Criterios de Calidad de Huevos y sus Implicaciones en el Cultivo de Peces Marinos

Renato Peña

Unidad Piloto de Maricultivos. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. Instituto Politécnico Nacional. Av. IPN s/n. Col. Playa Palo de Santa Rita. La Paz, BCS. 23096. México. Email: rpenam@ipn.mx

Resumen

El éxito del cultivo de peces marinos, recae en una producción constante de juveniles, lo cual permitirá reducir la dependencia de semilla silvestre, ya que la disponibilidad de ésta última es inconsistente y esta tendencia se ha incrementado en los últimos años. Para lograrlo, es necesaria la obtención de huevos en cantidades suficientes y de buena calidad que permitan la continuidad del programa de cultivo, ya sea como una alternativa económica sustentable, o como ámbito de investigación. Sin embargo, solo en algunos casos ha sido posible contar con una estable producción de juveniles a partir de desoves de reproductores silvestres o mantenidos en cautiverio.

Parte de ello se ha atribuido a las fluctuaciones en la calidad de los huevos que se obtienen durante la reproducción en cautiverio. La calidad del huevo se ha definido como la capacidad de un óptimo desarrollo embrionario y supervivencia de las larvas a la primera alimentación. Se han identificado una serie de parámetros que influyen directa ó indirectamente en la calidad de los huevos, que van desde el mecanismo de inducción al desove (manipulación foto-térmica o inyección hormonal), la calidad nutricional del alimento de los reproductores, las condiciones de incubación de los huevos o el estado fisiológico de los reproductores. Históricamente, la tasa de eclosión y la supervivencia a la primera alimentación han sido los caracteres principales para evaluar la calidad de los desoves. Sin embargo, dichos parámetros no brindan información sobre los factores que puedan explicar ó mejorar la calidad de los huevos.

De esta forma, se ha reportado el uso de diferentes caracteres como criterios evaluadores ó indicadores de la calidad de los desoves de reproductores tanto silvestres como en cautiverio, con la finalidad de generar una estrategia que permita tomar decisiones precisas y confiables con respecto al desove que se ha obtenido.

El espectro de caracteres que se han utilizado para evaluar o predecir la calidad de los huevos es tan amplio, que abarca desde el porcentaje de fecundación ó el de flotabilidad de los huevos, hasta las “aberraciones” mitóticas en embriones, pasando por la actividad de enzimas metabólicas en embriones, el índice de actividad

de larvas y la concentración de reservas alimenticias y energéticas (i.e. amino ácidos libres y ácidos grasos). A pesar de esta gama, la utilidad y confiabilidad de cada uno de estos criterios parece variar en forma inter-específica, lo que ha provocado que no exista un indicador “ideal” para evaluar la calidad de los desoves de peces. En el presente trabajo se exponen ventajas y desventajas de los diferentes criterios que han sido utilizados para evaluar la calidad de huevos de peces, ya sea con fines predictivos ó para mejorarla, y se sugieren aquellos que pudieran emplearse de manera rutinaria bajo un esquema productivo o científico, lo cual podría verse reflejado en una disminución de los costos durante el cultivo de peces marinos.

Palabras clave: Calidad de huevos, indicadores de calidad, desarrollo temprano, metabolismo energético, primera alimentación.

1. Introducción

Un programa de cultivo de peces marinos que se considere exitoso, depende de una producción constante y sostenida de juveniles. Lo cual permitiría reducir los esfuerzos de captura de las poblaciones silvestres cuyas últimas tendencias muestran un descenso en la tasa de captura. Para poder lograrlo, es necesario obtener un número suficiente de huevos de buena calidad que permita mantener la continuidad de los esquemas productivos o de investigación.

Sin embargo, es común observar que durante el mismo ciclo reproductivo se presenten fluctuaciones tanto en el número de los desoves producidos como en la fecundidad, a pesar de que los reproductores se mantengan en óptimas condiciones ambientales y alimenticias (Kjorsvik *et al.*, 1984; Manning y Crim, 1998; Giménez *et al.*, 2006; Faulk y Holt, 2008; Aristizabal *et al.*, 2009; Rangel-Durán, 2014). De tal forma que la producción total no sea la óptima, y repercuta tanto en la actividad científica como en los rendimientos económicos de la actividad productiva. Dichas fluctuaciones han sido asociadas, en gran medida, a la variabilidad en la calidad de los huevos producidos por los reproductores.

La calidad de los huevos es un aspecto básico dentro de la acuicultura, el término fue introducido en los 80's pero fueron Kjorsvik *et al.* (1984) los primeros en definirla como el potencial de los huevos para presentar un desarrollo embrionario exitoso y la probabilidad de supervivencia de la larva vitelina hasta el momento de la primera alimentación; lo cual coincide con el consumo de las reservas alimenticias (vitelo y glóbulo de aceite) para dar inicio a la alimentación exógena, que es cuando las larvas deben iniciar con la captura de alimento.

Bajo este marco, resultado lógico considerar que dos criterios hayan sido tomados en cuenta como las principales características que deben presentar los huevos para ser de buena calidad, y que corresponden a dos etapas importantes durante el inicio del ciclo de

vida de los peces: por un lado el porcentaje de eclosión, y por el otro, la supervivencia a la primera alimentación. A partir de entonces se han realizado numerosos estudios en los que se utilizan éstos criterios para estimar la calidad de los desoves. Sin embargo, algunos reportes indican que tanto el porcentaje de eclosión como la supervivencia inicial no necesariamente indican un buen desove, ya que se han reportado tasas de eclosión superiores al 90% (lo cual podría considerarse un desove de buena calidad) pero con un porcentaje de supervivencia a la primera alimentación con valores menores al 50% (Giménez *et al.*, 2006).

En ocasiones, bajo un esquema productivo, es deseable tomar decisiones de manera oportuna con respecto a la viabilidad de los desoves obtenidos y sobre la pertinencia de continuar el ciclo productivo ó si se detiene en espera de un desove de mejor calidad, y esta decisión debe tomarse lo antes posible con el objeto de evitar una inversión de tiempo y mano de obra en un desove que no garantice el éxito productivo. Si bien tanto la tasa de eclosión como la de supervivencia inicial han permitido tener obtener información sobre la calidad de los desoves, no brindan información sobre los posibles factores que la definen o sobre aquellos que pudieran influenciarla.

Con este fin, existen numerosos reportes en los que se han presentado toda una gama de criterios que han sido empleados, ya sea como indicadores ó predictores de la calidad de los desoves, así como para poder mejorarla y controlarla durante un ciclo productivo. No obstante, aún no ha sido posible generar un consenso sobre un criterio ideal para predecir ó estimar la calidad de los desoves.

En el presente trabajo se revisan aquellos factores que han sido reportados como influyentes en la calidad de los desoves y que ocurren con mayor regularidad en las actividades propias del cultivo de peces marinos, se excluyen las variables ambientales, ya que se asume que los desoves son incubados bajo las condiciones óptimas, propias de cada especie (temperatura, salinidad, fotoperiodo, pH, etc), independientemente del método empleado para la obtención de los desoves ó de la nutrición de los reproductores, por lo que

se reduce su posible efecto durante su cultivo, no así en el medio ambiente, donde juegan un papel preponderante en la regulación de las poblaciones silvestres.

Posteriormente se exponen aquellos criterios que han sido reportados para evaluar la calidad de los desoves, además de la tasa de eclosión y de la supervivencia a la primer alimentación. A pesar de la diversidad de caracteres utilizados, solo algunos de ellos han resultado útiles como indicadores de la calidad, por lo que se presenta una relación de aquellos criterios empleados con éxito para explicar la calidad de los desoves. Finalmente se exponen las implicaciones de estos criterios dentro de los esquemas de cultivo de peces marinos, y se propone una estrategia que pudiera ser empleada para desarrollar un protocolo de evaluación de la calidad de los desoves.

2. Factores que afectan la calidad de huevos

La calidad de un desove puede estar afectada por diferentes factores de naturaleza diversa. Algunos factores están directamente relacionados con las actividades propias de la producción en cautiverio mientras que otros ocurren de manera natural, afectando el reclutamiento en las poblaciones silvestres. En este sentido, las variables fisicoquímicas tienen un mayor impacto en el medio silvestre, por lo que no serán incluidas en el presente trabajo.

En un esquema de cultivo, los principales factores que pueden afectar la calidad de los desoves están íntimamente relacionados con los reproductores. En efecto, el huevo es el resultado del crecimiento del ovocito y todos los componentes internos, genéticos y nutritivos, deben ser incorporados durante la ovogénesis. Brooks *et al.* (1997) hicieron una revisión sobre el contenido del ovocito y sus implicaciones en la calidad del huevo. Es evidente que se trata de un complejo sistema que incluye procesos de biosíntesis, absorción, acumulación y transporte de biomoléculas indispensables para el correcto desarrollo embrionario y posterior diferenciación y crecimiento durante la etapa de larva vitelina. De esta forma, cualquier factor que interfiera, aún de forma parcial, en éste proceso, afectará la calidad del ovocito producido.

Algunos de estos factores pueden ocurrir de manera natural como por ejemplo la edad de los reproductores, ya que algunos reportes muestran que hembras de edad media producen huevos con mayor calidad que hembras que desovan por primera vez, lo que ha sido asociado a la mayor capacidad de las primeras para sintetizar lípidos (Kjorsvik *et al.*, 1990). Dentro de un esquema de cultivo, los principales factores reportados que afectan la calidad de los huevos incluyen el mecanismo de inducción al desove, la alimentación y nutrición de los reproductores y el tiempo de colecta después de la ovulación ó sobre-maduración (over ripening).

2.1 Mecanismo de inducción al desove

El control del ciclo reproductivo bajo condiciones de cultivo es un aspecto fundamental en la industria de la acuicultura, por un lado brinda plasticidad al permitir manipular y planificar las etapas productivas, así como planear nuevas estrategias y sobre todo, puede permitir contar con una producción constante de huevos para la producción o la investigación.

Sin embargo, no todas las especies maduran y desovan de manera espontánea en condiciones de cultivo, por lo que se han desarrollado protocolos que permitan, por una lado, inducir la maduración de los reproductores; y por otro lado, lograr la ovulación y obtención del desove (Mylonas *et al.*, 2010). En algunos casos la manipulación fototérmica ha logrado inducir la maduración y desove espontáneo de los reproductores (Rosales-Velázquez, 1997; Brandsen *et al.*, 2007; Faulk y Holt, 2008; Rangel-Durán, 2014). Sin embargo, en ocasiones es necesario inducir la maduración final de los reproductores. Para ello se ha utilizado la inducción hormonal. Los diferentes métodos reportados para inducir la maduración final y ovulación incluyen la inyección de gonadotropina (GTH), extractos de pituitaria que incluyen GTH, la hormona correnca humana (GTH) y hormonas liberadoras de gonadotropina (GnRH). Los análogos de la GnRH han sido más ampliamente utilizados y en años recientes, se ha extendido el uso de

implantes de liberación lenta del análogo (D-Arg⁶ - Pro⁹ - Net salmon GnRH; Ovaplant® ; sGnRH_a) que tienen la ventaja de aplicarse una sola vez y reducir el estrés sobre los reproductores por la manipulación al momento de la inyección (Ibarra-Castro y Ducan, 2007; Ibarra-Castro y Álvarez-Lajonchere, 2011; Duncan *et al.*, 2012). Sin embargo, se han reportado variaciones inter-específicas sobre la eficacia de la inducción hormonal, probablemente debidas a las diferencias en los estados de desarrollo de los ovocitos durante la inducción ó debidas al estatus fisiológico o de madurez de las hembras al momento de la inducción; y aún así, a pesar de ocurrir la ovulación, la liberación de los gametos no se lleva a cabo, por lo que es necesario obtenerlos manualmente mediante masaje abdominal, seguido de una fertilización artificial (Bourque y Phelps, 2007; Mommens *et al.*, 2015).

De esta forma, la inducción hormonal al desove es una práctica común durante el cultivo de especies que no ovulan espontáneamente en cautiverio, sin embargo, el impacto de la inducción hormonal en la calidad de los huevos no siempre es positivo. Varios estudios han demostrado que la inducción hormonal afecta negativamente algunos parámetros de la calidad de los huevos. Por ejemplo: la tasa de eclosión en *Dicentrarchus labrax* (Fornies *et al.*, 2001), el porcentaje de huevos flotantes en *Solea senegalensis* (Agulleiro *et al.*, 2006), produce un aumento en la mortalidad durante el desarrollo embrionario en *Limanda ferruginea* (Avery *et al.*, 2004), la actividad enzimática en *Lutjanus peru* (Moguel-Hernández *et al.*, 2013) y el tamaño de los huevos en *Lutjanus campechanus* (Papanikos, 2004) y *Argyrosomus regius* (Duncan *et al.*, 2012).

El principal inconveniente que se ha reportado con respecto a la inducción hormonal es el tiempo que transcurre entre la aplicación de la hormona, la ovulación de los ovocitos y la obtención de los mismos a través del masaje abdominal. Esto implica que se debe mantener un monitoreo cuidadoso de los ritmos ovulatorios en las hembras para minimizar el impacto del envejecimiento postovulatorio, también conocido como sobre maduración, el cual tiene un efecto directo sobre la calidad del desove.

2.2 Sobre-maduración (Over-ripening)

La sobre maduración es un problema común que se ha reportado asociado a la inducción hormonal en los peces en cautiverio, principalmente en especies que son desovadores parciales, y cuando los gametos deben ser obtenidos manualmente y después fertilizados de manera artificial. Después de la ovulación, los ovocitos permanecen viables durante un corto periodo de tiempo antes de un proceso de descomposición natural. Este periodo varía de manera inter-específica y es termo-dependiente; después de este tiempo, la calidad de los ovocitos disminuye rápidamente. Es por ello que los huevos deben colectarse en un momento preciso después de la ovulación para evitar un posible efecto deletéreo en su calidad.

La sobre maduración provoca cambios visibles a simple vista en los huevos, los más comunes son cambios en la transparencia, los huevos se vuelven opacos y oscuros (McEvoy, 1984). Los cambios también incluyen una pérdida de peso y un incremento en el contenido de agua. Además, la composición bioquímica de los huevos cambia durante la sobre maduración y puede provocar una ruptura proteolítica de las proteínas en el vitelo y una pérdida de amino ácidos y péptidos a través de la membrana (Kjorsvik *et al.*, 1990).

La escala temporal de viabilidad de los huevos después de ser ovulados puede variar de 15-30 minutos en *Morone saxatilis* (Mylonas *et al.*, 1996) a 4-6 horas en *Hippoglossus hippoglossus* (Bromage *et al.*, 1994) y los efectos pueden ser tan drásticos como 0% de eclosión 10 h después de la ovulación (Kjorsvik *et al.*, 1990; Bromage *et al.*, 1994).

Existen varias formas de evaluar el estado de los ovocitos después de ser ovulados, pero deben ser verificados para cada especie. Algunos de los métodos más utilizados incluyen la observación y evaluación directa por canulación (Mansour *et al.*, 2007), el uso de ultrasonido (Shields *et al.*, 1993) o incluso, la evaluación de las propiedades bioquímicas del fluido ovárico (Rime *et al.*, 2004).

2.3 Nutrición de los reproductores

Existe una innegable importancia de la nutrición de los reproductores sobre el desempeño reproductivo y la calidad de los desoves. Muchos reportes han demostrado que una inadecuada composición nutricional de la dieta puede provocar una reducción en la calidad de los huevos, afectando, por ejemplo, el porcentaje de eclosión y la tasa de desarrollo, provocando una baja supervivencia embrionaria y un aumento en las malformaciones embrionarias, así como una baja supervivencia larval (Izquierdo *et al.*, 2001).

Indudablemente, el efecto de la concentración de lípidos en la dieta de los reproductores es el aspecto más estudiado en nutrición de reproductores y calidad de huevos (Sargent, 1995). Particularmente importante es el nivel de ácidos grasos esenciales (EFA) debido al papel que juegan como componentes celulares y como fuente de energía (Mazorra *et al.*, 2003), y se ha reportado una clara correlación entre los ácidos grasos esenciales en la dieta de los reproductores y la calidad de los huevos en varias especies, por ejemplo, en *Dicentrarchus labrax* Navas *et al.* (1996) reportaron un incremento en la calidad de los huevos después de alimentar a los reproductores con una dieta enriquecida con aceite de pescado y en *Sparus aurata*, la composición de ácidos grasos de los huevos está afectada directamente por el contenido de n-3 HUFA de la dieta de los reproductores (Fernández-Palacios *et al.*, 1995) (Tabla 1). Sin embargo, un exceso de n-3 HUFA en la dieta puede provocar una mayor oxidación de lípidos durante el desarrollo embrionario, afectando la tasa de eclosión y la calidad de los huevos (Lavens *et al.*, 1999).

El nivel óptimo de n-3 HUFA en la dieta de los reproductores para promover la calidad de los huevos puede estar alrededor del 20% del total de ácidos grasos, independientemente de la especie (Fernández-Palacios *et al.*, 1995; Lavens *et al.*, 1999; Furuita *et al.*, 2000, 2002).

También se ha reportado el efecto de la fuente de proteína y el contenido de la misma en la

dieta sobre la tasa de eclosión, cantidad de larvas normales y producción de semilla en *Pagrus major* (Watanabe, 1985). Otros componentes en la dieta como vitaminas E, C, A, B1 (tiamina), B6 (piridoxina) carotenoides (b-caroteno y astaxantina), han demostrado mejorar el desarrollo embrionario, el porcentaje de huevos flotantes (viables) y tasa de eclosión (Watanabe *et al.*, 1985; Mangor-Jensen *et al.*, 1994; Izquierdo *et al.*, 2001).

Tabla 1. Nivel de inclusión de diferentes nutrientes en la dieta de los reproductores y criterio de calidad de los desoves evaluado en peces marinos.

Especie	Nutriente en la dieta	Criterio evaluado	Referencia
<i>Sparus aurata</i>	1.5% - 2% n-3 HUFA	Desarrollo embrionario	Fernández-Palacios <i>et al.</i> , 1995
	1.8 % n-3 PUFA	Tasas de fertilización y eclosión	Rodríguez <i>et al.</i> , 1998
<i>Dicentrarchus labrax</i>	n-3 HUFA	Desarrollo embrionario, tasa de eclosión.	Navas <i>et al.</i> , 1996, Bruce <i>et al.</i> , 1999.
<i>Gadus morhua</i>	50 mg/kg Vitamin C	FAA concentration	Mangor-Jensen <i>et al.</i> , 1994
<i>Hippoglossus hippoglossus</i>	1.8 % ARA	Morfología de blastómeros, tasas de fertilización y eclosión.	Mazorra <i>et al.</i> , 2003
<i>Paralichthys olivaceus</i>	2.1 % n-3 HUFA	Morfología de blastómeros, huevos flotantes y tasa de eclosión.	Furuita <i>et al.</i> , 2002
<i>Pagrus major</i>	Proteína y fósforo	Eclosión y desarrollo de la larva	Watanabe, 1985.
<i>Lutjanus campechanus</i>	2.4 % DHA, 1.2 % ARA	Eclosión, fertilización.	Papanikos, 2004

3. Criterios de evaluación de la calidad de los desoves

Además de la tasa de eclosión y la tasa de supervivencia a la primera alimentación, que son considerados los principales criterios para evaluar la calidad de los huevos, existe otros criterios que han sido utilizados con este fin, tanto durante el desarrollo embrionario como durante la etapa de larva vitelina. La tabla 2 muestra algunos de los diferentes tipos de criterios reportados en diferentes especies para evaluar la calidad de los desoves. Algunos de ellos han probado ser más útiles que otros, pero se han reportado diferencias inter-específicas que dificultan el uso generalizado de uno solo de ellos. Algunos como el nivel de actividad, la reacción cortical ó las aberraciones cromosómicas durante la mitosis solo han sido reportados en uno o dos estudios, por lo que su efectividad como criterio de evaluación de la calidad no se considera.

Tabla 2 Ejemplos de criterios reportados para evaluar la calidad de huevos en algunas especies de peces marinos.

Criterios	Especie	Referencias
Zootécnicos		
Tasa de fertilización	<i>Hippoglossus hippoglossus</i> , <i>Lates calcarifer</i>	Nocillado <i>et al.</i> , 2000; Mommens <i>et al.</i> , 2015.
Proporción de embriones flotantes	<i>Dentex dentex</i> , <i>Pagrus pagrus</i> , <i>Lutjanus campechanus</i> ,	Giménez <i>et al.</i> , 2006; Aristizabal <i>et al.</i> , 2009; Bourque y Phelps, 2007.
Presencia de deformidades en las larvas	<i>Paralichthys olivaceus</i>	Furuita <i>et al.</i> , 2000.
Nivel de actividad	<i>Pagrus pagrus</i>	Aristizabal <i>et al.</i> , 2009.
Morfológicos / morfométricos		
Tamaño del huevo	<i>Gadus morhua</i> , <i>Scophthalmus maximus</i> ,	McEvoy, 1984; Kjorsvik <i>et al.</i> , 1984; Salze <i>et al.</i> , 2005; Aristizabal

	<i>Pagrus pagrus,</i>	<i>et al.</i> 2009.
Morfometría del huevo y gota de aceite	<i>Sparus aurata; Diplodus puntazzo</i> <i>Dentex dentex</i>	Lahnsteiner y Patarnello, 2005; Lahnsteiner <i>et al.</i> , 2008.
Número y distribución de gotas de aceite	<i>Pagrus major, Lutjanus campechanus</i>	Watanabe y Kiron, 1995; Bourque y Phelps, 2007.
Morfología de los blastómeros	<i>Gadus morhua,</i> <i>Scophthalmus maximus,</i> <i>Hippoglossus hippoglossus,</i>	McEvoy, 1984, Kjorsvik, 1994.Mommens <i>et al.</i> , 2015.
Aberraciones cromosómicas en la mitosis	<i>Gadus morhua</i>	Kjorsvik <i>et al.</i> , 1990.
Reacción cortical	<i>Gadus morhua</i>	Kjorsvik <i>et al.</i> , 1990;
Transparencia del huevo	<i>Scophthalmus maximus</i>	McEvoy, 1984.
 Bioquímicos		
Contenido de ácidos grasos	<i>Dentex dentex,</i> <i>Hippoglossus hippoglossus,</i> <i>Gadus morhua, Lutjanus guttatus, Solea solea.</i>	Kjorsvik <i>et al.</i> , 1984; Salze <i>et al.</i> , 2005; Giménez <i>et al.</i> , 2006; Lund e al., 2008; Rangel-Duran, 2014.
Contenido de amino ácidos libres	<i>Hippoglossus hippoglossus, Rachycentron canadum</i>	Faulk y Holt, 2008; Mommens <i>et al.</i> , 2015.
Actividad enzimática	<i>Dentex dentex, Lutjanus peru, Sparus aurata,</i>	Giménez <i>et al.</i> , 2006; Lahnsteiner y Patarnello, 2004b; Moguel-Hernández <i>et al.</i> , 2015.
Concentración de metabolitos	<i>Dentex dentex, Lutjanus peru, Sparus aurata</i>	Giménez <i>et al.</i> , 2006; Lahnsteiner y Patarnello, 2004b; Moguel-Hernández <i>et al.</i> , 2015.

3.1 Criterios zootécnicos

La principal ventaja del uso de criterios zootécnicos para evaluar la calidad de los desoves, es que son fáciles de estimar, no se requiere mucho tiempo ni experiencia para su evaluación. En contraparte, existen demasiados ejemplos sobre su uso, pero los resultados no han sido consistentes y ha sido difícil generalizar su uso como eficientes criterios de evaluación de la calidad.

3.1.1 Tasa de fertilización

La tasa de fertilización ha sido considerada como uno de los primeros criterios para evaluar la calidad de los huevos, sin embargo, se han reportado resultados muy variables (Kjorsvik *et al.*, 1984; 2003). En especies como *Gadus morhua*, *Scophthalmus maximus* y *Clupea harengus* no se reportó correlación entre éste criterio y la tasa de eclosión y supervivencia (McEvoy, 1984; Hay, 1986; Kjorsvik *et al.*, 1990). Sin embargo, Kjorsvik *et al.* (2003) reportaron una correlación positiva entre la tasa de fertilización y la viabilidad de larvas y juveniles de *S. maximus*.

3.1.2 Fracción de huevos flotantes

La fracción de huevos flotantes, ha sido reportado como criterio de calidad efectivo en *Pagrus major* (Sakai *et al.*, 1985), *S. maximus* (McEvoy, 1984), *Gadus morhua* (Kjorsvik *et al.*, 1984), *Pagrus pagrus* (Aristizabal *et al.*, 2009) y otras especies (Kjorsvik *et al.*, 1990), pero no así en especies como *Dentex dentex*, donde la proporción de huevos que flotaban y no flotaban no funcionó para distinguir desoves de buena y mala calidad, ya que no se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de eclosión entre ambos tipos de desove (Giménez *et al.*, 2006).

A pesar de esta falta de consistencia en la efectividad de los criterios zootécnicos para evaluar la calidad de los desoves entre diferentes especies, hay que mencionar que su

mayor aporte ha sido como indicador de una muy pobre calidad de los desoves. Cuando la tasa de fertilización es muy baja o casi nula o la fracción de huevos muy elevada, se trata de un pobre desove que se descarta.

3.2 Criterios morfológicos y morfométricos

La evaluación de las características morfológicas y morfométricas de los huevos constituyen una serie de criterios que también demandan poco esfuerzo, y por lo tanto, al igual que los criterios zootécnicos, fueron de los primeros criterios en emplearse para evaluar la calidad de los desoves, como una alternativa a los porcentajes de eclosión y supervivencia inicial.

3.2.1 Tamaño del huevo y glóbulo de aceite

El tamaño del huevo fue uno de los primeros criterios utilizados para evaluar la calidad de los mismos. Era lógico asumir que mientras más grande el huevo, se producirían larvas más grandes con mayores posibilidades de sobrevivir. Sin embargo, existen reportes que contradicen tal suposición (Manning y Crim, 1998; Kjorsvik *et al.*, 1990; Moguel-Hernández, 2010).

Particularmente cuando el análisis del tamaño del huevo se ha realizado durante un ciclo reproductivo. Diferentes estudios demostraron que a lo largo del ciclo reproductivo existen diferencias significativas en el tamaño del huevo, tal variación puede estar asociada a la condición fisiológica de la hembra, a la magnitud del desove, al avance en la temporada reproductiva, al origen de la población, la latitud, la temperatura, la disponibilidad de alimento y la salinidad (Kamler, 2005), y más aún en especies con desoves parciales, que son la mayoría de las especies marinas, donde el diámetro del huevo depende de las reservas energéticas de la hembra y el número de desoves que ha tenido a lo largo de la temporada (Brooks *et al.*, 1997; Kamler, 2005).

Como una alternativa de parámetros morfométricos Lahnsteiner y Patarnello (2005) y Lahnsteiner *et al.* (2008) reportaron el uso de diferentes parámetros morfométricos como criterios de evaluación de la calidad de huevos en *Sparus aurata*, *dipodus puntazzo* y *Dentex dentex*, respectivamente. Tomando como base los diámetros mínimo y máximo del huevo, del glóbulo de aceite y del vitelo, estimaron una serie de parámetros que se utilizaron como criterios para evaluar el porcentaje de supervivencia larvaria y el porcentaje de eclosión.

3.2.2 Simetría de los blastómeros

Uno de los criterios morfológicos que más ha sido utilizado para evaluar la calidad de los desoves, es la forma y los patrones de división de los blastómeros durante el inicio de la segmentación. Este criterio morfológico ha sido el más recurrido por la correlación positiva que presenta con los porcentajes de eclosión y la viabilidad de las larvas vitelinas en especies como *H. hippoglossus* (Shields *et al.*, 1997), *Melanogrammus aeglefinus* (Rideout *et al.*, 2004), *Sparus aurata*, *Dipodus puntazzo* (Lahnsteiner & Patarnello, 2005), *Gadus morhua* (Rani, 2005) y en el caso de *S. maximus* la asimetría celular temprana predijo la supervivencia de las larvas hasta la etapa de juveniles (Kjorsvik *et al.* , 2003).

No obstante, algunos autores han cuestionado su utilidad debido a que se ha reportado que el grado de malformación ó asimetría en la división de los blastómeros puede corregirse durante las etapas posteriores del desarrollo embrionario, de tal forma que no se detecten diferencias significativas en el porcentaje de eclosión de huevos con divisiones normales y huevos con divisiones asimétricas, (Vallin y Nissling, 1998; Avery *et al.*, 2005; 2009).

En este sentido, se han observado diferentes tipos de anomalías de los blastómeros durante la segmentación (Shields *et al.*, 1997; Rideout *et al.*, 2004; Rani, 2005) como: disposición asimétrica, diferencia en el tamaño, poca adhesión, poca definición en el margen celular y presencia de vacuolas. De las cuales, la poca adhesión entre los

blastómeros es la anormalidad que provoca menores porcentajes de eclosión, indicando que ésta anormalidad interfiere severamente en la embriogénesis (Rideout *et al.*, 2004; Rani, 2005). Sin embargo, como las cuatro anormalidades tienden a coocurrir en un mismo desove, y la cantidad de embriones que mostraron ésta anomalía es baja, se ha considerado que el porcentaje de anormalidad en los blastómeros durante las divisiones tempranas puede ser un buen indicador del porcentaje de eclosión y la viabilidad de las larvas (Shields *et al.*, 1997; Rideout *et al.*, 2004).

A pesar de que este criterio es un buen indicador de calidad de los desoves, presenta una desventaja, ya que si se toman las muestras en tanques donde los reproductores tienen desoves espontáneos, los huevos recolectados estarán en diferentes estadios de desarrollo, lo cual restringe la aplicación de este método (Lahnsteiner & Patarnello, 2005).

3.3 Criterios bioquímicos

Gran parte del éxito que pueda tener un huevo en eclosionar y producir una larva viable, depende en gran medida de la cantidad, calidad y utilización de reservas energéticas y nutricionales que hayan sido acumulados durante la ovogénesis y que estén presentes en el vitelo y el glóbulo de aceite, cuyas proporciones difieren entre especies y varían en función de la edad, el peso y la dieta de los reproductores (Heming y Buddington, 1988; Bromage y Roberts, 1995). De manera general, las reservas energéticas y nutricionales que necesita el embrión durante su desarrollo son sintetizadas durante la ovogénesis de manera endógena y exógena, y son acumuladas en el vitelo y en el glóbulo de aceite de los ovocitos (Sarasquete *et al.*, 1993). Las fosfoglicolipoproteínas (vitelogenina) son sintetizadas por los hepatocitos y transportadas por el torrente sanguíneo e incorporadas en los oocitos mediante endocitosis, finalmente son hidrolizadas en proteínas vitelinas: lipovitelinas, glucovitelinas y fosfovitas (Heming y Buddington, 1988; Carnevali *et al.*, 2001a; Kamler, 2008). El proceso final de maduración del ovocito está caracterizado morfológicamente por la coalición de las vesículas de vitelo y fisiológicamente por la hidratación del mismo (Lahnsteiner, 2006). Además de proporcionar insumos energéticos, el vitelo también cuenta

con hormonas y enzimas (Brooks *et al.*, 1997). Por otro lado, el glóbulo de aceite (cuando está presente) se compone, en su mayoría, de triacilglicéridos que son una fuente de energía para las larvas, principalmente durante el proceso de la primera alimentación exógena (Kamler, 2008).

3.3.1 Concentración de lípidos y aminoácidos

De todos los componentes nutricionales en el vitelo, los lípidos y los aminoácidos han sido los más estudiados para evaluar la calidad de los desoves debido a su papel durante el crecimiento y desarrollo. Los lípidos en el vitelo funcionan como fuentes de energía, componentes estructurales para las células en desarrollo y como precursores de hormonas parácrinas (Tocher, 2003). Los triglicéridos (lípidos neutros) son la forma más común de almacenamiento de energía en los huevos pelágicos, mientras que los fosfolípidos (lípidos polares) tienen un importante papel como componentes estructurales de las biomembranas y están asociados con la fluidez de la membrana y funciones fisiológicas de las enzimas de membrana y funciones celulares en peces marinos (Bell *et al.*, 1986) además de ser una fuente de fósforo y colina (Sargent, 1995). Mientras que los amino ácidos funcionan como una importante fuente de energía, factores de señalización celular y sustratos para moléculas bioactivas y proteínas (Finn y Fyhn, 2010).

Es por lo anterior, que el uso de éstos criterios está íntimamente relacionado con la evaluación del efecto de la dieta de los reproductores sobre la calidad de los desoves (ver secc. 2.3) como una forma para estimar los requerimientos nutricionales de los reproductores; y en este caso, los resultados son muy variables precisamente por las diferencias en los requerimientos nutricionales de los reproductores de las diferentes especies.

En realidad son pocos los trabajos que reportan el uso de éstos criterios bioquímicos sin que esté involucrada la evaluación de diferentes tipos de dieta de los reproductores. Pickova *et al.* (1997), reportaron que el contenido de amino ácidos y la tasa DHA/EPA en

la fracción de fosfolípidos en huevos del *Gadus morhua* están positivamente correlacionados con la simetría y la viabilidad de las larvas. Giménez *et al.* (2006) evaluaron la cantidad de lípidos totales, lípidos neutros y lípidos polares, así como las proporciones de ácidos grasos EPA, DHA, ARA en desoves de *Dentex dentex* obtenidos en una temporada reproductiva y no encontraron diferencia significativa entre huevos considerados de buena calidad (mortalidad < 10% a los 3 días después de la eclosión) y mala calidad (mortalidad > 35% al día 3). Lahnsteiner & Patarnello (2003) mencionan que los niveles de aminoácidos libres en huevos no viables son significativamente menores que en huevos viables, lo cual afecta su flotabilidad, así como la síntesis de proteínas y el estado energético de los embriones. Esto es importante, debido a que se ha reportado que en especies como *Scophthalmus maximus*, el 20% de los aminoácidos libres son utilizados en la síntesis proteica y el 80% se emplean en el metabolismo energético de los embriones y larvas vitelinas, siendo un proceso clave en la supervivencia de los organismos (Ronnestad & Fyhn, 1993). Salze *et al.* (2005) en huevos de *Gadus morhua* compararon la concentración de lípidos totales, ácidos grasos y carotenoide en huevos de reproductores silvestres, reproductores silvestres alimentados con una dieta artificial y huevos producidos de reproductores en cautiverio. La única diferencia significativa entre los tres tratamientos fue la concentración de fosfatidinositol que fue mayor en los huevos de reproductores silvestres y menor en los producidos en cautiverio. ARA se concentra en fosfatidinositol, sugiriendo que los menores niveles de este tipo de lípido afectan la calidad de los huevos y el desarrollo.

3.3.2 Componentes metabólicos

Ahora bien, durante la última década se han reportado estudios enfocados a evaluar diferentes aspectos metabólicos de los huevos como criterios de calidad. Mayor énfasis se ha puesto en aquellos componentes involucrados en la producción de energía, como son metabolitos y enzimas del metabolismo de carbohidratos, debido a su importante rol durante el desarrollo embrionario (Boulekbache, 1981). En efecto, la glucosa, además de ser utilizada como fuente de energía, es transformada en otros monosacáridos que son

necesarios para la síntesis de ácidos nucleicos y polisacáridos. Por su parte, la fructuosa es precursor en la formación de oligosacáridos los cuales juegan un papel importante durante la organogénesis (Lahnsteiner, 2006). En la síntesis y almacenamiento de estos metabolitos intervienen tres vías metabólicas, la glucólisis, la gluconeogénesis y la vía de las pentosas, los cuales se encuentran catalizados por muchas enzimas, entre las cuales se encuentran: fosfofructoquinasa y piruvatoquinasa en el primero; glucosa-6-fosfatasa (catalizando la reacción de glucosa-6-fosfato a glucosa) y lactato deshidrogenasa (reducción del piruvato en la vía anaeróbica) en el segundo; y transaldolasa (vía no oxidativa de la síntesis de pentosas para la formación de ácidos nucleicos) y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (vía oxidativa) para el último (Lahnsteiner, 2006). Dentro de ellos, la glucólisis ha sido propuesta como la vía más importante como fuente de energía en los huevos de peces durante las primeras etapas de desarrollo (Boulekbache, 1981; Lahnsteiner & Patarnello, 2003).

Algunos ejemplos de la evaluación de éstos componentes para evaluar la calidad de los desoves son los trabajos de Giménez *et al.* (2006) con *Dentex dentex*, Moguel-Hernández (2010) con *Lutjanus peru*, Lahnsteiner y Patarnello (2006) con *Sparus aurata*, *Mullus barbatus* y *Serranus cabrilla*. En ellos se evalúan las concentraciones de metabolitos como ATP, NADH, NAD, glucosa, ketosa, glucosa-6-fosfato, monosacárido totales, ácido siálico, ribosa, fructosa-6-fosfato, y la actividad de enzimas como adenilato cinasa, piruvato cinasa, malato deshidrogenasa, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, transaldolasa, aspartato aminotransferasa, fosfatasa alcalina, fosfatasa ácida, glucosa-6-fosfatasa, ácido siálico y acetil coenzima A.

En *P. major*, los niveles de tirosina, fosfolípido y fosfocreatina estuvieron en mayor cantidad en los huevos que presentaron una mayor tasa de desarrollo de embriones que en los huevos con una baja tasa de desarrollo (Seoka *et al.*, 1997). En *Lutjanus peru*, los desoves con un mayor porcentaje de eclosión (>80%) presentaron menores niveles de actividad de transaldolasa y glucosa-6-fosfatasa que los desoves con porcentajes de eclosión menores a 50% (Moguel-Hernández *et al.* 2015). En *Sparus aurata*, reducidas

actividades enzimáticas transaldolasa (enzima reguladora de la vía de las pentosas) y glucosa-6-fosfatasa (enzima clave en la gluconeogénesis) son indicativos de huevos de mala calidad (Lahnsteiner & Patarnello, 2004a). En el caso de *Dentex dentex*, los desoves de mala calidad fue posible diferenciarlos por su mayor contenido de glucosa, ketosa, glucosa-6-fosfato y 6-desoxihexosa, indicando la acumulación de los metabolitos de la glucólisis (Giménez *et al.* 2006). Esto sugiere que los carbohidratos no estaban siendo utilizados como fuente de energía y que otros sustratos, probablemente lípidos, son utilizados. De igual forma, los desoves de mala calidad y con mayor tasa de mortalidad presentaban una mayor actividad de fosfatasa alcalina. Esta enzima está involucrada en el metabolismo de fosfolípidos y la defosforilación de fosvitina en el vitelo (Sire *et al.*, 1994), lo cual podría indicar que el vitelo se consumía a una tasa mucho mayor y por lo tanto, las larvas presentaban una menor cantidad de reservas alimenticias antes del inicio de la alimentación exógena.

La actividad enzimática de catepsina, ha sido utilizada para evaluar la calidad de los desoves. La catepsina es una proteasa relacionada con la degradación de las proteínas vitelinas; como resultado de su acción, se producen nuevos aminoácidos libres, los cuales además de ser la mayor fuente de energía durante las primeras etapas del desarrollo, son esenciales para la multiplicación celular y para la formación de tejidos y órganos. También son importantes en el control osmótico y en la flotabilidad de los embriones, (Ronnestad & Fyhn, 1993; Kamler, 2008). En especies como *Sparus aurata* (Carnevali *et al.*, 1999; Carnevali *et al.*, 2001b) y *Dicentrarchus labrax* (Carnevali *et al.*, 2001a) se han detectado diferentes tipos de catepsinas (A, B, C, D, E y L) involucradas en distintas etapas del desarrollo embrionario. Se ha reportado que en huevos no viables se presenta una mayor actividad de catepsinas D y L con respecto a los huevos viables, sugiriendo un fallo en la proteólisis vitelina en los huevos de baja calidad.

4. Indicadores de la calidad de los desoves

La mayoría de los estudios reportados sobre calidad de huevos, han demostrado ser

útiles para detectar diferencias entre desoves de buena y mala calidad, o para evaluar el efecto del alimento de los reproductores, o el método de inducción al desove sobre alguno de los parámetros expuestos anteriormente y concluir si existe algún efecto en la calidad de los desoves. Sin embargo, no explican las razones subyacentes de los principales criterios que definen a un desove de buena calidad, es decir: el porcentaje de eclosión ó la supervivencia inicial de las larvas.

Esto ha llevado a proponer métodos de análisis de los resultados que aporten más información que la mera diferencia entre variables. De esta forma, se han reportado análisis de correlaciones y ajuste de modelos de regresión para intentar establecer qué parámetros participan, y en qué medida, para explicar la variabilidad de los principales criterios de calidad de los desoves (i.e. el porcentaje de eclosión y la supervivencia inicial de la larva). En este tipo de estudios rara vez se utilizan modelos simples debido a la variación de los criterios evaluados, por lo que se ha optado por utilizar modelos multivariados que pueden aportar mayor información.

Lahnsteiner y Patarnello (2004b) evaluaron la calidad de los desoves de *Sparus aurata* mediante el ajuste de modelos de regresión múltiple utilizando la concentración de metabolitos y la actividad de enzimas involucradas en el metabolismo energético como variables independientes y el porcentaje de eclosión como variable dependiente. Concluyeron que la actividad de fosfatasa ácida, adenilato cinasa y la concentración de ácido siálico son variables adecuadas como indicadores para explicar el porcentaje de eclosión de los huevos de *Sparus aurata*.

En este mismo sentido, Giménez *et al.* (2006) utilizaron la concentración de metabolitos asociados al metabolismo de carbohidratos y reportaron que los monosacáridos glucosa, ketosa y ribosa, y la enzima piruvato cinasa pudieran ser utilizadas para predecir el porcentaje de eclosión en *Dentex dentex*, y para predecir la viabilidad de las larvas (mortalidad a los 3 y 5 dde) las variables evaluadas fueron 6-desoxihexosa, glucosa, piruvato kinasa y fosfatasa alcalina.

Para explicar la calidad en los desoves de *L. peru*, Moguel-Hernández (2010) propuso dos modelos para el porcentaje de eclosión y dos para el porcentaje de anomalías en los blastómeros. Para ambos casos recomienda el modelo donde interviene la glucosa, por su papel en el metabolismo de los carbohidratos, el cual es utilizado en mayor medida para la obtención de energía durante el inicio del desarrollo embrionario (Ronnestad & Fyhn, 1993; Sveinsdóttir *et al.*, 2006; Kamler, 2008). Además, es precursora en la formación de monosacáridos necesarios para la producción de ácidos nucleicos (Lahnsteiner, 2006).

Recientemente Mommens *et al.* (2015) evaluaron el uso de las concentraciones de lípidos y aminoácidos en los huevos de *H. hippoglossus* como indicadores de la tasa de fertilización, la asimetría de los blastómeros y el porcentaje de eclosión de los desoves. Concluyeron que la tasa de fertilización se explicaba por la concentración de ácido oleico (OA, 18:1n9), ácido mirístico (MA, 14:0), ácido estearidónico (SA, 18:4n3) y ácido eicosadienoico (EDA, 20:2n6); la tasa de eclosión por ácido palmitoleico (POA, 16:1n7) y ácido α -linolénico (LNA, 18:3n3); y la simetría de los blastómeros por las concentraciones de OA y EDA. Una mayor cantidad de ácidos grasos se correlacionaron con la tasa de eclosión que con la tasa de fertilización y la simetría de los blastómeros, lo cual refleja el importante rol que juegan estas moléculas en el metabolismo embrionario del *H. hippoglossus*.

En otros estudios, los ácidos grasos poliinsaturados se correlacionan positivamente con la tasa de fertilización y los n-3 con la tasa de eclosión. Por ejemplo en *Sparus aurata* (Fernández-Palacios *et al.*, 1995), *Gadus morhua* (Pickova *et al.*, 1997), *Paralichthys olivaceus* (Furuita *et al.*, 2000) y *Dicentrarchus labrax* (Bruce *et al.*, 1999). Uno de ellos, el ácido araquidónico (ARA, 20:4n6) ha sido sugerido como un importante ácido graso en la dieta de los reproductores para mejorar la calidad de los huevos de *H. hippoglossus* (Mazorra *et al.*, 2003). Sin embargo, Mommens *et al.* (2015) reportaron que no existe una correlación entre la concentración de ARA y la tasa de fertilización, la simetría de los blastómeros y la tasa de eclosión en ésta especie. También mostraron que las mayores

correlaciones positivas con la tasa de eclosión fueron con ácido dihomo- γ -linoleico (DGLA, 20:3n6) y con ácido docosapentaenoico (DPA, 22:5n3). Estos ácidos grasos funcionan como moduladores del metabolismo de ecosanoides al competir con ARA por el acceso a ciclooxigenasa que convierte los ácidos grasos en prostaglandinas

Con respecto a los aminoácidos como reguladores de la calidad de los desoves, Mommens *et al.* (2015) demostraron que la tasa de fertilización se explicaba en un 45% por la concentración de alanina y valina en los huevos. La simetría de los blastómeros en un 68% por la concentración de ácido glutámico y tirosina; y la tasa de eclosión en 36% por la concentración de serina, arginina y valina. Es importante resaltar la importancia de valina, el cual es un amino ácido que además de ser utilizado como un sustrato de energía, participa en la síntesis de otros aminoácidos como ácido glutámico (Bak *et al.*, 2012) y proteína en músculos (Platell *et al.*, 2000). Esta función en el metabolismo muscular puede explicar su relevancia en durante la tasa de eclosión de *H. hippoglossus*.

5. Implicaciones en el cultivo de peces marinos

El principal objetivo del cultivo de peces marinos es el de producir la mayor cantidad de juveniles, en el menor tiempo posible y con el mayor rendimiento económico. Para ello debe contarse con desoves de calidad que sean producidos con regularidad y que presenten elevados porcentajes de eclosión y tasas de supervivencia inicial. Son pocas las especies a nivel mundial que cuentan con exitosos programas de cultivo y que se han consolidado como una alternativa económica capaz de cubrir la creciente demanda. Sin embargo, la gran mayoría de las especies que están siendo introducidas a la acuicultura se encuentran aún en incipientes programas de cultivo a nivel piloto e incluso experimental. Es en este caso en que la gran variabilidad de la calidad de los desoves cobra mayor importancia, ya que ha sido uno de los principales obstáculos en la introducción de especies alternativas en la maricultura.

Con lo expuesto en el presente trabajo, queda de manifiesto que existe una gran

cantidad de criterios que pueden ser utilizados para evaluar la calidad de los desoves y que difícilmente puede encontrarse uno cuya utilidad como indicador de calidad en una especie, sea extrapolable a una nueva especie. Esto ha provocado que exista un pobre consenso sobre criterios confiables para establecer la calidad de los huevos, no obstante, en lo que sí se está de acuerdo es que el método debe ser simple y llevarse a cabo durante el desarrollo temprano, lo que permitirá tomar decisiones precisas y confiables sobre el desove que se ha obtenido y evitar el uso de las instalaciones y del personal en lo que podría ser un intento fallido ó en un desove de pobre calidad que no rinda la inversión realizada.

Resalta entonces la necesidad, y la importancia, de establecer un programa de monitoreo de la calidad de los desoves obtenidos en cautiverio. Para ello, se sugiere planificar estrategias y actividades que incorporen diferentes criterios de los que han sido expuestos con anterioridad. En efecto, encontrar un solo criterio que permita evaluar ó explicar la calidad de los desoves parece una labor complicada, en el mejor de los casos. Sin embargo, si se plantea el utilizar criterios que se complementen y se hace por etapas, el resultado puede aportar información más útil.

Un paso inicial en este esquema consistiría en evaluar (y en su caso, descartar) aquellos criterios que no requieran de mucho esfuerzo (por ejemplo, el diámetro del huevo ó la forma del glóbulo de aceite, el porcentaje de fertilización ó de flotabilidad), para elegir cuál, ó cuáles, se correlacionan mejor con las características más importantes que deben cumplir los desoves de buena calidad: el porcentaje de eclosión y la supervivencia a la primera alimentación. Esto permitirá tener un criterio confiable al momento de determinar la calidad del desove que se obtiene. Ahora bien, en caso de que ninguno de esos criterios iniciales permita estimar la calidad de los desoves, habrá que recurrir a criterios con un mayor grado de planificación. La simetría de los blastómeros podría ser utilizada como un criterio predictivo, sin embargo, la logística que implica coleccionar huevos en etapas tempranas de la segmentación, especialmente cuando se tienen desoves espontáneos ó inducidos por implantes hormonales, dificulta un poco su aplicación; pero los resultados reportados en varias especies lo sugieren como una alternativa que vale la pena explorar.

Sin embargo, no solo es necesario poder evaluar la calidad, sino que un programa completo de monitoreo de la calidad requiere información confiable sobre aquellos factores que la definen, es decir, que provocan esas variaciones en calidad y que en un momento dado pueda mejorarse. En este sentido, es necesario poner particular atención a las condiciones en las que se mantienen los reproductores, y realizar evaluaciones de los desoves obtenidos en cada ciclo productivo.

Es un hecho que existe un vacío en el conocimiento sobre los factores determinantes de la calidad de los huevos, pero existen muchos que pueden fungir como causantes de los cuales, el origen de los reproductores, su condición (nutrición, edad, estado fisiológico) y su manipulación (manejo, inducción hormonal, nivel de estrés) pueden ser los más relevantes. Para poder evaluar los efectos de la nutrición de los reproductores en la calidad de los huevos, primero es necesario tener un conocimiento pleno de los requerimientos nutricionales de aquellos. Un enfoque inicial puede ser analizar la composición de los peces silvestres ya que pueden proveer información útil con respecto a la composición de la dieta de los reproductores. De igual forma, se debe producir mejor y más confiables estrategias de desove, invertir en la investigación enfocada a la obtención de desoves espontáneos, lo cual reduciría el efecto de la inducción hormonal sobre la calidad de los desoves.

En ocasiones, un solo criterio no ha sido el más útil para evaluar o predecir la calidad de los huevos a través de modelos de regresión simple, debido a la alta variabilidad de los criterios durante las estimaciones de los mismos. Es por ello que se han utilizado diferentes criterios, ya sean bioquímicos, morfométricos o metabólicos y se han desarrollado modelos de regresión múltiple con el objeto de explicar o predecir el porcentaje de eclosión o supervivencia durante los primeros días de desarrollo. Lo cual ha permitido obtener conclusiones importantes en especies como *Sparus aurata*, *Puntazzo puntazzo* (Lahnsteiner y Patarnello, 2004a), *Dentex dentex* (Giménez *et al.*, 2006), *Lutjanus peru* (Moguel-Hernández, 2010) y *Rachycentron canadum* (Nguyen *et al.*, 2012).

Finalmente, este programa de evaluación de la calidad de los desoves no puede ser una tarea que corresponda completamente al sector productivo. Tanto la academia como la empresa deben desarrollar propuestas de trabajo en conjunto que permitan mejorar e incrementar la calidad de la investigación y los niveles productivos.

6. Conclusiones

Bajo este marco, en el que se presentan los diferentes caracteres que han sido empleados como criterios de evaluación de la calidad de los desoves, es prudente hacerse tres preguntas: Primero ¿Qué diferencia a un huevo de mala calidad de uno de buena calidad?. La respuesta más simple sería que los huevos de buena calidad son más grandes y eclosionan. Sin embargo, esos criterios no pueden considerarse confiables ya que no implican una mayor supervivencia durante la fase de larva vitelina.

Segundo ¿Cómo debe evaluarse la calidad de huevos?. Es evidente que no existe un criterio único que sea efectivo, por lo que es necesario realizar una evaluación que considere varios parámetros. Por ejemplo, incluir la evaluación de la supervivencia de la larva vitelina hasta la primera alimentación, y buscar variables en los primeros estadios de desarrollo embrionario (relaciones morfométricos del huevo ó del glóbulo de aceite, patrones de segmentación, concentración de nutrientes, etc.) que puedan correlacionarse con éste último parámetro y brinden la posibilidad de predecirla.

Y tercero ¿Qué hace que un huevo tenga buena calidad, y puede ésta mejorarse?. Es indudable que la respuesta está directamente relacionada a las condiciones de mantenimiento, características fisiológicas y aspectos nutricionales de los reproductores, por lo que se debe poner particular atención a estos aspectos. El incremento en la calidad de huevos será posible cuando se logre identificar aquellos parámetros que la definen, para ello, los estudios sobre los aspectos bioquímicos involucrados en el metabolismo de carbohidratos, las concentraciones de ácidos grasos y aminoácidos y su análisis mediante modelos de regresión son una herramienta útil que puede indicar la forma de mejorar la

calidad de los desoves. Sin embargo, son preferibles los modelos que usan un número bajo de variables, ya que reducen el esfuerzo del análisis.

7. Agradecimientos

El presente trabajo fue realizado gracias al apoyo institucional a través de los proyectos SIP-IPN claves 20150154 y 20141459; a la Comisión de Operación y Fomento de Actividades Académicas del Instituto Politécnico Nacional (COFAA-IPN) y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología proyecto SEP-CONACYT 60803.

5. Referencias

- Agulleiro, M.J., Anguis, V., Cañavate, J.P., Martínez-Rodríguez, G., Mylonas, C.C., Cerda, J. 2006. Induction of spawning of captive-reared Senegal sole (*Solea senegalensis*) using different administration methods for gonadotropin-releasing hormone agonist. *Aquaculture* 257, 511-524.
- Aristizabal, E., Suárez, J., Vega, A., Bargas, R. 2009. Egg and larval quality assessment in the Argentinian red porgy (*Pagrus pagrus*). *Aquaculture* 187, 329-334.
- Avery, T.S., Boyce, D., Brown, J.A. 2004. Mortality of yellowtail flounder, *Limanda ferruginea* (Storer), eggs: Effects of temperature and hormone-induced ovulation. *Aquaculture* 230, 297-311.
- Avery, T.S., Brown, J.A. 2005. Investigating the relationship among abnormal patterns of cell cleavage, egg mortality and early larval condition in *Limanda ferruginea*. *J. Fish Biol.* 67, 890-896.
- Avery, T.S., Killen, S.S., Hollinger, T.R. 2009. The relationship of embryonic development, mortality, hatching success, and larval quality to normal or abnormal early embryonic cleavage in Atlantic cod, *Gadus morhua*. *Aquaculture* 289, 265-273.
- Bak, L.K., Johansen, M.L., Schousboe, A., Waagepetersen, H.S. 2012. Valine but not leucine or isoleucine supports neurotransmitter glutamate synthesis during synaptic activity in cultured cerebellar neurons. *J. of Neurosci. Res.* 90, 1768-1775.
- Bell, M.V., Henderson, R.J., Sargent, J.R. 1986. The role of polyunsaturated fatty acids in fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 83B, 711-719.
- Boulekbache, H. 1981. Energy metabolism in fish development. *Amer. Zool.* 21 : 377- 389.
- Bourque, B.D., Phelps, R.P. 2007. Induced spawning and egg quality evaluation of red snapper, *Lutjanus campechanus*. *J. World. Aquacult. Soc.* 38, 208-217.
- Brandsen, M.P., Battaglione, S.C., Goldsmid, R.M., Dunstan, G.A., Nichols, P.D. 2007. Broodstock condition, egg morphology and lipid content and composition during the spawning season of captive striped trumpeter, *Latris lineata*. *Aquaculture* 268, 2-12.
- Bromage, N. & R. J. Roberts. 1995. Broodstock management and seed quality – General considerations. 1-25 pp. In: N. Bromage, R. J. Roberts (eds.). *Broodstock Management and Egg Larval Quality*. Blackwell Science. Great Britain.
- Bromage, N., Bruce, M., Basavaraja, N., Rana, K., Shields, R., Young, C., Dye, J., Smith, P., Gillespie, M., Gamble, J., 1994. Egg quality determinants in finfish: the role of overripening with special reference of the timing of stripping in the Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*. *J. World Aquacult. Soc.* 25, 13-21.
- Bromley, P.J., Sykes, P.A., Howell, B.R. 1986. Egg production of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) spawning in tank conditions. *Aquaculture* 53, 287-293.
- Brooks, S., Tyler, C.R., Sumpter, J.P. 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg?. *Rev. Fish Biol. Fish.* 7, 387-416.
- Peña, R. 2015. Criterios de Calidad de Huevos y sus Implicaciones en el Cultivo de Peces Marinos. En: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M.G., Villarreal-Cavazos, D. A., Gamboa-Delgado, J., Rivas Vega, M. y Miranda Baeza, A. (Eds), *Nutrición Acuicola: Investigación y Desarrollo*, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México, ISBN 978-607-27-0593-7, pp. 402-434.

- Bruce, M., Oyen, F., Bell, J.G., Asturiano, J.F., Carrillo, M., Zanuy, S., Ramos, J., Bromage, N. 1999. Development of broodstock diets for the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) with special emphasis on the importance of n-3 and n-6 highly unsaturated fatty acids to reproductive performance. *Aquaculture* 177, 85-97.
- Carnevali, O., R. Carletta, A. Cambi, A. Vita & N. Bromage. 1999. Yolk formation and degradation during oocyte maturation in seabream *Sparus aurata*: involvement of two lysosomal proteinases. *Biology of reproduction*. 60: 140-146.
- Carnevali, O., G. Mosconi, A. Cambi, S. Ridolfi, S. Zanuy & A. M. Polzonetti-Magni. 2001a. Changes of lysosomal enzyme activities in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) eggs and developing embryos. *Aquaculture*. 202: 249-256.
- Carnevali, O., Mosconi, G., Cardenali, M. Meiri, I., Polzonetti-Magni, A. 2001b. Molecular components related to egg viability in the gilthead sea bream, *Sparus aurata*. *Mol. Repr. Dev.* 58, 330-335.
- Duncan, N., Estévez, A., Porta, J., Carazo, I., Norambuena, F., Aguilera, C., Gairin, I., Bucci, F., Valles, R., Mylonas, C.C. 2012. Reproductive development, GnRHa-induced spawning and egg quality of wild meagre (*Argyrosomus regius*) acclimatised to captivity. *Fish Physiol. Biochem.* 38, 1273-1286.
- Faulk, C., Holt, G.J. 2008. Biochemical composition and quality of captive-spawned cobia *Rachycentron canadum* eggs. *Aquaculture* 279, 70-75.
- Fernandez-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 gilt head sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture* 132, 325-337.
- Finn, R., Fyhn, H. 2010. Requirements for amino acids in ontogeny of fish. *Aquaculture Research*. 41, 684-716.
- Fornies, M.A., Mananos, E., Carillo, M., Rocha, A., Laureau, S., Mylonas, C.C., Zohar, Y., Zanuy, S., 2001. Spawning induction of individual European sea bass females (*Dicentrarchus labrax*) using different GnRHa-delivery systems. *Aquaculture* 202, 221-234.
- Furuita, H., Tanaka, H., Yamamoto, T., Shiraiishi, M., Takeuchi, T. 2000. Effects on n-3 HUFA levels in broodstock diet on the reproductive performance and egg and larval quality of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 187, 387-398.
- Furuita, H., Tanaka, H., Yamamoto, T., Suzuki, N., Takeuchi, T. 2002. Effects of high levels of n-3 HUFA in broodstock diet on egg quality and egg fatty acid composition of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 210, 323-333.
- Giménez, G., Estévez, A., Lahnsteiner, F., Zecevic, B., Bell, J.G., Hernderson, R.J., Piñera, J.A., Sanchez-Prado, J.A. 2006. Egg quality criteria in common dentex (*Dentex dentex*). *Aquaculture* 260, 232-243.
- Hay, D. 1986. Effects of delayed spawning on viability of eggs and larvae of Pacific herring. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 115, 155-161.
- Heming, T. A. & R. K. Buddington. 1988. Yolk absorption in embryonic and larval fishes. 407-446. En: Hoar, W. S & D. J. Randall (Eds.). *Fish Physiology*, vol. XI A. Academic Press Inc., London.
- Peña, R. 2015. Criterios de Calidad de Huevos y sus Implicaciones en el Cultivo de Peces Marinos. En: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M.G., Villarreal-Cavazos, D. A., Gamboa-Delgado, J., Rivas Vega, M. y Miranda Baeza, A. (Eds), *Nutrición Acuicola: Investigación y Desarrollo*, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México, ISBN 978-607-27-0593-7, pp. 402-434.

- Ibarra-Castro, L., Álvarez-Lajonchere, L. 2011. GnRH α -induced multiple spawns and volition spawning of captive spotted rose snapper, *Lutjanus guttatus*, at Mazatlan, Mexico. *J. World Aquacult. Soc.* 42, 564-574.
- Ibarra-Castro, L., Duncan, N. 2007. GnRH α -induced spawning of wild-caught spotted rose snapper *Lutjanus guttatus*. *Aquaculture* 272, 737-746.
- Izquierdo, M.S., Fernández-Palacios, H., Tacon, A.G.J. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197, 25-42.
- Kamler, E. 2005. Parent-egg-progeny relationships in teleost fishes: an energetic perspective. *Reviews in Fish Biol. Fish.* 15, 399-421.
- Kamler, E. 2008. Resource allocation in yolk-feeding fish. *Rev Fish Biol Fisheries.* 18:143-200.
- Kjorsvik, E. 1994. Egg quality in wild and broodstock cod *Gadus morhua* L. *J. World Aquacult. Soc.* 25, 22-29.
- Kjorsvik, E., Stene, A., Lonning, S. 1984. Morphological, physiological and genetical studies of egg quality in cod (*Gadus morhua* L.). In: Dahl, E., Danielssen, D.S., Moksness, E., Solemdal, P. (Eds.). *The propagation of cod Gadus morhua L. Flodevigen rapportser. 1, 1984.* 67-86.
- Kjorsvik, E., Hoehne-Reitan, K., Reitan, K.I. 2003. Egg and larval quality criteria as predictive measures for juvenile production in turbot (*Scophthalmus maximus* L.) *Aquaculture* 227, 9-20.
- Kjorsvik, E., Mangor-Jensen, A., Homefjord, I. 1990. Egg quality in marine fishes. *Adv. Mar. Biol.* 26, 71-113.
- Lahnsteiner, F. 2006. Carbohydrate metabolism of vitellogenic follicles and eggs of *Serranus cabrilla* (Serranidae) and *Mullus barbatus* (Mullidae) and of embryos of *Sparus aurata* (Sparidae). *Fish Physiol Biochem.* 32: 131-139.
- Lahnsteiner, F., Giménez, G., Estévez, A. 2008. Egg quality determination based on the shape of lipid vesicle in common dentex, *Dentex dentex*. *Aquaculture Research* 39, 144-149.
- Lahnsteiner, F., Patarnello, P. 2003. Investigations on the metabolism of viable and nonviable gilthead sea bream (*Sparus aurata*) eggs. *Aquaculture* 223, 159-174.
- Lahnsteiner, F., Patarnello, P. 2004a. Biochemical egg quality determination in the gilthead seabream, *Sparus aurata*: reproductibility of the method and its application for sharpnose sea bream, *Puntazzo puntazzo*. *Aquaculture* 237, 433-442.
- Lahnsteiner, F., Patarnello, P. 2004b. Egg quality determination in the gilthead seabream *Sparus aurata*, with biochemical parameters. *Aquaculture* 237, 443-459.
- Lahnsteiner, F., Patarnello, P. 2005. The shape of the lipid vesicle is a potential marker for egg quality determination in the gilthead seabream, *Sparus aurata*, and in the sharpnose seabream, *Diplodus puntazzo*. *Aquaculture* 246, 423-435.
- Lavens, P., Leregue, E., Jaunet, H., Brunel, A., Dhert, Ph., Sorgeloos, P. 1999. Effect of dietary essential fatty acids and vitamins on egg quality in turbot broodstocks. *Aquacult. Int.* 7, 225-240.
- Lund, I., Steinfeldt, S.J., Suhr, K.I., Hansen, B.W. 2008. A comparison of fatty acid composition and quality
Peña, R. 2015. Criterios de Calidad de Huevos y sus Implicaciones en el Cultivo de Peces Marinos. En: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M.G., Villarreal-Cavazos, D. A., Gamboa-Delgado, J., Rivas Vega, M. y Miranda Baeza, A. (Eds), *Nutrición Acuicola: Investigación y Desarrollo*, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México, ISBN 978-607-27-0593-7, pp. 402-434.

- aspects of eggs and larvae from cultured and wild broodstock of common sole (*Solea solea* L.). *Aquacult. Nutr.* 14, 554-555.
- Mangor-Jensen, A., Holm, J.C., Rosenlund, G., Lie, O., Dandnes, K. 1994. Effects of dietary vitamin C on maturation and egg quality of cod *Gadus morhua*. *J. World Aquacult. Soc.* 25, 30-40.
- Manning, A.J., Crim, L.W. 1998. Maternal and interannual comparison of the ovulatory periodicity, egg production and egg quality of the batch spawning yellowtail flounder. *Journal of Fish Biology.* 53, 954-972.
- Mansour, N., Lahnsteiner, F., Patzner, R.A. 2007. Distribution of lipid droplets is an indicator of egg quality in brown trout, *Salmo trutta fario*. *Aquaculture* 273, 744-747.
- Mazorra, C., Bruce, M., Bell, J.G., Davie, A., Alorend, E., Jordan, N., Rees, J., Papanikos, N., Porter, M., Bromage, N. 2003. Dietary lipid enhancement of broodstock reproductive performance and egg and larval quality in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture* 227, 21-33.
- McEvoy, L.A. 1984. Ovulatory rhythms and over-ripening of eggs in cultivated turbot, *Scophthalmus maximus* L. *J. Fish Biol.* 24, 437-448.
- Moguel-Hernández, I. 2010. Caracterización bioquímica y fisiológica de embriones y larvas vitelinas del huachinango del Pacífico *Lutjanus peru*: implicaciones en la calidad de los desoves. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN. México. 95 pp.
- Moguel-Hernández, I., Peña, R., Nolasco-Soria, H., Dumas, S., Hinojosa-Baltazar, P. 2015. Egg quality criteria in Pacific red snapper (*Lutjanus peru*). *Aquacult. Res.* 46, 909-917.
- Mommens, M., Lanes, C.F.C., Babiak, I. 2015. Egg yolk nutritional constituents as indicators of egg quality in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *aquaculture Research* 46, 291-301.
- Mylonas, C.C., Magnus, Y., Gissis, A., Klebanov, Y., Zohar, Y. 1996. Application of controlled-release, GnRHa-delivery systems in commercial production of white bass x striped bass hybrids (sunshine bass), using captive brood stocks. *Aquaculture* 140, 265-280.
- Mylonas, C.C., Fostier, A., Zanuy, S. 2010. Broodstock management and hormonal manipulation of fish reproduction. *Gen. Comp. Endocrinol.* 165 (3), 516-534.
- Navas, J.M., Trush, 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*). *Proc. V Int. Symp. Rep. Physiol. Fish. Austin, TX, 2-8 July 1995*, pp. 108-110.
- Nocillado, J.N., Peñaflorida, V.D., Borlongan, I.G. 2000. Measures of egg quality in induced spawns of the Asian sea bass, *Lates calcarifer* Bloch. *Fish Physiology and Biochemistry* 22, 1-9.
- Nguyen, H.Q., Reinertsen, H., Rustad, T., Tran, T.M., Kjorsvik, E. 2012. Evaluation of egg quality in broodstock cobia *Rachycentron canadum* L. *Aquaculture Research* 43, 371-385.
- Papanikos, N. 2004. Egg quality of red snapper *Lutjanus campechanus*, significance of spawning method and brood fish nutrition. PhD Thesis. Auburn University. USA. 183 pp.
- Peña, R. 2015. Criterios de Calidad de Huevos y sus Implicaciones en el Cultivo de Peces Marinos. En: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M.G., Villarreal-Cavazos, D. A., Gamboa-Delgado, J., Rivas Vega, M. y Miranda Baeza, A. (Eds), *Nutrición Acuícola: Investigación y Desarrollo*, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México, ISBN 978-607-27-0593-7, pp. 402-434.

- Pickova, J., Dutta, P.C., Larsson, P.O., Kiessling, A. 1997. Early embryonic cleavage pattern, hatching success and egg-lipid fatty acid composition: comparison between two cod stocks. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 54, 2410-2416.
- Platell, C., Kong, S.E., McCauley, R., Hall, J.C. 2000. Branched-chain amino acids. *J. Gastro. Hepat.* 15, 706-717.
- Rangel-Durán, M.R. 2014. Desempeño reproductivo y calidad de los desoves del pargo lunarejo, *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) en cautiverio. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. Instituto Politécnico Nacional. México. Master's Thesis. 62 pp.
- Rani, M.S. 2005. Prediction of larval viability based on eggs quality parameters and early cleavage patterns in the experiments of triploidy induction in Atlantic cod, *Gadus morhua* L. M.Sc. Thesis. Univ. Tromsø, Norway, 64 pp.
- Rideout, R.M., Trippel, E.A., Litvak, M.K. 2004. Predicting haddock embryo viability based on early cleavage patterns. *Aquaculture* 230, 215-228.
- Rime, H., Guitton, N., Pineau, C., Bonnet, E., Bobe, J., Jalabert, B. 2004. Post-ovulatory ageing and egg quality: a proteomic analysis of rainbow trout coelomic fluid. *Repr. Biol. Endoc.* 2, 2-26.
- Rodríguez, C., Cejas, J.R., Martín, M.V., Badía, P., Samper, M., Lorenzo, A. 1998. Influence on n-3 highly unsaturated fatty acid deficiency on the lipid composition of brood stock gilt head sea bream (*Sparus aurata* L.) and on egg quality. *Fish Physiol. Biochem.* 18, 177-187.
- Ronnestad, I., Fyhn, H.J. 1993. Metabolic aspects of free amino acids in developing marine fish eggs and larvae. *Rev. Fish. Sic.* 1, 239-259.
- Rosales-Velázquez, M.O. 1997. Efecto de la alimentación sobre los desoves de la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* (Teleostei: Serranidae) mantenida en cautiverio. Tesis de maestría. CICIMAR-IPN. México. 83 pp.
- Sakai, K., Nomura, M., Takashima, F. 1985. Characteristics of naturally spawned eggs of red sea bream. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 51, 1395-1399.
- Salze, G., Tocher, D.R., Roy, W.J., Robertson, D.A. 2005. Egg quality determinants in cod (*Gadus morhua* L.): egg performance and lipids in eggs from farmed and wild broodstock. *Aquaculture Research* 36: 1488-1499.
- Sarasquete, M. C., A. Polo, E. Pascual & M. Yúfera. 1993. Histochemistry of proteins, lipids and carbohydrates in the yolk of oocytes, eggs and larvae of seabream (*Sparus aurata*). In: B. T. Walther & H. J. Fyhn (ed). *Physiological and biochemical aspects of fish development*. Norway. University of Bergen. 309- 314.
- Sargent, J.R. 1995. Origins and functions of egg lipids: nutritional implications. In: Bromage, N., Roberts, R.J. (Eds.). *Broodstock management and egg and larval quality*. Black Science, Cambridge, UK, pp. 353-372.
- Seoka, M., Takii, K., Takaoka, O., Nakamura, M., Kumai, H. 1997. Biochemical phases in embryonic red sea bream development. *Fish. Sci* 63, 122-127.
- Peña, R. 2015. Criterios de Calidad de Huevos y sus Implicaciones en el Cultivo de Peces Marinos. En: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M.G., Villarreal-Cavazos, D. A., Gamboa-Delgado, J., Rivas Vega, M. y Miranda Baeza, A. (Eds), *Nutrición Acuicola: Investigación y Desarrollo*, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México, ISBN 978-607-27-0593-7, pp. 402-434.

- Shields, R.J., Brown, N.P., Bromage, N.R. 1997. Blatomere morphology as a predictive measure of fish egg viability. *Aquaculture* 155, 1-12.
- Shields, R.J., Davenport, J., Young, C., Smith, P.L. 1993. Oocyte maturation and ovulation in the Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L.), examined using ultrasonography. *Aquacult. Res.* 24, 181-186.
- Sire, M.F., Babin, P.J., Vernier, M.J. 1994. Involvement of the lysosomal system in yolk protein deposit and degradation during vitellogenesis and embryonic development in trout. *J. Exp. Cool.* 269, 69-83.
- Sveinsdóttir, H., H. Thorarensen & A. Gudmundsdóttir. 2006. Involvement of trypsin and chymotrypsin activities in Atlantic cod (*Gadus morhua*) embryogenesis. *Aquaculture*. 260: 307-314.
- Tocher, D. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Rev. Fish. Sci.* 11, 107-184
- Vallin, L., Nissling, A., 1998. Cell morphology as an indicator of viability of cod eggs-results from an experimental study. *Fish. Res.* 38, 247-255.
- Watanabe, T. 1985. Importance of the study of brood stock nutrition for further development of aquaculture. In: *Nutrition and Feeding in Fish*. Cowey, C.B., Mackie, A.M., Bell, S.G. (Eds). Academic Press. London, pp. 395-414
- Watanabe, T., Kiron, V. 1995. Red sea bream (*Pagrus major*). In: Bromage, N., Roberts, R.J. (Eds.). *Broodstock management and egg and larval quality*. Black Science, Cambridge, UK, pp. 398-413.
- Watanabe, T., Koizumi, T., Suzuki, H., Satoh, S., Takeuchi, T., Yoshida, N., Kitada, T., Tsukashima, Y. 1985. Improvement of quality of red sea bream eggs by feeding broodstock on a diet containing cuttlefish meal or on raw krill shortly before spawning. *Bull Jap. Soc. Sci. Fish.* 51, 1511-1521.