

Nutrición de Reproductores de Peces Marinos

Luis Alvarez-Lajonchère

Unidad Mazatlán, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo
Avenida Sábalo Cerritos S/N, Mazatlán, C.P. 82010, Mazatlán, Sinaloa, México.

E-mail: alvarezl@cascabel.ciad.mx; lajonchere@yahoo.com

Resumen

Se presenta una revisión de algunos de los principales aspectos de la nutrición de los reproductores de peces marinos, su influencia en la maduración y el desove, así como su interdependencia con otros factores también de suma importancia: las condiciones ambientales, manipulación, las técnicas de inducción del desove y la nutrición, destacándose la importancia de conocer las influencias respectivas y sus interacciones para mejorar integralmente las condiciones para alcanzar el éxito en la producción masiva de juveniles. Se presentan criterios sobre la calidad del proceso reproductivo y la influencia de los diversos factores. Se analiza brevemente la influencia de algunos factores en los parámetros reproductivos y como en mayor detalle el estado nutricional de los reproductores. Se resumen los reportes de efectos de la alimentación sobre los parámetros reproductivos más importantes: el desarrollo sexual de los reproductores y su desove, la fecundidad, las características morfológicas de los huevos, la calidad del semen, el desarrollo embrionario, los porcentajes de huevos flotantes, de fertilización, de eclosión y supervivencia de las larvas vivas normales y a la primera alimentación. Finalmente se analizan los ingredientes que han demostrado un gran valor para las dietas de los reproductores y las mejores prácticas de alimentación.

1. Introducción

La acuicultura económicamente viable depende en gran medida de un suministro confiable de huevos fértiles y juveniles, los cuales solo pueden ser producidos con un banco de reproductores mantenido en condiciones ambientales y un régimen nutricional adecuados (Navas *et al.*, 1997). De acuerdo a la experiencia mundial, de acuerdo al estado nutricional de los reproductores, directa o indirectamente, se regulan su crecimiento, el desarrollo sexual, así como las características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas de la progenie resultante y por tanto su calidad (Navas *et al.*, 1997; Carrillo *et al.*, 2000). Lo anterior resalta la importancia de alimentar adecuadamente a los reproductores para lograr huevos y larvas viables que aseguren la producción masiva de juveniles en la cual se debe basar el cultivo de las especies deseadas.

Los estudios de nutrición de los reproductores son aún limitados y relativamente caros, debido a que se requieren instalaciones de gran envergadura interiores y exteriores para mantener grandes grupos de peces adultos y con costos de operación elevados para conducir experimentos de alimentación prolongados (Izquierdo *et al.*, 2001), por lo cual el avance del conocimiento en este aspecto tan importante, ha sido lento.

Es importante señalar que el éxito del proceso reproductivo en peces marinos está determinado, en adición al valor nutricional de su alimentación, por otros factores esenciales, entre ellos las condiciones ambientales (calidad del agua y condiciones del sitio), manipulación y las técnicas de inducción del desove, que influyen decisivamente en la maduración y el desove de los reproductores. Estos factores o principios reproductivos varían en importancia con la especie de que se trate, pero determinan el éxito o el fracaso (Harvey & Carolsfeld 1993) y están íntimamente relacionados, de tal forma que unos pueden afectar significativamente a los otros hasta el punto de retrasar e incluso evitar el logro de una progenie viable. Por ejemplo, entre los otros aspectos que influyen en el éxito reproductivo y que en muchas ocasiones no se valora correctamente su importancia, las condiciones y manejo inadecuados usualmente provocan estrés, que a su vez afectará directa o indirectamente la maduración y el desove, ya sea retrasando estos procesos, afectando su calidad o incluso provocando una regresión gonadal. Tal es el caso del estrés provocado por una manipulación deficiente o condiciones ambientales inadecuadas, que pueden impedir la reproducción exitosa de reproductores que hayan sido bien alimentados y recibido un tratamiento de inducción (ambiental y/o hormonal) apropiado.

Para lograr los incrementos crecientes de juveniles, la piscicultura marina a nivel mundial, regional y local, requiere la mejora constante de las técnicas de cría y manejo de reproductores y de su inducción del desove, por lo que es esencial conocer adecuadamente las influencias de cada uno de estos factores y sus interacciones, así como la forma de mejorar integralmente las condiciones requeridas, destacándose los requerimientos nutricionales para que el proceso reproductivo se optimice.

En el presente material se presentará un resumen de algunos de los conocimientos importantes que se han acumulado sobre la nutrición de reproductores de peces marinos y se brindarán ideas y experiencias obtenidas en la Unidad Mazatlán del Centro de Investigación en Alimentación y

Desarrollo (CIAD Mazatlán), con el ánimo de señalar y resaltar aspectos que pueden ser importantes y hasta decisivos para la reproducción exitosa de las especies de interés.

2. Criterios para evaluar la calidad del proceso reproductivo:

Como se trata de evaluar los efectos de la nutrición y de los otros factores esenciales, es necesario analizar los criterios de calidad del proceso reproductivo, para lo cual se emplean diversos métodos y criterios. Los criterios fundamentales se basan en la calidad de los huevos, pero también se incluyen otros respecto a la calidad de las larvas en sus primeros estadios, ya que se ha demostrado que los efectos del proceso reproductivo se pueden identificar hasta la primera etapa larval. No se trata de que los factores que actuaron en la maduración y el desove no tengan efectos posteriores, sino que es prácticamente imposible identificarlos entre todos los que actúan en las etapas posteriores del desarrollo larval y juvenil por la complejidad de dichos procesos; además, los mayores esfuerzos se han concentrado en las primeras fases del proceso reproductivo pues es importante poder estimar la calidad de la progenie en una etapa temprana para evaluar la conveniencia de continuar el proceso de cría de un lote de huevos o larvas que puede tener baja calidad para evitar que se ocupen las instalaciones y se invierta un tiempo y esfuerzos del personal del centro con lotes de huevos que puedan más tarde ser improductivos (Bromage 1995; Kjørsvik & Holmefjord 1995; Shields *et al.*, 1997), así como también para introducir las modificaciones requeridas en el tratamiento de los reproductores para obtener los resultados deseados a corto plazo.

Por lo anterior se considera un pre-requisito esencial el aplicar métodos y criterios confiables y simples para evaluar la calidad de los huevos y también de las larvas que a su vez permitan valorar las condiciones y tratamientos que los reproductores han tenido y posibilitar la optimización del proceso reproductivo para la producción masiva de juveniles, que es la base del cultivo comercial de las especies (Alvarez-Lajonchère & Hernández Molejón 2001).

De forma muy general, la calidad de los huevos se ha definido como las características de éstos que determinan su capacidad para sobrevivir (Bromage 1995). Los criterios para evaluar la calidad de los huevos han sido discutidos por diversas autoridades, entre ellos Kjørsvik *et al.*, (1990) y Carrillo *et al.*, (2000); sin embargo, no hay consenso general sobre los criterios y métodos para evaluar la calidad de los huevos, a pesar de ser un pre-requisito importante para llegar a conclusiones firmes sobre los factores que determinan la calidad de los huevos y larvas (Kjørsvik *et al.*, 1990; Bromage 1995).

3. Calidad de los huevos:

Kjørsvik *et al.*, (1998) demostraron la existencia de una correlación positiva entre la calidad de los huevos, las tasas de eclosión, la tolerancia al estrés agudo, la supervivencia y el desarrollo hasta la metamorfosis en el rodaballo *Psetta maxima* (Linné), por lo que las larvas que eclosionan de lotes de huevos de baja calidad tendrán una viabilidad más baja.

Por lo anterior, la estimación de la viabilidad de los huevos reviste gran importancia, especialmente en los huevos obtenidos en circunstancias y con métodos que puedan tener efectos negativos sobre su calidad:

Luis Alvarez-Lajonchère. 2006. Nutrición de Reproductores de Peces Marinos. En: Editores: L. Elizabeth Cruz Suárez, Denis Ricque Marie, Mireya Tapia Salazar, Martha G. Nieto López, David A. Villarreal Cavazos, Ana C. Puello Cruz y Armando García Ortega. Avances en Nutrición Acuícola VIII. VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 15-17 Noviembre. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México. ISBN 970-694-333-5.

- Durante las primeras etapas de trabajo con una especie o población.
- Tratamientos de inducción fuertes o invasivos, especialmente los agudos.
- A principios o finales de la temporada de desove.
- Reproductores al inicio o al final de su vida reproductiva útil.

Para evaluar la calidad de los huevos, es necesario tener un método confiable de incubación, por ello, a pesar de los diversos métodos de incubación en pequeños volúmenes aplicados en estas evaluaciones, el mejor método se considera el más parecido al que se emplea posteriormente a mayor escala (Alvarez-Lajonchere y Hernández Molejón 2001).

En la evaluación de la calidad de los huevos se utilizan diversos criterios que pueden agruparse en dos categorías, las características de los huevos propiamente dichas y otras relacionadas con parámetros productivos:

Características de los huevos:

- Diámetro de los huevos y/o de las gotas de lípidos.
- Forma irregular (no esférica) del huevo (oval o con protuberancias).
- Número y distribución de las gotas de aceite.
- La transparencia y homogeneidad del vitelo.
- Apariencia del corion: aparición de manchas irregulares o masas sobre la superficie exterior del corion.
- Presencia de espacio perivitelino antes de la fertilización.
- Grandes espacios perivitelinos.
- Huevos no segmentados o abortivos.
- Malformaciones celulares en las primeras divisiones (estadios de 2 - 16 células) especialmente blastómeros desiguales y márgenes no bien definidos.
- Forma irregular de la mórula o blastodisco.
- Presencia masiva de microorganismos.
- Composición química, sobre todo el contenido de los principales ácidos grasos polinsaturados.

Parámetros productivos:

- Porcentaje de huevos flotantes.
- Porcentaje de fertilización.
- Porcentaje de eclosión (total, de larvas vivas y de larvas vivas normales).
- Porcentaje de supervivencia larval (al primer día y hasta la primera alimentación).

Desde el punto de vista práctico uno de los métodos más aplicados es el de utilizar solamente los huevos que floten en la salinidad de desove en las especies de huevos pelágicos, que se consideran son los viables, ya que, de ocurrir el proceso de fertilización adecuadamente, los fertilizados serán fundamentalmente los flotantes en un porcentaje muy alto (>90%). Los no viables son fundamentalmente los no fecundados y son los que se hunden y se descartan. Esta selección puede repetirse en varias etapas del manejo de los huevos, incluso durante la propia incubación.

Uno de los criterios fundamentales que se emplean para evaluar la calidad de los huevos flotantes es el éxito de la fertilización, pues un porcentaje bajo de fertilización generalmente indica una baja calidad de huevos, produce subsecuentemente una pobre eclosión y larvas de baja calidad. Además, los huevos no fertilizados constituyen un sustrato ideal para un rápido crecimiento bacteriano durante la incubación y los primeros días de la vida larval, si es que no se eliminan correctamente. Por ello, en las instalaciones piloto y comerciales de producción de juveniles, se aplican criterios de admisión estrictos, como el aceptar un porcentaje de fertilización determinado como satisfactorio para continuar con el proceso de incubación de un lote de huevos (Alvarez-Lajonchere y Hernández Molejón 2001). Los grupos de huevos de buena calidad usualmente tienen altos porcentajes de fertilización (> 90%) y bajos porcentajes de malformaciones (5%).

La evaluación del porcentaje de fertilización se realiza preferiblemente durante los primeros estadios del desarrollo embrionario, además de analizar otras características de los huevos anteriormente nombradas; sin embargo, en los casos en que se logra el desove y fertilización naturales (con o sin tratamientos de inducción), lo usual es realizar la primera evaluación a la mañana siguiente de un desove nocturno, antes de iniciar la incubación, como un control de la viabilidad, para evaluar la marcha del desarrollo embrionario y valorar la conveniencia de iniciar la incubación con dicho lote.

Más recientemente, en el proceso de optimización del uso de las instalaciones ha ocurrido una evolución en el uso de criterios más precisos y de mayor alcance para continuar el proceso de cría, por haberse demostrado que un alto porcentaje de fertilización no es suficiente para garantizar la viabilidad de las larvas y por tanto se requiere de otros criterios para estimar la calidad de las larvas, como son la evaluación de los porcentajes de eclosión de larvas vivas normales y su supervivencia hasta la primera alimentación.

4. Factores que influyen en el proceso reproductivo (modificado después de Carrillo *et al.*, 2000):

Entre los factores que influyen en los diversos parámetros reproductivos, se encuentran:

- Genotipo.
- Edad de los reproductores (pubertad y vejez).
- Estrés.
- Métodos de inducción del desove.
- Sobremaduración de los huevos.
- Estado nutricional de los reproductores.

Debido a la importancia que tienen estos factores en la calidad de los huevos y que pueden afectar significativamente los efectos de una buena alimentación, se presentan un breve resumen de su posible influencia:

4.1 Genotipo:

En peces marinos hay muy poca información aún sobre la influencia del genotipo en la determinación de diversos parámetros reproductivos de interés, como la fecundidad, tamaño de los huevos, edad a la primera maduración sexual, época de desove, duración de la temporada de desove, etc.; sin embargo, en otras especies de peces como las truchas, se ha evidenciado la amplia gama de posibilidades de mejoramiento de la eficiencia reproductiva con el uso de diferentes “stocks” y de su selección genética (C. Purdom, 1969 comunicación personal).

4.2 Edad de los reproductores:

El período de la primera maduración sexual (pubertad) puede estar unido a algunos cambios de desarrollo en el metabolismo en respuesta a cambios en la nutrición de los animales con su crecimiento y ello se evidencia en la inflexión de la curva de crecimiento, después de lo cual la tasa de crecimiento disminuye notablemente (Alvarez-Lajonchere 1983), cambios que pueden ser detectados por el cerebro, que activa la producción de GnRH y con ello se inicia la “cascada hormonal” que inicia el proceso reproductivo. Dada las dificultades implicadas en el establecimiento por primera vez de todo el proceso reproductivo, usualmente no se logra una producción de huevos con la calidad que se logrará en años sucesivos. Igualmente, en reproductores de mucha edad, los huevos producidos no tienen mucha calidad, por lo que en la práctica, se trata de evitar utilizar peces de primera maduración y peces de mucha edad (seniles). Por ejemplo, en la lubina se trata de utilizar reproductores en su segundo y hasta su quinta temporada de desove, lo cual repercute en una mayor eficiencia en los centros de producción.

4.3 Estrés:

El estrés en los reproductores puede causar degeneración en los ovocitos (especialmente los vitelogénicos), reducir la fecundidad, afectar la calidad de los huevos producidos, o impedir totalmente el proceso. Los reproductores salvajes sufren estrés debido a la captura y manipulación, mientras que a los de cautiverio los afectan las condiciones o el manejo inadecuados y por ello los ovocitos pueden degenerar, proceso notablemente rápido en los trópicos. En los ovocitos se produce el proceso de atresia o reabsorción, mientras que en los machos, los efectos del estrés pueden comenzar por disminuir o cesar totalmente la fluidez del semen.

Hay situaciones estresantes agudas y otras crónicas a las que están sometidos los individuos de cultivo y que muchas de ellas afectan a los reproductores directamente y otras indirectamente:

a) Agudas:

- Captura por artes de pesca.
- Selección.
- Marcaje.
- Biopsias.
- Tratamientos profilácticos.

- Extracción de productos sexuales.
- Cambios ambientales bruscos en condiciones ambientales.
- Inyecciones e implantes aislados.

b) Crónicas:

- Densidad de siembra alta.
- Deterioro de la calidad del agua y del ambiente.
- Interacciones con otros organismos.
- Enfermedades.
- Alimentación inadecuada.
- Serie de inyecciones.

El estrés de la captura y la manipulación afectan mucho por alterar los parámetros sanguíneos (entre ellos las concentraciones hormonales y disminución de vitelogenina), el hipotálamo y la pituitaria, con las correspondientes afectaciones de los niveles sanguíneos de gonadotropina, esteroides y la hormona del estrés (el cortisol), así como alteraciones de conducta, intervalos de desove irregulares, etc.

Los efectos del estrés pueden presentarse también como pérdida de apetito, huevos de menor tamaño y pérdidas en su calidad, que causan disminuciones en los porcentajes de individuos maduros, de fertilización, de eclosión y viabilidad de las larvas, por lo que se afectan los posibles beneficios de tratamientos alimentación o de inducción, que pueden haber sido los adecuados y sin embargo dar los peores resultados. Todos estos efectos ocasionan una menor producción del centro y a su vez una menor productividad y rendimiento, por lo que el estado de los reproductores en cautiverio debe ser un aspecto de importancia primordial de todo el personal (Tamaru *et al.*, 1993).

4.4 Técnicas de inducción del desove:

En peces marinos se han aplicado diversos tratamientos para la maduración y el desove, tanto ambientales (suaves) como hormonales (fuertes). En algunos casos han sido agudos para inducir el desove en un corto período de tiempo, como crónicos, para que el desove ocurra en un plazo más prolongado, en ocasiones anticipando o retrasando el mismo. En algunos estudios se han detectado afectaciones en la composición química, la fecundidad y en la calidad de la progenie obtenida (porcentajes de huevos flotantes, de eclosión y de supervivencia larval) respecto a los desoves obtenidos sin manipulación ambiental u hormonal, sobre todo en los casos de desoves fuera de la temporada natural.

De acuerdo a nuestra experiencia con tratamientos hormonales de inducción del desove, la viabilidad es mayor en los lotes con los porcentajes más altos de fertilización y el diámetro medio mayor y con la menor variabilidad (3 - 5% de coeficiente de variación).

4.5 Sobremaduración:

A diferencia de lo que ocurre en la naturaleza en que los procesos reproductivos ocurren sincronizadamente con los cambios cíclicos ambientales, en algunas especies en cautiverio el proceso reproductivo puede estar significativamente afectado y la calidad de los desoves puede ser pobre, mientras que en otras el proceso puede estar tan afectado que no se produce, ya sea la maduración sexual o el desove. En los casos en que se logre la ovulación pero no se produzca el desove, es posible aplicar técnicas de fertilización artificial, en las cuales es esencial seleccionar el momento más adecuado para extraer los óvulos.

Se ha demostrado que en la mayoría de las especies una vez ocurrida la ovulación, los óvulos son retenidos en la cavidad ovárica, en la cual continúan diversos cambios en ellos, tanto morfológicos como bioquímicos, hasta alcanzar su madurez máxima (viabilidad máxima) con la cual se logran los mejores resultados. Transcurrido ese período, los óvulos pierden calidad en un proceso con gran influencia de la temperatura, conocido como sobremaduración, el que transcurre dentro de las gónadas o incluso fuera de ellas y antes de ser fecundados. El período de máxima viabilidad es muy variable en dependencia de las especies, desde una hora hasta varios días (Kjørsvik *et al.*, 1990; Bromage 1995), pero en las especies tropicales es usualmente corto.

Por lo anterior, en caso de que se apliquen técnicas de fertilización artificial, es esencial estimar el momento adecuado para aplicarlas, pues de no hacerlo, no se obtendrán los mejores resultados y ello puede ocasionar una evaluación incorrecta de los otros tratamientos que se aplicaron a los reproductores con anticipación, entre ellos los de alimentación y los de inducción.

5. Estado nutricional de los reproductores. Composición del alimento:

5.1 Macronutrientes:

Usualmente las dietas consideradas de alta calidad para los reproductores de peces marinos tienen generalmente un alto contenido de proteína de alta calidad (origen y composición adecuada de aminoácidos) y lípidos de origen marino (especialmente ácidos grasos esenciales), vitaminas (especialmente las vitaminas E, C, A, D3 y del complejo B) y minerales; sin embargo, los requerimientos exactos difieren entre las especies (Harvey y Carolsfeld 1993).

Los primeros estudios que iniciaron el camino hacia el desarrollo de dietas formuladas para reproductores de peces marinos fueron llevados a cabo en Japón con el madai *Pagrus auratus* (Forster), por Watanabe *et al.*, (1984a, b, c, d, 1985a, b) que, en unión con otros posteriores, demostraron la posibilidad de preparar dietas artificiales adecuadas y que la composición de las dietas de los reproductores de varias especies de peces marinos durante el período de pre-desove tienen un gran impacto en la calidad de los huevos y larvas (Bromage 1995; Carrillo *et al.*, 2000; Watanabe & Vassallo-Agius 2003).

El desarrollo gonadal y la fecundidad se afectan debido a ciertos nutrientes dietéticos esenciales, especialmente en especies de desove continuo y periodos de vitelogénesis cortos (Harel *et al.*, 1992; Izquierdo *et al.*, 2001). Por ejemplo, los lípidos son los componentes de la dieta de los reproductores que más afectan la composición de los huevos e incluso como los factores

dietéticos principales que determinan la reproducción exitosa y la supervivencia de la progenie (Izquierdo *et al.*, 2001). Por ejemplo, en el sigano *Siganus guttatus* (Bloch) se incrementó la fecundidad y la eclosión con un incremento del nivel de lípidos en la dieta de 12% a 18% (Duray *et al.*, 1994).

El contenido de proteína bruta influye en el crecimiento, fecundidad, viabilidad y calidad de los huevos y en las malformaciones de las larvas, evidenciándose significativamente en los porcentajes de huevos flotantes y las tasas de eclosión en varias especies estudiadas, como el madai (Watanabe *et al.*, 1998d), la dorada *Sparus aurata* Linné (Tandler *et al.*, 1995) y la lubina *Dicentrarchus labrax* Linné (Cerdá *et al.*, 1994b). En el madai se estimó que el nivel de proteína requerido era de 45% (Watanabe *et al.*, 1984e). En los reproductores alimentados con la dieta con bajo contenido proteico y alto de carbohidratos, se detectaron altos niveles de insulina y bajos niveles de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) y de estradiol en la temporada de desove.

5.2 Micronutrientes:

5.2.1 Lípidos, ácidos grasos esenciales, especialmente los ácidos grasos polinsaturados:

Si bien los niveles de macronutrientes son importantes para el proceso reproductivo, también se conoce la influencia de diversos micronutrientes. Específicamente, el contenido de los ácidos grasos esenciales (AGE) de las gónadas y de los huevos está muy influido por el contenido de éstos en las dietas, como en el madai (Watanabe *et al.*, 1984a, b), la dorada (Fernández-Palacios *et al.*, 1995; Zohar *et al.*, 1995), la lubina (Navas *et al.*, 1996) y los jureles (Watanabe & Vassallo-Agius 2003), especialmente los ácidos grasos polinsaturados (PUFA) n-3 como el ácido docosahexaenoico (DHA; 22:6n-3) y el ácido eicosapentaenoico (EPA; 20:5n-3), que regulan la producción de las prostaglandinas, que toman parte en diversos procesos reproductivos, incluida la producción de esteroides y en el desarrollo gonadal, como la ovulación y pueden actuar como feromonas importantes que estimulan la conducta sexual y sincronizan a ambos sexos en el desove y por tanto influyen directamente sobre la fertilización (Sorensen *et al.*, 1988). El contenido de los PUFA n-3 es alto en los huevos de alta calidad y se incorporan a ellos más eficientemente durante la vitelogénesis (Watanabe & Kiron 1995; Navas *et al.*, 1997). Se ha demostrado también que los PUFA son requeridos en altos niveles por las larvas de peces marinos (Sargent 1995); sin embargo, altos niveles de PUFA n-3 han reducido la fecundidad de la dorada a pesar de un incremento en las cantidades de PUFA n-3 en los huevos, por lo que el incremento del contenido de los AGE solamente no debe tomarse como un criterio para evaluar la calidad de los huevos.

Watanabe (1993) señaló la gran importancia del DHA en el desarrollo embrionario cuando se compara con otros AGE. También más recientemente, el ácido araquidónico (ARA; 20:4n-6) se ha reconocido como importante en la calidad de los huevos, ya que aporta el material básico para la formación de esteroides y prostaglandinas en la maduración final (Bell *et al.*, 1997) y ha sido señalado como importante en el crecimiento y desarrollo de juveniles de algunas especies (Navas *et al.*, 1997). Los niveles de EPA y ARA en la dieta muestran una correlación con las tasas de fertilización en la dorada (Fernández-Palacios *et al.*, 1995, 1997), pudiendo haber también una relación de la motilidad del semen y con ello de la fertilización puedan estar influidos por la

composición de AGE, lo que a su vez depende de la dieta (Izquierdo, Fernández-Palacios & Tacon 2001). También la producción de semen y su calidad son altamente variables y en parte dependientes de la nutrición (Billard *et al.*, 1995). Se ha demostrado que el perfil de ácidos grasos en el semen depende de los ácidos grasos de la dieta en la lubina (Bell *et al.*, 1996) y otras especies de peces marinos (Watanabe & Vassallo-Agius 2003).

En el bacalao, el ARA y la proporción DHA:EPA en la fracción de fosfolípidos de los huevos están correlacionadas positivamente con la simetría y viabilidad de los huevos (Pickova *et al.*, 1997). Estos ácidos grasos juegan un papel estructural importante como componentes de los fosfolípidos en las biomembranas de los peces y están asociados con la fluidez de las membranas y las funciones fisiológicas correctas para las encimas de unión de membranas en las funciones celulares en peces marinos (Bell *et al.*, 1986).

En lubina Cerdá *et al.*, (1995) demostraron la influencia de los lípidos de la dieta sobre el comportamiento reproductivo, con una gran reducción en fecundidad y viabilidad de los huevos de reproductores alimentados con dietas comerciales deficientes en PUFA n-3, comparados con aquellos alimentados con una dieta completa. Fernández-Palacios *et al.*, (1995) demostraron la influencia de los niveles de PUFA n-3 en la fecundidad y la calidad de los huevos de la dorada, hasta 1.6% (peso seco), después de lo cual se redujo la fecundidad y la supervivencia larval, lo cual se concuerda con otros estudios realizados sobre los niveles de requerimiento de los AGE en espáridos están entre 1.5% y 2% de PUFA n-3 en la dieta (Watanabe *et al.*, 1984a, b, c, 1985 a, b; Fernández-Palacios *et al.*, 1995).

Se sabe que el nivel de estos AGE es muy importante, pero no es necesariamente en todo el año, sino que puede presentar diferencias estacionales en sus requerimientos (Carrillo *et al.*, 2000). Lo anterior se demostró en la lubina, que presentó mayor número de huevos viables y mayores porcentajes de eclosión, cuando recibieron la dieta enriquecida con PUFA n-3, especialmente DHA y EPA, así como una mayor proporción de los n-3 respecto a los n-6, en el período de vitelogénesis, que parece ser el período de mayor importancia para la incorporación de los PUFA, especialmente del DHA, en los ovocitos.

Lo anterior es muy importante, pues se puede suministrar las dietas más costosas con mejor la calidad por su alto contenido de PUFA en un período específico del año, reduciendo el costo de la alimentación, lo cual puede representar un gran impacto económico y eficiencia (Carrillo *et al.*, 2000). Lo anterior es recomendado por Moretti *et al.*, (1999) para ser aplicado comercialmente en la lubina y la dorada.

En el caso de los PUFA, no solo es importante los niveles absolutos de ellos sino la proporción entre ellos (Sargent 1995; Fernández-Palacios *et al.*, 1995; Almansa *et al.*, 1999), por ejemplo, de DHA:EPA y de n-3:(n-6) y otros como el ARA, para asegurar el balance adecuado en las dietas de los reproductores y en los huevos y larvas resultantes, como se ha evidenciado en diversos estudios (Cerdá *et al.*, 1995; Cerdá, Zanuy & Carrillo 1997; Navas *et al.*, 1997; Bell *et al.*, 1997; Almansa *et al.*, 1999) por su influencia en los niveles de esteroides en plasma, tanto en hembras (estradiol y testosterona) como en machos (11-ketotestosterona) y su repercusión en el desarrollo gonadal y el proceso reproductivo en general.

La forma más efectiva de asegurar que los requerimientos de AGE de los reproductores de peces marinos sean cubiertos ha sido el uso de “dietas húmedas”, a base de productos naturales frescos o congelados; sin embargo, estas prácticas pueden conllevar cierto riesgo de introducción de enfermedades y dificultad en el almacenamiento. A pesar de lo anterior, solo muy recientemente se ha podido contar con dietas artificiales con niveles adecuados de PUFA, tanto absolutos como relativos, con resultados comparables con las dietas naturales respecto a parámetros importantes de la reproducción como son la eclosión exitosa y la supervivencia larval temprana.

5.2.2 Vitaminas:

La vitamina E puede influir en el desarrollo gonadal, fecundidad, calidad de los huevos, desarrollo embrionario, porcentajes de fertilización, eclosión y supervivencia de las larvas (Izquierdo & Fernández-Palacios 1997; Fernández-Palacios *et al.*, 1998), mientras que la vitamina C es también un fuente agente antioxidante; ambas tienen un papel protector contra los radicales libre y protegen los AGE (Izquierdo *et al.*, 2001). En el madai se demostró que un incremento en el nivel de vitamina E en las dietas hasta 200 mg/kg mejoró los porcentajes de huevos flotantes, tasas de eclosión y porcentaje de larvas normales, debido a su papel determinante con los radicales libres (Watanabe *et al.* 1991a, b), efecto que también se ha reportado en la dorada (Fernández-Palacios *et al.*, 1997; Izquierdo, Fernández-Palacios & Tacon 2001).

5.2.3 Carotenoides:

Usualmente los huevos pigmentados han mostrado mejor calidad cuando los reproductores han consumido dietas con carotenoides, especialmente carotenoides rojos como la astaxantina, por su papel antioxidante que protege contra los daños causados por los radicales libres (Miki *et al.*, 1994), por ello, el uso de crustáceos como el krill o los camarones influye en la obtención de huevos de mayor calidad en muchas especies. En el madai, la inclusión de astaxantina pura mejoró los porcentajes de huevos flotantes, de eclosión y de larvas normales (Watanabe & Kiron 1995), pero la inclusión de B-carotenos no tuvo influencia en éstos parámetros. En el jurel de cola amarilla *Seriola quinqueradiata* Temminck & Schlegel, la inclusión de astaxantina (30 mg/kg) fue el factor determinante para la buena calidad de los huevos obtenidos (Verakunpiriya *et al.*, 1997b), mientras que la paprika (producto natural derivado de los pimientos) mejoró el comportamiento reproductivo de esa especie en términos de la producción de huevos, su calidad y la supervivencia larval (Watanabe & Vassallo-Agius 2003). En jurel rayado *Pseudocaranx dentex* Bloch & Schneider, a pesar de que sus huevos no contienen carotenoides, la inclusión de astaxantina en la dieta a razón de 10 mg/kg, incrementó la fecundidad (Vassallo-Agius *et al.*, 2001), al igual que la del jurel de cola amarilla (Verakunpiriya *et al.*, 1997b), mientras que la calidad se mejoró al remplazar la mitad de la harina de pescado por harina de calamar y la combinación de ambos ingredientes lograron igualar los resultados de la dieta de pescado crudo ampliamente utilizada (Watanabe & Vassallo-Agius 2003). Estos estudios demostraron la importancia de los carotenoides en la maduración sexual del jurel de cola amarilla y la superioridad de los esteres de paprika sobre la astaxantina pura.

6. Ingredientes valiosos para las dietas de los reproductores:

Varios ingredientes de la dieta de los reproductores, tales como los calamares y los productos derivados de ellos, los carotenoides, vitaminas (especialmente E y C), krill congelado, aceite de krill y aceite de la órbita de atún, han demostrado que incrementan la calidad de los huevos en varias especies de peces marinos (Watanabe & Vassallo-Agius 2003).

Los calamares y sepias (crudos, en harina, aceite, etc.), reconocidos como componentes importantes en las dietas de varias especies de peces marinos son considerados también como el componente más efectivo de la dieta de los reproductores, cuya influencia en la fecundidad, huevos flotantes, ausencia de anomalías en los huevos y porcentaje de eclosión, han sido atribuidos a varios aspectos, como su estrecha relación de los lípidos y composición de ácidos grasos de la dieta, su nivel proteico o de la mayor digestibilidad de esas proteínas, su alto contenido de fosfolípidos y colesterol, etc. (Watanabe *et al.*, 1984a, c, 1985, 1991a; Fernández-Palacios *et al.*, 1997; Watanabe & Vassallo-Agius 2003).

Otro ingrediente alimenticio a menudo incluido en las dietas prácticas de los espáridos es el krill crudo que tiene un efecto de incrementar la tasa de consumo de alimentos respecto a la harina de pescado. En el caso del madai se han reportado más del doble de los porcentajes de huevos flotantes, eclosión total y de larvas normales con el krill (Watanabe & Kiron 1995), pero hay poca información en otros espáridos y otras especies. El krill, con su contenido de astaxantina, ha dado muy buenos resultados como suplemento de la dieta del jurel de cola amarilla hasta un nivel del 10% (Watanabe *et al.*, 1996); sin embargo, un exceso (20%) de harina de krill causó deterioro de la calidad de los huevos en esa especie (Verakunpiriya *et al.*, 1997a). Este ingrediente tiene las limitantes de su disponibilidad y costo elevado en muchas regiones del mundo.

7. Dietas prácticas para reproductores: húmedas y secas:

De forma general la dieta adecuada para promover la maduración gonadal son los alimentos congelados de alta calidad, por lo que en la práctica, muchos centros de producción de juveniles mejoran la nutrición de sus reproductores alimentándolos solo con derivados marinos frescos o en combinación con dietas comerciales (Harvey & Carolsfeld 1993). Los organismos marinos más comúnmente utilizados para alimentar reproductores son productos naturales frescos o congelados y generalmente cortados al tamaño de un bocado, como los peces de desecho de tipo aceitoso (sobre todo clupeidos, escómbridos y carángidos), calamares, sepias y crustáceos (especialmente camarones y krill).

En general el alimento natural básico empleado con los reproductores de peces marinos han sido los peces de desecho, ya sea como alimento único como en los pargos rojos (Lim *et al.*, 1985; Emata *et al.*, 1994; Emata 2003; Leu *et al.*, 2003), meros (Toledo *et al.*, 1993), robalo asiático *Lates calcarifer* (Bloch) (García 1992), varias especies carnívoras en Taiwán provincia de China (Liao *et al.*, 2001), lubina (Navas *et al.*, 1998), o combinado con los otros alimentos naturales, como en pargos rojos (Leu *et al.*, 2003; Papanikos *et al.*, 2003; Dumas *et al.*, 2004), el medregal *Seriola mazatlana* (= *S. rivoliana* Valenciennes) y el lenguado *Paralichthys woolmani* Jordan & Williams (Benetti 1997), la cobia *Rachycentron canadum* Linné (Arnold, Kaiser & Holt 2002) y

el mero jorobado *Cromileptes altivelis* Valenciennes (Sugama, Kawahara & Trijoko, 2001), entre otros.

En algunos casos las dietas con productos naturales se complementan con vitaminas y minerales (al 3-5% del peso del cuerpo) 2-3 veces por semana (Benetti 1997, Benetti & Feeley 1998; Sugama *et al.*, 2001; Watanabe & Vassallo-Agius 2003; Dumas *et al.*, 2004).

El uso de estos productos naturales no procesados a menudo no aportan los niveles adecuados de los nutrientes requeridos por los reproductores e incrementan los riesgos de transmisión de enfermedades a los reproductores y su descendencia, incluyendo endo- y exo-parásitos, y patógenos bacterianos y virales; además, llevar adicionalmente vitaminas, aceites de pescado y agentes profilácticos (Liao, Su & Chang 2001). Por ello su empleo es más conveniente cuando se combina con dietas secas (Alvarez-Lajonchere *et al.*, no publicado).

Otro factor que influye en la necesidad de desarrollar dietas formuladas es la dificultad creciente de utilizar peces de desecho en muchos lugares por su disponibilidad. Por ello, en los últimos años se han realizado diversos estudios para desarrollar dietas secas para los reproductores de peces marinos, comparándolas contra dietas prácticas control a base de productos naturales, como por ejemplo los desarrollados en con el madai, el jurel de cola amarilla y otras especies importantes (Watanabe & Vassallo-Angius, 2003), el pargo rojo de mangle asiático *Lutjanus argentimaculatus* (Forsskål) (Emata & Borlongan 2003).

Moretti *et al.*, (1999) recomendaron que los reproductores de lubina y dorada se habitúen a las dietas preparadas secas para tener una alternativa al alimento fresco a mano en caso de que falte y más aún, el alimento seco es útil cuando se deben suministrar drogas u otros suplementos a los peces y el uso de alimentadores automáticos en las instalaciones de gran envergadura comerciales es solo posible con el alimento seco. A pesar de ello, hay especies que, una vez habituados al alimento seco, si se les suministra nuevamente alimento natural, presentan dificultades para consumir nuevamente la dieta seca (Alvarez-Lajonchere *et al.*, no publicado).

Ya hay diversas dietas secas comerciales completas desarrolladas en años recientes, como por ejemplo Fish Breed - M® (INVE Aquaculture Inc.), aunque usualmente se recomiendan complementarla (Mylonas *et al.*, 2004) o prepararla combinada con calamar (N. King y W. Tackaert, 2005, INVE Aquaculture, Inc., comunicación personal), que es como se ha empleado con éxito en reproductores del pargo flamenco *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) en el CIAD Mazatlán (Alvarez-Lajonchere *et al.*, no publicado).

La calidad nutricional de las dietas secas formuladas para los reproductores de peces marinos puede mejorarse de forma efectiva, como es por ejemplo, con incrementos de los niveles de PUFA n-3 hasta 2%, con α -tocoferol hasta 250 mg/kg, la inclusión de harina de calamar en lugar de harina de pescado, la astaxantina y la paprika (Izquierdo *et al.*, 2001; Watanabe & Vassallo-Agius 2003).

Estos cambios sin dudas incrementarán el costo de los alimentos para los reproductores, especialmente si se trata de dietas particulares para cada especie; sin embargo la importancia

decisiva de la nutrición de los reproductores de peces marinos en la producción masiva de juveniles de alta calidad lo requiere debe lograr un balance de costo – beneficio muy favorable.

8. Ración de alimentos, período de alimentación:

Desde un punto de vista del manejo, el alimento se debe preparar a intervalos regulares basado en controles regulares del peso y/o de la observación de la conducta de los reproductores y las adecuaciones a las condiciones ambientales y la etapa del ciclo reproductor. La alimentación manual es preferible para asegurar que no se quede alimento en el tanque sin consumir cuando se suministre lentamente y para poder observar atentamente el comportamiento de los animales en la alimentación diaria.

La ración de alimento, tanto diaria como estacional, influye en el proceso reproductivo de los peces (Cerdá *et al.*, 1994a, b). Las raciones restringidas han causado una inhibición de la maduración gonadal en diversas especies (Izquierdo *et al.*, 2001), o disminución de la fecundidad total, retardo en la maduración y el desove, así como afectaciones del tamaño de los huevos y larvas, aunque no afecte la composición química ni la viabilidad de los huevos y larvas, sin reducción de su supervivencia (Cerdá *et al.*, 1994a, b; Carrillo *et al.*, 2000).

El momento de suministrar el alimento es usualmente a primera hora del día. La ración es calculada a menudo con base en un determinado porcentaje del peso y los reportes de dichos porcentajes son variables, tanto para una misma especie, como entre varias especies. Por ejemplo, las raciones diarias empleadas van desde 0.7 – 1.4% del peso del cuerpo para lubina y 1 – 1.5% para dorada (Moretti *et al.*, 1999), 1-2% para el robalo asiático (Nacional Instituto of Coastal Aquaculture 1986), 2-3% para la cobia (Arnold, Kaiser & Holt 2002) y para el mero jorobado (Sugama, Kawahara & Trijoko, 2001), 3 - 5% para el pargo rojo de mangle (Emata, Eullaran & Bagarinao 1994; Emata 2003; Emata & Borlongan 2003; Leu, Chen & Fang 2003) y hasta 5% también en el robalo asiático (Garcia 1992); sin embargo, a menudo el alimento se suministra a saciedad (Benetti 1997; Benetti & Feeley 1998; Teng *et al.*, 1999; Dunas *et al.*, 2004) y en general se recomienda ajustar a la temperatura del agua y el estado fisiológico de los reproductores (Moretti *et al.*, 1999). También es importante tener en cuenta que la sobrealimentación se ha reportado que reduce el éxito del desove, como en el robalo asiático (Kungvankij *et al.*, 1986); por ejemplo, el exceso de lípidos acumulados en el abdomen causado por una dieta con un alto contenido de lípidos (22 – 24% peso seco), interfirió en la reproducción del jurel rayado (Watanabe & Vassallo-Agius 2003) y en la maduración del pargo flamenco (Alvarez-Lajonchere *et al.*, no publicado).

La alimentación es usualmente una vez al día, como en el robalo asiático (Nacional Instituto of Coastal Aquaculture 1986; Garcia 1992) y la cobia (Arnold, Kaiser & Holt 2002), o bien en días alternos como en el mero *Epinephelus sillus Valenciennes* (= *Epinephelus coioides* (Hamilton)) (Toledo, Nagai & Javellana, 1993), tres veces a la semana en el huachinango del Golfo *Lutjanus campechanus* (Poey) (Papanikos *et al.*, 2003), o cuatro veces a la semana al mero jorobado (Sugama, Kawahara & Trijoko, 2001).

El suministro del alimento en el año, o bien no varía, o se cambia de acuerdo a la especie de que se trate y su ciclo reproductor. Usualmente tiene dos o tres etapas cualitativamente diferentes, el

período de mantenimiento, el de la vitelogénesis y el de desove. Se ha demostrado la importancia de la alimentación durante la temporada de desove, sobre todo en las especies de desove continuo y vitelogénesis cortas en que incorporan los nutrientes rápidamente como la dorada y el madai (Watanabe *et al.*, 1984c; 1985b; Tandler *et al.*, 1995; Fernández-Palacios *et al.*, 1995, 1997, 1998; Almansa *et al.*, 1999; Izquierdo, Fernández-Palacios & Tacon 2001). También en la lubina se pudo mejorar la calidad de los huevos y la tasa de eclosión, alimentando a los reproductores con las cantidades apropiadas de PUFA durante el periodo de vitelogénesis, aunque es un poco más prolongado que en las otras dos especies citadas anteriormente (Navas *et al.*, 1997). Como ejemplo se presentan las prácticas recomendadas para la lubina y dorada (Moretti *et al.*, 1999):

- **Dieta de mantenimiento:**

Se recomiendan una dieta de mantenimiento para los peces recién desovados o nuevos reproductores en buenas condiciones físicas hasta el inicio de la gametogénesis y debe ser variada en calidad y cantidad, lo más cercana posible a la dieta natural, peces, moluscos y crustáceos. Una solución barata pueden ser los peces de desecho pero deben ser lavados, cortados y congelados profundamente de forma inmediata, proceso que disminuye el riesgo de transmisión de parásitos; recomiendan manejar los dos tipos de alimentación para fines prácticos, comprimidos secos 6 días a la semana, suplementados con alimento fresco dos veces a la semana y dejar un día sin alimentar, típicamente los domingos.

- **Dieta en el período de desove:**

Durante la vitelogénesis, las hembras necesitan alimentos más ricos en proteínas y lípidos para producir la vitelogenina que es progresivamente almacenada como vitelo en los ovocitos. Debido a que el vitelo es la única fuente de alimento para la alimentación del embrión en desarrollo y los primeros estadios larvales hasta que comience a alimentarse de presas vivas, la calidad y cantidad del vitelo son factores clave para una reproducción exitosa.

En este período se utilizan tanto comprimidos secos como alimento húmedo. Los comprimidos secos se deben incluir todos los elementos nutricionales que se consideran esenciales en el desarrollo de larvas viables, tales como los PUFA n-3, en particular EPA y DHA, que deben ser suministrados con el alimento, ya que no pueden ser producidos por el metabolismo.

Como una mejor alternativa, dietas secas especialmente formuladas o componentes naturales enriquecidos tales como aceite de calamar se le dan a los reproductores. Como regla general, durante este período la distribución de alimento húmedo debe reemplazar al alimento seco, si es posible, debido a su valor nutricional superior.

9. Referencias

- Almansa, E., Pérez, M.J., Cejas, J.R., Badía, P., Villamandos, J.E. & Lorenzo, A. (1999) Influence of broodstock gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) dietary fatty acids on egg quality and egg fatty acid composition throughout the spawning season. *Aquaculture* **170**, 323-336.
- Alvarez-Lajonchère, L. (1983) El desarrollo del cultivo de peces en áreas costeras, la selección de especies y las lisas (Pisces: Mugilidae) como grupo para iniciar los trabajos en Cuba. *Rev.Cub.Invest.Pesq.* **8**, 1-41.
- Alvarez-Lajonchère, L. & Hernández Molejón, O.G. (2001) *Producción de juveniles de peces estuarinos para un Centro en América Latina y el Caribe: diseño, operación y tecnologías*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA, 424 pp.

- Arnold, C.R., Kaiser, J.B. & Holt, G.J. (2002) Spawning of cobia *Rachycentron canadum* in captivity. *J. World Aquacult. Soc.* **33**, 205-208.
- Bell, M., Dick, J.R., Thrush, M. & Navarro, J.C. (1996) Decreased 20:4n – 6/20:5n-3 ratio in sperm from cultured sea bass, *Dicentrarchus labrax*, broodstock compared with wild fish. *Aquaculture* **144**, 189-199.
- Bell, M.V., Fardale, B.M., Bruce, M.P., Navas, J.M. & Carrillo, M. (1997) Effects of broodstock dietary lipid on fatty acid compositions of eggs from sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture* **149**, 107-119.
- Bell, M.V., Henderson, R.J. & Sargent, J.R. (1986) The role of polyunsaturated fatty acids in fish. *Comp. Biochem. Physiol.* **83B**, 711-719.
- Benetti, D.D. & Feeley, M.W. (1998) Recent progress in Marine Fish aquaculture. In: *Anais do Aquicultura Brasil'98*. Vol. 1, Recife, 2-6 novembro de 1998, 1983-198.
- Benetti, D.D. (1997) Spawning and larval husbandry of flounder (*Paralichthys woolmani*) and Pacific yellowtail (*Seriola mazatlanica*), new candidate species for aquaculture. *Aquaculture* **155**, 307-318.
- Billard, R., Cosson, J., Crim, L.W., & Suquet, M. (1995) Sperm physiology and quality. In: *Broodstock management and larval quality* (ed. by N. R. Bromagen & R. J. Roberts), pp. 25-52. Blackwell Science Ltd., Oxford.
- Blom, J.H. & Dabrowski, K. (1995) Reproductive success of female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in response to graded dietary ascorbyl monophosphate levels. *Biol. Reprod.* **52**, 1073-1080.
- Bromage, N. (1995) Broodstock management and seed quality - general considerations. In: *Broodstock management and larval quality* (ed. by N. R. Bromagen & R. J. Roberts), pp. 1-24. Blackwell Science Ltd., Oxford.
- Carrillo, M., Zanuy, S., Oyen, F., Cerdá, J., Navas, J.M. & Ramos, J. (2000). Some criteria of the quality of the progeny as indicators of physiological broodstock fitness. In: *Recent advances in Mediterranean aquaculture finfish species diversification*, Proceedings of the seminar of the CIHEAM Network on technology of aquaculture in the Mediterranean (TECAM), jointly organized by CIHEAM and FAO, Zaragoza (España), 24 – 28 mayo de 1999. Cahiers 47:61-73.
- Cerdá, J., Carrillo, M., Zanuy, S. & Ramos, J. (1994a) Effect of food ratio non estrogen and vitellogenin plasma levels, fecundity and larval survival in captive sea bass, *Dicentrarchus labrax*: preliminary observations. *Aquat. Living Resour.* **7**, 255-266.
- Cerdá, J., Carrillo, M., Zanuy, S., Ramos, J. & de la Higuera, M. (1994b) Influence of nutritional composition of diet on sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., reproductive performance and egg larval quality. *Aquaculture* **128**, 345-361.
- Cerdá, J., Zanuy, S. & Carrillo, M. (1997) Evidence for dietary effects on plasma levels of sexual steroids during spermatogenesis in the sea bass. *Aquacult. Internat.* **5**, 473-477.
- Cerdá, J., Zanuy, S., Carrillo, M., Ramos, J. & Serrano, R. (1995) Short- and long-term dietary effects on female sea bass (*Dicentrarchus labrax*): seasonal changes in plasma profiles of lipids and sex steroids in relation to reproduction. *Comp. Biochem. Physiol.* **111**, 83-91.
- Dumas, S., Rosales Vazquez, M.O., Contreras Olguin, M., Hernandez Ceballos, D., & Silverberg, N. (2004) Gonadal maturation in captivity and hormone-induced spawning of the Pacific red snapper *Lutjanus peru*. *Aquaculture* **234**, 615-623.
- Duray, M., Kohno, H. & Pascual, F. (1994) The effect of lipid enriched broodstock diets on spawning and on egg and larval quality of hatchery-bred rabbitfish (*Siganus guttatus*). *Philipp. Sci.* **31**, 42-57.
- Emata, A.C. & Borlongan, I.G. (2003) A practical broodstock diet for the mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus*. *Aquaculture* **225**, 83-88.
- Emata, A.C. (2003) Reproductive performance in induced and spontaneous spawning of the mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus* a potential candidate species for sustained aquaculture. *Aquacult. Res.* **34**, 849-857.
- Emata, A.C., Eullaran, B. & Bagarinao, T.U. (1994) Induced spawning and early life history description of the mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus*. *Aquaculture* **121**, 381-387.
- Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M., Robaina, L., Valencia, A., Salhi, M. & Montero, D. (1997) The effect of dietary protein and lipid from squid and fish meals on egg quality of broodstock for gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* **148**, 233-246.
- Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M.S., González, M., Robaina, L. & Valencia, A. (1998) Combined effect of dietary α -tocopherol and n-3 HUFA on egg quality of gilthead seabream broodstock (*Sparus aurata*). *Aquaculture* **161**, 475-476.
- Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M.S., Robaina, L., Valencia, A., Salhi, M. & Vergara J. (1995) Effect of n-3 HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture* **132**, 325-337.

- Garcia, L.Ma.B. (1992) Lunar synchronization of spawning in sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch): effect of luteinizing hormone-releasing hormone analogue (LHRHa) treatment. *J. Fish Biol.* **40**, 359-370.
- Harel, M., Tandler A. & Kissil, G.W. (1992) The kinetics of nutrient incorporation into body tissues of gilthead seabream *S. aurata* females and subsequent effects on egg composition and egg quality. *Isr.J.Aquacult. Bamidgeh* **44**, 127.
- Harris, L.E. (1984) Effects of a broodfish diet fortified with canthaxanthin on female fecundity and egg color. *Aquaculture* **43**, 179-183.
- Harvey, B. & Carolsfeld, J. (1993) *Induced breeding in tropical fish culture*. International Development Research Centre, Ottawa, 144 pp.
- Izquierdo, M. & Fernández-Palacios, H. (1997) Nutricional requirements of marine fish larvae and broodstock. *Cah.Options Mediterr.* **22**, 243-264.
- Izquierdo, M.S., Fernández-Palacios, H. & Tacon, A.G.J. (2001) Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* **197**, 25-42.
- Kjørsvik, E. & Holmefjord, I. (1995) Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) and cod (*Gadus morhua*). *Broodstock management and larval quality* (ed. by N. R. Bromagen & R. J. Roberts), pp. 169-196. Blackwell Science Ltd., Oxford.
- Kjørsvik, E., Hoehne, K., Reitan, K. I. & Rainuzzo, J. (1998) Evaluation of egg and larval quality criteria as predictive measures for juvenile production in turbot (*Scophthalmus maximus* L.). In: *Council meeting of the International Council for the Exploration of the Sea*, Cascais, Portugal, 16-19 September 1998, ICES-CM-1998/L:19, 12 pp.
- Kjørsvik, E., Mangor-Jensen, A. & Holmefjord, I. (1990) Egg quality in fishes. In: *Advances in Marine Biology* **26**, 71-113.
- Kungvankij, P., Tiro, L. B., Jr., Pudadera, B. J., Jr. & Potestas, I. O. (1986) *Biology and culture of sea bass (Lates calcarifer)*. Naca Train.Man.Ser., Bangkok, Thailand, Naca 3, 1-70.
- Leu, M.-Y., Chen, I.-H. & Fang, L.-S. (2003) Natural spawning and rearing of mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus*, larvae in captivity. *Isr.J.Aquacult. Bamidgeh* **55**, 22-30.
- Liao, I.-C., Su, H.M. & Chang, E.Y. (2001) Techniques in fishfish larviculture in Taiwán. *Aquaculture* **200**, 1-31.
- Lim, L.C., Cheong, L., Lee, H.B. & Heng, H.H. (1985) Induced breeding studies of the John's snapper *Lutjanus johnii* (Bloch) in Singapore. *Singapore J. Pri.Ind.* **13**, 70-83.
- Miki, W., Otaki, N., Shimidzu, N. & Yokoyama, A. (1994) Carotenoids as free radical scavengers in marine animals. *J.Mar.Biotechnol.* **2**, 35-37.
- Moretti, A., Pedini Fernandez-Criado, M., Cittolin G. & Guidastrri, R. (1999) *Manual on hatchery production of seabass and gilthead seabream*. Vol. 1. Rome, FAO, 194 pp.
- Mylonas, C.C., Papadaki, M., Pavlidis, M. & Divanach, P. (2004) Evaluation of egg production and quality in the Mediterranean red porgy (*Pagrus pagrus*) during two consecutive spawning seasons. *Aquaculture* **232**, 637-649.
- Navas, J.M., Mañanós, E., Thrush, M., Ramos, J., Zanuy, S., Castillo, M., Zohar, Y. & Bromage, N. (1998) Effect of dietary lipid composition on vitellogenin, 17 β -estradiol and gonadotropin plasma levels and spawning performance in captivity sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture* **165**, 65-79.
- Navas, J.M., Bruce, M., Thrush, M., Farndale, B.M., Bromage, N., Zanuy, S., Carrillo, M., Bell, J.G., & Ramos, J. (1997) The impact of seasonal alteration in the lipid composition of broodstock diets on egg quality in the European sea bass. *J.Fish Biol.* **51**, 760-773.
- Navas, J.M., Thrush, M., Ramos, J., Bruce, M., Carrillo, M., Zanuy, S. & Bromage, N. (1996) The effect of seasonal alteration in the lipid composition of broodstock diets on egg quality in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Proceedings V Interntational Sympium Reproduction of Fish*, Austin, TX, 2-8 July 1995, pp. 108-110.
- National Institute of Coastal Aquaculture. (1986) *Technical manual for seed production of seabass*. Songkhla (Thailand), National Institute of Coastal Aquaculture, 49 pp.
- Papanikos, N., Phelps, R.P., Williams, K., Ferry, A., & Maus, D. (2003) Egg and larval quality of natural and induced spawns of red snapper, *Lutjanus campechanus*. *Fish Physiol.Biochem.* **28**, 487-488.
- Pickova, J., Dutta, P.C., Larsson, P.O. & Kiessling, A. (1997) Early embryonic cleavage pattern, hatching success and egg-lipid acid composition: comparison between two cod stocks. *Can. J. Fish. Aquat.Sci.* **54**, 2410-2416.
- Sargent, J.R. (1995) Origins and functions of egg lipids: nutritional implications. In: *Broodstock management and larval quality* (ed. by N. R. Bromagen & R. J. Roberts), pp. 353-372. Blackwell Science Ltd., Oxford.

- Shields, R. J., Brown, N. P., Bromage, N. R. 1997. Blastomere morphology as a predictive measure of fish egg viability. *Aquaculture* **155**, 1-12.
- Sorensen, P.W., Hara, T.J., Stacey, N.E. & Goetz, F.W. (1988) F prostaglandins function as potent stimulants that comprise the post-ovulatory female sex pheromone in goldfish. *Biol.Reprod.* **39**, 1039-1050.
- Sugama, K., Kawahara, S. & Trijoko, S. (2001) Natural spawning and mass larviculture of Mouse grouper, *Cromileptes altivelis*, in captivity in Indonesia. In: *Larvi'01 – Fish & Shellfish larvicultura Symposium* (ed. by C.I. Hardy, G. Van Stappen, M. Wille & P. Sorgeloos), pp. V578-581. European Aquaculture Society, Special Publication **30**.
- Tamaru, C.S., FitzGerald, W.J., Jr. & Sato, V. (1993) *Hatchery manual for the artificial propagation of striped mullet (Mugil cephalus L.)*. Guam Aquaculture Development and Training Center and The Oceanic Institute, Guam, 167 pp.
- Tandler, A., Harel, M., Koven, W.M. & Kolkovsky, S. (1995) Broodstock and larvae nutrition in gilthead seabream *Sparus aurata* new findings on its involvement in improving growth, survival and swim bladder inflation. *Isr.J.Aquacult. Bamidgeh* **47**, 95-111.
- Teng, S.-K., E. Zahr, C., Al-Abdul-Elah, K. & Almator, S. (1999) Pilot scale spawning and fry production of bluefin porgy, *Sparidentex hasta* (Valenciennes) in Kuwait. *Aquaculture* **178**, 27-41.
- Toledo, J.D., A. Nagai & D. Javellana (1993) Successive spawning of grouper, *Epinephelus suillus* (Valenciennes), in a tank and floating net cage. *Aquaculture* **115**, 361-367.
- Vassallo-Agius, R., Imaizumi, H. Watanabe, T. Yamazaki, T., Satoh, S., Kiron, V. (2001) The influence of astaxanthin supplemented dry pellets on spawning of striped jack. *Fish.Sci.* **67**, 260-270.
- Verakunpiriya, V., Mushiake, K., Jawano, K. & Watanabe, T. (1997b) Supplemental effect of astaxanthin in broodstock diets on the quality of yellowtail eggs. *Fish. Sci.* **63**, 816-823.
- Verakunpiriya, V., Watanabe, K., Mushiake, K., Kawano, K., Kobayashi, T., Hasegawa, I., Kiron, V., Satoh, S. & Watanabe, T. (1997a) Effect of a krill meal supplementation in soft-pellets on spawning and quality of eggs of yellowtail. *Fish.Sci.* **63**, 433-439.
- Watanabe, T. & Kiron, V. (1995) Broodstock management and nutritional approaches for quality offsprings in the red sea bream. In: *Broodstock management and larval quality* (ed. by N.R. Bromage & R.J. Roberts), pp. 398-413. Blackwell Science Ltd., Oxford.
- Watanabe, T. & Vassallo-Agius, R. (2003) Broodstock nutrition research on marine finfish in Japan. *Aquaculture* **227**, 35-61.
- Watanabe, T. (1993) Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. *J.World Aquacult.Soc.* **24**, 152-161.
- Watanabe, T. (1995) Importance of the study of broodstock nutrition for further development of aquaculture. In: *Nutrition and feeding in fish* (ed. by C.B. Cowey, A.M. Macki & J.B. Bell), pp. 395-414. Academic Press, London.
- Watanabe, T., Arakawa, T., Kitajima, C. & Fujita, C. (1984a) Effect of nutritional quality of broodstock diets on reproduction of red sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi* **50**, 495-501.
- Watanabe, T., Ohhashi, S., Itoh, A., Kitajima, C. & Fujita, S. (1984b) Effect of nutritional composition of diets on chemical components of red sea bream broodstock and eggs produced. *Nippon Suisan Gakkaishi* **50**, 503-515.
- Watanabe, T., Itoh, A., Murakami, A. & Tsukashima, Y. (1984c) Effect of nutritional quality of diets given to broodstocks on the verge of spawning on reproduction of red sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi* **50**, 1023-1028.
- Watanabe, T., Takeuchi, T., Saito, M. & Nishimura, K. (1984d) Effect of low protein-high calorie or essential fatty acid deficiency diet on reproduction of rainbow trout. *Nippon Suisan Gakkaishi* **50**, 1207-1215.
- Watanabe, T., Itoh, A., Kitajima, C. & Fujita, S. (1984e) Effect of protein levels on reproduction of red sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi* **50**, 1015-1022.
- Watanabe, T., Itoh, A., Satoh, S., Kitajima, C. & Fujita, S. (1985a) Effect of dietary protein levels on chemical components of eggs produced by red sea bream broodstock. *Nippon Suisan Gakkaishi* **51**, 1501-1509.
- Watanabe, T., Kotzumi, T., Suzuki, H., Satoh, S., Takeuchi, T., Yoshida, N., Kitada & T., Tsukashima, Y. (1985b) Improvement of quality of red sea bream eggs by feeding broodstock on a diet containing cuttlefish meal or on raw krill shortly before spawning. *Nippon Suisan Gakkaishi* **51**, 1511-1521.
- Watanabe, T., Lee, M., Mizutani, J., Yamada, T., Satoh, S., Takeuchi, T., Yoshida, N., Kitada, T. & Arakawa, T. (1991a) Effective components in cuttlefish meal and raw krill for improvement of quality of red sea bream *Pagrus major* eggs. *Nippon Suisan Gakkaishi* **57**, 681-694.

- Watanabe, T., Fujimura, T., Lee, M. J., Fukusho, K., Satoh, S. & Takeuchi, T. (1991b) Effect of polar and nonpolar lipids from krill on quality of eggs of red seabream *Pagrus major*. *Nippon Suisan Gakkaishi* **57**, 695-698.
- Watanabe, T., Verakunpiriya, V., Mushiake, K., Kawano, K. & Hasegawa, I. (1996) The first spawn-taking from broodstock yellowtail cultured with extruded dry pellets. *Fish.Sci.* **62**, 388-393.
- Zohar, Y., Harel, M., Hassin, S. & Tandler, A. (1995) Gilt-head sea bream. In: *Broodstock management and larval quality* (ed. by N.R. Bromage & R.J. Roberts), pp. 94-117. Blackwell Science Ltd., Oxford.