuyeron, se han reportado también en el pez diádromo *Lates calcarifer* (Glencross y Rutherford, 2011) y en la tilapia del Nilo (Brignol *et al.*, 2019). A raíz de este tipo de resultados Turchini *et al.* (2009) han sugerido la existencia de un mecanismo de tipo interruptor que es capaz de cambiar el sustrato de la  $\beta$ -oxidación, permitiendo preservar el EPA y el DHA en las membranas en lugar de usarlos como sustratos energéticos en peces alimentados con dietas pobres en HUFA. Independientemente del mecanismo detrás de este fenómeno, el hecho de que se haya demostrado en varias especies de peces ecológica y filogenéticamente distantes entre sí sugiere que probablemente es algo extendido entre los teleósteos. Por lo tanto, parece probable que este fenómeno también pueda ocurrir en los juveniles de *P. orbignyanus*.

Dado que en nuestro experimento el desempeño obtenido con la dieta V100 (0% aceite de pescado agregado) prácticamente no se diferenció del obtenido con las dietas V25 y V60 (contenidos intermedios de aceite de pescado), pero fue mejor que el obtenido con la dieta V0 (100% aceite de pescado), aparentemente no tenemos nada que indique que el bajo contenido de DHA, EPA y ARA observado en los peces alimentados con la dieta V100 tuvo algún efecto negativo sobre su desempeño. No obstante, observamos que la duración del período de alimentación también determinó la composición de AG de los peces. En los peces de los cuatro tratamientos, pero principalmente en los alimentados con la dieta que no contenía aceite de pescado agregado (dieta V100), las proporciones de la mayoría de los HUFA, pero principalmente del DHA, el EPA y el ARA, disminuyeron significativamente entre el día 34 y el día 60 del experimento. Esto nos condujo a plantearnos que tal vez la dieta V100 no fue capaz de cubrir adecuadamente los requerimientos de AGE de los juveniles de *P. orbignyanus* en las condiciones experimentales, y que el hecho de que no se haya manifestado en un menor desempeño se debe a que no transcurrió el tiempo suficiente. Un experimento más largo probablemente resultaría en que el desempeño de los peces alimentados con la dieta V100 sea el menor.

Los resultados de este trabajo no sólo tienen gran relevancia para el desarrollo de la acuicultura de *P. orbignyanus* en nuestra región, sino que también contribuyen al conocimiento del metabolismo de los PUFA en las especies eurihalinas/estuarinas en

general. Por lo tanto, también podrían contribuir con la diversificación de la acuicultura hacia las especies eurihalinas/estuarinas con poca dependencia del aceite de pescado en la dieta.

### **CONCLUSIONES:**

1. En agua salobre el desempeño de los juveniles de *P. orbignyana* mejora cuando el aceite de pescado de la dieta se sustituye parcialmente por aceites vegetales ricos en LNA.
2. En agua salobre el desempeño de los juveniles de *P. orbignyana* no se ve perjudicado por el reemplazo en la dieta del 90% del aceite de pescado por aceites vegetales ricos en LNA.
3. En agua salobre la proporción óptima de n-3 HUFA para la dieta de los juveniles de *P. orbignyana* probablemente se encuentre en torno a 8,70 mg/g de dieta seca.
4. En las condiciones experimentales los juveniles de *P. orbignyana* presentan actividad Elovl5, pero su actividad  $\Delta 8$  Fads es muy reducida o inexistente.

### **PERSPECTIVAS:**

1. Sería conveniente comparar en agua de mar y en agua salobre, una dieta control rica en DHA, EPA y ARA con otra totalmente desprovista de n-3 y n-6 HUFA pero con LNA y LA en su lugar. Una experimento así permitiría determinar si los juveniles de *P. orbignyana* efectivamente son capaces de sintetizar DHA y EPA a partir de LNA, y ARA a partir de LA. Además permitiría estudiar el efecto de la salinidad sobre el metabolismo de los PUFA en este lenguado.
2. Sería interesante realizar estudios moleculares complementarios (transcriptómica) a fin de determinar si este lenguado presenta las actividades elongasas y desaturasas necesarias para la biosíntesis de DHA, EPA y ARA a partir de sus precursores de C18 PUFA.
3. Se debería determinar los requerimientos de AGE en los juveniles de *P. orbignyana* durante su primer año de vida en agua de mar y agua salobre, para luego comparando los resultados obtenidos, determinar si la salinidad efectivamente afecta los requerimientos de AGE en esta especie.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alava, V.R. y Kanazawa, A., 1996. Effect of dietary fatty acids on growth of milkfish *Chanos chanos* fry in brackish water. *Aquaculture*, v. 144, pp. 363-369.
- Alava, V.R., 1998. Effect of salinity, dietary lipid source and level on growth of milkfish (*Chanos chanos*) fry. *Aquaculture*, v. 167, pp. 229–236.
- AOAC, 1990. Official Methods for Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 15th edition. Arlington, VA, 745 pp.
- Badillo-Zapata, D., Correa-Reyes, G., D'Abramo, L.R., Lazo, J.P., Toro-Vázquez, J.F. y Viana, M.T., 2010. Effect of replacing dietary fish oil with vegetable oils on the fatty acid composition of muscle tissue of juvenile California halibut (*Paralichthys californicus*). *Ciencias Marinas*, v. 36, n. 2, pp. 121–133.
- Bautista, M.N. y De la Cruz, M.C., 1988. Linoleic ( $\omega 6$ ) and Linolenic ( $\omega 3$ ) acids in the diet of fingerling Milkfish (*Chanos chanos* Forsskal). *Aquaculture*, v. 71, pp. 347-358.
- Bell, J.G., Tocher, D.R., Farndale, B.M., Cox, D.I., McKinney, R.W. y Sargent, J.R., 1997. The effect of dietary lipid on polyunsaturated fatty acid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar*) undergoing parr-smolt transformation. *Lipids*, v. 32, pp. 515–525.
- Bell, J.G., Strachan, F., Good, J.E. y Tocher, D.R., 2006. Effect of dietary echium oil on growth, fatty acid composition and metabolism, gill prostaglandin production and macrophage activity in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture Research*, v. 37, n. 6, pp. 606-617.
- Bell, M.V. y Tocher, D.R., 2009a. Biosynthesis of fatty acids: general principles and new directions. En: Arts, M.T., Brett, M. y Kainz, M. (Eds.). *Lipids in Aquatic Ecosystems*. Springer, New York, USA, pp. 211–236.
- Bell, J.G. y Tocher, D.R., 2009b. Farmed fish: the impact of diet on fatty acid compositions. In: Rossell, B. (Ed.). *Oils and Fats Handbook*. Fish Oils vol. 4. Leatherhead Food International, Leatherhead, pp. 171–184.
- Benitez, L.V. y Gorrecita, I.R., 1985. Lipid Composition of Milkfish Grown in Ponds by Traditional Aquaculture. En: Cho, C.Y., Cowey, C.B. y Watanabe, T. (Eds.). *Finfish nutrition in Asia: methodological approaches to research and development*. Ottawa, Canada, IDRC-233e, pp. 145-151.
- Benítez-Santana, T., Masuda, R., Juárez Carrillo, E., Ganuza, E., Valencia, A., Hernández-Cruz, C.M. y Izquierdo, M.S., 2007. Dietary n-3 HUFA deficiency induces a reduced visual response in gilthead seabream *Sparus aurata* larvae. *Aquaculture*, v. 264, pp. 408–417.
- Bessonart, M., Magnone, L., Gadea, J., Féola, F. y Salhi, M., 2016. Salinidad y ácidos grasos en el desarrollo de juveniles de *Paralichthys orbignyanus*. En: *Anais Aquaciencia 2016*. VII Congresso da Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, agosto de 2016, Belo Horizonte - MG.
- Borges, P., Reis, B., Fernandes, T.J.R., Palmas, Â., Castro-Cunha, M., Médale, F., Oliveira, M.B. y Valente, L.M.P., 2014. Senegalese sole juveniles can cope with diets

devoid of supplemental fish oil while preserving flesh nutritional value. *Aquaculture*, v. 418–419, pp. 116–125.

- Brignol, F.D., Fernandes, V.A.G., Nobrega, R.O., Corrêa, C.F., Filler, K., Pettigrew, J. y Fracalossi, D.M., 2019. *Aurantiochytrium* sp. meal as DHA source in Nile tilapia diet, part II: Body fatty acid retention and muscle fatty acid profile. *Aquaculture Research*, v. 50, pp. 707–716.
- Brown, M.R., Jeffrey, S.W., Volkman, J.K. y Dunstan, G.A., 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*, v. 151, pp. 315-331.
- Castro, L.F.C., Wilson, J.M., Gonçalves, O., Galante-Oliveira, S., Rocha, E. y Cunha, I., 2011. The evolutionary history of the stearyl-CoA desaturase gene family in vertebrates. *BMC Evolutionary Biology*, v. 11, pp. 132.
- Castro, L.F.C., Tocher, D.R. y Monroig, O., 2016. Long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis in chordates: Insights into the evolution of Fads and Elovl gene repertoire. *Progress in Lipid Research*, v. 62, pp. 25–40.
- Cerqueira, V.R., 2005. Egg development of *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1839). *Brazilian Archives of Biology Technology*, v. 48, pp. 459–465.
- Christie, W.W., 1982. *Lipid analysis: isolation, separation, identification, and structural analysis of lipids*. Oxford: Pergamon Press, 207 pp.
- Das, U.N., 2006. Essential fatty acids - a review. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, v. 7, n. 6, pp. 467 - 482.
- Du, Z.Y., Clouet, P., Huang, L.M., Degrace, P., Zheng, W.H., He, J.G., Tian, L.X. y Liu, I.J., 2008. Utilization of different dietary lipid sources at high level in herbivorous grass carp (*Ctenopharyngodon idella*): mechanism related to hepatic fatty acid oxidation. *Aquaculture Nutrition*, v. 14, pp. 77–92.
- FAO, 2018. *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2018. Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible*. Roma. Licencia: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- Folch, J., Lees, M. y Stanley, G., 1957. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, v. 226, pp. 497–509.
- Fonseca-Madrigal, J., Pineda-Delgado, D., Martínez-Palacios, C. Rodríguez, C. y Tocher, D.R., 2012. Effect of salinity on the biosynthesis of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in silverside *Chirostoma estor*. *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 38, pp. 1047–1057.
- Gadea, J., Bessonart, M., Magnone, L., Féola, F. y Salhi, M., 2015. Life history traits influence in gonad composition of two sympatric species of flatfish. *Brazilian Journal of Oceanography*, v. 63, n. 3, pp. 171–180.
- Gladyshev, M. I., Arts, M. T. y Sushchik, N. N., 2009. Chapter 8: Preliminary Estimates of the Export of Omega-3 Highly Unsaturated Fatty Acids (EPA + DHA) from Aquatic to Terrestrial Ecosystems. En: Arts, M. T., Brett, M. T. & Kainz, M. J. (Eds.). *Lipids in Aquatic Ecosystems*. New York, Springer Science+Business Media, pp. 179 – 209.

- Glencross, B.D., 2009. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. *Reviews in Aquaculture*, v. 1, pp. 71-124.
- Glencross, B. y Rutherford, N., 2011. A determination of the quantitative requirements for docosahexaenoic acid for juvenile barramundi (*Lates calcarifer*) *Aquaculture Nutrition*, v. 17, pp. 536–548.
- Gonçalves, A.M.M., Azeiteiro, U.M., Pardal, M.A. y De Troch, M., 2012. Fatty acid profiling reveals seasonal and spatial shifts in zooplankton diet in a temperate estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, v. 109, pp. 70 – 80.
- Guillou, H., Zadavec, D., Martin, P.G.P. y Jacobsson, A., 2010. The key roles of elongases and desaturases in mammalian fatty acid metabolism: insights from transgenic mice. *Progress in Lipid Research*, v. 49, pp. 186–99.
- Halver, J.E. y Hardy, W.R. (Eds.), 2002. *Fish Nutrition* 3rd edition. New York, Academic Press, pp. 824.
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T., y P.D. Ryan, 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*, v. 4, n. 1, pp. 9.
- Harwood, J.L., 1996. Recent advances in the biosynthesis of plant fatty acids. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1301, pp. 7–56.
- Harwood, J.L. y Guschina, I.A., 2009. The versatility of algae and their lipid metabolism. *Biochimie*, v. 91, pp. 679-684.
- Haugen, T., Kiessling, A., Olsen, R.E., Rørå, M.B., Slinde, E. y Nortvedt, R., 2006. Seasonal variations in muscle growth dynamics and selected quality attributes in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) fed dietary lipids containing soybean and/or herring oil under different rearing regimes. *Aquaculture*, v. 261, pp. 565–579.
- Henderson, R.J. y Tocher, D.R., 1987. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Progress in Lipid Research*, v. 26, pp. 281-347.
- Hixson, S.M., Sharma, B., Kainz, M.J., Wacker, A. y Arts, M.T., 2015. Production, distribution, and abundance of long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids: a fundamental dichotomy between freshwater and terrestrial ecosystems. *Environmental Reviews*, v. 23, pp. 414–424.
- Hopkins, K.D., 1992. Reporting Fish Growth: A Review of the Basics. *Journal of the World Aquaculture Society*, v. 23, n. 3, pp. 173-179.
- Huang, C.H., Huang, M.C. y Hou, P.C., 1998. Effect of dietary lipids on fatty acid composition and lipid peroxidation in sarcoplasmic reticulum of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, v. 120, pp. 331–336.
- Hunt, A.O., Oxkan, F.E., Engin, K. y Tekelioglu, N., 2011. The effects of freshwater rearing on the whole body and muscle tissue fatty acid profile of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture International*, v. 19, pp. 51–61.

- Izquierdo, M.S., Obach, A., Arantzamendi, L., Montero, D., Robaina, L. y Rosenlund, G., 2003. Dietary lipid sources for seabream and seabass: growth performance, tissue composition and flesh quality. *Aquaculture Nutrition*, v. 9, pp. 397-407.
- Izquierdo, M.S., Montero, D., Robaina, L., Caballero, M.J., Rosenlund, G. y Ginés, R., 2005. Alterations in fillet fatty acid profile and flesh quality in gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed vegetable oils for a long term period. Recovery of fatty acid profiles by fish oil feeding. *Aquaculture*, v. 250, pp. 431–444.
- Juaneda, P. y Rocquelin, G., 1985. Rapid and convenient separation of phospholipids and non phosphorus lipids from rat heart using silica cartridges. *Lipids*, v. 20, pp. 40-41.
- Kabeya, N., Chiba, M., Haga, Y., Satoh, S. y Yoshizaki, G., 2017. Cloning and functional characterization of fads2 desaturase and elovl5 elongase from Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, v. 214, pp. 36–46.
- Kim, K.D. y Lee, S. M., 2004. Requirement of dietary n-3 highly unsaturated fatty acids for juvenile flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, v. 229, pp. 315–323.
- Kuah, M.K., Jaya-Ram, A. y Shu-Chien, A.C., 2015. The capacity for long-chain polyunsaturated fatty acid synthesis in a carnivorous vertebrate: Functional characterisation and nutritional regulation of a Fads2 fatty acyl desaturase with  $\Delta 4$  activity and an Elovl5 elongase in striped snakehead (*Channa striata*). *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1851, pp. 248–260.
- Lee, S.M., Lee, J.H. y Kim, K.D., 2003. Effect of dietary essential fatty acids on growth, body composition and blood chemistry of juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*). *Aquaculture*, v. 225, pp. 269–281.
- Leonard, A.E., Pereira, S.L., Sprecher, H. y Huang, Y.S, 2004. Elongation of long-chain fatty acids. *Progress in Lipid Research*, v. 43, pp. 36–54.
- Li, Y., Hu, C., Zheng, Y., Xia, X., Xu, W., Wang, S., Chen, W., Sun, Z. y Huang, J., 2008. The effects of dietary fatty acids on liver fatty acid composition and  $\Delta 6$ -desaturase expression differ with ambient salinities in *Siganus canaliculatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, v. 151, pp. 183–190.
- Li, Y., Monroig, O., Zhang, L., Wang, S., Zheng, X., Dick, J.R., You, C. y Tocher, D.R., 2010. Vertebrate fatty acyl desaturase with  $\Delta 4$  activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 107, n. 39, pp. 16840–16845.
- Li-Beisson, Y., Thelen, J.J., Fedosejevs, E. y Harwood, J.L., 2019. The lipid biochemistry of eukaryotic algae. *Progress in Lipid Research*, v. 74, pp. 31–68.
- Lopez, A. y Forte, S., 2005. Food and feeding habits of flounder *Paralichthys orbignyanus* (Jenyns, 1842) in Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Hydrobiologia*, v. 549, pp. 251–257.
- Magnone, L., Bessonart, M., Gadea, J. y Salhi, M., 2015a. Trophic relationships in an estuarine environment: A quantitative fatty acid analysis signature approach. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, v. 166, pp. 24–33.

- Magnone, L., Bessonart, M., Rocamora, M., Gadea, J. y Salhi, M., 2015b. Diet estimation of *Paralichthys orbignyanus* in a coastal lagoon via quantitative fatty acid signature analysis. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 462, pp. 36–49.
- Masuda, R., Takeuchi, T., Tsukamoto, K., Ishizaki, Y., Kanematsu, M. y Imaizumi, K., 1998. Critical involvement of dietary docosahexaenoic acid on the ontogeny of schooling behaviour in yellowtail. *Journal of Fish Biology*, v. 53, pp. 471–484.
- Masuda, R., Takeuchi, T., Tsukamoto, K., Sato, H., Shimizu, K. y Imaizumi, K., 1999. Incorporation of Dietary Docosahexaenoic Acid into the Central Nervous System of the Yellowtail *Seriola quinqueradiata*. *Brain Behavior and Evolution*, v. 53, pp. 173–179.
- McLusky, D.S. y Elliott, M., 2004. *The Estuarine Ecosystem: Ecology, Threats, and Management*. 3a edición, New York, Oxford University Press.
- Menoyo, D., Izquierdo, M.S, Robaina, L., Ginés, R., Lopez-Bote, C.J. y Bautista, J.M., 2004. Adaptation of lipid metabolism, tissue composition and flesh quality in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) to the replacement of dietary fish oil by linseed and soyabean oils. *British Journal of Nutrition*, v. 92, pp. 41–52.
- Monroig, O., Li, Y. y Tocher, D.R., 2011. Delta-8 desaturation activity varies among fatty acyl desaturases of teleost fish: High activity in delta-6 desaturases of marine species. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, v. 159, pp. 206–213.
- Monroig, O., Wang, S., Zhang, L., You, C., Tocher, D.R. y Li, Y., 2012. Elongation of long-chain fatty acids in rabbitfish *Siganus canaliculatus*: Cloning, functional characterisation and tissue distribution of Elovl5- and Elovl4-like elongases. *Aquaculture*, v. 350–353, pp. 63–70.
- Monroig, O., Tocher, D.R. y Castro, L.F.C., 2018. Chapter 3 - Polyunsaturated Fatty Acid Biosynthesis and Metabolism in Fish. En: Burdge, G.C. (Ed.). *Polyunsaturated Fatty Acid Metabolism*. AOCS Press, pp. 31-60.
- Montero, D., Kalinowski, T., Obach, A., Robaina, L., Tort, L., Caballero, M.J. y Izquierdo, M.S., 2003. Vegetable lipid sources for gilthead seabream (*Sparus aurata*): effects on fish health. *Aquaculture*, v. 225, pp. 353–370.
- Montero, D., Grasso, V., Izquierdo, M.S., Ganga, R., Real, F., Tort, L., Caballero, M.J. y Acosta, A., 2008. Total substitution of fish oil by vegetable oils in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) diets: Effects on hepatic Mx expression and some immune parameters. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 24, pp. 147-155.
- Morais, S., Castanheira, F., Martinez-Rubio, L., Conceição, L.E.C. y Tocher, D.R., 2012. Long chain polyunsaturated fatty acid synthesis in a marine vertebrate: Ontogenetic and nutritional regulation of a fatty acyl desaturase with  $\Delta 4$  activity. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1821, pp. 660–671.
- Morais, S., Mourente, G., Martínez, A., Gras, N. y Tocher, D.R., 2015. Docosahexaenoic acid biosynthesis via fatty acyl elongase and  $\Delta 4$ -desaturase and

its modulation by dietary lipid level and fatty acid composition in a marine vertebrate. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1851, pp. 588–597.

- Mourente, G., Tocher, D.R. y Sargent, J.R., 1991. Specific accumulation of docosahexaenoic acid (22:6n-3) in brain lipids during development of juvenile turbot, *Scophthalmus maximus*. *Lipids*, v. 26, n. 11, pp. 871–877.
- Moya-Falcón, C., Hvattum, E., Tran, T.N., Thomassen, M.S., Skorve, J. y Ruyter, B., 2006. Phospholipid molecular species,  $\beta$ -oxidation, desaturation and elongation of fatty acids in Atlantic salmon hepatocytes: effects of temperature and 3-thia fatty acids. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, v. 145, pp. 68-80.
- Nelson, D.L. y Cox, M.M., 2004. *Lehninger Principles of Biochemistry 4th Edition*. Freeman and Company, New York, 1119 pp.
- Ng, W.K, Lim, P.K. y Boey, P.L., 2003. Dietary lipid and palm oil source affects growth, fatty acid composition and muscle  $\alpha$ -tocopherol concentration of African catfish, *Clarias gariepinus*. *Aquaculture*, v. 215, pp. 229–243.
- Norbis, W. y Galli, O., 2004. Hábitos de alimentación del lenguado *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1842) en una laguna costera somera del Atlántico Sur: Rocha, Uruguay. *Ciencias Marinas*, v. 30, pp. 619 – 626.
- Regost, C., Arzel, J., Robin, J., Rosenlund, G. y Kaushik, S.J., 2003. Total replacement of fish oil by soybean or linseed oil with a return to fish oil in turbot (*Psetta maxima*) 1. Growth performance, flesh fatty acid profile, and lipid metabolism. *Aquaculture*, v. 217, pp. 465–482.
- Ricker, W., 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *Bulletin Fisheries Research. Board of Canada*, v. 191, pp. 1-382.
- Rivera, A., García de la Rosa, S.B. y Díaz de Astarloa, J.M., 2001. Feeding Ecology of Flatfish Juveniles (Pleuronectiformes) in Mar Chiquita Coastal Lagoon (Buenos Aires, Argentina). *Estuaries*, v. 24, pp. 917 – 925.
- Sampaio, L.A. y Bianchini, A., 2002. Salinity effects on osmoregulation and growth of the euryhaline flounder *Paralichthys orbignyanus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 269, pp. 187-196.
- Sampaio, L.A., Freitas, L.S., Okamoto, M.H., Louzada, L.R., Rodriguez, R.V. y Robaldo, R.B., 2007. Effects of salinity on Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus* from fertilization to juvenile settlement. *Aquaculture*, v. 262, pp. 340–346.
- Sargent, J.R., Bell, J.G., Bell, M.V., Henderson, R.J. y Tocher, D.R., 1993. The metabolism of phospholipids and polyunsaturated fatty acids in fish. In: Callou, B. y Vittelo, P. (Eds). *Coastal and Estuarine Studies – Aquaculture: Fundamental and Applied Research*, pp. 103–124. American Geophysical Union, Washington.
- Sargent, J.R., McEvoy, L.A. y Bell, J.G., 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture*, v. 155, pp. 117–127.

- Sargent, J., Bell, G., McEvoy, L., Tocher, D. y Estevez, A., 1999. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture*, v. 177, pp. 191–199.
- Sargent, J., Tocher, D. y Bell, J. G., 2002. The Lipids. En: Halver, J.E. y Hardy, W.R. (Eds.). *Fish Nutrition 3rd Edition*. Academic Press, New York, pp. 181 – 257.
- Sarker, M.A.S., Yamamoto, Y., Haga, Y., Sarker, M.S.A., Miwa, M., Yoshizaki, G. y Satoh, S., 2011. Influences of low salinity and dietary fatty acids on fatty acid composition and fatty acid desaturase and elongase expression in red sea bream *Pagrus major*. *Fisheries Science*, v. 77, pp. 385–396.
- Schmitz, G. y Ecker, J., 2008. The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. *Progress in Lipid Research*, v. 47, pp. 147-155.
- Schünke, M. y Wodtke, E., 1983. Cold-induced increase of  $\Delta 9$ - and  $\Delta 6$ -desaturase activities in endoplasmic membranes of carp liver. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 734, pp. 70-75.
- Seilliez, I., Panserat, S., Corraze, G., Kaushik, S. y Bergot, P., 2003. Cloning and nutritional regulation of a  $\Delta 6$ -desaturase-like enzyme in the marine teleost gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, v. 135, pp. 449–460.
- Shapawi, R., Mustafa, S. y Ng, W.K., 2008. Effects of dietary fish oil replacement with vegetable oils on growth and tissue fatty acid composition of humpback grouper, *Cromileptes altivelis* (Valenciennes). *Aquaculture Research*, v. 39, n. 3, pp. 315–323.
- Silveira, M.P.M., Cousin, J.C.B. y Haimovici, M., 1995. Estrutura ovárica e testicular do linguado *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1939). *Atlântica*, v. 17, pp. 135–152.
- Stubhaug, I., Lie, Ø. y Torstensen, B.E., 2007. Fatty acid productive value and b-oxidation capacity in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed on different lipid sources along the whole growth period. *Aquaculture Nutrition*, v. 13, pp. 145–155.
- Tocher, D.R., Bell, J.G., Henderson, R.J., McGhee, F., Mitchell, D. y Morris, P.C., 2000. Polyunsaturated fatty acid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar*) undergoing parr-smolt transformation and the effects of dietary linseed and rapeseed oils. *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 23, pp. 59–73.
- Tocher, D.R., 2003. Metabolism and Functions of Lipids and Fatty Acids in Teleost Fish. *Reviews in Fisheries Science*, v. 11, n. 2, pp. 107-184.
- Tocher, D.R., Bell, J.G., McGhee, F., Dick, J.R. y Fonseca-Madrugal, J., 2003. Effects of dietary lipid level and vegetable oil on fatty acid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar*) over the entire production cycle. *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 29, pp. 193–209.
- Tocher, D.R., Fonseca-Madrugal, J., Dick, J.R., Ng, W., Bell, J.G. y Campbell, P.J., 2004. Effects of water temperature and diet containing palm oil on fatty acid desturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, v. 137, pp. 49–63.

- Tocher, D.R., Zheng, X., Schlechtriem, C., Hastings, N., Dick, J.R. y Teale, A.J., 2006. Highly Unsaturated Fatty Acid Synthesis in Marine Fish: Cloning, Functional Characterization, and Nutritional Regulation of Fatty Acyl  $\Delta 6$  Desaturase of Atlantic Cod (*Gadus morhua* L.). *Lipids*, v. 41, n. 11, pp. 1003-1016.
- Tocher, D. R., 2010. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. *Aquaculture Research*, v. 41, pp. 717–732.
- Tocher, D.R., Francis, D.S., Coupland, K., 2011. n–3 polyunsaturated fatty acid-rich vegetable oils and blends. In: Turchini, G.M., Ng, W.-K., Tocher, D.R. (Eds.). *Fish Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feeds*. Taylor & Francis, CRC Press, Boca Raton, pp. 209–244.
- Tocher, D.R., 2015. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and aquaculture in perspective. *Aquaculture*, v. 449, pp. 94–107.
- Torstensen, B.E. y Tocher, D.R., 2011. The effects of fish oil replacement on lipid metabolism of fish. In: Turchini, G.M., Ng, W.-K., Tocher, D.R. (Eds.). *Fish Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feeds*. Taylor & Francis, CRC Press, Boca Raton, pp. 405–437.
- Turchini, G.M., Torstensen, B.E. y Ng, W.K., 2009. Fish oil replacement in finfish nutrition. *Reviews in Aquaculture*, v. 1, pp. 10–57.
- United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division, 2017. *World Population Prospects: The 2017 Revision, Volume II: Demographic Profiles*. ST/ESA/SER.A/400.
- Vagner, M. y Santigosa, E., 2011. Characterization and modulation of gene expression and enzymatic activity of delta-6 desaturase in teleosts: a review. *Aquaculture*, v. 315, pp. 131–143.
- Wassall, S.R. y Stillwell, W., 2008. Docosahexaenoic acid domains: the ultimate non-raft membrane domain. *Chemistry and Physics of Lipids*. v. 153, pp. 57–63.
- Watanabe, T., 1982. Lipid Nutrition in Fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, v. 73B, n. 1, pp. 3-15.
- Wilson, R.P., 1994. Review: Utilization of dietary carbohydrate by fish. *Aquaculture*, v. 124, pp. 67-80.
- Xie, D., Wang, S., You, C., Chen, F., Tocher, D.R. y Li, Y., 2015. Characteristics of LC-PUFA biosynthesis in marine herbivorous teleost *Siganus canaliculatus* under different ambient salinities. *Aquaculture Nutrition*, v. 21, pp. 541–551.
- Xu, J., Yan, B., Teng, Y., Lou, G. y Lu, Z., 2010. Analysis of nutrient composition and fatty acid profiles of Japanese sea bass *Lateolabrax japonicus* (Cuvier) reared in seawater and freshwater. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 23, pp. 401–405.
- Xu, S., Wang, S., Zhang, L., You, C. y Li, Y., 2012. Effects of replacement of dietary fish oil with soybean oil on growth performance and tissue fatty acid composition in marine herbivorous teleost *Siganus canaliculatus*. *Aquaculture Research*, v. 43, pp. 1276–1286.

- Zar, J.H., 2010. Biostatistical Analysis 5th Edition. Pearson Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, 944 pp.
- Zhang, S., Sakuradani, E., Ito, K. y Shimizu, S., 2007. Identification of a novel bifunctional  $\Delta 12/\Delta 15$  fatty acid desaturase from a basidiomycete, *Coprinus cinereus* TD#822-2. FEBS Letters, v. 581, pp. 315–319.
- Zheng, X., Torstensen, B.E., Tocher, D.R., Dick, J.R., Henderson, R.J. y Bell, J.G., 2005. Environmental and dietary influences on highly unsaturated fatty acid biosynthesis and expression of fatty acyl desaturase and elongase genes in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Biochimica et Biophysica Acta, v. 1734, pp. 13– 24.
- Zheng, X., Ding, Z., Xu, Y., Monroig, O., Morais, S. y Tocher, D.R., 2009. Physiological roles of fatty acyl desaturases and elongases in marine fish: Characterisation of cDNAs of fatty acyl  $\Delta 6$  desaturase and *elov15* elongase of cobia (*Rachycentron canadum*). Aquaculture, v. 290, pp. 122–131.
- Zhou, X.R., Horne, I., Damcevski, K., Haritos, V., Green, A. y Singh, S., 2008. Isolation and functional characterization of two independently-evolved fatty acid  $\Delta 12$ -desaturase genes from insects. Insect Molecular Biology, v.17, pp. 667–76.
- Zhou, X.R., Green, A.G., Singh, S.P., 2011. *Caenorhabditis elegans*  $\Delta 12$ -desaturase FAT-2 is a bifunctional desaturase able to desaturate a diverse range of fatty acid substrates at the  $\Delta 12$  and  $\Delta 15$  positions. Journal of Biological Chemistry, v. 286, pp. 43644–43650.

## ANEXOS

### Resultados de los análisis estadísticos

**Anexo 1.** Estudio de la normalidad y de la homogeneidad de varianzas de los datos de desempeño de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* “chicos” durante los primeros 34 días de experimento

		Tratamientos			
		V0 (n=50)	V25 (n=50)	V60 (n=50)	V100 (n=50)
Peso día 0 (g)	S-W	0,9678	0,9671	0,9652	0,9568
	p-valor	0,1878	0,1756	0,1461	0,0654
	Levene p-valor	0,9846			
Peso día 34 (g)	S-W	0,9743	0,9711	0,9688	0,9600
	p-valor	0,3432	0,2570	0,2066	0,0893
	Levene p-valor	0,3709			
LT día 34 (cm)	S-W	0,9779	0,9836	0,9874	0,9693
	p-valor	0,4685	0,7109	0,8669	0,2163
	Levene p-valor	0,4600			
K día 34	S-W	0,9166	0,9827	0,9446	0,9730
	p-valor	0,0018	0,6688	0,0205	0,3062
	Levene p-valor	0,3548			
CR 0-34	S-W	0,9761	0,9061	0,9268	0,8870
	p-valor	0,4024	0,0008	0,0042	0,0002
	Levene p-valor	0,5741			
TCE 0-34	S-W	0,9611	0,9164	0,9643	0,9169
	p-valor	0,0984	0,0017	0,1346	0,0018
	Levene p-valor	0,2653			

S-W: valor del estadístico W resultante del Test de Shapiro-Wilk para la distribución normal de los datos; Levene p-valor: resultado de Test de Levene para la homogeneidad de varianzas. LT: longitud total en cm; K: factor de condición; CR: crecimiento relativo; TCE: tasa de crecimiento específico; n: tamaño de la muestra.

**Anexo 2.** Resultados de los análisis de varianza (ANOVA) de los desempeños de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* “chicos” durante los primeros 34 días de experimento

		Análisis estadísticos		
		ANOVA (n=50)	K-W (n=50)	Welch (n=50)
Peso día 0 (g)	estadístico	F=0,0573	H=0,1797	F'=0,0553
	p-valor	0,9820	0,9808	0,9828
Peso día 34 (g)	estadístico	F=2,8020	H=6,2900	F'=2,4750
	p-valor	0,0411	0,0983	0,0653
LT día 34 (cm)	estadístico	F=2,2650	H=0,8250	F'=1,9750
	p-valor	0,0823	0,1194	0,1219
K día 34	estadístico	F=0,8909	H=3,2610	F'=1,0150
	p-valor	0,4468	0,3520	0,3891
CR 0-34	estadístico	F=29,6000	H=67,0600	F'=27,8400

	p-valor	<<0,0001	<<0,0001	<<0,0001
TCE 0-34	estadístico	F=30,5900	H=67,0000	F'=28,2100
	p-valor	<<0,0001	<<0,0001	<<0,0001

ANOVA: análisis de varianzas; K-W: test de Kruskal-Wallis; Welch: test de Welch. LT: longitud total en cm; K: factor de condición; CR: crecimiento relativo; TCE: tasa de crecimiento específico; n: tamaño de la muestra.

### Anexo 3. Resultados del test de Tukey de comparaciones entre pares de muestras en los casos que se detectó diferencias significativas con el ANOVA en el desempeño de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* "chicos" durante los primeros 34 días de experimento

		Tratamientos			
		V0 (n=50)	V25 (n=50)	V60 (n=50)	V100 (n=50)
Peso día 34 (g)	V0	-	0,0299	0,8993	0,7066
	V25	3,9360	-	0,1602	0,3210
	V60	0,9814	2,9550	-	0,9815
	V100	1,5170	2,4190	0,5355	-
CR 0-34	V0	-	<<0,0001	0,0010	<0,0001
	V25	13,2500	-	<0,0001	<0,0001
	V60	5,4210	7,8320	-	0,9267
	V100	6,2930	6,9600	0,8718	-
TCE 0-34	V0	-	<<0,0001	0,0001	<0,0001
	V25	13,5200	-	<0,0001	<0,0001
	V60	6,0980	7,4230	-	0,9531
	V100	6,8390	6,6810	0,7418	-

Encima de la diagonal se muestran los valores de p; debajo de la diagonal se muestra los valores del estadístico Q del test de Tukey. CR: crecimiento relativo; TCE: tasa de crecimiento específico; n: tamaño de la muestra.

### Anexo 4. Estudio de la normalidad y de la homogeneidad de varianzas de los datos de desempeño de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* "chicos" durante los 60 días de experimento

		Tratamientos			
		V0 (n=46)	V25 (n=46)	V60 (n=46)	V100 (n=46)
Peso día 60 (g)	S-W	0,9669	0,9623	0,9854	0,9612
	p-valor	0,2346	0,1580	0,8419	0,1449
	Levene p-valor			0,3619	
LT día 60 (cm)	S-W	0,9721	0,9822	0,9657	0,9543
	p-valor	0,3722	0,7202	0,2116	0,0799
	Levene p-valor			0,3054	
K día 60	S-W	0,9588	0,8810	0,9585	0,9457
	p-valor	0,1254	0,0003	0,1146	0,0382
	Levene p-valor			0,1265	
CR Total	S-W	0,9733	0,9439	0,8857	0,8649
	p-valor	0,3948	0,0327	0,0005	0,0001
	Levene p-valor			0,3778	
TCE Total	S-W	0,9831	0,9250	0,9071	0,8502
	p-valor	0,7568	0,0070	0,0018	<0,0001

S-W: valor del estadístico W resultante del Test de Shapiro-Wilk para la distribución normal de los datos; Levene p-valor: resultado de Test de Levene para la homogeneidad de varianzas. LT: longitud total en cm; K: factor de condición; CR: crecimiento relativo; TCE: tasa de crecimiento específico; *n*: tamaño de la muestra.

### Anexo 5. Resultados de los análisis de varianza (ANOVA) de los desempeños de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* “chicos” durante los 60 días de experimento

		Análisis estadísticos		
		ANOVA ( <i>n</i> =46)	K-W ( <i>n</i> =46)	Welch ( <i>n</i> =46)
Peso día 60 (g)	estadístico	F=1,6140	H=-9,2430	F'=1,3800
	p-valor	0,1880	1,0000	0,2535
LT día 60 (cm)	estadístico	F=1,5400	H=3,8910	F'=1,3500
	p-valor	0,2061	0,2735	0,2628
K día 60	estadístico	F=0,6411	H=2,8300	F'=0,5652
	p-valor	0,5896	0,4171	0,6393
CR Total	estadístico	F=8,8040	H=23,4500	F'=7,6950
	p-valor	<0,0001	<0,0001	0,0001
TCE Total	estadístico	F=8,6630	H=23,8400	F'=7,1280
	p-valor	<0,0001	<0,0001	0,0002

ANOVA: análisis de varianzas; K-W: test de Kruskal-Wallis; Welch: test de Welch. LT: longitud total en cm; K: factor de condición; CR: crecimiento relativo; TCE: tasa de crecimiento específico; *n*: tamaño de la muestra.

### Anexo 6. Resultados del test de Tukey de comparaciones entre pares de muestras en los casos que se detectó diferencias significativas con el ANOVA en el desempeño de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* “chicos” durante los 60 días de experimento

		Tratamientos			
		V0 ( <i>n</i> =46)	V25 ( <i>n</i> =46)	V60 ( <i>n</i> =46)	V100 ( <i>n</i> =46)
CR Total	V0	-	<0,0001	0,0135	0,0041
	V25	7,0250	-	0,2296	0,4212
	V60	4,3310	2,6950	-	0,9821
	V100	4,8600	2,1650	0,5293	-
TCE Total	V0	-	<0,0001	0,0107	0,0058
	V25	7,1200	-	0,2329	0,3247
	V60	4,4360	2,6840	-	0,9974
	V100	4,7100	2,4100	0,2739	-

Encima de la diagonal se muestran los valores de p; debajo de la diagonal se muestra los valores del estadístico Q del test de Tukey. CR: crecimiento relativo; TCE: tasa de crecimiento específico; *n*: tamaño de la muestra.

### Anexo 7. Estudio de la normalidad y de la homogeneidad de varianzas de los datos de desempeño de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* “grandes” durante los primeros 34 días de experimento

		Tratamientos			
		V0 ( <i>n</i> =25)	V25 ( <i>n</i> =25)	V60 ( <i>n</i> =25)	V100 ( <i>n</i> =25)
Peso día 0 (g)	S-W	0,9475	0,9273	0,9466	0,9701
	p-valor	0,2198	0,0751	0,2104	0,6471
Levene p-valor		0,9744			

Peso día 34 (g)	S-W	0,9330	0,9326	0,9737	0,9820
	p-valor	0,1020	0,0892	0,7592	0,9218
	Levene p-valor	0,8984			
LT día 34 (cm)	S-W	0,9306	0,9425	0,9607	0,9628
	p-valor	0,0899	0,1544	0,4529	0,4720
	Levene p-valor	0,6522			
K día 34	S-W	0,9725	0,9576	0,9648	0,9554
	p-valor	0,7083	0,3473	0,5421	0,3311
	Levene p-valor	0,1218			
CR 0-34	S-W	0,8981	0,9020	0,8856	0,8783
	p-valor	0,0167	0,0203	0,0108	0,0064
	Levene p-valor	0,2574			
TCE 0-34	S-W	0,8998	0,9023	0,8835	0,8786
	p-valor	0,0181	0,0206	0,0098	0,0065
	Levene p-valor	0,2532			

S-W: valor del estadístico W resultante del Test de Shapiro-Wilk para la distribución normal de los datos; Levene p-valor: resultado de Test de Levene para la homogeneidad de varianzas. LT: longitud total en cm; K: factor de condición; CR: crecimiento relativo; TCE: tasa de crecimiento específico; n: tamaño de la muestra.

### Anexo 8. Resultados de los análisis de varianza (ANOVA) de los desempeños de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* “grandes” durante los primeros 34 días de experimento

		Análisis estadísticos		
		ANOVA (n=25)	K-W (n=25)	Welch (n=25)
Peso día 0 (g)	estadístico	F=0,1428	H=0,4614	F'=0,1491
	p-valor	0,9341	0,9273	0,9298
Peso día 34 (g)	estadístico	F=6,6660	H=14,6700	F'=6,1640
	p-valor	0,0004	0,0021	0,0011
LT día 34 (cm)	estadístico	F=6,0230	H=14,2200	F'=5,5790
	p-valor	0,0008	0,0026	0,0021
K día 34	estadístico	F=3,5000	H=7,6510	F'=3,3060
	p-valor	0,0184	0,0532	0,0271
CR 0-34	estadístico	F=32,5000	H=59,2700	F'=30,0600
	p-valor	<<0,0001	<<0,0001	<<0,0001
TCE 0-34	estadístico	F=32,4500	H=59,0600	F'=29,9700
	p-valor	<<0,0001	<<0,0001	<<0,0001

ANOVA: análisis de varianzas; K-W: test de Kruskal-Wallis; Welch: test de Welch. LT: longitud total en cm; K: factor de condición; CR: crecimiento relativo; TCE: tasa de crecimiento específico; n: tamaño de la muestra.

### Anexo 9. Resultados del test de Tukey de comparaciones entre pares de muestras en los casos que se detectó diferencias significativas con el ANOVA en el desempeño de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* “grandes” durante los primeros 34 días de experimento

		Tratamientos			
		V0 (n=25)	V25 (n=25)	V60 (n=25)	V100 (n=25)

Peso día 34 (g)	V0	-	0,6237	0,0007	0,0118
	V25	1,7080	-	0,0267	0,2083
	V60	5,6710	4,0360	-	0,8048
	V100	4,4440	2,7800	1,2730	-
LT día 34 (cm)	V0	-	0,9541	0,0018	0,0768
	V25	0,7352	-	0,0082	0,2176
	V60	5,2890	4,6120	-	0,5481
	V100	3,4480	2,7460	1,8770	-
K día 34	V0	-	0,0570	0,9130	0,0517
	V25	3,6230	-	0,2468	0,9999
	V60	0,9284	2,6480	-	0,2272
	V100	3,6790	0,0923	2,7130	-
CR 0-34	V0	-	0,2394	<<0,0001	<<0,0001
	V25	2,6720	-	<<0,0001	<0,0001
	V60	11,9800	9,3340	-	0,3914
	V100	9,8360	7,1640	2,2430	-
TCE 0-34	V0	-	0,2328	<<0,0001	<<0,0001
	V25	2,6940	-	<<0,0001	<0,0001
	V60	11,9900	9,3220	-	0,3806
	V100	9,8190	7,1250	2,2700	-

Encima de la diagonal se muestran los valores de p; debajo de la diagonal se muestra los valores del estadístico Q del test de Tukey. LT: longitud total en cm; K: factor de condición; CR: crecimiento relativo; TCE: tasa de crecimiento específico; n: tamaño de la muestra.

### Anexo 10. Estudio de la normalidad y de la homogeneidad de varianzas de los datos de desempeño de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* “grandes” durante los 60 días de experimento

		Tratamientos			
		V0 (n=23)	V25 (n=23)	V60 (n=23)	V100 (n=23)
Peso día 60 (g)	S-W	0,9038	0,9443	0,9764	0,9281
	p-valor	0,0355	0,2427	0,8661	0,1258
	Levene p-valor	0,1470			
LT día 60 (cm)	S-W	0,9285	0,9213	0,9802	0,9498
	p-valor	0,1143	0,0810	0,9275	0,3381
	Levene p-valor	0,2012			
K día 60	S-W	0,9434	0,7826	0,8636	0,7972
	p-valor	0,2329	0,0003	0,0073	0,0006
	Levene p-valor	0,5099			
CR Total	S-W	0,8360	0,7610	0,9701	0,8237
	p-valor	0,0019	0,0001	0,7349	0,0015
	Levene p-valor	0,0205			
TCE Total	S-W	0,8408	0,7694	0,9707	0,8241
	p-valor	0,0023	0,0002	0,7494	0,0016
	Levene p-valor	0,0175			

S-W: valor del estadístico W resultante del Test de Shapiro-Wilk para la distribución normal de los datos; Levene p-valor: resultado de Test de Levene para la homogeneidad de varianzas. LT: longitud total en cm; K: factor de condición; CR: crecimiento relativo; TCE: tasa de crecimiento específico; n: tamaño de la muestra.

### Anexo 11. Resultados de los análisis de varianza (ANOVA) de los desempeños de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* “grandes” durante los 60 días de experimento

		Análisis estadísticos		
		ANOVA (n=23)	K-W (n=23)	Welch (n=23)
Peso día 60 (g)	estadístico	F=4,4800	H=-1,8770	F'=3,3890
	p-valor	0,0058	1,0000	0,0260
LT día 60 (cm)	estadístico	F=4,6830	H=12,1900	F'=3,5140
	p-valor	0,0045	0,0068	0,0226
K día 60	estadístico	F=5,3170	H=16,8900	F'=4,4370
	p-valor	0,0021	0,0007	0,0081
CR Total	estadístico	F=9,3430	H=18,6100	F'=6,5070
	p-valor	<0,0001	0,0003	0,0010
TCE Total	estadístico	F=9,3630	H=18,6700	F'=6,4570
	p-valor	<0,0001	0,0003	0,0010

ANOVA: análisis de varianzas; K-W: test de Kruskal-Wallis; Welch: test de Welch. LT: longitud total en cm; K: factor de condición; CR: crecimiento relativo; TCE: tasa de crecimiento específico; n: tamaño de la muestra.

### Anexo 12. Resultados del test de Tukey de comparaciones entre pares de muestras en los casos que se detectó diferencias significativas con el ANOVA en el desempeño de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* “grandes” durante los 60 días de experimento

		Tratamientos			
		V0 (n=23)	V25 (n=23)	V60 (n=23)	V100 (n=23)
Peso día 60 (g)	V0	-	0,1127	0,0029	0,1395
	V25	3,2150	-	0,5258	0,9999
	V60	5,1060	1,9280	-	0,4901
	V100	3,0730	0,1046	2,0090	-
LT día 60 (cm)	V0	-	0,0710	0,0026	0,1030
	V25	3,5040	-	0,6293	0,9991
	V60	5,1590	1,6950	-	0,5543
	V100	3,2740	0,1900	1,8640	-
K día 60	V0	-	0,0013	0,1223	0,0298
	V25	5,4450	-	0,4013	0,7603
	V60	3,1610	2,2200	-	0,9373
	V100	3,9940	1,3880	0,8227	-
CR Total	V0	-	0,0090	<0,0001	0,0053
	V25	4,5890	-	0,2098	0,9966
	V60	7,3140	2,7790	-	0,3138
	V100	4,8360	0,3008	2,4500	-
TCE Total	V0	-	0,0094	<0,0001	0,0054
	V25	4,5720	-	0,2015	0,9963
	V60	7,3280	2,8090	-	0,3058

V100                      4,8270                      0,3084                      2,4720                      -

Encima de la diagonal se muestran los valores de p; debajo de la diagonal se muestra los valores del estadístico Q del test de Tukey. LT: longitud total en cm; K: factor de condición; CR: crecimiento relativo; TCE: tasa de crecimiento específico; n: tamaño de la muestra.

**Anexo 13.** Estudio de la normalidad y de la homogeneidad de varianzas de los datos de contenido de lípidos y humedad de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 34 días de experimento

		Tratamientos			
		V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)
Lípidos (%PH)	S-W	0,9155	0,6827	0,9067	0,9580
	p-valor	0,4733	0,0040	0,4150	0,8043
	Levene p-valor	0,1885			
Lípidos (%PS)	S-W	0,9155	0,9094	0,9199	0,8653
	p-valor	0,4733	0,4326	0,5050	0,2082
	Levene p-valor	0,1148			
Humedad %	S-W	0,8898	0,8230	0,9199	0,9182
	p-valor	0,3173	0,0936	0,5050	0,4928
	Levene p-valor	0,9245			
% LP	S-W	0,9648	0,9560	0,9645	0,7802
	p-valor	0,8559	0,7886	0,8536	0,0387
	Levene p-valor	0,6578			
% LN	S-W	0,9648	0,9560	0,9284	0,7997
	p-valor	0,8559	0,7886	0,5674	0,0584
	Levene p-valor	0,6277			
IRL	S-W	0,9680	0,9390	0,9163	0,8880
	p-valor	0,8786	0,6514	0,4790	0,3077
	Levene p-valor	0,1680			

S-W: valor del estadístico W resultante del Test de Shapiro-Wilk para la distribución normal de los datos; Levene p-valor: resultado de Test de Levene para la homogeneidad de varianzas. %PH= % del peso húmedo; %PS= % del peso seco; % LP= % de lípidos polares; % LN= % de lípidos neutros; IRL= incorporación relativa de lípidos. n= tamaño de la muestra.

**Anexo 14.** Resultados de los análisis de varianza (ANOVA) de los contenidos de lípidos y de humedad de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 34 días de experimento

		Análisis estadísticos		
		ANOVA (n=6)	K-W (n=6)	Welch (n=6)
Lípidos (%PH)	estadístico	F=11,9600	H=14,7100	F'=15,4700
	p-valor	0,0001	0,0017	0,0004
Lípidos (%PS)	estadístico	F=7,6230	H=12,1300	F'=13,0400
	p-valor	0,0014	0,0061	0,0007
Humedad %	estadístico	F=5,1720	H=9,6520	F'=5,2770
	p-valor	0,0083	0,0202	0,0168
% LP	estadístico	F=6,3490	H=12,0900	F'=5,5500
	p-valor	0,0034	0,0067	0,0147
% LN	estadístico	F=6,8260	H=0,1245	F'=5,8540

	p-valor	0,0024	0,0056	0,0123
IRL	estadístico	F=7,4430	H=11,9300	F'=11,5800
	p-valor	0,0015	0,0076	0,0012

ANOVA: análisis de varianzas; K-W: test de Kruskal-Wallis; Welch: test de Welch. %PH= % del peso húmedo; %PS= % del peso seco; % LP= % de lípidos polares; % LN= % de lípidos neutros; IRL= incorporación relativa de lípidos. n= tamaño de la muestra.

**Anexo 15.** Resultados del test de Tukey de comparaciones entre pares de muestras en los casos que se detectó diferencias significativas con el ANOVA en los contenidos de lípidos y de humedad de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 34 días de experimento

		Tratamientos			
		V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)
Lípidos (%PH)	V0	-	0,0006	0,0010	0,5790
	V25	6,9380	-	0,9938	0,0087
	V60	6,5730	0,3651	-	0,0154
	V100	1,826	5,1120	4,7470	-
Lípidos (%PS)	V0	-	0,0013	0,0218	0,4024
	V25	6,3680	-	0,5692	0,0403
	V60	4,5190	1,8490	-	0,4024
	V100	2,2600	4,1080	2,2600	-
Humedad %	V0	-	0,3942	0,0279	0,9708
	V25	2,2810	-	0,4752	0,0227
	V60	4,3550	2,0740	-	0,0108
	V100	0,6222	2,9030	4,9770	-
% LP	V0	-	0,0177	0,0081	0,7893
	V25	4,6540	-	0,9839	0,1178
	V60	5,1600	0,5059	-	0,0590
	V100	1,3150	3,3390	3,8440	-
% LN	V0	-	0,0141	0,0053	0,7324
	V25	4,8010	-	0,9703	0,1176
	V60	5,4270	0,6262	-	0,0495
	V100	1,4610	3,3400	3,9660	-
IRL	V0	-	0,0013	0,0285	0,3674
	V25	6,3770	-	0,4908	0,0457
	V60	4,3410	2,0360	-	0,5111
	V100	2,3540	4,0220	1,9870	-

Encima de la diagonal se muestran los valores de p; debajo de la diagonal se muestra los valores del estadístico Q del test de Tukey. %PH= % del peso húmedo; %PS= % del peso seco; % LP= % de lípidos polares; % LN= % de lípidos neutros; IRL= incorporación relativa de lípidos. n= tamaño de la muestra.

**Anexo 16.** Estudio de la normalidad y de la homogeneidad de varianzas de los datos de composición de ácidos grasos de los lípidos totales de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 34 días de experimento

		Tratamientos			
		V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)
AG	S-W	0,7577	0,6444	0,7638	0,9053
18:2n-6 (LA)					

	p-valor	0,0237	0,0015	0,0271	0,9053
	Levene p-valor			0,0192	
18:3n-6	S-W	0,9785	0,9131	0,8877	0,8309
	p-valor	0,9440	0,4864	0,3061	0,1412
	Levene p-valor			0,2052	
18:3n-3 (LNA)	S-W	0,9094	0,9260	0,8958	0,9222
	p-valor	0,4322	0,5499	0,3495	0,5216
	Levene p-valor			0,0040	
18:4n-3	S-W	0,9529	0,9311	0,9367	0,9468
	p-valor	0,7641	0,5884	0,6327	0,7140
	Levene p-valor			0,1504	
20:2n-6	S-W	0,8701	0,9699	0,9598	0,9463
	p-valor	0,2264	0,8915	0,8183	0,7099
	Levene p-valor			0,3355	
20:3n-6	S-W	0,9156	0,9577	0,9523	0,8422
	p-valor	0,4743	0,8022	0,7592	0,1359
	Levene p-valor			0,2099	
20:4n-6 (ARA)	S-W	0,8986	0,8763	0,8806	0,9142
	p-valor	0,3658	0,2527	0,2718	0,4649
	Levene p-valor			0,2651	
20:3n-3	S-W	0,7365	0,8167	0,9122	0,9490
	p-valor	0,0146	0,8260	0,4509	0,7321
	Levene p-valor			0,0969	
20:4n-3	S-W	0,9502	0,9639	0,8355	0,9502
	p-valor	0,7420	0,8490	0,1195	0,7417
	Levene p-valor			0,0939	
20:5n-3 (EPA)	S-W	0,9221	0,9431	0,9032	0,9400
	p-valor	0,5204	0,6840	0,3932	0,6589
	Levene p-valor			0,0570	
22:4n-6	S-W	0,9165	0,8541	0,9185	0,8971
	p-valor	0,4804	0,1700	0,4949	0,3573
	Levene p-valor			0,3181	
22:5n-6	S-W	0,8777	0,8506	0,9307	0,8982
	p-valor	0,2587	0,1593	0,5857	3,3633
	Levene p-valor			0,2574	
22:5n-3	S-W	0,9506	0,8585	0,9490	0,9309
	p-valor	0,7455	0,1842	0,7723	0,5874
	Levene p-valor			0,1833	
22:6n-3 (DHA)	S-W	0,9122	0,9056	0,7579	0,9417
	p-valor	0,4509	0,4080	0,0237	0,6732
	Levene p-valor			0,3474	
SAFA	S-W	0,8749	0,9823	0,9314	0,9014
	p-valor	0,2463	0,9626	0,5909	0,3826

	Levene p-valor			0,2887	
MUFA	S-W	0,9693	0,9450	0,9836	0,9087
	p-valor	0,8876	0,7000	0,9679	0,4276
	Levene p-valor			0,1268	
PUFA	S-W	0,9346	0,9225	0,8920	0,9728
	p-valor	0,6160	0,5237	0,3288	0,9110
	Levene p-valor			0,0871	
n-3	S-W	0,9196	0,9609	0,8708	0,9631
	p-valor	0,5028	0,8265	0,2294	0,8431
	Levene p-valor			0,1092	
n-6	S-W	0,9050	0,8124	0,8715	0,9681
	p-valor	0,4042	0,0757	0,2324	0,8796
	Levene p-valor			0,0524	
n-3HUFA	S-W	0,9176	0,9002	0,9213	0,9489
	p-valor	0,4883	0,3753	0,5151	0,7314
	Levene p-valor			0,1666	
n-6HUFA	S-W	0,9218	0,8141	0,9152	0,9218
	p-valor	0,5188	0,0784	0,4718	0,5186
	Levene p-valor			0,3929	
n-3/n-6	S-W	0,9538	0,9031	0,8925	0,9236
	p-valor	0,7707	0,3924	0,3316	0,5321
	Levene p-valor			0,1894	
DHA/EPA	S-W	0,9512	0,9281	0,8292	0,9802
	p-valor	0,7497	0,5656	0,1058	0,9524
	Levene p-valor			0,9021	
DHA/ARA	S-W	0,9810	0,9309	0,9834	0,9370
	p-valor	0,9566	0,5869	0,9673	0,6354
	Levene p-valor			0,4231	
EPA/ARA	S-W	0,9852	0,9152	0,8948	0,9390
	p-valor	0,9743	0,4717	0,3444	0,6512
	Levene p-valor			0,1463	

S-W: valor del estadístico W resultante del Test de Shapiro-Wilk para la distribución normal de los datos; Levene p-valor: resultado de Test de Levene para la homogeneidad de varianzas. *n*: tamaño de la muestra.

### Anexo 17. Resultados de los análisis de varianza (ANOVA) de la composición de ácidos grasos de los lípidos totales de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 34 días de experimento

AG		Análisis estadísticos		
		ANOVA ( <i>n</i> =6)	K-W ( <i>n</i> =6)	Welch ( <i>n</i> =6)
18:2n-6 (LA)	estadístico	F=129,3000	H=20,5700	F'=169,2000
	p-valor	<<0,0001	0,0001	<<0,0001
18:3n-6	estadístico	F=3,3660	H=7,6490	F'=3,0850
	p-valor	0,0416	0,0536	0,0829
18:3n-3 (LNA)	estadístico	F=126,6000	H=20,1100	F'=525,9000

	p-valor	<<0,0001	0,0002	<<0,0001
18:4n-3	estadístico	F=30,4400	H=19,7600	F'=24,7700
	p-valor	<<0,0001	0,0002	<0,0001
20:2n-6	estadístico	F=8,3030	H=13,6300	F'=5,6040
	p-valor	0,0009	0,0033	0,0151
20:3n-6	estadístico	F=5,0830	H=9,7750	F'=3,9920
	p-valor	0,0089	0,0205	0,0382
20:4n-6 (ARA)	estadístico	F=32,9600	H=19,2300	F'=27,4500
	p-valor	<<0,0001	0,0002	<0,0001
20:3n-3	estadístico	F=55,6400	H=18,6100	F'=106,1000
	p-valor	<<0,0001	0,0003	<<0,0001
20:4n-3	estadístico	F=43,2100	H=19,6800	F'=29,0600
	p-valor	<<0,0001	0,0002	<0,0001
20:5n-3 (EPA)	estadístico	F=19,6700	H=17,5000	F'=17,4000
	p-valor	<0,0001	0,0006	0,0002
22:4n-6	estadístico	F=10,9000	H=13,1900	F'=7,6700
	p-valor	0,0002	0,0042	0,0050
22:5n-6	estadístico	F=17,2000	H=17,4100	F'=12,4700
	p-valor	<0,0001	0,0006	0,0008
22:5n-3	estadístico	F=8,2530	H=11,0500	F'=5,6150
	p-valor	0,0009	0,0114	0,0149
22:6n-3 (DHA)	estadístico	F=20,1300	H=17,3600	F'=15,2900
	p-valor	<0,0001	0,0006	0,0004
SAFA	estadístico	F=13,1200	H=15,7000	F'=9,8230
	p-valor	<0,0001	0,0013	0,0020
MUFA	estadístico	F=12,9200	H=16,2800	F'=15,9600
	p-valor	<0,0005	0,0010	0,0003
PUFA	estadístico	F=11,6300	H=12,6500	F'=17,0100
	p-valor	0,0001	0,0054	0,0002
n-3	estadístico	F=9,4760	H=12,0300	F'=13,6700
	p-valor	0,0004	0,0073	0,0005
n-6	estadístico	F=49,1100	H=18,2500	F'=63,6300
	p-valor	<<0,0001	0,0004	<<0,0001
n-3HUFA	estadístico	F=15,5700	H=16,6300	F'=11,8300
	p-valor	<0,0001	0,0008	0,0011
n-6HUFA	estadístico	F=22,7400	H=18,3500	F'=16,6800
	p-valor	<0,0001	0,0004	0,0002
n-3/n-6	estadístico	F=41,3500	H=19,5500	F'=42,0700
	p-valor	<<0,0001	0,0002	<0,0001
DHA/EPA	estadístico	F=4,6130	H=9,1670	F'=3,5020
	p-valor	0,0131	0,0272	0,0530
DHA/ARA	estadístico	F=1,7360	H=3,7480	F'=0,9005
	p-valor	0,1918	0,2898	0,4719

EPA/ARA	estadístico	F=1,4740	H=4,9800	F'=2,3020
	p-valor	0,2518	0,1726	0,1347

ANOVA: análisis de varianzas; K-W: test de Kruskal-Wallis; Welch: test de Welch. *n*: tamaño de la muestra.

**Anexo 18.** Resultados del test de Tukey de comparaciones entre pares de muestras en los casos que se detectó diferencias significativas con el ANOVA en la composición de ácidos grasos de los lípidos totales de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 34 días de experimento

AG		Tratamientos			
		V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)
18:2n-6 (LA)	V0	-	0,0002	0,0002	0,0002
	V25	13,2000	-	0,0002	0,0002
	V60	21,7900	8,5850	-	0,0563
	V100	25,6700	12,4600	3,8770	-
18:3n-6	V0	-	0,9994	0,3827	0,0723
	V25	0,1635	-	0,3628	0,0725
	V60	2,3190	2,3740	-	0,7088
	V100	3,7310	3,7280	1,5200	-
18:3n-3 (LNA)	V0	-	<<0,0001	<<0,0001	<<0,0001
	V25	16,9000	-	0,0001	<0,0001
	V60	24,6900	7,7910	-	0,0351
	V100	28,8900	11,9900	4,1990	-
18:4n-3	V0	-	0,0962	0,0640	<0,0001
	V25	3,4900	-	0,0003	<<0,0001
	V60	3,7850	7,2750	-	0,0039
	V100	9,3970	12,8900	5,6120	-
20:2n-6	V0	-	0,1810	0,7293	0,4112
	V25	4,6360	-	0,1467	0,0005
	V60	1,4690	3,1670	-	0,0717
	V100	2,2360	6,8720	3,7050	-
20:3n-6	V0	-	0,6627	1,0000	0,0735
	V25	1,6290	-	0,6852	0,0062
	V60	0,0536	1,5760	-	0,0682
	V100	3,6870	5,3160	3,7410	-
20:4n-6 (ARA)	V0	-	0,6950	0,0137	<0,0001
	V25	1,5520	-	0,0001	<<0,0001
	V60	6,2590	7,8110	-	0,0193
	V100	10,8500	12,4100	4,5960	-
20:3n-3	V0	-	<0,0001	<<0,0001	<<0,0001
	V25	9,2870	-	0,0049	0,0002
	V60	14,7500	5,4620	-	0,5547
	V100	16,6300	7,3440	1,8830	-
20:4n-3	V0	-	0,1520	0,0726	<<0,0001
	V25	3,1390	-	0,0005	<<0,0001

	V60	3,6950	6,8340	-	<0,0001
	V100	12,0900	15,2300	8,3920	-
20:5n-3 (EPA)	V0	-	0,4280	0,0564	0,0001
	V25	2,1920	-	0,0019	<0,0001
	V60	3,8740	6,0660	-	0,0469
	V100	7,8760	10,0700	4,0020	-
22:4n-6	V0	-	0,5162	0,5307	0,0030
	V25	1,9740	-	0,0533	0,0001
	V60	1,9400	3,9140	-	0,0603
	V100	5,7670	7,7410	3,8280	-
22:5n-6	V0	-	0,6512	0,1509	0,0001
	V25	1,6560	-	0,0140	<0,0001
	V60	3,1450	4,8010	-	0,0184
	V100	7,7710	9,4270	4,6260	-
22:5n-3	V0	-	0,3710	0,6471	0,0229
	V25	2,3440	-	0,0464	0,0005
	V60	1,6660	4,0100	-	0,2237
	V100	4,4840	6,8290	2,8180	-
22:6n-3 (DHA)	V0	-	0,8839	0,0193	<0,0001
	V25	1,0320	-	0,0038	<0,0001
	V60	4,5960	5,6280	-	0,0398
	V100	8,7090	9,7420	4,1140	-
SAFA	V0	-	0,0143	0,9141	0,0451
	V25	4,7950	-	0,0565	0,0002
	V60	0,9203	3,8740	-	0,0112
	V100	4,0300	8,8250	4,9500	-
MUFA	V0	-	0,0060	0,0006	1,0000
	V25	5,3540	-	0,6767	0,0066
	V60	6,9500	1,5960	-	0,0006
	V100	0,0606	5,2930	6,8890	-
PUFA	V0	-	0,0013	0,0007	0,0005
	V25	6,3750	-	0,9894	0,9406
	V60	6,8130	0,4383	-	0,9939
	V100	7,1780	0,8027	0,3644	-
n-3	V0	-	0,0019	0,0020	0,0014
	V25	6,1050	-	1,0000	0,9993
	V60	6,0730	0,0315	-	0,9988
	V100	6,2840	0,1789	0,2105	-
n-6	V0	-	0,0018	0,0017	0,0017
	V25	9,3920	-	0,0251	0,0014
	V60	13,8200	4,4250	-	0,5479
	V100	15,7200	6,3240	1,8990	-
n-3HUFA	V0	-	0,5627	0,1067	0,0005

	V25	1,8640	-	0,0067	0,0002
	V60	3,4140	5,2780	-	0,0749
	V100	7,0870	8,9510	3,6740	-
n-6HUFA	V0	-	0,5795	0,0365	0,0002
	V25	1,8240	-	0,0022	0,0002
	V60	4,1740	5,9990	-	0,0161
	V100	8,8920	10,7200	4,7180	-
n-3/n-6	V0	-	0,0451	0,0002	0,0002
	V25	4,0300	-	0,0004	0,0002
	V60	11,4000	7,3730	-	0,3259
	V100	13,8800	9,8470	2,4740	-
DHA/EPA	V0	-	0,3745	0,1909	0,0073
	V25	2,3350	-	0,9712	0,2061
	V60	2,9540	0,6192	-	0,3983
	V100	5,2240	2,8890	2,2700	-

Encima de la diagonal se muestran los valores de p; debajo de la diagonal se muestra los valores del estadístico Q del test de Tukey.  $n$ = tamaño de la muestra.

**Anexo 19.** Estudio de la normalidad y de la homogeneidad de varianzas de los datos de composición de ácidos grasos de los lípidos polares de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 34 días de experimento

AG		Tratamientos			
		V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)
18:2n-6 (LA)	S-W	0,8884	0,9448	0,9382	0,9459
	p-valor	0,3099	0,6979	0,6445	0,7069
	Levene p-valor		0,5817		
18:3n-6	S-W	0,7613	0,7510	0,8349	0,9020
	p-valor	0,0256	0,0395	0,1183	0,4209
	Levene p-valor		0,3467		
18:3n-3 (LNA)	S-W	0,9497	0,9759	0,9445	0,9038
	p-valor	0,7379	0,9297	0,6954	0,3970
	Levene p-valor		0,1308		
18:4n-3	S-W	0,8852	0,8725	0,8529	0,9764
	p-valor	0,2936	0,2364	0,1660	0,9323
	Levene p-valor		0,2795		
20:2n-6	S-W	0,8071	0,7521	0,9445	0,9499
	p-valor	0,0681	0,0209	0,6954	0,7392
	Levene p-valor		0,4106		
20:3n-6	S-W	0,9318	0,8693	0,8805	0,9444
	p-valor	0,5940	0,2236	0,2715	0,6946
	Levene p-valor		0,3998		
20:4n-6 (ARA)	S-W	0,9319	0,8665	0,8927	0,9843
	p-valor	0,5947	0,1776	0,3326	0,9707
	Levene p-valor		0,4084		

20:3n-3	S-W	0,9325	0,8699	0,8223	0,9815
	p-valor	0,5997	0,2260	0,0924	0,9587
	Levene p-valor			0,2525	
20:4n-3	S-W	0,9502	0,9307	0,8556	0,9620
	p-valor	0,7419	0,5857	0,1746	0,8350
	Levene p-valor			0,6928	
20:5n-3 (EPA)	S-W	0,8627	0,9456	0,8130	0,8636
	p-valor	0,1987	0,7048	0,0767	0,2019
	Levene p-valor			0,2332	
22:4n-6	S-W	0,9125	0,9001	0,8936	0,8413
	p-valor	0,4529	0,3744	0,3376	0,1337
	Levene p-valor			0,0185	
22:5n-6	S-W	0,8862	0,8854	0,9029	0,8131
	p-valor	0,2987	0,2947	0,3916	0,0768
	Levene p-valor			0,5167	
22:5n-3	S-W	0,8178	0,9079	0,8378	0,8585
	p-valor	0,0844	0,4229	0,1249	0,1840
	Levene p-valor			0,0880	
22:6n-3 (DHA)	S-W	0,8577	0,9618	0,9451	0,8810
	p-valor	0,1816	0,8338	0,7004	0,2738
	Levene p-valor			0,2455	
SAFA	S-W	0,9048	0,9095	0,9667	0,9418
	p-valor	0,4029	0,4329	0,8695	0,6736
	Levene p-valor			0,5888	
MUFA	S-W	0,9098	0,9613	0,9230	0,9081
	p-valor	0,4353	0,8297	0,5273	0,4239
	Levene p-valor			0,0436	
PUFA	S-W	0,8864	0,9564	0,9416	0,9174
	p-valor	0,2996	0,7917	0,6720	0,4867
	Levene p-valor			0,1626	
n-3	S-W	0,9044	0,9502	0,9518	0,9058
	p-valor	0,4009	0,7419	0,7545	0,4097
	Levene p-valor			0,2074	
n-6	S-W	0,9411	0,8919	0,9137	0,8980
	p-valor	0,6679	0,3282	0,4610	0,3620
	Levene p-valor			0,4091	
n-3HUFA	S-W	0,9090	0,9574	0,9608	0,8390
	p-valor	0,4299	0,7997	0,8262	0,1280
	Levene p-valor			0,1509	
n-6HUFA	S-W	0,8946	0,9268	0,9786	0,8959
	p-valor	0,3428	0,5559	0,9443	0,3501
	Levene p-valor			0,0812	
n-3/n-6	S-W	0,8258	0,8923	0,9203	0,8090

	p-valor	0,990	0,3306	0,5079	0,0707
	Levene p-valor			0,1669	
DHA/EPA	S-W	0,9825	0,9810	0,8892	0,8918
	p-valor	0,9634	0,9563	0,3139	0,3276
	Levene p-valor			0,6890	
DHA/ARA	S-W	0,8071	0,8297	0,8126	0,9868
	p-valor	0,0680	0,1070	0,0761	0,9799
	Levene p-valor			0,5110	
EPA/ARA	S-W	0,8452	0,9727	0,9589	0,8590
	p-valor	0,1440	0,9098	0,8112	0,1857
	Levene p-valor			0,3444	

S-W: valor del estadístico W resultante del Test de Shapiro-Wilk para la distribución normal de los datos; Levene p-valor: resultado de Test de Levene para la homogeneidad de varianzas. *n*: tamaño de la muestra.

## Anexo 20. Resultados de los análisis de varianza (ANOVA) de la composición de ácidos grasos de los lípidos polares de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 34 días de experimento

AG		Análisis estadísticos		
		ANOVA ( <i>n</i> =6)	K-W ( <i>n</i> =6)	Welch ( <i>n</i> =6)
18:2n-6 (LA)	estadístico	F=471,9000	H=21,6000	F'=488,4000
	p-valor	<<0,0001	<0,0001	<<0,0001
18:3n-6	estadístico	F=1,0370	H=4,6310	F'=1,2470
	p-valor	0,4013	0,1994	0,3494
18:3n-3 (LNA)	estadístico	F=470,1000	H=21,6000	F'=511,6000
	p-valor	<<0,0001	<0,0001	<<0,0001
18:4n-3	estadístico	F=12,0200	H=17,2700	F'=10,3400
	p-valor	0,0001	0,0006	0,0017
20:2n-6	estadístico	F=2,0180	H=6,9950	F'=3,9810
	p-valor	0,1438	0,0716	0,0411
20:3n-6	estadístico	F=3,3500	H=7,3220	F'=2,6450
	p-valor	0,0396	0,0622	0,1017
20:4n-6 (ARA)	estadístico	F=33,7600	H=18,9200	F'=30,3200
	p-valor	<<0,0001	0,0003	<0,0001
20:3n-3	estadístico	F=130,2000	H=21,6000	F'=147,5000
	p-valor	<<0,0001	<0,0001	<<0,0001
20:4n-3	estadístico	F=38,3400	H=20,0100	F'=30,0400
	p-valor	<<0,0001	0,0002	<0,0001
20:5n-3 (EPA)	estadístico	F=17,1300	H=16,1500	F'=12,9300
	p-valor	<0,0001	0,0011	0,0008
22:4n-6	estadístico	F=23,9000	H=18,3300	F'=22,2600
	p-valor	<<0,0001	0,0004	<0,0001
22:5n-6	estadístico	F=6,6930	H=12,7100	F'=5,2900
	p-valor	0,0026	0,0052	0,0167
22:5n-3	estadístico	F=2,8950	H=6,1000	F'=1,8660

	p-valor	0,0606	0,1068	0,1964
22:6n-3 (DHA)	estadístico	F=22,6700	H=17,6500	F'=16,9300
	p-valor	<0,0001	0,0005	0,0002
SAFA	estadístico	F=2,8590	H=5,9670	F'=2,4960
	p-valor	0,0627	0,1132	0,1141
MUFA	estadístico	F=1,3400	H=3,2720	F'=2,0960
	p-valor	0,2896	0,3514	0,1624
PUFA	estadístico	F=0,6193	H=2,0270	F'=0,4059
	p-valor	0,6106	0,5669	0,7518
n-3	estadístico	F=0,2902	H=0,9200	F'=0,2767
	p-valor	0,8320	0,8206	0,8411
n-6	estadístico	F=54,1000	H=20,7500	F'=43,7700
	p-valor	<<0,0001	0,0001	<0,0001
n-3HUFA	estadístico	F=16,3400	H=16,5600	F'=11,9300
	p-valor	<0,0001	0,0009	0,0010
n-6HUFA	estadístico	F=22,3700	H=17,7800	F'=17,0700
	p-valor	<0,0001	0,0005	0,0002
n-3/n-6	estadístico	F=80,4100	H=21,0600	F'=99,3700
	p-valor	<<0,0001	<0,0001	<<0,0001
DHA/EPA	estadístico	F=4,8240	H=7,2470	F'=3,7610
	p-valor	0,0110	0,0644	0,0462
DHA/ARA	estadístico	F=1,7840	H=4,0530	F'=2,0930
	p-valor	0,1826	0,2558	0,1602
EPA/ARA	estadístico	F=22,8200	H=18,2300	F'=18,5300
	p-valor	<0,0001	0,0004	0,0001

ANOVA: análisis de varianzas; K-W: test de Kruskal-Wallis; Welch: test de Welch. n: tamaño de la muestra.

**Anexo 21.** Resultados del test de Tukey de comparaciones entre pares de muestras en los casos que se detectó diferencias significativas con el ANOVA en la composición de ácidos grasos de los lípidos polares de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 34 días de experimento

AG		Tratamientos			
		V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)
18:2n-6 (LA)	V0	-	0,0002	0,0002	0,0002
	V25	13,4200	-	0,0002	0,0002
	V60	30,9300	17,5200	-	0,0002
	V100	50,0800	36,6600	19,1500	-
18:3n-3 (LNA)	V0	-	0,0002	0,0002	0,0002
	V25	19,7700	-	0,0002	0,0002
	V60	32,2400	12,4700	-	0,0002
	V100	51,6200	31,8500	19,3800	-
18:4n-3	V0	-	0,9634	0,0187	0,0004
	V25	0,6743	-	0,0515	0,0008
	V60	4,6140	3,9400	-	0,2381

	V100	7,3780	6,7040	2,7640	-
20:4n-6 (ARA)	V0	-	0,6494	0,0003	0,0002
	V25	1,6610	-	0,0017	0,0002
	V60	7,8460	6,1850	-	0,0146
	V100	12,6300	10,9700	4,7810	-
20:3n-3	V0	-	0,0002	0,0002	0,0002
	V25	9,3280	-	0,0004	0,0002
	V60	16,6700	7,3470	-	0,0002
	V100	26,9500	17,6300	10,2800	-
20:4n-3	V0	-	0,01850	0,0002	0,0002
	V25	4,6240	-	0,0536	0,0002
	V60	8,5360	3,9110	-	0,0019
	V100	14,6200	9,9940	6,0830	-
20:5n-3 (EPA)	V0	-	0,1892	0,0018	<0,0001
	V25	2,9610	-	0,1533	0,0007
	V60	6,0930	3,1320	-	0,0900
	V100	9,6330	6,6720	3,5390	-
22:4n-6	V0	-	0,5911	0,0012	<<0,0001
	V25	1,7970	-	0,1585	<0,0001
	V60	4,9030	3,1060	-	0,0014
	V100	11,1300	9,3340	6,2280	-
22:5n-6	V0	-	0,9985	0,9968	0,0078
	V25	0,2279	-	0,9826	0,0054
	V60	0,2916	0,5195	-	0,0123
	V100	5,1780	5,4060	4,8860	-
22:6n-3 (DHA)	V0	-	0,4078	0,0072	<0,0001
	V25	2,2450	-	0,1841	<0,0001
	V60	5,2280	2,9830	-	0,0030
	V100	11,0000	8,7520	5,7690	-
n-6	V0	-	0,0509	<0,0001	<<0,0001
	V25	3,9460	-	0,0028	<<0,0001
	V60	9,7620	5,8160	-	0,0003
	V100	16,9000	12,9600	7,1410	-
n-3HUFA	V0	-	0,4497	0,0144	<0,0001
	V25	2,1370	-	0,2704	0,0003
	V60	4,7870	2,6500	-	0,0193
	V100	9,3810	7,2440	4,5940	-
n-6HUFA	V0	-	0,9002	0,0107	<0,0001
	V25	0,9741	-	0,0471	<0,0001
	V60	4,9740	4,0000	-	0,0052
	V100	10,4100	9,4330	5,4330	-
n-3/n-6	V0	-	0,0014	<<0,0001	<<0,0001
	V25	6,2410	-	0,0001	<<0,0001

	V60	14,0900	7,8440	-	0,0010
	V100	20,5200	14,2800	6,4320	-
DHA/EPA	V0	-	0,9891	0,9997	0,0359
	V25	0,4424	-	0,9962	0,0184
	V60	0,1337	0,3087	-	0,0294
	V100	4,1850	4,6270	4,3190	-
EPA/ARA	V0	-	0,4462	0,0298	<0,0001
	V25	2,1460	-	0,0010	<0,0001
	V60	4,3080	6,4540	-	0,0295
	V100	8,6250	10,7700	4,3170	-

Encima de la diagonal se muestran los valores de p; debajo de la diagonal se muestra los valores del estadístico Q del test de Tukey. *n*= tamaño de la muestra.

**Anexo 22.** Estudio de la normalidad y de la homogeneidad de varianzas de los datos de composición de ácidos grasos de los lípidos neutros de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 34 días de experimento

AG		Tratamientos			
		V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)
18:2n-6 (LA)	S-W	0,8917	0,9199	0,8041	0,9125
	p-valor	0,3274	0,5044	0,0640	0,4528
	Levene p-valor		0,0252		
18:3n-6	S-W	0,9102	0,9111	0,9798	0,9775
	p-valor	0,4377	0,4744	0,9333	0,8873
	Levene p-valor		0,4662		
18:3n-3 (LNA)	S-W	0,9087	0,9484	0,8726	0,9747
	p-valor	0,4279	0,7273	0,2368	0,9225
	Levene p-valor		0,0531		
18:4n-3	S-W	0,8772	0,8327	0,9896	0,8477
	p-valor	0,2565	0,1134	0,9881	0,1507
	Levene p-valor		0,3369		
20:2n-6	S-W	0,9686	0,9221	0,9637	0,9738
	p-valor	0,8831	0,5204	0,8478	0,9169
	Levene p-valor		0,4207		
20:3n-6	S-W	0,8838	0,9221	0,9208	0,8762
	p-valor	0,2868	0,5204	0,5110	0,2520
	Levene p-valor		0,1591		
20:4n-6 (ARA)	S-W	0,9017	0,8283	0,8795	0,9597
	p-valor	0,3843	0,1040	0,2667	0,8178
	Levene p-valor		0,3685		
20:3n-3	S-W	0,7993	0,7942	0,9579	0,9155
	p-valor	0,0580	0,0521	0,8032	0,4735
	Levene p-valor		0,2898		
20:4n-3	S-W	0,8545	0,8578	0,9170	0,8968
	p-valor	0,1709	0,1817	0,4838	0,3551

	Levene p-valor			0,0220	
20:5n-3 (EPA)	S-W	0,9657	0,8475	0,8483	0,8578
	p-valor	0,8627	0,1502	0,1526	0,1817
	Levene p-valor			0,2477	
22:4n-6	S-W	0,9398	0,9458	0,8798	0,9580
	p-valor	0,6578	0,7062	0,2682	0,8040
	Levene p-valor			0,3425	
22:5n-6	S-W	0,8810	0,8457	0,9241	0,9367
	p-valor	0,2737	0,1451	0,5357	0,6326
	Levene p-valor			0,9112	
22:5n-3	S-W	0,9703	0,9167	0,8855	0,8737
	p-valor	0,8945	0,4817	0,2951	0,2414
	Levene p-valor			0,4916	
22:6n-3 (DHA)	S-W	0,8638	0,7357	0,9786	0,9575
	p-valor	0,2027	0,0144	0,9445	0,8005
	Levene p-valor			0,6898	
SAFA	S-W	0,8778	0,8717	0,9409	0,9414
	p-valor	0,2590	0,2330	0,6663	0,6702
	Levene p-valor			0,6486	
MUFA	S-W	0,9832	0,7700	0,8413	0,9169
	p-valor	0,9662	0,0310	0,1335	0,4834
	Levene p-valor			0,2076	
PUFA	S-W	0,9775	0,7449	0,8595	0,9389
	p-valor	0,9387	0,0178	0,1874	0,6506
	Levene p-valor			0,6772	
n-3	S-W	0,9517	0,7265	0,8739	0,9130
	p-valor	0,7543	0,0116	0,2423	0,4564
	Levene p-valor			0,7255	
n-6	S-W	0,9592	0,9534	0,9433	0,9241
	p-valor	0,8137	0,7675	0,6862	0,5351
	Levene p-valor			0,3086	
n-3HUFA	S-W	0,9472	0,7290	0,9722	0,9291
	p-valor	0,7176	0,0123	0,9069	0,5732
	Levene p-valor			0,6226	
n-6HUFA	S-W	0,9709	0,6976	0,8171	0,9380
	p-valor	0,8987	0,0058	0,0833	0,6432
	Levene p-valor			0,9286	
n-3/n-6	S-W	0,9542	0,9046	0,7647	0,9467
	p-valor	0,7742	0,4017	0,0277	0,7131
	Levene p-valor			0,3648	
DHA/EPA	S-W	0,8367	0,6915	0,9592	0,8010
	p-valor	0,1224	0,0050	0,8136	0,0600
	Levene p-valor			0,5444	

DHA/ARA	S-W	0,9838	0,8514	0,9279	0,9808
	p-valor	0,9686	0,1615	0,5644	0,9556
	Levene p-valor	0,1605			
EPA/ARA	S-W	0,9692	0,8837	0,9026	0,9575
	p-valor	0,8869	0,2864	0,3893	0,8000
	Levene p-valor	0,1268			

S-W: valor del estadístico W resultante del Test de Shapiro-Wilk para la distribución normal de los datos; Levene p-valor: resultado de Test de Levene para la homogeneidad de varianzas. *n*: tamaño de la muestra.

### Anexo 23. Resultados de los análisis de varianza (ANOVA) de la composición de ácidos grasos de los lípidos neutros de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 34 días de experimento

AG		Análisis estadísticos		
		ANOVA ( <i>n</i> =6)	K-W ( <i>n</i> =6)	Welch ( <i>n</i> =6)
18:2n-6 (LA)	estadístico	F=438,3000	H=21,6000	F'=336,2000
	p-valor	<<0,0001	<0,0001	<<0,0001
18:3n-6	estadístico	F=10,0800	H=9,0120	F'=11,5400
	p-valor	0,0006	0,0282	0,0025
18:3n-3 (LNA)	estadístico	F=446,0000	H=21,6000	F'=925,9000
	p-valor	<<0,0001	<0,0001	<<0,0001
18:4n-3	estadístico	F=111,4000	H=20,7100	F'=94,7300
	p-valor	<<0,0001	0,0001	<<0,0001
20:2n-6	estadístico	F=20,6300	H=17,6400	F'=19,1400
	p-valor	<0,0001	0,0005	0,0001
20:3n-6	estadístico	F=6,5300	H=10,9400	F'=6,6220
	p-valor	0,0029	0,0120	0,0083
20:4n-6 (ARA)	estadístico	F=61,9200	H=20,2500	F'=56,9800
	p-valor	<<0,0001	0,0001	<<0,0001
20:3n-3	estadístico	F=99,8000	H=20,6900	F'=167,2000
	p-valor	<<0,0001	0,0001	<<0,0001
20:4n-3	estadístico	F=150,5000	H=21,6000	F'=116,4000
	p-valor	<<0,0001	<0,0001	<<0,0001
20:5n-3 (EPA)	estadístico	F=49,3000	H=19,0500	F'=41,7900
	p-valor	<<0,0001	0,0003	<0,0001
22:4n-6	estadístico	F=13,2700	H=15,0700	F'=13,1500
	p-valor	<0,0001	0,0018	0,0006
22:5n-6	estadístico	F=34,8500	H=19,0900	F'=31,9700
	p-valor	<<0,0001	0,0003	<0,0001
22:5n-3	estadístico	F=16,0300	H=15,6200	F'=13,5600
	p-valor	<0,0001	0,0014	0,0006
22:6n-3 (DHA)	estadístico	F=37,8600	H=18,6400	F'=33,0400
	p-valor	<<0,0001	0,0003	<0,0001
SAFA	estadístico	F=40,5300	H=20,0900	F'=35,4100
	p-valor	<<0,0001	0,0002	<0,0001

MUFA	estadístico	F=13,1900	H=15,6000	F'=11,8500
	p-valor	<0,0001	0,0014	0,0012
PUFA	estadístico	F=24,0600	H=17,8200	F'=16,3200
	p-valor	<<0,0001	0,0005	0,0002
n-3	estadístico	F=17,9400	H=16,3800	F'=12,7900
	p-valor	<0,0001	0,0009	0,0007
n-6	estadístico	F=178,6000	H=21,6000	F'=123,7000
	p-valor	<<0,0001	<0,0001	<<0,0001
n-3HUFA	estadístico	F=34,0300	H=18,7500	F'=28,9100
	p-valor	<<0,0001	0,0003	<0,0001
n-6HUFA	estadístico	F=52,3000	H=19,4200	F'=53,0700
	p-valor	<<0,0001	0,0002	<<0,0001
n-3/n-6	estadístico	F=30,8200	H=18,0800	F'=30,8800
	p-valor	<<0,0001	0,0004	<0,0001
DHA/EPA	estadístico	F=8,3220	H=12,0900	F'=7,3090
	p-valor	0,0009	0,0071	0,0059
DHA/ARA	estadístico	F=3,3340	H=6,4670	F'=2,1750
	p-valor	0,0402	0,0910	0,1491
EPA/ARA	estadístico	F=0,1322	H=0,7667	F'=0,2896
	p-valor	0,9397	0,8574	0,8320

ANOVA: análisis de varianzas; K-W: test de Kruskal-Wallis; Welch: test de Welch. *n*: tamaño de la muestra.

**Anexo 24.** Resultados del test de Tukey de comparaciones entre pares de muestras en los casos que se detectó diferencias significativas con el ANOVA en la composición de ácidos grasos de los lípidos neutros de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 34 días de experimento

AG		Tratamientos			
		V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)
18:2n-6 (LA)	V0	-	<<0,0001	<<0,0001	<<0,0001
	V25	18,3800	-	<<0,0001	<<0,0001
	V60	34,4300	16,0500	-	<<0,0001
	V100	48,610	30,2300	14,1900	-
18:3n-6	V0	-	0,1473	0,0012	0,0019
	V25	3,2080	-	0,1269	0,1483
	V60	6,6870	3,3310	-	1,0000
	V100	6,3380	3,2030	0,0625	-
18:3n-3 (LNA)	V0	-	<<0,0001	<<0,0001	<<0,0001
	V25	24,5500	-	<<0,0001	<<0,0001
	V60	36,9500	12,4000	-	<<0,0001
	V100	49,5000	24,9500	12,5500	-
18:4n-3	V0	-	0,0050	<<0,0001	<<0,0001
	V25	5,4570	-	<<0,0001	<<0,0001
	V60	17,3900	11,9300	-	0,0043
	V100	22,9400	17,4800	5,5510	-

20:2n-6	V0	-	0,8983	0,0011	<0,0001
	V25	0,9811	-	0,0054	<0,0001
	V60	6,3910	5,4100	-	0,1402
	V100	9,5940	8,6130	3,2030	-
20:3n-6	V0	-	0,6808	0,2095	0,0020
	V25	1,5860	-	0,7991	0,0245
	V60	2,8750	1,2890	-	0,1500
	V100	6,0250	4,4380	3,1500	-
20:4n-6 (ARA)	V0	-	0,0518	<<0,0001	<<0,0001
	V25	3,9330	-	<0,0001	<<0,0001
	V60	13,1100	9,1780	-	0,0595
	V100	16,9500	13,0200	3,8370	-
20:3n-3	V0	-	<0,0001	<<0,0001	<<0,0001
	V25	10,0200	-	<0,0001	<<0,0001
	V60	18,0000	7,9820	-	0,0133
	V100	22,8400	12,8200	4,8350	-
20:4n-3	V0	-	0,0153	<<0,0001	<<0,0001
	V25	4,7470	-	<<0,0001	<<0,0001
	V60	16,1900	11,4400	-	<<0,0001
	V100	27,4100	22,6600	11,2200	-
20:5n-3 (EPA)	V0	-	0,1251	<<0,0001	<<0,0001
	V25	3,2920	-	<0,0001	<<0,0001
	V60	11,5500	8,2580	-	0,0906
	V100	15,0800	11,7900	3,5350	-
22:4n-6	V0	-	0,9606	0,0140	0,0001
	V25	0,6922	-	0,0401	0,0004
	V60	4,8010	4,1090	-	0,1901
	V100	7,7580	7,0660	2,9570	-
22:5n-6	V0	-	0,0568	<0,0001	<<0,0001
	V25	3,8690	-	0,0010	<0,0001
	V60	10,3100	6,4370	-	0,2820
	V100	12,9200	9,0480	2,6110	-
22:5n-3	V0	-	0,9152	0,0021	<0,0001
	V25	0,9155	-	0,0092	0,0002
	V60	5,9870	5,0720	-	0,3700
	V100	8,3340	7,4190	2,3470	-
22:6n-3 (DHA)	V0	-	0,2243	<0,0001	<<0,0001
	V25	2,8160	-	0,0004	<0,0001
	V60	9,8180	7,0010	-	0,0924
	V100	13,3400	10,5200	3,5200	-
SAFA	V0	-	0,0358	<0,0001	<<0,0001
	V25	4,1860	-	0,0025	<0,0001
	V60	10,0800	5,8910	-	0,0275

	V100	14,4400	10,2500	4,3620	-
MUFA	V0	-	0,0146	0,7522	<0,0001
	V25	4,7760	-	0,1138	0,1167
	V60	1,4120	3,3640	-	0,0007
	V100	8,1210	3,3450	6,7090	-
PUFA	V0	-	0,0087	0,00135	<<0,0001
	V25	5,1070	-	0,8445	0,0005
	V60	6,2660	1,1590	-	0,0034
	V100	11,9500	6,8440	5,6850	-
n-3	V0	-	0,0113	0,0059	0,0002
	V25	4,9480	-	0,9911	0,0054
	V60	5,3610	0,4128	-	0,0103
	V100	10,3700	5,4190	5,006	-
n-6	V0	-	0,0002	0,0002	0,0002
	V25	10,9200	-	0,0002	0,0002
	V60	20,3700	9,4540	-	0,0002
	V100	31,3400	20,4200	10,9700	-
n-3HUFA	V0	-	0,3029	0,0002	0,0002
	V25	2,5440	-	0,0006	0,0002
	V60	9,4530	6,9090	-	0,1698
	V100	12,5000	9,9590	3,0500	-
n-6HUFA	V0	-	0,0859	0,0002	0,0002
	V25	3,5750	-	0,0002	0,0002
	V60	11,5400	7,9630	-	0,0313
	V100	15,8200	12,2400	4,2770	-
n-3/n-6	V0	-	0,1540	0,0002	0,0002
	V25	3,1290	-	0,0005	0,0002
	V60	10,2400	7,1070	-	0,8011
	V100	11,5200	8,3900	1,2830	-
DHA/EPA	V0	-	0,9422	0,1547	0,0012
	V25	0,7947	-	0,3759	0,0038
	V60	3,1260	2,3310	-	0,1231
	V100	6,4300	5,6360	3,3050	-
DHA/ARA	V0	-	0,9993	0,6609	0,0507
	V25	0,1785	-	0,7349	0,0654
	V60	1,6340	1,4550	-	0,3813
	V100	3,9500	3,7710	2,3160	-

Encima de la diagonal se muestran los valores de p; debajo de la diagonal se muestra los valores del estadístico Q del test de Tukey. n= tamaño de la muestra.

**Anexo 25.** Estudio de la normalidad y de la homogeneidad de varianzas de los datos de contenido de lípidos y humedad de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 60 días de experimento

Tratamientos

		V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)
Lípidos (%PH)	S-W	0,8219	0,6399	0,9600	0,8788
	p-valor	0,0911	0,0013	0,8201	0,2636
	Levene p-valor	0,0053			
Lípidos (%PS)	S-W	0,9819	0,6931	0,9580	0,9032
	p-valor	0,9606	0,0052	0,8043	0,3929
	Levene p-valor	0,0041			
Humedad %	S-W	0,7858	0,6399	0,6399	0,7876
	p-valor	0,0436	0,00135	0,00135	0,0453
	Levene p-valor	0,0123			
% LP	S-W	0,9614	0,9099	0,9025	0,9819
	p-valor	0,8305	0,4355	0,3888	0,9606
	Levene p-valor	0,3726			
% LN	S-W	0,9614	0,9344	0,9025	0,9819
	p-valor	0,8305	0,6147	0,3888	0,9606
	Levene p-valor	0,4276			
IRL	S-W	0,8242	0,7987	0,9643	0,9994
	p-valor	0,1736	0,1114	0,6369	0,9541
	Levene p-valor	0,2156			

S-W: valor del estadístico W resultante del Test de Shapiro-Wilk para la distribución normal de los datos; Levene p-valor: resultado de Test de Levene para la homogeneidad de varianzas. %PH= % del peso húmedo; %PS= % del peso seco; % LP= % de lípidos polares; % LN= % de lípidos neutros; IRL= incorporación relativa de lípidos. n= tamaño de la muestra.

## Anexo 26. Resultados de los análisis de varianza (ANOVA) de los contenidos de lípidos y de humedad de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 60 días de experimento

		Análisis estadísticos		
		ANOVA (n=6)	K-W (n=6)	Welch (n=6)
Lípidos (%PH)	estadístico	F=2,3830	H=5,1420	F'=8,1570
	p-valor	0,0997	0,1489	0,0045
Lípidos (%PS)	estadístico	F=1,6230	H=5,0500	F'=6,0970
	p-valor	0,2157	0,1645	0,0119
Humedad %	estadístico	F=2,9490	H=5,7130	F'=3,8000
	p-valor	0,0576	0,1103	0,0493
% LP	estadístico	F=5,2450	H=11,6300	F'=11,1300
	p-valor	0,0078	0,0083	0,0013
% LN	estadístico	F=5,7070	H=11,6300	F'=11,1300
	p-valor	0,0054	0,0083	0,0013
IRL	estadístico	F=0,4870	H=0,8462	F'=0,3319
	p-valor	0,7008	0,8384	0,8041

ANOVA: análisis de varianzas; K-W: test de Kruskal-Wallis; Welch: test de Welch. %PH= % del peso húmedo; %PS= % del peso seco; % LP= % de lípidos polares; % LN= % de lípidos neutros; IRL= incorporación relativa de lípidos. n= tamaño de la muestra.

**Anexo 27.** Resultados del test de Tukey de comparaciones entre pares de muestras en los casos que se detectó diferencias significativas con el ANOVA en los contenidos de lípidos y de humedad de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 60 días de experimento

		Tratamientos			
		V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)
% LP	V0	-	0,8499	0,0083	0,9290
	V25	1,1430	-	0,0471	0,9970
	V60	5,1430	4,0000	-	0,0310
	V100	0,8571	0,2857	4,2860	-
% LN	V0	-	0,7768	0,0056	0,9193
	V25	1,3480	-	0,0442	0,9886
	V60	5,3940	4,0450	-	0,0226
	V100	0,8989	0,4495	4,4950	-

Encima de la diagonal se muestran los valores de p; debajo de la diagonal se muestra los valores del estadístico Q del test de Tukey. %PH= % del peso húmedo; %PS= % del peso seco; % LP= % de lípidos polares; % LN= % de lípidos neutros; IRL= incorporación relativa de lípidos. n= tamaño de la muestra.

**Anexo 28.** Estudio de la normalidad y de la homogeneidad de varianzas de los datos de composición de ácidos grasos de los lípidos totales de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 60 días de experimento

AG		Tratamientos			
		V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)
18:2n-6 (LA)	S-W	0,9755	0,9495	0,9001	0,9026
	p-valor	0,9271	0,7364	0,3744	0,3896
	Levene p-valor		0,2887		
18:3n-6	S-W	0,9478	0,9735	0,9848	0,9771
	p-valor	0,7222	0,9151	0,9728	0,9365
	Levene p-valor		0,3170		
18:3n-3 (LNA)	S-W	0,9532	0,8637	0,8983	0,8609
	p-valor	0,7664	0,2022	0,3642	0,1922
	Levene p-valor		0,0636		
18:4n-3	S-W	0,9735	0,8556	0,9262	0,8619
	p-valor	0,9150	0,1747	0,5511	0,1956
	Levene p-valor		0,4680		
20:2n-6	S-W	0,9800	0,8896	0,8882	0,9512
	p-valor	0,9515	0,3159	0,3086	0,7501
	Levene p-valor		0,1126		
20:3n-6	S-W	0,9470	0,8657	0,9255	0,8591
	p-valor	0,7158	0,2098	0,5458	0,1861
	Levene p-valor		0,0002		
20:4n-6 (ARA)	S-W	0,9694	0,9401	0,9310	0,9757
	p-valor	0,8886	0,6597	0,5879	0,9282
	Levene p-valor		0,0611		
20:3n-3	S-W	0,7236	0,9316	0,9760	0,9416

	p-valor	0,0109	0,5926	0,9299	0,6720
	Levene p-valor			0,1263	
20:4n-3	S-W	0,9520	0,8549	0,9530	0,9619
	p-valor	0,7562	0,1724	0,7641	0,8345
	Levene p-valor			0,6293	
20:5n-3 (EPA)	S-W	0,9716	0,8733	0,9539	0,8904
	p-valor	0,9033	0,2398	0,7714	0,3202
	Levene p-valor			0,9158	
22:4n-6	S-W	0,8906	0,8365	0,7660	0,9319
	p-valor	0,3215	0,1218	0,0284	0,5948
	Levene p-valor			0,0546	
22:5n-6	S-W	0,9568	0,8665	0,9512	0,9035
	p-valor	0,7946	0,2127	0,7502	0,3949
	Levene p-valor			0,2183	
22:5n-3	S-W	0,9387	0,8653	0,8917	0,9032
	p-valor	0,6486	0,2082	0,3270	0,3929
	Levene p-valor			0,1759	
22:6n-3 (DHA)	S-W	0,8814	0,9640	0,9102	0,9744
	p-valor	0,2756	0,8500	0,4375	0,9203
	Levene p-valor			0,0153	
SAFA	S-W	0,9091	0,9461	0,9145	0,9916
	p-valor	0,4306	0,7085	0,4663	0,9928
	Levene p-valor			0,1508	
MUFA	S-W	0,9570	0,8463	0,9571	0,9146
	p-valor	0,7963	0,1468	0,7968	0,4674
	Levene p-valor			0,5266	
PUFA	S-W	0,9751	0,8571	0,9370	0,9177
	p-valor	0,9248	0,1795	0,6353	0,4889
	Levene p-valor			0,4072	
n-3	S-W	0,9564	0,8619	0,8935	0,9087
	p-valor	0,7920	0,1957	0,3368	0,4280
	Levene p-valor			0,4638	
n-6	S-W	0,9313	0,9586	0,8734	0,9050
	p-valor	0,5904	0,8092	0,2402	0,4042
	Levene p-valor			0,2099	
n-3HUFA	S-W	0,9429	0,8898	0,9002	0,9020
	p-valor	0,6826	0,3171	0,3751	0,3857
	Levene p-valor			0,2238	
n-6HUFA	S-W	0,9576	0,8580	0,7909	0,9776
	p-valor	0,8007	0,1824	0,0486	0,9392
	Levene p-valor			0,1830	
n-3/n-6	S-W	0,9268	0,8514	0,9534	0,9479
	p-valor	0,5556	0,1616	0,7675	0,7236

		Levene p-valor		0,4773	
DHA/EPA	S-W	0,9177	0,9050	0,8536	0,8910
	p-valor	0,4891	0,4044	0,1683	0,3236
		Levene p-valor		0,3857	
DHA/ARA	S-W	0,8799	0,9095	0,9683	0,8993
	p-valor	0,2687	0,4334	0,8808	0,3701
		Levene p-valor		0,4447	
EPA/ARA	S-W	0,8154	0,9234	0,9631	0,8821
	p-valor	0,0804	0,5298	0,8436	0,2790
		Levene p-valor		0,4829	

S-W: valor del estadístico W resultante del Test de Shapiro-Wilk para la distribución normal de los datos; Levene p-valor: resultado de Test de Levene para la homogeneidad de varianzas. n: tamaño de la muestra.

### Anexo 29. Resultados de los análisis de varianza (ANOVA) de la composición de ácidos grasos de los lípidos totales de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 60 días de experimento

AG		Análisis estadísticos		
		ANOVA (n=6)	K-W (n=6)	Welch (n=6)
18:2n-6 (LA)	estadístico	F=47,4300	H=19,7300	F'=68,8700
	p-valor	<<0,0001	0,0002	<<0,0001
18:3n-6	estadístico	F=10,7700	H=15,0400	F'=12,3100
	p-valor	0,0002	0,0018	0,0008
18:3n-3 (LNA)	estadístico	F=91,7000	H=20,1100	F'=202,2000
	p-valor	<<0,0001	0,0002	<<0,0001
18:4n-3	estadístico	F=33,4700	H=16,6700	F'=32,3900
	p-valor	<<0,0001	0,0008	<0,0001
20:2n-6	estadístico	F=2,9160	H=6,3080	F'=3,0010
	p-valor	0,0594	0,0974	0,0775
20:3n-6	estadístico	F=18,0100	H=14,0100	F'=8,8950
	p-valor	<0,0001	0,0029	0,0051
20:4n-6 (ARA)	estadístico	F=42,6700	H=19,4500	F'=39,6600
	p-valor	<<0,0001	0,0002	<0,0001
20:3n-3	estadístico	F=47,6300	H=18,4200	F'=81,0700
	p-valor	<<0,0001	0,0004	<<0,0001
20:4n-3	estadístico	F=41,7600	H=17,0500	F'=55,1000
	p-valor	<<0,0001	0,0007	<<0,0001
20:5n-3 (EPA)	estadístico	F=30,2500	H=17,8100	F'=30,9500
	p-valor	<<0,0001	0,0005	<0,0001
22:4n-6	estadístico	F=45,0800	H=18,9100	F'=29,6300
	p-valor	<<0,0001	0,0003	<0,0001
22:5n-6	estadístico	F=16,3000	H=15,6400	F'=22,6200
	p-valor	<0,0001	0,0013	0,0001
22:5n-3	estadístico	F=24,1100	H=16,8100	F'=17,1500
	p-valor	<<0,0001	0,0008	0,0004

22:6n-3 (DHA)	estadístico	F=44,8500	H=18,0900	F'=87,7500
	p-valor	<<0,0001	0,0004	<<0,0001
SAFA	estadístico	F=3,6890	H=8,2530	F'=4,4330
	p-valor	0,0291	0,0411	0,0293
MUFA	estadístico	F=4,4290	H=10,660	F'=6,1440
	p-valor	0,0153	0,0137	0,0109
PUFA	estadístico	F=7,2920	H=11,2900	F'=13,1400
	p-valor	0,0017	0,0103	0,0008
n-3	estadístico	F=5,4920	H=10,7300	F'=9,8000
	p-valor	0,0064	0,0133	0,0024
n-6	estadístico	F=21,2000	H=16,3300	F'=32,1700
	p-valor	<0,0001	0,0010	<0,0001
n-3HUFA	estadístico	F=36,5000	H=17,4600	F'=43,8300
	p-valor	<<0,0001	0,0006	<0,0001
n-6HUFA	estadístico	F=47,2400	H=18,8000	F'=47,3800
	p-valor	<<0,0001	0,0003	<0,0001
n-3/n-6	estadístico	F=23,2000	H=18,3100	F'=36,6900
	p-valor	<0,0001	0,0004	<0,0001
DHA/EPA	estadístico	F=3,8060	H=9,2730	F'=6,8660
	p-valor	0,0262	0,0259	0,0083
DHA/ARA	estadístico	F=3,6170	H=8,1670	F'=2,2920
	p-valor	0,0310	0,0427	0,1399
EPA/ARA	estadístico	F=0,8108	H=2,9550	F'=0,8030
	p-valor	0,5028	0,3984	0,5213

ANOVA: análisis de varianzas; K-W: test de Kruskal-Wallis; Welch: test de Welch. n: tamaño de la muestra.

**Anexo 30.** Resultados del test de Tukey de comparaciones entre pares de muestras en los casos que se detectó diferencias significativas con el ANOVA en la composición de ácidos grasos de los lípidos totales de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 60 días de experimento

AG		Tratamientos			
		V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)
18:2n-6 (LA)	V0	-	0,0014	<<0,0001	<<0,0001
	V25	6,2240	-	0,0009	<0,0001
	V60	12,7400	6,5160	-	0,2824
	V100	15,3500	9,1250	2,6100	-
18:3n-6	V0	-	0,6931	0,4537	0,0020
	V25	1,5570	-	0,0738	0,0002
	V60	2,1270	3,6840	-	0,0550
	V100	6,0190	7,5760	3,8920	-
18:3n-3 (LNA)	V0	-	<<0,0001	<<0,0001	<<0,0001
	V25	12,7500	-	0,0017	<0,0001
	V60	18,8800	6,1300	-	0,2897
	V100	21,4700	8,7170	2,5860	-

18:4n-3	V0	-	0,9794	0,0330	<<0,0001
	V25	0,5504	-	0,0142	<<0,0001
	V60	4,2410	4,7920	-	0,0001
	V100	11,9800	12,5300	7,7380	-
20:3n-6	V0	-	0,9122	0,4661	<0,0001
	V25	0,9277	-	0,8414	<0,0001
	V60	2,0960	1,1690	-	0,0003
	V100	9,3200	8,3920	7,2240	-
20:4n-6 (ARA)	V0	-	0,9616	0,0003	<<0,0001
	V25	0,6853	-	0,0010	<<0,0001
	V60	7,1250	6,4390	-	0,0005
	V100	13,9800	13,3000	6,3570	-
20:3n-3	V0	-	<0,0001	<<0,0001	<<0,0001
	V25	8,4540	-	0,0034	0,0009
	V60	14,1500	5,6980	-	0,9369
	V100	14,9700	6,5190	0,8205	-
20:4n-3	V0	-	0,8705	0,0111	<<0,0001
	V25	1,0780	-	0,0564	<<0,0001
	V60	4,9520	3,8750	-	<0,0001
	V100	14,2100	13,1400	9,2630	-
20:5n-3 (EPA)	V0	-	0,9386	0,0076	<<0,0001
	V25	0,8120	-	0,0268	<<0,0001
	V60	5,1920	4,3800	-	0,0005
	V100	12,0100	11,2000	6,8200	-
22:4n-6	V0	-	0,9114	0,0037	<<0,0001
	V25	0,9308	-	0,0163	<<0,0001
	V60	5,6350	4,7040	-	<0,0001
	V100	14,6800	13,7500	9,0430	-
22:5n-6	V0	-	0,7080	0,0160	<0,0001
	V25	1,5210	-	0,1413	0,0002
	V60	4,7180	3,1970	-	0,0254
	V100	9,1330	7,6120	4,4150	-
22:5n-3	V0	-	0,7888	0,0359	<0,0001
	V25	1,3160	-	0,2110	<0,0001
	V60	4,1850	2,8690	-	0,0005
	V100	11,0100	9,6940	6,8250	-
22:6n-3 (DHA)	V0	-	0,9533	0,0011	<<0,0001
	V25	0,7355	-	0,0037	<<0,0001
	V60	6,3830	5,6480	-	<0,0001
	V100	14,4900	13,7600	8,1090	-
SAFA	V0	-	0,9717	0,9987	0,0781
	V25	0,6155	-	0,9345	0,0321
	V60	0,2163	0,8318	-	0,1047

	V100	3,6430	4,2590	3,4270	-
MUFA	V0	-	0,9168	0,0401	0,9701
	V25	0,9092	-	0,1407	0,7016
	V60	4,1090	3,2000	-	0,0155
	V100	0,6272	1,5360	4,7370	-
PUFA	V0	-	0,0315	0,0020	0,0063
	V25	4,2730	-	0,6082	0,8826
	V60	6,0310	1,7570	-	0,9559
	V100	5,3100	1,0370	0,7206	-
n-3	V0	-	0,0303	0,0063	0,0421
	V25	4,3000	-	0,8901	0,9986
	V60	5,3100	1,0110	-	0,8191
	V100	4,0770	0,2225	1,2330	-
n-6	V0	-	0,0297	<0,0001	<0,0001
	V25	4,3110	-	0,0245	0,0026
	V60	8,7510	4,4390	-	0,7523
	V100	10,1600	5,8510	1,4110	-
n-3HUFA	V0	-	0,9778	0,0046	<<0,0001
	V25	0,5654	-	0,0113	<<0,0001
	V60	5,5040	4,9390	-	0,0002
	V100	13,0500	12,4800	7,5440	-
n-6HUFA	V0	-	0,8397	0,0003	<<0,0001
	V25	1,1740	-	0,0020	<<0,0001
	V60	7,1910	6,0170	-	0,0001
	V100	15,0100	13,8300	7,8150	-
n-3/n-6	V0	-	0,8013	0,0004	<0,0001
	V25	1,2830	-	0,0034	<0,0001
	V60	6,9650	5,682	-	0,1274
	V100	10,2400	8,9600	3,2780	-
DHA/EPA	V0	-	0,9985	0,7534	0,0328
	V25	0,2268	-	0,8370	0,0458
	V60	1,4080	1,1820	-	0,2188
	V100	4,2460	4,0190	2,838	-
DHA/ARA	V0	-	0,9873	0,9978	0,0604
	V25	0,4659	-	0,9557	0,1143
	V60	0,2554	0,7213	-	0,0418
	V100	3,8270	3,3610	4,082	-

Encima de la diagonal se muestran los valores de p; debajo de la diagonal se muestra los valores del estadístico Q del test de Tukey. *n*= tamaño de la muestra.

**Anexo 31.** Estudio de la normalidad y de la homogeneidad de varianzas de los datos de composición de ácidos grasos de los lípidos polares de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 60 días de experimento

Tratamientos

AG		V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)
18:2n-6 (LA)	S-W	0,9817	0,9794	0,9593	0,9575
	p-valor	0,9598	0,9486	0,8140	0,8004
	Levene p-valor		0,1607		
18:3n-3 (LNA)	S-W	0,8436	0,8549	0,9437	0,9454
	p-valor	0,1395	0,1723	0,6889	0,7028
	Levene p-valor		0,0307		
18:4n-3	S-W	0,9732	0,8751	0,8307	0,9602
	p-valor	0,9129	0,2472	0,1090	0,8215
	Levene p-valor		0,1710		
20:2n-6	S-W	0,8545	0,9281	0,8743	0,9215
	p-valor	0,1710	0,5658	0,2437	0,5163
	Levene p-valor		0,1085		
20:3n-6	S-W	0,7868	0,9052	0,9405	0,9822
	p-valor	0,0445	0,4055	0,6629	0,9620
	Levene p-valor		0,1830		
20:4n-6 (ARA)	S-W	0,9106	0,9597	0,9568	0,8868
	p-valor	0,4404	0,8175	0,7949	0,3018
	Levene p-valor		0,1407		
20:3n-3	S-W	0,9764	0,9049	0,9466	0,9155
	p-valor	0,9323	0,4035	0,7129	0,4732
	Levene p-valor		0,6299		
20:4n-3	S-W	0,9486	0,9925	0,9426	0,9609
	p-valor	0,7286	0,9943	0,6803	0,8265
	Levene p-valor		0,0558		
20:5n-3 (EPA)	S-W	0,8538	0,9276	0,9211	0,9624
	p-valor	0,1689	0,5621	0,5132	0,8380
	Levene p-valor		0,1796		
22:4n-6	S-W	0,9259	0,8032	0,8967	0,9889
	p-valor	0,5492	0,0628	0,3547	0,9756
	Levene p-valor		0,0600		
22:5n-6	S-W	0,9267	0,9539	0,9303	0,9600
	p-valor	0,5545	0,7717	0,5821	0,8200
	Levene p-valor		0,3239		
22:5n-3	S-W	0,9093	0,8849	0,8688	0,9750
	p-valor	0,4317	0,2922	0,2213	0,9241
	Levene p-valor		0,0157		
22:6n-3 (DHA)	S-W	0,8822	0,9529	0,8424	0,9644
	p-valor	0,2791	0,7633	0,1364	0,8528
	Levene p-valor		0,9298		
SAFA	S-W	0,6749	0,9315	0,9021	0,9352
	p-valor	0,0033	0,5921	0,3865	0,6210
	Levene p-valor		0,0359		

MUFA	S-W	0,9179	0,9746	0,9313	0,8847
	p-valor	0,4907	0,9220	0,5906	0,2911
	Levene p-valor			0,8612	
PUFA	S-W	0,9827	0,8805	0,8074	0,9612
	p-valor	0,9641	0,2716	0,0685	0,8289
	Levene p-valor			0,5635	
n-3	S-W	0,9574	0,8598	0,9301	0,9839
	p-valor	0,7997	0,1885	0,5805	0,9692
	Levene p-valor			0,5235	
n-6	S-W	0,9142	0,9242	0,9671	0,9520
	p-valor	0,4648	0,5359	0,8725	0,7561
	Levene p-valor			0,2491	
n-3HUFA	S-W	0,9551	0,9513	0,8750	0,9508
	p-valor	0,7814	0,7505	0,2470	0,7470
	Levene p-valor			0,8581	
n-6HUFA	S-W	0,9215	0,9131	0,9746	0,9440
	p-valor	0,5162	0,4570	0,9221	0,6917
	Levene p-valor			0,3762	
n-3/n-6	S-W	0,9784	0,9197	0,9528	0,9727
	p-valor	0,9431	0,5031	0,7632	0,9099
	Levene p-valor			0,3232	
DHA/EPA	S-W	0,9848	0,9760	0,9572	0,8716
	p-valor	0,9727	0,9303	0,7979	0,2327
	Levene p-valor			0,5160	
DHA/ARA	S-W	0,9537	0,8943	0,9891	0,8457
	p-valor	0,7704	0,3414	0,9869	0,1451
	Levene p-valor			0,2064	
EPA/ARA	S-W	0,8986	0,9761	0,8773	0,8947
	p-valor	0,3660	0,9305	0,2568	0,3437
	Levene p-valor			0,0074	

S-W: valor del estadístico W resultante del Test de Shapiro-Wilk para la distribución normal de los datos; Levene p-valor: resultado de Test de Levene para la homogeneidad de varianzas. *n*: tamaño de la muestra.

### Anexo 32. Resultados de los análisis de varianza (ANOVA) de la composición de ácidos grasos de los lípidos polares de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 60 días de experimento

AG		Análisis estadísticos		
		ANOVA ( <i>n</i> =6)	K-W ( <i>n</i> =6)	Welch ( <i>n</i> =6)
18:2n-6 (LA)	estadístico	F=440,7000	H=21,6000	F'=420,0000
	p-valor	<<0,0001	<0,0001	<<0,0001
18:3n-3 (LNA)	estadístico	F=1391,0000	H=21,6000	F'=2915,0000
	p-valor	<<0,0001	<0,0001	<<<0,0001
18:4n-3	estadístico	F=20,7000	H=19,3000	F'=17,8600
	p-valor	<0,0001	0,0002	0,0003

20:2n-6	estadístico	F=29,1000	H=18,6700	F'=27,9400
	p-valor	<<0,0001	0,0003	<0,0001
20:3n-6	estadístico	F=69,3200	H=20,3200	F'=46,6100
	p-valor	<<0,0001	0,0001	<0,0001
20:4n-6 (ARA)	estadístico	F=202,5000	H=21,1500	F'=246,4000
	p-valor	<<0,0001	<0,0001	<<0,0001
20:3n-3	estadístico	F=135,1000	H=21,1500	F'=134,3000
	p-valor	<<0,0001	<0,0001	<<0,0001
20:4n-3	estadístico	F=19,0500	H=18,4300	F'=12,3000
	p-valor	<0,0001	0,0004	0,0009
20:5n-3 (EPA)	estadístico	F=107,2000	H=21,1500	F'=80,8400
	p-valor	<<0,0001	<0,0001	<<0,0001
22:4n-6	estadístico	F=47,4200	H=19,6500	F'=54,5200
	p-valor	<<0,0001	0,0002	<0,0001
22:5n-6	estadístico	F=76,6700	H=19,7500	F'=81,4100
	p-valor	<<0,0001	0,0002	<<0,0001
22:5n-3	estadístico	F=76,3900	H=19,6800	F'=45,3200
	p-valor	<<0,0001	0,0002	<0,0001
22:6n-3 (DHA)	estadístico	F=211,1000	H=21,6000	F'=171,1000
	p-valor	<<0,0001	<0,0001	<<0,0001
SAFA	estadístico	F=20,9500	H=16,1500	F'=30,5900
	p-valor	<0,0001	0,0011	<0,0001
MUFA	estadístico	F=14,5900	H=16,7000	F'=11,9700
	p-valor	<0,0001	0,0008	0,0008
PUFA	estadístico	F=0,3449	H=1,5920	F'=0,2413
	p-valor	0,7931	0,6611	0,8657
n-3	estadístico	F=17,0200	H=17,1500	F'=15,2300
	p-valor	<0,0001	0,0006	0,0003
n-6	estadístico	F=157,0000	H=21,6000	F'=151
	p-valor	<<0,0001	<0,0001	<<0,0001
n-3HUFA	estadístico	F=205,8000	H=21,6000	F'=177
	p-valor	<<0,0001	<0,0001	<<0,0001
n-6HUFA	estadístico	F=212,8000	H=21,6000	F'=212,1000
	p-valor	<<0,0001	<0,0001	<<0,0001
n-3/n-6	estadístico	F=131,8000	H=21,6000	F'=242,3000
	p-valor	<<0,0001	<0,0001	<<0,0001
DHA/EPA	estadístico	F=69,2300	H=17,9700	F'=89,7200
	p-valor	<<0,0001	0,0004	<<0,0001
DHA/ARA	estadístico	F=12,8500	H=13,6900	F'=8,4190
	p-valor	<0,0001	0,0033	0,0038
EPA/ARA	estadístico	F=39,8600	H=19,3000	F'=46,7700
	p-valor	<<0,0001	0,0002	<0,0001

ANOVA: análisis de varianzas; K-W: test de Kruskal-Wallis; Welch: test de Welch. *n*: tamaño de la muestra.

**Anexo 33.** Resultados del test de Tukey de comparaciones entre pares de muestras en los casos que se detectó diferencias significativas con el ANOVA en la composición de ácidos grasos de los lípidos polares de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 60 días de experimento

AG		Tratamientos			
		V0 ( <i>n</i> =6)	V25 ( <i>n</i> =6)	V60 ( <i>n</i> =6)	V100 ( <i>n</i> =6)
18:2n-6 (LA)	V0	-	<<0,0001	<<0,0001	<<0,0001
	V25	13,3200	-	<<0,0001	<<0,0001
	V60	31,2700	17,9500	-	<<0,0001
	V100	48,1200	34,8000	16,8500	-
18:3n-3 (LNA)	V0	-	<<0,0001	<<0,0001	<<0,0001
	V25	37,6600	-	<<0,0001	<<0,0001
	V60	57,0300	19,3800	-	<<0,0001
	V100	89,2000	51,5400	32,1600	-
18:4n-3	V0	-	0,1987	0,0711	0,0002
	V25	2,9200	-	0,0008	<0,0001
	V60	3,7110	6,6310	-	0,0579
	V100	7,5670	10,4900	3,8560	-
20:2n-6	V0	-	0,9990	<<0,0001	0,0023
	V25	0,1969	-	<<0,0001	0,0032
	V60	11,3200	11,1300	-	0,0055
	V100	5,9330	5,7360	5,3910	-
20:3n-6	V0	-	0,0036	0,0002	<<0,0001
	V25	5,6610	-	0,5984	<<0,0001
	V60	7,4410	1,7800	-	<<0,0001
	V100	19,7600	14,1000	12,3200	-
20:4n-6 (ARA)	V0	-	0,0260	<<0,0001	<<0,0001
	V25	4,4000	-	<<0,0001	<<0,0001
	V60	17,7400	13,3400	-	<<0,0001
	V100	31,5100	27,1100	13,7700	-
20:3n-3	V0	-	<<0,0001	<<0,0001	<<0,0001
	V25	13,4400	-	0,0013	<<0,0001
	V60	19,7200	6,2810	-	0,0001
	V100	27,4800	14,0300	7,7540	-
20:4n-3	V0	-	0,0234	0,0011	<0,0001
	V25	4,4690	-	0,5351	0,0019
	V60	6,4100	1,9410	-	0,0407
	V100	10,5100	6,0410	4,1000	-
20:5n-3 (EPA)	V0	-	0,0003	<<0,0001	<<0,0001
	V25	7,1410	-	0,0478	<<0,0001
	V60	11,1300	3,9890	-	<<0,0001
	V100	24,6400	17,5000	13,5100	-

22:4n-6	V0	-	0,0169	<0,0001	<<0,0001
	V25	4,7110	-	0,0010	<0,0001
	V60	11,2500	6,5350	-	0,0146
	V100	15,5300	11,0400	4,8090	-
22:5n-6	V0	-	0,4034	<0,0001	<<0,0001
	V25	2,2560	-	0,0021	<<0,0001
	V60	8,2580	6,0020	-	<<0,0001
	V100	19,5700	17,3100	11,3100	-
22:5n-3	V0	-	0,0015	0,0002	<<0,0001
	V25	6,1890	-	0,8549	<<0,0001
	V60	7,3160	1,1270	-	<<0,0001
	V100	20,7600	14,5700	13,4400	-
22:6n-3 (DHA)	V0	-	0,0017	<<0,0001	<<0,0001
	V25	6,1180	-	<0,0001	<<0,0001
	V60	14,7900	8,6750	-	<<0,0001
	V100	33,3700	27,2500	18,5800	-
SAFA	V0	-	0,3533	0,0574	<0,0001
	V25	2,3940	-	0,0014	<0,0001
	V60	3,8620	6,2560	-	0,3550
	V100	8,0550	10,4500	4,1930	-
MUFA	V0	-	0,3204	0,1188	0,0014
	V25	2,4900	-	0,0028	<0,0001
	V60	3,3320	5,8220	-	0,2000
	V100	6,2460	8,7370	2,9140	-
n-3	V0	-	0,5579	0,0062	<0,0001
	V25	1,8750	-	0,1026	0,0002
	V60	5,3180	3,4430	-	0,0432
	V100	9,3760	7,5010	4,0580	-
n-6	V0	-	0,0007	<<0,0001	<<0,0001
	V25	6,6730	-	<0,0001	<<0,0001
	V60	16,9700	10,2900	-	<<0,0001
	V100	28,7000	22,0200	11,7300	-
n-3HUFA	V0	-	0,0004	<<0,0001	<<0,0001
	V25	7	-	<0,0001	<<0,0001
	V60	15,0100	8,1300	-	<<0,0001
	V100	33,2700	26,2700	18,2600	-
n-6HUFA	V0	-	0,0096	<<0,0001	<<0,0001
	V25	5,0420	-	<<0,0001	<<0,0001
	V60	17,1900	12,1500	-	<<0,0001
	V100	32,7600	27,7200	15,5700	-
n-3/n-6	V0	-	<0,0001	<<0,0001	<<0,0001
	V25	8,0200	-	<0,0001	<<0,0001
	V60	17,8000	9,7850	-	<0,0001

	V100	26,3600	18,3400	8,5570	-
DHA/EPA	V0	-	0,9963	0,0054	<<0,0001
	V25	0,3059	-	0,0033	<<0,0001
	V60	5,4100	5,7160	-	<<0,0001
	V100	17,4900	17,8000	12,0800	-
DHA/ARA	V0	-	0,6869	0,3281	0,0019
	V25	1,5720	-	0,0445	0,0230
	V60	2,4670	4,0390	-	<0,0001
	V100	6,0520	4,4800	8,5190	-
EPA/ARA	V0	-	0,6388	0,0003	<<0,0001
	V25	1,6860	-	<0,0001	<<0,0001
	V60	7,1890	8,8750	-	0,0176
	V100	11,8400	13,5300	4,6550	-

Encima de la diagonal se muestran los valores de p; debajo de la diagonal se muestra los valores del estadístico Q del test de Tukey.  $n$  = tamaño de la muestra.

**Anexo 34.** Estudio de la normalidad y de la homogeneidad de varianzas de los datos de composición de ácidos grasos de los lípidos neutros de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 60 días de experimento

AG		Tratamientos			
		V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)
18:2n-6 (LA)	S-W	0,9247	0,9261	0,8986	0,9855
	p-valor	0,5399	0,5506	0,3657	0,9755
	Levene p-valor		0,4584		
18:3n-6	S-W	0,9018	0,9505	0,8785	0,8871
	p-valor	0,3849	0,7442	0,2625	0,3035
	Levene p-valor		0,1875		
18:3n-3 (LNA)	S-W	0,9756	0,9003	0,9228	0,9289
	p-valor	0,9279	0,3756	0,5257	0,5720
	Levene p-valor		0,1690		
18:4n-3	S-W	0,8603	0,9144	0,8839	0,7820
	p-valor	0,1900	0,4660	0,2874	0,040
	Levene p-valor		0,6554		
20:2n-6	S-W	0,9497	0,9006	0,9338	0,8535
	p-valor	0,7379	0,3773	0,6099	0,1678
	Levene p-valor		0,1241		
20:3n-6	S-W	0,9078	0,8860	0,9208	0,8120
	p-valor	0,4223	0,2977	0,5113	0,1436
	Levene p-valor		0,8733		
20:4n-6 (ARA)	S-W	0,8867	0,8672	0,9574	0,9260
	p-valor	0,3015	0,2152	0,7993	0,5497
	Levene p-valor		0,8371		
20:3n-3	S-W	0,9277	0,9412	0,9379	0,9291
	p-valor	0,5622	0,6690	0,6420	0,5731

	Levene p-valor			0,5938	
20:4n-3	S-W	0,8648	0,8902	0,9281	0,9326
	p-valor	0,2062	0,3193	0,5658	0,6001
	Levene p-valor			0,6501	
20:5n-3 (EPA)	S-W	0,8759	0,8569	0,8399	0,8303
	p-valor	0,2506	0,1787	0,1301	0,1081
	Levene p-valor			0,9545	
22:4n-6	S-W	0,9060	0,9227	0,9423	0,8335
	p-valor	0,4109	0,5247	0,6782	0,1942
	Levene p-valor			0,6997	
22:5n-6	S-W	0,9126	0,8707	0,8813	0,9078
	p-valor	0,4534	0,2290	0,2752	0,4221
	Levene p-valor			0,8950	
22:5n-3	S-W	0,8573	0,9154	0,8847	0,8760
	p-valor	0,1801	0,4727	0,2912	0,2513
	Levene p-valor			0,0684	
22:6n-3 (DHA)	S-W	0,9167	0,9464	0,9090	0,9712
	p-valor	0,4820	0,7110	0,4298	0,9006
	Levene p-valor			0,8474	
SAFA	S-W	0,9617	0,8922	0,9910	0,8838
	p-valor	0,8324	0,3298	0,9914	0,2868
	Levene p-valor			0,4626	
MUFA	S-W	0,9736	0,9207	0,9049	0,9520
	p-valor	0,9156	0,5103	0,4040	0,7563
	Levene p-valor			0,6541	
PUFA	S-W	0,8621	0,9195	0,9446	0,8908
	p-valor	0,1964	0,5020	0,6965	0,3225
	Levene p-valor			0,1303	
n-3	S-W	0,9008	0,9774	0,9660	0,8943
	p-valor	0,3789	0,9380	0,8646	0,3411
	Levene p-valor			0,2999	
n-6	S-W	0,9214	0,9231	0,9369	0,9921
	p-valor	0,5157	0,5279	0,6340	0,9936
	Levene p-valor			0,1718	
n-3HUFA	S-W	0,8722	0,9407	0,9288	0,8295
	p-valor	0,2350	0,6647	0,5706	0,1064
	Levene p-valor			0,7299	
n-6HUFA	S-W	0,9876	0,9529	0,9876	0,9378
	p-valor	0,9824	0,7637	0,9825	0,6419
	Levene p-valor			0,9416	
n-3/n-6	S-W	0,9392	0,8608	0,9534	0,9272
	p-valor	0,6524	0,1921	0,7677	0,5583
	Levene p-valor			0,4887	

DHA/EPA	S-W	0,8934	0,9269	0,9901	0,8746
	p-valor	0,3364	0,5562	0,9895	0,2454
	Levene p-valor	0,2399			
DHA/ARA	S-W	0,8620	0,9236	0,9639	0,8383
	p-valor	0,1962	0,5313	0,8492	0,1261
	Levene p-valor	0,6121			
EPA/ARA	S-W	0,9149	0,8800	0,9530	0,7503
	p-valor	0,4693	0,2691	0,7643	0,0201
	Levene p-valor	0,2548			

S-W: valor del estadístico W resultante del Test de Shapiro-Wilk para la distribución normal de los datos; Levene p-valor: resultado de Test de Levene para la homogeneidad de varianzas. *n*: tamaño de la muestra.

### Anexo 35. Resultados de los análisis de varianza (ANOVA) de la composición de ácidos grasos de los lípidos neutros de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 60 días de experimento

AG		Análisis estadísticos		
		ANOVA ( <i>n</i> =6)	K-W ( <i>n</i> =6)	Welch ( <i>n</i> =6)
18:2n-6 (LA)	estadístico	F=128,3000	H=21,6000	F'=153,1000
	p-valor	<<0,0001	<0,0001	<<0,0001
18:3n-6	estadístico	F=32,7700	H=17,7400	F'=49,4600
	p-valor	<<0,0001	0,0005	<0,0001
18:3n-3 (LNA)	estadístico	F=233	H=21,6000	F'=438,2000
	p-valor	<<0,0001	<0,0001	<<0,0001
18:4n-3	estadístico	F=88,6200	H=20,1800	F'=105
	p-valor	<<0,0001	0,0001	<<0,0001
20:2n-6	estadístico	F=13,6500	H=14,5100	F'=14,1800
	p-valor	<0,0001	0,0023	0,0005
20:3n-6	estadístico	F=25,2500	H=16,2800	F'=17,5600
	p-valor	<0,0001	0,0010	0,0012
20:4n-6 (ARA)	estadístico	F=87,7100	H=20,5700	F'=87,1100
	p-valor	<<0,0001	0,0001	<<0,0001
20:3n-3	estadístico	F=90,3600	H=20,7500	F'=107,3000
	p-valor	<<0,0001	0,0001	<<0,0001
20:4n-3	estadístico	F=118	H=20,9400	F'=105,7000
	p-valor	<<0,0001	0,0001	<<0,0001
20:5n-3 (EPA)	estadístico	F=83,7900	H=20,6600	F'=71,6900
	p-valor	<<0,0001	0,0001	<<0,0001
22:4n-6	estadístico	F=49,9700	H=17,0100	F'=52,3700
	p-valor	<<0,0001	0,0007	<0,0001
22:5n-6	estadístico	F=34,3800	H=18,1500	F'=27,4300
	p-valor	<<0,0001	0,0004	<0,0001
22:5n-3	estadístico	F=46,9200	H=20,0500	F'=33,7400
	p-valor	<<0,0001	0,0002	<0,0001
22:6n-3 (DHA)	estadístico	F=77,6500	H=20,7500	F'=72,0100

	p-valor	<<0,0001	0,0001	<<0,0001
SAFA	estadístico	F=23,6600	H=17,0800	F'=33,1100
	p-valor	<<0,0001	0,0007	<0,0001
MUFA	estadístico	F=6,7590	H=12,0900	F'=6,3640
	p-valor	0,0025	0,0071	0,010
PUFA	estadístico	F=30,7200	H=18,7400	F'=34,3000
	p-valor	<<0,0001	0,0003	<0,0001
n-3	estadístico	F=13,8600	H=15,9700	F'=17,6400
	p-valor	0,0001	0,0011	0,0002
n-6	estadístico	F=82,1000	H=21,1300	F'=123
	p-valor	<<0,0001	<0,0001	<<0,0001
n-3HUFA	estadístico	F=136,4000	H=21,6000	F'=113,8000
	p-valor	<<0,0001	<0,0001	<<0,0001
n-6HUFA	estadístico	F=230,7000	H=21,6000	F'=184,9000
	p-valor	<<0,0001	<0,0001	<<0,0001
n-3/n-6	estadístico	F=16,2700	H=16,7300	F'=26,8200
	p-valor	<0,0001	0,0008	<0,0001
DHA/EPA	estadístico	F=2,7710	H=9,8150	F'=4,4900
	p-valor	0,0683	0,0202	0,0363
DHA/ARA	estadístico	F=2,5830	H=7,4870	F'=1,8320
	p-valor	0,8190	0,05790	0,2040
EPA/ARA	estadístico	F=0,3766	H=3,0380	F'=0,4291
	p-valor	0,7709	0,3856	0,7373

ANOVA: análisis de varianzas; K-W: test de Kruskal-Wallis; Welch: test de Welch. *n*: tamaño de la muestra.

**Anexo 36.** Resultados del test de Tukey de comparaciones entre pares de muestras en los casos que se detectó diferencias significativas con el ANOVA en la composición de ácidos grasos de los lípidos neutros de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 60 días de experimento

AG		Tratamientos			
		V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)
18:2n-6 (LA)	V0	-	<0,0001	<<0,0001	<<0,0001
	V25	8,6480	-	<0,0001	<<0,0001
	V60	16,8100	8,1640	-	<0,0001
	V100	26,5100	17,8600	9,6990	-
18:3n-6	V0	-	0,6293	<0,0001	<<0,0001
	V25	1,7080	-	0,0003	<0,0001
	V60	8,8540	7,1460	-	0,1468
	V100	12,0200	10,3100	3,1670	-
18:3n-3 (LNA)	V0	-	<<0,0001	<<0,0001	<<0,0001
	V25	19,6300	-	0,0004	<<0,0001
	V60	26,6400	7,0020	-	<0,0001
	V100	36,0100	16,3700	9,3700	-
18:4n-3	V0	-	0,1676	<<0,0001	<<0,0001

	V25	3,0610	-	<0,0001	<<0,0001
	V60	12,3600	9,3010	-	<0,0001
	V100	20,7600	17,7000	8,3980	-
20:2n-6	V0	-	0,8445	0,0041	0,0003
	V25	1,1590	-	0,0250	0,0008
	V60	5,5880	4,4290	-	0,3997
	V100	7,8540	6,6950	2,2670	-
20:3n-6	V0	-	0,0486	0,0006	0,0002
	V25	4,0420	-	0,1367	0,0002
	V60	7,2990	3,2570	-	0,0072
	V100	12,6700	8,6270	5,3700	-
20:4n-6 (ARA)	V0	-	0,0380	0,0002	0,0002
	V25	4,1480	-	0,0002	0,0002
	V60	14,0300	9,8870	-	0,0009
	V100	20,6300	16,4800	6,5930	-
20:3n-3	V0	-	<0,0001	<<0,0001	<<0,0001
	V25	10,7400	-	0,0013	<<0,0001
	V60	17,0100	6,2670	-	0,0095
	V100	22,0600	11,3200	5,0500	-
20:4n-3	V0	-	0,0058	<<0,0001	<<0,0001
	V25	5,3570	-	<0,0001	<<0,0001
	V60	13,5700	8,2120	-	<<0,0001
	V100	24,9500	19,5900	11,3800	-
20:5n-3 (EPA)	V0	-	0,0349	<<0,0001	<<0,0001
	V25	4,2040	-	<0,0001	<<0,0001
	V60	12,9600	8,7560	-	0,0002
	V100	20,5100	16,3000	7,5460	-
22:4n-6	V0	-	0,6830	<0,0001	<<0,0001
	V25	7,7910	-	0,0001	<<0,0001
	V60	11,8200	8,0260	-	0,0054
	V100	15,0200	12,1000	5,5520	-
22:5n-6	V0	-	0,0022	<<0,0001	<<0,0001
	V25	5,9750	-	0,0025	0,0008
	V60	11,8600	5,8850	-	0,9594
	V100	12,5600	6,5840	0,6992	-
22:5n-3	V0	-	0,0634	<0,0001	<<0,0001
	V25	3,7920	-	0,0070	<<0,0001
	V60	9,0370	5,2450	-	0,0006
	V100	15,8000	12,0100	6,7610	-
22:6n-3 (DHA)	V0	-	0,0544	<<0,0001	<<0,0001
	V25	3,8990	-	<0,0001	<<0,0001
	V60	12,3800	8,4840	-	0,0002
	V100	19,7000	15,8000	7,3170	-

SAFA	V0	-	0,0644	<0,0001	<<0,0001
	V25	3,7810	-	0,0282	0,0003
	V60	8,1270	4,3460	-	0,1916
	V100	11,0800	7,2960	2,9510	-
MUFA	V0	-	0,0770	0,9998	0,0098
	V25	3,6540	-	0,663	0,7654
	V60	0,1063	3,7600	-	0,0083
	V100	5,0310	1,3780	5,1380	-
PUFA	V0	-	0,0008	0,0004	<<0,0001
	V25	6,5940	-	0,9926	0,0004
	V60	6,9820	0,3875	-	0,0008
	V100	13,5700	6,9760	6,5880	-
n-3	V0	-	0,0029	0,0134	<0,0001
	V25	5,7930	-	0,9029	0,1404
	V60	4,8290	0,9639	-	0,0369
	V100	8,9950	3,2020	4,1660	-
n-6	V0	-	0,0028	<<0,0001	<<0,0001
	V25	5,8440	-	0,0026	<<0,0001
	V60	11,7000	5,8570	-	<0,0001
	V100	21,2500	15,4000	9,5460	-
n-3HUFA	V0	-	0,0044	<<0,0001	<<0,0001
	V25	5,5340	-	<<0,0001	<<0,0001
	V60	16,9300	11,4000	-	<0,0001
	V100	26,1200	20,5800	9,1830	-
n-6HUFA	V0	-	<0,0001	<<0,0001	<<0,0001
	V25	8,3450	-	<<0,0001	<<0,0001
	V60	23,3600	15,0100	-	<<0,0001
	V100	34,0000	25,6500	10,6400	<0,0001
n-3/n-6	V0	-	0,9803	0,0039	<0,0001
	V25	0,5416	-	0,0094	0,0001
	V60	5,6000	5,0590	-	0,2442
	V100	8,3420	7,8000	2,7420	-

Encima de la diagonal se muestran los valores de p; debajo de la diagonal se muestra los valores del estadístico Q del test de Tukey. n= tamaño de la muestra.

### Anexo 37. Resultados de los *t test* de comparación de medias para los contenidos de lípidos y de humedad de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 34 y de 60 días de experimento

AG		Tratamientos			
		V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)
Lípidos (%PH)	t	-0,6202	1,0827	-0,2548	-0,2806
	p-valor	0,5490	0,3044	0,8040	0,7847
Lípidos (%PS)	t	-2,1014	0,4335	-2,7854	-0,5719
	p-valor	0,0619	0,6739	0,0193	0,5800

Humedad %	t	-1,7849	-1,9365	-4,2906	<<0,0001
	p-valor	0,1046	0,0815	0,0016	1
% LP	t	3,7097	1,0096	4,2077	3,4916
	p-valor	0,0040	0,3365	0,0018	0,0058
% LN	t	-3,7097	-1,1508	-4,1655	13,4200
	p-valor	0,0040	0,2766	0,0019	0,0044
IRL	t	3,6155	5,7565	5,7611	2,7185
	p-valor	0,0086	0,0007	0,0007	0,0298

t: estadístico del t test. %PH= % del peso húmedo; %PS= % del peso seco; % LP= % de lípidos polares; % LN= % de lípidos neutros; IRL= incorporación relativa de lípidos. n= tamaño de la muestra.

**Anexo 38.** Resultados de los *t test* de comparación de medias con los datos de composición de AG de los lípidos totales de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 34 y de 60 días de experimento

AG		Tratamientos			
		V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)
18:2n-6 (LA)	t	-1,3885	0,0875	1,9102	1,8945
	p-valor	0,1952	0,9320	0,0852	0,0874
18:3n-6	t	2,0475	0,5800	0,2280	0,8229
	p-valor	0,0678	0,5761	0,8242	0,4318
18:3n-3 (LNA)	t	-3,9020	-1,6417	1,8879	1,4440
	p-valor	0,0029	0,1317	0,0884	0,1793
18:4n-3	t	-2,2518	0,0864	0,5534	1,7653
	p-valor	0,0480	0,9328	0,5921	0,1080
20:2n-6	t	-1,0184	0,2971	0,5090	0,5811
	p-valor	0,3325	0,7725	0,6219	0,5740
20:3n-6	t	-0,5138	1,4825	1,4644	2,8748
	p-valor	0,6185	0,11690	0,1738	0,0165
20:4n-6 (ARA)	t	-0,6614	0,6085	2,7519	3,6081
	p-valor	0,5233	0,5564	0,0204	0,0048
20:3n-3	t	-2,1584	-1,8250	3,8359	1,6363
	p-valor	0,0562	0,0980	0,0033	0,1328
20:4n-3	t	-3,2053	0,3809	0,5454	1,7316
	p-valor	0,0094	0,7112	0,5974	0,1140
20:5n-3 (EPA)	t	-0,9832	0,9892	0,4556	2,6573
	p-valor	0,3487	0,3459	0,6584	0,0240
22:4n-6	t	-1,4239	1,2000	1,1878	2,8012
	p-valor	0,1849	0,2578	0,2624	0,0187
22:5n-6	t	-2,1975	0,4626	0,5599	0,4573
	p-valor	0,0527	0,6535	0,5879	0,6572
22:5n-3	t	-0,9945	1,3698	1,2438	2,8103
	p-valor	0,3434	0,2007	0,2419	0,0185
22:6n-3 (DHA)	t	-0,6576	0,5343	1,1148	3,3769
	p-valor	0,5256	0,6048	0,2910	0,0070

SAFA	t	-1,5475	0,1382	1,3740	0,0270
	p-valor	0,1528	0,8928	0,1995	0,9789
MUFA	t	-2,6291	0,0253	2,7029	0,9018
	p-valor	0,0252	0,9803	0,0222	0,3884
PUFA	t	-1,3046	-0,1163	1,3092	0,3470
	p-valor	0,2212	0,9097	0,2198	0,7358
n-3	t	-1,7813	-0,4493	1,3105	0,1665
	p-valor	0,1052	0,6628	0,2193	0,8711
n-6	t	-1,2940	0,2006	1,5297	1,3182
	p-valor	0,2247	0,8450	0,1571	0,2168
n-3HUFA	t	-1,0523	0,6726	0,5511	2,5371
	p-valor	0,3174	0,5164	0,5937	0,0295
n-6HUFA	t	-1,2414	0,8037	1,5181	2,5810
	p-valor	0,2428	0,4403	0,1599	0,0274
n-3/n-6	t	-0,6476	-1,2005	0,2051	2,5504
	p-valor	0,5318	0,2576	0,8416	0,0288
DHA/EPA	t	0,4121	-0,1954	1,1400	3,0777
	p-valor	0,6889	0,8490	0,2808	0,0117
DHA/ARA	t	-0,1013	0,2895	0,4368	1,2788
	p-valor	0,9213	0,7781	0,6715	0,2299
EPA/ARA	t	-1,4486	0,1573	0,9611	0,5864
	p-valor	0,1781	0,8781	0,3592	0,5706

t: estadístico del t test. n= tamaño de la muestra.

**Anexo 39.** Resultados de los *t test* de comparación de medias con los datos de composición de AG de los lípidos polares de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 34 y de 60 días de experimento

AG		Tratamientos			
		V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)
18:2n-6 (LA)	t	3,1300	1,3347	0,0473	0,2179
	p-valor	0,0107	0,2116	0,8323	0,8319
18:3n-6	t	-	-	-	-
	p-valor	-	-	-	-
18:3n-3 (LNA)	t	0,1592	6,3764	4,5239	3,0459
	p-valor	0,8767	<0,0001	0,0011	0,0123
18:4n-3	t	0,6514	1,6658	0,6028	<<0,0001
	p-valor	0,5295	0,1267	0,5600	1
20:2n-6	t	3,3621	4,6913	2,2912	3,5496
	p-valor	0,0072	0,0008	0,0449	0,0053
20:3n-6	t	1,7406	4,1141	1,7619	2,9207
	p-valor	0,1124	0,0021	0,1086	0,0153
20:4n-6 (ARA)	t	5,3054	4,4692	9,9262	7,8886
	p-valor	0,0003	0,0012	<<0,0001	<0,0001

20:3n-3	t	0,3116	3,8717	2,2707	0,6334
	p-valor	0,7618	0,0031	0,0465	0,5407
20:4n-3	t	2,1293	3,3008	2,7323	0,5422
	p-valor	0,0591	0,0080	0,0211	0,5995
20:5n-3 (EPA)	t	3,0238	4,7063	4,7087	5,9121
	p-valor	0,0128	0,0008	0,0008	0,0001
22:4n-6	t	1,0859	3,3786	7,1624	1,3067
	p-valor	0,3030	0,0070	<0,0001	0,2237
22:5n-6	t	0,2919	1,2108	3,4352	3,1763
	p-valor	0,7763	0,2538	0,0064	0,0099
22:5n-3	t	0,2001	2,7693	3,7838	5,0290
	p-valor	0,8450	0,0198	0,0036	0,0005
22:6n-3 (DHA)	t	0,9406	1,7739	4,3275	6,0919
	p-valor	0,3691	0,1065	0,0015	0,0001
SAFA	t	1,4332	2,7027	2,3804	2,0225
	p-valor	0,1823	0,0222	0,0386	0,0707
MUFA	t	2,5605	1,6316	3,7373	3,2895
	p-valor	0,0283	0,1338	0,0039	0,0081
PUFA	t	1,9601	2,5802	3,6293	2,7198
	p-valor	0,0784	0,0274	0,0046	0,0216
n-3	t	0,7093	1,0904	4,5640	2,4930
	p-valor	0,4943	0,3011	0,0584	0,0318
n-6	t	4,6458	3,6816	3,7732	2,5102
	p-valor	0,0009	0,0042	0,0036	0,0309
n-3HUFA	t	1,3189	2,2827	4,4231	5,6954
	p-valor	0,2166	0,0456	0,0013	0,0002
n-6HUFA	t	3,5349	3,5960	9,0051	5,4695
	p-valor	0,0054	0,0049	<0,0001	0,0003
n-3/n-6	t	4,1883	2,7695	0,9681	1,5002
	p-valor	0,0019	0,0198	0,3558	0,1644
DHA/EPA	t	2,5779	2,5938	0,6196	3,9126
	p-valor	0,0275	0,0268	0,5494	0,0029
DHA/ARA	t	5,0503	3,2719	4,1379	0,0147
	p-valor	0,0005	0,0084	0,0020	0,9886
EPA/ARA	t	2,3980	2,3075	9,1915	4,6968
	p-valor	0,0374	0,0437	<0,0001	0,0008

t: estadístico del t test. n= tamaño de la muestra.

**Anexo 40.** Resultados de los *t test* de comparación de medias con los datos de composición de AG de los lípidos neutros de los juveniles de *Paralichthys orbignyanus* luego de 34 y de 60 días de experimento

AG	Tratamientos			
	V0 (n=6)	V25 (n=6)	V60 (n=6)	V100 (n=6)

18:2n-6 (LA)	t	0,4691	0,1645	0,8285	2,5034
	p-valor	0,6491	0,8726	0,4267	0,0313
18:3n-6	t	3,3985	0,7069	0,2707	2,1629
	p-valor	0,0068	0,4958	0,7921	0,0625
18:3n-3 (LNA)	t	1,5809	2,9058	0,8959	1,0017
	p-valor	0,1450	0,0157	0,3918	0,3401
18:4n-3	t	0,7237	0,2053	1,0971	5,3914
	p-valor	0,4858	0,8414	0,2983	0,0003
20:2n-6	t	0,0921	0,3632	2,2760	0,6567
	p-valor	0,9284	0,7240	0,1623	0,5261
20:3n-6	t	0,7460	1,8567	1,8416	1,7259
	p-valor	0,4728	0,0930	0,0953	0,1280
20:4n-6 (ARA)	t	1,3639	0,7105	1,4536	5,4358
	p-valor	0,2025	0,4936	0,1767	0,0003
20:3n-3	t	1,4241	2,4570	2,2549	3,3879
	p-valor	0,1849	0,0338	0,0478	0,0069
20:4n-3	t	1,1544	0,5189	1,0534	3,6889
	p-valor	0,2742	0,6151	0,3169	0,0042
20:5n-3 (EPA)	t	0,0062	0,8187	2,0321	4,3880
	p-valor	0,9951	0,4320	0,0695	0,0014
22:4n-6	t	0,3124	1,0216	1,5234	1,7706
	p-valor	0,7611	0,3311	0,1586	0,1199
22:5n-6	t	1,6091	0,4819	1,3111	2,8250
	p-valor	0,1387	0,6403	0,2191	0,0180
22:5n-3	t	0,2101	1,5343	1,8971	3,5966
	p-valor	0,8378	0,1560	0,0870	0,0049
22:6n-3 (DHA)	t	0,1349	0,3498	1,5354	5,5650
	p-valor	0,8954	0,7337	0,1557	0,0051
SAFA	t	0,0993	0,5538	1,2805	0,7448
	p-valor	0,9229	0,5919	0,2293	0,4735
MUFA	t	0,2397	0,2805	0,8185	0,5181
	p-valor	0,8154	0,7848	0,4322	0,6157
PUFA	t	0,2608	0,8418	0,0560	0,0350
	p-valor	0,7995	0,4196	0,9564	0,9728
n-3	t	0,9019	1,4907	0,2584	0,4398
	p-valor	0,3833	0,1669	0,8014	0,6694
n-6	t	0,9326	0,0618	0,3149	2,1428
	p-valor	0,3730	0,9520	0,7593	0,0577
n-3HUFA	t	0,2086	0,6356	1,5262	3,4942
	p-valor	0,8389	0,5393	0,1579	0,0058
n-6HUFA	t	1,6539	0,1658	1,5926	4,0782
	p-valor	0,1292	0,8716	0,1423	0,0022
n-3/n-6	t	0,3199	1,0295	0,1328	3,2508

	p-valor	0,7556	0,3275	0,8970	0,0087
DHA/EPA	t	0,2655	0,2928	0,3151	0,8032
	p-valor	0,7960	0,7757	0,7592	0,4405
DHA/ARA	t	0,8538	1,9416	0,3034	1,2200
	p-valor	0,4132	0,0808	0,7678	0,2505
EPA/ARA	t	3,7073	1,0850	0,4407	1,3010
	p-valor	0,0041	0,3034	0,6688	0,2224

t: estadístico del t test.  $n$ = tamaño de la muestra.