



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas



EFFECTO DEL NIVEL DE INCLUSIÓN DE
ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES Y PROTEÍNA
EN EL ALIMENTO DE REPRODUCTORES DE
CABRILLA ARENERA *Paralabrax*
maculatofasciatus (PERCOIDEI: SERRANIDAE)
SOBRE LA CALIDAD DE LAS PRIMERAS
FASES DE VIDA

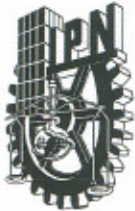
TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
EN
MANEJO DE RECURSOS MARINOS

PRESENTA

JUAN MANUEL MARTÍNEZ BROWN

LA PAZ, B.C.S., JUNIO DE 2007



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
ACTA DE REVISION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 11:00 horas del día 8 del mes de Diciembre del 2006 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis de grado titulada:

"EFECTO DEL NIVEL DE INCLUSIÓN DE ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES Y PROTEÍNA EN EL ALIMENTO DE REPRODUCTORES DE CABRILLA ARENERA *Paralabrax maculatofasciatus* (PERCOIDEI: SERRANIDAE) SOBRE LA CALIDAD DE LAS PRIMERAS FASES DE VIDA

Presentada por el alumno:

MARTÍNEZ
Apellido paterno

BROWN
materno

JUAN MANUEL
nombre(s)

Con registro:

B	0	1	1	2	8	1
---	---	---	---	---	---	---

Aspirante al grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA

Director de tesis
PRIMER VOCAL

MC. JOSÉ LUIS ORTIZ GALINDO

PRESIDENTE

DRA. LAURA SÁNCHEZ VELASCO

SECRETARIO

DR. JOSÉ DE LA CRUZ AGÜERO

SEGUNDO VOCAL

DR. ROBERTO CIVERA CERECEDO

TERCER VOCAL

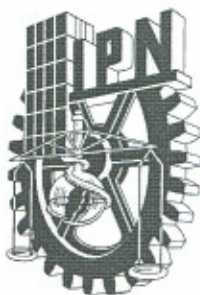
DR. MARCIAL ARELLANO MARTÍNEZ

EL PRESIDENTE DEL COLEGIO

DR. RAFAEL CERVANTES DUARTE



I. P. N.
CICIMAR
DIRECCION



**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 19 del mes Diciembre del año 2006, el (la) que suscribe JUAN MANUEL MARTÍNEZ BROWN alumno(a) del Programa de MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS con número de registro B011281 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de: MC. JOSÉ LUIS ORTIZ GALINDO y cede los derechos del trabajo titulado: "EFECTO DEL NIVEL DE INCLUSIÓN DE ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES Y PROTEÍNA EN EL ALIMENTO DE REPRODUCTORES DE CABRILLA ARENERA *Paralabrax maculatofasciatus* (PERCOIDEI: SERRANIDAE) SOBRE LA CALIDAD DE LAS PRIMERAS FASES DE VIDA" al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: paralabrax2004@yahoo.com.mx, jortiz@ipn.mx
Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

JUAN MANUEL MARTÍNEZ BROWN

nombre y firma

A mis papás, mis raíces
A mis abuelos, del mar y de la tierra

A mis hermanos, que son mis amigos
A mis amigos, que también son mis hermanos

A ella, que con pinceles hace crecer bosques de hadas y unicornios

A ellas:

Emerge, entre leyendas de mar,
entre redes viejas y raídas,
sombria, fría,
tu figura de quimera.

Linaje de alebrijes,
rapsodia marina de ancestrales sustancias
fundidas con sal, espuma, arena y sargazo.

Sobre tu húmedo cuerpo nocturno,
amalgama nupcial de Venus y Marte,
navegan y se esparcen
lunas eclipsadas.

Giran y se condensan las nebulosas
sobre las rojas iridiscencias
de tus ojos crepusculares.

De tu espalda libertaria
brotan y se extienden diez agudas promesas,
banderolas de violencia y de batallas.

Como destinada a la voracidad humana
entre prematuros insurgentes olvidados,
de pié, eres la única guerrera
de nuestra recién nacida revolución azul.

Agradecimientos

Al Instituto Politécnico Nacional y al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas por permitirme ingresar en la Maestría en Ciencias en Manejo de Recursos Marinos. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca crédito otorgada durante los dos primeros años de la maestría. Al Programa Institucional de Formación de Investigadores por el apoyo económico otorgado.

A mi director de tesis, el M. en C. José Luis Ortiz Galindo, por sus enseñanzas, apoyo imprescindible y la dirección continua durante la realización de este trabajo. A mi codirector, el Dr. Roberto Civera Cerecedo, por el apoyo con la materia prima, equipo e instalaciones para la elaboración de los alimentos experimentales y por sus valiosas sugerencias para mejorar este estudio. A mi comité de revisión: Dr. José de la Cruz Agüero, Dra. Laura Sánchez Velasco, Dr. Marcial Arellano Martínez y M. en C. Yoloxochitl Elizabeth Rodríguez Montesinos, por contribuir, con sus observaciones y comentarios, a enriquecer el presente trabajo.

A quienes me ayudaron en diferentes aspectos que fueron esenciales para la realización de este estudio. Al M. en C. Víctor Carrasco Chávez y a la Biól. Mariana Rodríguez Trejo por su valiosa ayuda y enseñanzas en el análisis químico. A la M. en C. Laura Carreón Palau por facilitarme las instalaciones del laboratorio que está bajo su cargo y por la ayuda efectiva y orientación durante el uso del cromatógrafo de gases. Al M. en C. Ernesto Goyortúa Bores por la asesoría en la formulación y elaboración de los alimentos experimentales. Al M. en C. Martín Oscar Rosales Velásquez, por su invaluable enseñanza en el mantenimiento de los reproductores y por el financiamiento del calamar. Al M. en C. Rubén Esteban García Gómez por el apoyo en la determinación de la calidad de agua de los sistemas de soporte de vida. A los alumnos de servicio social del CETMAR, en especial a Betsa y Andrés, por su ayuda en el mantenimiento del SCID y a los Capitanes Ciro y Cone por su apoyo en la pesca.

A quienes mantuvieron mi barco a flote en los momentos de economía difícil y por su amistad: José Luis, Martín Oscar, Víctor, Martín Mendoza y Nicolás.

A mis amigos: Víctor, Martín Oscar, José Luis, Tanos, Nicolás, Alfredo, Rubén, Julio, Shelley, Gil, Rebeca, Luis, Rosa, Arturo, Azucena, Natalia, Damaris, Mariana (segunda) y José Ángel, por las pláticas y amenas discusiones que han sido parte substancial e indispensable para soportar de forma llevadera, el trabajo, con tintes de lejanía, de la acuicultura experimental.

A mi familia por su comprensión, paciencia y el gran esfuerzo que han hecho para mantener siempre fuerte los vientos que inflaman mis velas.

A Mariana, por haberme permitido contemplar toda mi vida en sus ojos, por poner en mis manos una brújula para dirigir mis navegaciones y darme una nueva óptica de la vida.

Índice

Glosario	i
Lista de cuadros	iii
Lista de figuras	iv
Lista de abreviaturas	v
Resumen	vii
Abstract	viii
1. Introducción	1
2. Antecedentes	5
2.1. Especie de estudio	5
2.1.1. Taxonomía	5
2.1.2. Distribución geográfica	5
2.1.3. Hábitos alimentarios	6
2.1.4. Aspectos reproductivos	6
2.2. Ontogenia y estilos reproductivos de peces	7
2.3. Importancia de los ácidos grasos en la reproducción y en la ontogenia de peces	10
2.4. Criterios para la evaluación de la calidad de embriones y Larvas	16
2.5. Estudios sobre nutrición de reproductores	18
2.5.1. Estudios sobre requerimientos de ácidos grasos	19
2.5.2. Estudios sobre requerimientos de proteínas	24
2.5.3. Estudios sobre nutrición de reproductores de <i>Paralabrax maculatofasciatus</i>	25
3. Justificación	27
4. Objetivos	28
4.1. Objetivo general	28
4.2. Objetivos específicos	28

5. Materiales y métodos	29
5.1. Sistemas de soporte de vida.	29
5.1.1. Sistema cerrado de inducción al desove (SCID)	29
5.1.2. Sistema de cultivo de embriones y larvas (SCEL)	32
5.2. Animales experimentales	35
5.2.1. Captura	35
5.2.2. Cuarentena, determinación del sexo, biometría, marcado y distribución	35
5.2.3. Condiciones ambientales y rutinas de alimentación y mantenimiento	36
5.3. Alimentos experimentales	37
5.3.1. Formulación	37
5.3.2. Elaboración	39
5.4. Alimentos frescos	40
5.4.1. Calamar	40
5.4.2. Mojarra	40
5.5. Diseño experimental	41
5.6. Criterios de calidad	42
5.6.1. Parámetros reproductivos	42
5.6.1.1. Fecundidad parcial	42
5.6.1.2. Viabilidad de embriones	42
5.6.2. Parámetros morfológicos	43
5.6.2.1. Morfología de los blastómeros	43
5.6.3. Índices zootécnicos	45
5.6.3.1. Tasa de eclosión	46
5.6.3.2. Transformación larvaria	46
5.6.3.3. Sobrevivencia larvaria	46
5.6.3.4. Normalidad larvaria	46
5.6.3.5. Sobrevivencia larvaria al estrés osmótico	47
5.6.3.6. Sobrevivencia a la Inanición	47
5.6.3.7. Normalidad larvaria en inanición	47

5.6.4. Morfometría de embriones y Longitud notocordal de larvas	48
5.6.5. Composición de ácidos grasos de embriones	48
5.7. Técnicas analíticas	49
5.7.1. Calidad de agua	49
5.7.2. Análisis químico proximal	49
5.7.3. Análisis de ácidos grasos	50
5.7.3.1. Extracción de lípidos totales	50
5.7.3.2. Extracción de ésteres metílicos de ácidos grasos	51
5.7.3.3. Identificación y cuantificación de ácidos grasos	52
5.8. Análisis estadístico	53
6. Resultados	54
6.1. Calidad de agua de los sistemas de soporte de vida	54
6.2. Biometría de reproductores	55
6.3. Alimentos	55
6.3.1. Composición química proximal de los alimentos experimentales y frescos	55
6.3.2. Composición de ácidos grasos de los alimentos experimentales y frescos	56
6.4. Criterios de calidad	61
6.4.1. Parámetros reproductivos	61
6.4.1.1. Fecundidad parcial	61
6.4.1.2. Viabilidad de embriones	62
6.4.2. Parámetros morfológicos	63
6.4.2. Morfología de los blastómeros	63
6.4.3. Índices zootécnicos	64
6.4.3.1. Tasa de eclosión	64
6.4.3.2. Tasa de transición larvaria	64

6.4.3.3. Tasa de sobrevivencia larvaria	64
6.4.3.4. Tasa de normalidad larvaria	64
6.4.3.5. Tasa de sobrevivencia al estrés osmótico	64
6.4.3.6. Tasa de sobrevivencia a la inanición	65
6.4.3.7. Tasa de normalidad larvaria en la inanición	65
6.4.4. Parámetros morfométricos de embriones	66
6.4.4.1. Diámetro promedio del glóbulo de aceite	66
6.4.4.2. Coeficiente de forma y razón del diámetro del glóbulo de aceite	66
6.4.4.3. Diámetro promedio del huevo	66
6.7.4.4. Coeficiente de forma y razón del diámetro del huevo	67
6.4.5. Longitud notocordal de larvas	67
6.5. Composición de ácidos grasos de embriones	69
7. Discusión	
7.1. Efecto de la composición del alimento sobre los parámetros reproductivos	75
7.2. Efecto de la composición de ácidos grasos de los alimentos experimentales y frescos suministrados a reproductores sobre la composición de ácidos grasos de los embriones	76
7.3. Efecto de la composición de AG de los embriones sobre su calidad	79
8. Conclusiones	86
9. Recomendaciones	87
10. Bibliografía	88

Glosario

Ácidos grasos (AG): Ácidos alcanóicos y alquenoicos; estos son ácidos orgánicos saturados o insaturados que tienen generalmente una cadena de carbonos no ramificada. Son los componentes mayoritarios de la mayoría de los lípidos (Gunstone y Herndlöf, 2000).

Ácidos grasos esenciales (AGE): Ácidos grasos poliinsaturados de las series (n-3) y (n-6) que son esenciales para la vida y no pueden ser sintetizados (o lo son en cantidades insuficientes) por los animales, por lo que deben ser obtenidos del alimento. En vertebrados son esenciales el 18:2 (n-6), 18:3 (n-3), 20:4 (n-6), 20:5 (n-3) y 22:6 (n-3) (Gunstone y Herndlöf, 2000).

Ácidos grasos monoinsaturados (AGMI): Ácidos grasos con un doble enlace, generalmente tiene configuración *cis* (Gunstone y Herndlöf, 2000).

Ácidos grasos poliinsaturados (AGPI): Ácidos grasos con más de un doble enlace. Los dobles enlaces tienen por lo general configuración *cis* (Z) y son metileno interrumpidos (Gunstone y Herndlöf, 2000).

Ácidos grasos saturados (AGS): Ácidos grasos sin doble enlace carbono-carbono (Gunstone y Herndlöf, 2000).

Activación: Es el comienzo de la ontogenia, caracterizado por la descarga de los alvéolos corticales, la formación del espacio perivitelino (fluido) en el huevo y la diferenciación bipolar. El proceso normalmente se inicia por contacto con el agua (Balon, 1981).

Adaptación: Relación de congruencia operacional entre un sistema vivo y el dominio de existencia en la cual el sistema vivo conserva su organización debido a que sus interacciones con el dominio solo produce perturbaciones (cambios en la estructura sin la pérdida de la organización) (Maturana y Mpodozis, 2000).

Ambiente: Es toda aquella parte del medio que no forma parte del nicho (Maturana y Mpodozis, 2000).

Autopoiesis: Tipo de organización cuya configuración es una red de procesos de producción de componentes, los cuales, a través de sus continuas interacciones y transformaciones, generan los mismos procesos de producción que los originan y con esto constituyen al sistema como una unidad autónoma (Maturana y Varela, 2004).

Desove voluntario: Liberación de gametos durante el acto reproductivo natural, sin masaje abdominal u otro proceso mecánico que induzca a la liberación de gametos.

Eclosión: Proceso por el cual el embrión emerge de las envolturas del huevo (el embrión eclosiona, el huevo no) (Balon 1981).

Ésteres metílicos: Un éster derivado de un ácido carboxílico y metanol. Los ésteres metílicos son producidos por esterificación o metanólisis (Gunstone y Herndlöf, 2000).

Esterificación: La reacción por la cual los ésteres son formados de un alcohol y un ácido carboxílico, usualmente en presencia de un catalizador ácido (Gunstone y Herndlöf, 2000).

Homeorresis: Procesos que mantienen estabilizada la dinámica interna de un sistema biológico (Balon, 2002).

Iteroparo: Se dice de las especies que tienen desoves múltiples en su estación reproductiva (Helfman *et al.*, 1997).

Lípidos: Son ácidos grasos, sus derivados y las sustancias relacionadas biosintéticamente o funcionalmente a estos compuestos (Gunstone y Herslöf, 2000).

Medio: Es el nicho más el ambiente (Maturana y Mpodozis, 2000).

Nicho: Parte del medio con la cual el ser vivo interactúa, llamada también su dominio de existencia (Maturana y Mpodozis, 2000).

Ontogenia: Historia del cambio estructural de una unidad sin que ésta pierda su organización (Maturana y Varela, 2004).

Organización autopoietica: véase *autopoiesis*.

Semélparo: Se dice de las especies que realizan solo un desove en su vida (Helfman *et al.*, 1997).

Sinmorfosis: Estado de diseño estructural resultado de la morfogénesis regulada en congruencia a la demanda funcional (Weibel *et al.*, 1991)

Sistema cerrado: En ingeniería acuícola son aquellos en los que el fluido de trabajo es colocado dentro del sistema y éste es raramente cambiado con fuentes externas al sistema (Wheaton, 1982).

Vitelo: Todo el material acumulado en un oocito que subsecuentemente sirve como nutrientes para el embrión (Wiegand, 1996).

Lista de cuadros

Cuadro 1.	Clasificación de los estilos reproductivos de peces.....	9
Cuadro 2.	Criterios para la evaluación del desempeño reproductivo y calidad de embriones y larvas utilizados en especies que presentan ontogenia indirecta y estilo reproductivo no protector pelagófilo.....	17
Cuadro 3.	Fórmulas de los alimentos experimentales utilizados para alimentar reproductores de <i>Paralabrax maculatofasciatus</i>	38
Cuadro 4.	Configuración del experimento para probar el efecto del nivel de ácidos grasos esenciales y proteína en el alimento de reproductores de <i>Paralabrax maculatofasciatus</i> sobre la calidad de embriones y larvas.....	42
Cuadro 5.	Parámetros morfométricos medidos y calculados de embriones y longitud notocordal de larvas de <i>Paralabrax maculatofasciatus</i>	48
Cuadro 6.	Factores físicos y químicos de los sistemas de soporte de vida de <i>Paralabrax maculatofasciatus</i> durante el periodo experimental.....	54
Cuadro 7.	Longitud patrón y peso total de los peces reproductores de <i>Paralabrax maculatofasciatus</i> al inicio del experimento.....	55
Cuadro 8.	Composición química proximal y de ácidos grasos de los alimentos experimentales y frescos utilizados para alimentar a los reproductores de <i>Paralabrax maculatofasciatus</i>	59
Cuadro 9.	Índices zootécnicos de embriones y larvas de <i>Paralabrax maculatofasciatus</i> obtenidos de reproductores alimentados con alimentos experimentales y frescos	65
Cuadro 10.	Parámetros morfométricos de embriones y longitud notocordal de larvas de <i>Paralabrax maculatofasciatus</i> obtenidas de reproductores alimentados con alimentos experimentales y frescos.....	68
Cuadro 11.	Composición de ácidos grasos de los embriones obtenidos de reproductores de <i>Paralabrax maculatofasciatus</i> alimentados con alimentos experimentales y frescos.....	73

Lista de figuras

Figura 1.	Los tres tipos de ontogenia del modelo de historia de vida con desarrollo en saltos y su tipo de adquisición de nutrientes.....	8
Figura 2.	Diagrama esquemático del Sistema Cerrado de Inducción al Desove (SCID) utilizado con los reproductores de <i>Paralabrax maculatofasciatus</i>	31
Figura 3.	Diagrama esquemático del Sistema de Cultivo de Embriones y Larvas (SCEL) utilizado con <i>Paralabrax maculatofasciatus</i>	34
Figura 4.	Embriones de <i>Paralabrax maculatofasciatus</i> en fase de segmentación, con deformidades extremas en cada parámetro determinado.....	44
Figura 5.	Fecundidad parcial promedio de reproductores de <i>Paralabrax maculatofasciatus</i> sometidos a los tratamientos alimentarios.....	61
Figura 6.	Valores del índice de viabilidad determinados en los peces reproductores de <i>Paralabrax maculatofasciatus</i> sometidos a los tratamientos alimentarios.....	62
Figura 7.	Valor de forma de los blastómeros de embriones en fase de segmentación obtenidos de reproductores de <i>Paralabrax maculatofasciatus</i> alimentados con alimentos experimentales y frescos.....	63

Lista de abreviaturas

AAL	Aminoácidos libres
AG	Ácidos grasos
AGAI	Ácidos grasos altamente insaturados
AGE	Ácidos grasos esenciales
AGMI	Ácidos grasos monoinsaturados
AGPI	Ácidos grasos poliinsaturados
AGS	Ácidos grasos saturados
AGT	Ácidos grasos totales
EMAG	Ésteres metílicos de ácidos grasos
LT	Lípidos totales
SCEL	Sistema de cultivo de embriones y larvas
SCID	Sistema cerrado para la inducción al desove
UC	Unidad de cultivo

Nomenclatura de los ácidos grasos

Estructura	Nombre sistemático	Nombre trivial
14:0	tetradecanoico	mirístico
15:0	pentadecanoico	-
16:0	hexadecanoico	Palmítico
17:0	heptadecanoico	-
18:0	octadecanoico	esteárico
19:0	nonadecanoico	-
20:0	eicosanoico	araquídico
22:0	docosanoico	behenico
24:0	tetracosanoico	lignocerico
16:1 (n-5)	11-hexadecenoico	-
16:1 (n-7)	9-hexadecenoico	palmitoleico
16:1 (n-9)	7-hexadecenoico	-
17:1	heptadecenoico	-

18:1 (n-9)	9-octadecenoico	oleico
18:1 (n-9) <i>trans</i>	9-octadecenoico <i>trans</i>	elaidico
18:1 (n-12)	6-octadecenoico	petroselinico
18:1 (n-7)	11-octadecenoico	<i>cis</i> -vaccenico
18:1 (n-7) <i>trans</i>	11-octadecenoico <i>trans</i>	<i>trans</i> -vaccenico
20:1 (n-11)	9-eicosenoico	gadoleico
20:1 (n-9)	11-eicosenoico	gondóico
22:1 (n-9)	13-docosenoico	-
22:1 (n-7)	15-docosenoico	-
22:1 (n-11)	11-docosenoico	cetoleico
22:1 (n-17)	5-docosenoico	-
22:1 (n-19)	13-docosenoico	erucico
24:1 (n-9)	15-tetracosenoico	nervónico
16:2 (n-4)	9,12-hexadecadienoico	-
18:2 (n-6)	9,12-octadecadienoico	linoleico
18:3 (n-6)	6,9,12-octadecatrienoico	γ linolénico
18:3 (n-3)	9,12,15-octadecatrienoico	α linolénico
18:4 (n-3)	6,9,12,15-octadecatetraenoico	estearidónico
20:2 (n-6)	11,14-eicosadienoico	-
20:3 (n-3)	11,14,17-eicosatrienoico	-
20:3 (n-6)	8,11,14-eicosatrienoico	dihomo γ linolénico
20:3 (n-9)	5,8,11-eicosatrienoico	meádico
20:4 (n-6)	5,8,11,14-eicosatetraenoico	araquidónico
20:5 (n-3)	5,8,11,14,17-eicosapentaenoico	timnodónico
22:5 (n-6)	4,7,10,13,16-docosapentaenoico	-
22:5 (n-3)	7,10,13,16,19-docosapentaenoico	clupanodónico
22:6 (n-3)	4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico	cervónico

Resumen

Cuando se elabora un alimento artificial para los reproductores de peces marinos, es importante considerar los niveles y proporciones ácidos grasos esenciales (AGE) (20:5 n-3, 22:6 n-3 y 20:4 n-6), que determinarán que el vitelo contenga un correcto balance entre los AGE que asegure el desarrollo apropiado de todos los sistemas del embrión hasta la transformación en larva. Actualmente la alimentación de reproductores de *Paralabrax maculatofasciatus* esta basada en el alimento fresco, lo cual resulta inadecuado si se pretende llevar su cultivo a escala comercial. Por lo que en el presente trabajo se estudió el efecto del nivel de AGE en el alimento de reproductores sobre la calidad de embriones y larvas. Para esto se realizó un experimento, en donde se probaron seis alimentos balanceados con dos niveles de proteína (45 y 55 %) y tres de AGE (0.3, 1 y 4 %) y dos frescos (juveniles de mojarra, *Eucinostomus* spp. y calamar, *Loligo opalescens*). Se evaluaron los parámetros reproductivos (fecundidad parcial y la viabilidad), morfológicos (la morfología de los blastómeros) e índices zootécnicos (tasas de eclosión, transformación larvaria, sobrevivencia larvaria, sobrevivencia al estrés osmótico, a la inanición, la normalidad a la inanición, morfometría de embriones y larvas) y se determinó la composición de AG de los embriones. Los resultados indicaron que la concentración de AGE en alimentos tuvo solo influencia sobre el contenido de 20:4 (n-6) y 20:5 (n-3), lo cual a su vez hizo variar la relación 20:4 (n-6)/20:5 (n-3) y 22:6 (n-3)/20:5 (n-3), y fueron mayores en los embriones obtenidos de reproductores alimentados con mojarra. Esta composición se vio solo reflejada en la morfología de los blastómeros y la resistencia de larvas al estrés osmótico, en los cuales, los embriones obtenidos de reproductores alimentados con mojarra presentaron valores significativamente mayores a los obtenidos con los otros alimentos. Se concluyó que el nivel de proteína de 45% de los alimentos experimentales no tuvo efecto negativo sobre los parámetros reproductivos y la calidad de embriones y larvas, y que el contenido de 20:4 (n-6) en el alimento de reproductores condicionó la composición y la calidad de embriones y larvas, siendo la mojarra con la que se tuvo un nivel mayor de 20:4 (n-6) en embriones y la mejor calidad, en términos de morfología de los blastómeros y sobrevivencia larvaria al estrés osmótico agudo.

Abstract

When an artificial food for marine fish broodstock is elaborated, it is important to consider the essential fatty acids (EFAs) (20:5 (n-3), 22:6 (n-3) y 20:4 (n-6)) levels and proportions will determine that yolk contains a correct balance among the EFAs that assures the appropriate development of all the embryo systems until the larvae transformation. At the moment the broodstock feeding of *Paralabrax maculatofasciatus* this based on fresh food, that which is inadequate for rearing to commercial scale. For that presently work the effect of the level of EFAs it was studied in broodstock food on the quality of embryos and larvae. For this was carried out an experiment where six balanced foods with two protein levels (45 and 55 %) and three EFA (0.3, 1 and 4 %) and two fresh foods (mojarra juvenile, *Eucinostomus* spp. and squid, *Loligo opalescens*) were proven. The reproductive parameters were evaluated (partial fecundity and viability), morphological (morphology blastomere) and zootecnic index (hatching, larvae transformation, larvae survival, osmotic stress survival, starvation survival, normality larvae starvation, embryos and larvae morphometry) and the fatty acids embryos composition was determined. The results indicated that the concentration of EFAs foods only had influence on 20:5 (n-3) and 20:4 (n-6) content, which in turn made vary the relationship 20:4 (n-6)/ 20:5 (n-3) and 22:6 (n-3)/20:5 (n-3) and they were bigger in the obtained embryos of broodstock fed with mojarra. This composition was reflected only in morphology blastomere and osmotic stress larvae resistance, in which, the obtained embryos of broodstock fed with mojarra presented significantly bigger values to those obtained with the other foods. The conclusion that the protein level of 45 % of experimental foods didn't have negative effect on the quality of embryos and larvae and only the 20:4 (n-6) content conditioned the composition and the quality of embryos and larvae, being with the mojarra that had a level bigger 20:4 (n-6) and that the best quality, in terms of the blastomere morphology and larvae survival to the acute osmotic stress, was presented.

1. Introducción

El cultivo de peces marinos se inició en Indonesia (1400 d. C.) con el cultivo de *Chanos chanos* bajo el sistema extensivo en estanques supramareales y con juveniles obtenidos del ambiente natural (Shepherd, 1988). No obstante, con el devenir histórico de éste sistema de producción aplicado a diferentes especies marinas, surgió el problema del desabasto de juveniles para la proyección de los ciclos de cultivo, debido a la alta variabilidad de las poblaciones naturales.

Por esto, en 1932 se realizaron en Japón los primeros intentos de larvicultura de *Plecoglossus altivelis* y de *Chrysophrys major* (= *Pagrus major*) (Kanazawa, 1991; Fushimi, 2001) con embriones obtenidos bajo condiciones controladas, con el objeto de no depender de las poblaciones naturales; pero fue a partir de 1960, con el descubrimiento del valor de los rotíferos *Brachionus* spp. como primer alimento para larvas y del desarrollo de las técnicas para su cultivo masivo (Watanabe *et al.*, 1983; Takeuchi, 2001), que fue posible realizar el cultivo larvario de *P. altivelis* (en 1963), *Takifugu rubripes* (en 1964) y de *P. major* (en 1965-1966) (Fulks y Main, 1991; Hagiwara *et al.*, 2001). La tecnología para el cultivo de peces marinos (*P. major*), basada en la producción masiva de juveniles bajo condiciones controladas, quedó establecida por los japoneses a finales de 1970 y comenzó a operar de forma intensiva a partir de 1980 (Fushimi, 2001).

A pesar del avance en las técnicas de larvicultura, la producción de juveniles estuvo limitada, debido a la variabilidad en la obtención de embriones de buena calidad, por lo que a partir de 1980 se iniciaron en Japón una serie de estudios sobre la nutrición de reproductores de *P. major*, *Seriola quinqueradiata*, *Pseudocaranx dentex* y *Paralichthys olivaceus*, en los cuales evaluaron la fuente y calidad de lípidos, AGE, pigmentos, fósforo, vitaminas y proteínas en el alimento, y determinaron su relación con la calidad de los embriones y larvas producidas (Watanabe y Vasallo-Angius, 2003).

Posteriormente, las técnicas para el cultivo de larvas y manejo de reproductores de *P. major* fueron adoptadas y desarrolladas para el cultivo en ciclo cerrado de *Dicentrarchus labrax* y *Sparus aurata* en Europa (Moretti *et al.*, 1999),

para *P. major*, *Sparus macrocephalus* (= *Acanthopagrus schlegelii*), *Sparus* (= *Acanthopagrus*) *latus*, *Liza haematocheila* (= *Chelon haematocheilus*), *Mugil cephalus*, *Psetta maxima*, *P. olivaceus*, *Miichthys myuui*, *Pseudosciaena* (= *Larimichthys*) *crocea* y *Lateolabrax japonicus* en China (Hong y Zhang, 2003), para *C. chanos*, *Lates calcarifer* y *Cromileptes altivelis* en el sureste de Asia (Marte, 2003), para *Polydactylus sexfilis*, *Sciaenops ocellatus*, *Paralichthys dentatus*, *Coryphaena hippurus*, *Lutjanus analis*, *Trachinotus carolinus* en E.U.A. (Lee y Ostrowski, 2001) y para *Gadus morhua* en Noruega (Brown *et al.*, 2003).

En México, los estudios para el cultivo de peces marinos comenzaron con el realizado por Matus-Nivón *et al.* (1990), en el cual evaluaron el potencial de cultivo de *Cynoscion parvipinnis*, *Gerres cinereus*, *Paralabrax maculatofasciatus*, *Eugerres axillaris*, *Calamus brachisomus*, *Atherinops affinis*, *Chaetodipterus zonatus* y *Anisotremus* sp. con el uso, como criterios de evaluación, del crecimiento al primer y segundo mes después de la eclosión, sobrevivencia, conducta (canibalismo y hábitos gregarios), resistencia a la manipulación, procedencia de los embriones (desove manual o de campo) y esfuerzo requerido para alcanzar los resultados deseados.

A pesar de la poca información disponible, a partir de 1994 se publicaron una serie de informes editados por dependencias gubernamentales (Secretaría de Pesca; Instituto Nacional de Pesca), en convenio con diferentes universidades y centros de investigación. Los documentos tratan del “*desarrollo científico y tecnológico*” del cultivo de *P. maculatofasciatus* (Cadena-Roa y Roldan-Liebenson, 1994; Avilés-Quevedo *et al.*, 1995; Avilés-Quevedo y Mazón-Suástegui, 1996), *Totoaba macdonaldi* (Barrera-Guevara *et al.*, 1994), *S. ocellatus* (Arredondo-Figueroa *et al.*, 1994a), *Seriola dorsalis* (= *S. lalandi*) (Arredondo-Figueroa *et al.*, 1994b), *Caranx hippos* (= *C. caninus*) (Arredondo-Figueroa *et al.*, 1994b), Centropomidae (Muhliah-Melo *et al.*, 1994; Avilés-Quevedo y Mazón-Suástegui, 1996), *Lutjanus peru*, *L. guttatus*, *L. aratus*, *L. argentiventris* (Avilés-Quevedo y Mazón-Suástegui, 1996). Sin embargo, la información presentada en estos manuales se obtuvo de datos de estudios en especies de taxonomía afín, de técnicas desarrolladas en el extranjero o de trabajos en donde las condiciones experimentales no fueron controladas, por lo que dicha información no aporta métodos confiables para la operación de cada

proceso del ciclo de cultivo, y por ello es insuficiente para realizar cultivos intensivos a escala comercial.

No obstante, se ha logrado mediante estudios sistematizados en diferentes instituciones de investigación, la maduración y ovulación inducida por medio de manipulación hormonal y el desove artificial con masaje abdominal de *Sphoeroides annulatus* (Duncan *et al.*, 2003a y b), *L. peru* (Dumas *et al.*, 2004) y *Mycteroperca rosacea* (Gracia-López *et al.*, 2004a). Asimismo, se han realizado investigaciones para establecer protocolos de manejo de embriones y cultivo de larvas de *S. annulatus* (García-Ortega *et al.*, 2003; Komar *et al.*, 2004), *L. guttatus* (García-Ortega *et al.*, 2005) y *M. rosacea* (Gracia-López *et al.*, 2004b, 2005).

Sin embargo, es *P. maculatofasciatus* la especie con la se ha alcanzado un mayor conocimiento de los aspectos biológicos necesarios para el desarrollo de su biotecnología de cultivo intensivo. Se ha logrado la maduración, ovulación y desove voluntario con la obtención de embriones de buena calidad en cualquier época del año, por medio del control fototérmico (Rosales-Velázquez *et al.*, 1992) y de la alimentación de los reproductores con *Eucinostomus* spp. (Rosales-Velázquez, 1997). Ha sido desarrollado un protocolo de crianza de larvas con el que se ha obtenido, al inicio del periodo juvenil, sobrevivencias aceptables (11 %) para su producción a escala comercial (Alvarez-González *et al.*, 2001c). Así también, se han realizado estudios sobre nutrición y fisiología de larvas para aumentar la sobrevivencia durante el cultivo larvario y para lograr la substitución del alimento vivo (*Artemia* sp.) (Alvarez-González *et al.*, 2001b; Alvarez-González, 2003; Rodríguez-Trejo *et al.*, 2004; Carrasco-Chávez *et al.*, 2005; García-Gómez *et al.*, 2005; Olalde-Rodríguez *et al.*, 2005; Peña *et al.*, 2003, 2004, 2005; Peña y Dumas, 2005; Civera-Cerecedo *et al.*, 2007). De la misma forma, se han realizado estudios sobre nutrición de juveniles en el proceso de preengorda (Anguas-Vélez *et al.*, 2000a y b, Alvarez-González *et al.*, 2001a; Carrasco-Chávez, 2004; Tovar-Ramírez *et al.*, 2005) y de manejo en el proceso de engorda en jaulas flotantes (Grayeb-del Alamo, 2001).

A pesar de esto, a la fecha, todas las experiencias han sido obtenidas en condiciones experimentales, por lo que, para poder escalar a nivel comercial, es necesario seguir desarrollando conocimientos biológicos de cada uno de sus

periodos de vida, con el objeto de lograr la mayor optimización en cada etapa del ciclo productivo (producción de embriones, larvicultura, preengorda y engorda). Es por esto que, en la etapa de producción de embriones, es necesario no depender del alimento fresco (pescado y calamar) para la nutrición de reproductores, debido a que este tipo de alimento tiene las desventajas de que su calidad es variable, su disponibilidad es insegura y es un vehículo de patógenos potenciales (Watanabe y Vasallo-Angius, 2003). Por lo que un inadecuado control de la calidad del alimento de los reproductores resulta en un inadecuado control de la calidad de los embriones y por ende, del suministro y calidad de juveniles demandados para satisfacer las necesidades de los sistemas de producción masiva de peces marinos a lo largo del año (Luquet y Watanabe, 1986).

2. Antecedentes

2.1. Especie de estudio

2.1.1. Taxonomía

De acuerdo con Nelson (2006), la clasificación taxonómica de *Paralabrax maculatofasciatus* es la siguiente:

Phyllum: Chordata

Subphyllum: Craniata

Superclase: Gnathostomata

Grado: Teleostomi

Clase: Actinopterygii

Subclase: Neopterygii

División: Teleostei

Subdivisión: Euteleostei

Superorden: Acanthopterygii

Serie: Percomorpha

Orden: Perciformes

Suborden: Percoidei

Familia: Serranidae

Subfamilia: Serraninae

Género: *Paralabrax*

Especie: *P. maculatofasciatus* (Steindachner, 1868)

2.1.2. Distribución geográfica.

P. maculatofasciatus es de afinidad subtropical (Smith y Young, 1966). Se distribuye desde el centro de California, E.U.A., al Golfo de California, México. De hábito demersal, habita arrecifes planos, generalmente cubiertos por vegetación y adyacentes a fondos arenosos, desde la zona intermareal hasta los 60 m de profundidad (Allen y Robertson, 1998).

2.1.3. Hábitos alimentarios

La morfología oral de *P. maculatofasciatus*, en los periodos de juvenil y adulto, es altamente generalizada. Esto permite realizar diferentes secuencias cinemáticas durante la captura de sus presas, basadas en el tipo de presa y su movimiento (estrategia de multiplicidad moduladora) (Ferry *et al.*, 1997). Esta estrategia facilita la captura de diversos tipos de presas, lo que la caracteriza como un carnívoro generalista que se alimenta, dependiendo del periodo ontogénico y la oportunidad de depredación, de peces, crustáceos, equinodermos, equiúridos, anélidos y moluscos (Allen *et al.*, 1995; Ferry *et al.*, 1997; Mendoza-Carranza y Rosales-Casián, 2000), lo cual realiza durante el día (Thomson *et al.*, 2000).

2.1.4. Aspectos reproductivos

De acuerdo con la clasificación de los estilos reproductivos (Balon, 1990), *P. maculatofasciatus* se encuentra dentro de la sección etológica de los no protectores, en el grupo ecológico de los esparcidores de huevos en sustrato descubierto y en el gremio de los pelagófilos (desovadores pelágicos).

Presenta plasticidad reproductiva, que dependiendo de la estructura poblacional (densidad) y del establecimiento de jerarquías dentro de la unidad social que determinan los sistemas de apareamiento (desove en pareja, grupo o con machos furtivos) (Miller y Allen, 2006), puede llevarse a cabo el hermafroditismo protogínico o el gonocorismo secundario (Hovey y Allen, 2000). Exhibe desarrollo ovárico asincrónico, lo cual le permite tener desoves múltiples con una fecundidad parcial promedio de 10,300 óvulos por desove (Lluch-Cota, 1995) y con una frecuencia media entre desoves de dos días durante la época reproductiva, aunque tiene la capacidad de hacerlo diario, y ocurre entre el atardecer y el comienzo de la noche (Oda *et al.*, 1993).

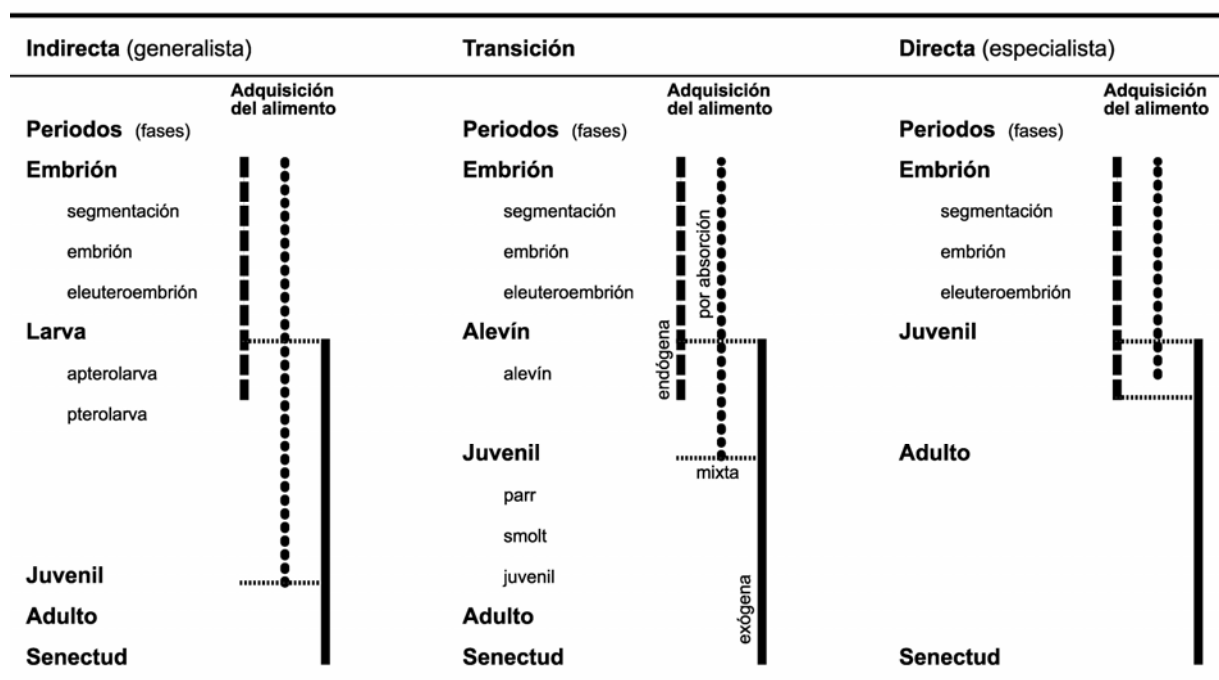
2.2. Ontogenia y estilos reproductivos de peces

La ontogenia es la historia de la transformación estructural de una unidad biológica sin que ésta pierda su organización autopoiética y su adaptación (Maturana y Varela, 2004). La ontogenia esta comprendida en una secuencia de intervalos de desarrollo (pasos de Balon, 2002; fenotipo ontogénico de Maturana y Mpodozis, 2000), en donde cada uno mantiene una serie de interacciones operacionalmente coherentes con un nicho ontogénico determinado (Maturana y Varela, 2004) y con esto, una dinámica interna estabilizada (homeorresis, Balon, 2002) y la continuidad de su autopoiesis (Maturana y Mpodozis, 2000). El cambio de un paso a otro implica la sincronización de los procesos heterocrónicos de la transformación estructural (Kovac, 2000) y la integración de las funciones nuevas, necesarias para mantener la coherencia operacional del organismo con su nicho nuevo (sinmorfosis de Weibel *et al.*, 1991; umbrales de Balon, 1999; acoplamiento estructural de Maturana y Varela, 2004), su homeorresis y autopoiesis. Balon (2002), en su teoría de la ontogenia en saltos, propone un clasificación jerarquizada de los intervalos del desarrollo de peces (Figura 1), en donde los pasos están incluidos dentro de fases (segmentación, embrión y eleuteroembrión) y éstas a su vez, dentro de periodos (embrión, larva o alevín o ausencia de ambas, juvenil, adulto y senectud) y como consecuencia de esta clasificación, plantea un modelo de historia de vida con tres tipos de ontogenia, de la más generalizada a la más especializada: La indirecta (con periodo larvario), de transición (con periodo alevín) y directa (sin periodos transitorios entre el periodo de embrión y el de juvenil).

El tipo de ontogenia es una consecuencia directa del la cantidad y calidad del material invertido en la formación del vitelo durante la reproducción (Balon, 2001). Con respecto a esto, Balon (1990) propone un sistema de clasificación de los estilos reproductivos (Cuadro 1), con base al nivel de protección de la descendencia y al sustrato de incubación y plantea que en las especies que muestran un estilo reproductivo con conducta protectora, producen relativamente pocos huevos con vitelo denso o desarrollan estructuras para la transferencia de nutrientes al embrión, lo cual origina que al terminar el periodo embrionario (nutrición endógena), inicie directamente el periodo juvenil (estado de desarrollo estructural avanzado). En

cambio, las que exhiben un estilo reproductivo sin conducta protectora, producen gran cantidad de huevos con cantidad limitada de vitelo y como consecuencia, el término de la nutrición endógena da lugar a una larva, la cual es una entidad con nutrición exógena (por absorción tegumentaria o ingestión oral y digestión y absorción intestinal) y estructuras temporales (cenogénicas) que son remplazadas por estructuras definitivas durante la metamorfosis en juvenil (Balon, 2002).

Figura 1. Los tres tipos de ontogenia del modelo de historia de vida con desarrollo en saltos y su tipo de adquisición de nutrientes. No se muestran los pasos. Adoptado y modificado de Balon (1986 y 2002).



Cuadro 1. Clasificación de los estilos reproductivos de peces (modificado de Balon, 1990).

Sección etológica					
A. No protectores		B. Protectores		C. Portadores	
Grupo ecológico					
A.1 Desovadores en sustrato descubierto		B.1 Vigilantes de huevos		C.1 Incubadores externos	
<i>Gremio:</i>	Sustrato de incubación:	<i>Gremio:</i>	Sustrato de incubación	<i>Gremio:</i>	Estructura de incubación:
Pelagófilos	columna de agua	Pelagófilos	superficie de agua	Temporal	transportadores temporales de huevos
Litopelagófilos	grava y rocas (larvas pelágicas)	Aerófilos	sobre el nivel del agua	Auxiliares	estructuras corporales externas
Litófilos	grava y rocas (larvas bentónicas)	Litófilos	rocas	Orales (sin alimentación larval)	cavidad bucal
Fitolitófilos	plantas (no obligado)	Fitófilos	plantas	Orales (con alimentación larval)	cavidad bucal
Fitófilos	plantas (obligado)			Cámara branquial	cavidad branquial
Sammófilos	arena			Sacos	marsupio externo
Aerófilos	terrestre				
A.2 Ocultadores de huevos		B.2 Anidadores		C.2 Incubadores internos	
	Sustrato de ocultación:		Tipo de nido:		Fertilización interna con:
Aerosammófilos	playa	Afrófilos	espuma	Lecitotróficos facultativos	liberación de embriones en segmentación
Speleófilos	cavernas	Polífilos	varios sustratos	Lecitotróficos obligados	sin transferencia de nutrientes a los embriones
Litófilos	rocas y grava	Litófilos	rocas y grava	Adelfófagos	canibalismo embrionario
Ostracófilos	invertebrados vivos	Ariadniófilos	secreción pegajosa	Histotróficos	nutrición embrionaria vía trofotenia
Xerófilos	cieno (peces anuales)	Fitófilos	material vegetal	Placentotróficos	nutrición embrionaria vía análogos placentarios
		Psamófilos	arena	Caracteres combinados	nutrición lecitotrófica, histotrófica y placentaria
		Speleófilos	cavidades		
		Actiniariófilos	anémonas		

2.3. Importancia de los ácidos grasos en la reproducción y la ontogenia de peces

Los lípidos son ácidos grasos, sus derivados y las sustancias relacionadas biosintéticamente o funcionalmente a estos compuestos (Gunstone y Herslöf, 2000), tales como los triacilglicéridos, fosfoglicéridos (fosfolípidos y esfingolípidos), ésteres de ceras y de colesterol (Sargent *et al.*, 2002). Los ácidos grasos son ácidos alcanóicos y alquenoicos generalmente no ramificados, y son los sillares estructurales de las diferentes clases lipídicas (Gunstone y Herslöf, 2000).

Todas las especies de peces estudiadas hasta el momento pueden sintetizar el 16:0 y 18:0 y partir de estos, por medio de la $\Delta 9$ desaturasa, al 16:1 (n-7) y 18:1 (n-9). Sin embargo, ninguna posee $\Delta 12$ y $\Delta 15$ desaturasas, por lo que no pueden sintetizar el 18:2 (n-6) y 18:3 (n-3) a partir del 18:1 (n-9) (Sargent *et al.*, 2002). Las especies dulceacuícolas de hábitos alimentarios omnívoros, herbívoros o carnívoros (insectívoros), por lo menos en algún periodo de sus vidas, como *Oncorhynchus mykiss* y *Pygocentrus nattereri*, tienen la capacidad de elongar y desaturar el 18:2 (n-6) y 18:3 (n-3) en 20:4 (n-6), 20:5 (n-3) y 22:6 (n-3), que son las formas más bioactivas, por lo que el 18:2 (n-3) y el 18:3 (n-3) son esenciales (Sargent *et al.*, 1995b).

No obstante, en general los peces marinos y en particular los carnívoros estrictos (larvas zooplanctófagas o juveniles y adultos piscívoros, independientemente si son marinos o dulceacuícolas) (Sargent *et al.*, 1995b) tienen actividad elongasa C_{18} - C_{20} baja (Agaba *et al.*, 2005) o actividad $\Delta 5$ desaturasa baja (Seilliez *et al.*, 2003; Zheng *et al.*, 2004). La pérdida de la capacidad de síntesis de 20:4 (n-6), 20:5 (n-3) y 22:6 (n-3), en la evolución de estas especies, parece ser una respuesta al alto contenido de estos ácidos grasos en sus presas, por lo que para estas especies el 20:4 (n-6), 20:5 (n-3) y 22:6 (n-3) son ácidos grasos esenciales (AGE) y sus requerimientos tienen que ser cubiertos por el alimento (Sargent *et al.*, 1995b).

El 22:6 (n-3) participa en el mantenimiento de las características específicas (fluidez, movimiento dentro de la membrana, formación y fusión de vesículas, compresibilidad elástica) de la membrana de células nerviosas y organelos

(mitocondrias). Estas características posibilitan la transmisión nerviosa en los sinaptosomas, el cambio de configuración estructural de las opsinas embebidas en la membrana externa de los discos de los fotorreceptores, durante el proceso visual o la modulación de la actividad de proteínas de transporte iónico a través de la membrana, entre otros procesos (Salem *et al.*, 2001; William y Wassall, 2003; Bazan, 2006).

El 20:4 (n-6) y 20:5 (n-3) son precursores de eicosanoides (prostaglandinas, prostacliclinas, tromboxanos, leucotrienos y lipoxinas) (Tocher, 2003) y el 22:6 (n-3) de docosanoides (neuroprotectinas) (Bazan, 2006), los cuales están implicados en los mecanismos de regulación fisiológica a nivel autocrino (Tocher, 2003). La síntesis de eicosanoides y docosanoides inicia con la liberación, por medio de las fosfolipasas A₂, de los ácidos grasos precursores, ubicados en los fosfolípidos de las membranas celulares (Chakraborti, 2003). Posteriormente, los ácidos grasos precursores liberados son transformados, por las cicloxigenasas, en derivados oxigenados cíclicos (prostaglandinas, prostacliclinas y tromboxanos) o por las lipoxigenasas, en derivados oxigenados lineales (leucotrienos, lipoxinas y neuroprotectinas) (Tocher, 2003; Bazan, 2006).

Las prostaglandinas y leucotrienos producidos a partir de 20:4 (n-6) son de la serie 2 y 4, respectivamente y tienen bioactividad mayor, en comparación con las producidas con el 20:5 (n-3), de las series 3 y 5 (Sargent *et al.*, 1995b). Las enzimas implicadas en la síntesis de estos compuestos tienen afinidad mayor por el 20:4 (n-6) que por el 20:5 (n-3), por lo que éste último modula la producción de eicosanoides a partir del 20:4 (n-6). La actividad de los eicosanoides está determinada por el balance 20:4 (n-6)/20:5 (n-3) en las membranas celulares y éste está determinado por sus proporciones relativas en el alimento (Tocher, 2003).

La dinámica de acumulación y utilización de los ácidos grasos durante el ciclo reproductivo difiere con relación al estilo reproductivo y el tipo de ontogenia (Sheridan, 1994). Los lípidos del alimento (triacilglicéridos, fosfoglicéridos, ésteres de ceras y colesterol), una vez en el intestino, son hidrolizados por lipasas (activadas por sales biliares y fosfolipasas) en ácidos grasos libres, 2-monoglicéridos, 1-acil-lisofosfolípidos, alcoholes grasos y colesterol (Sheridan, 1988; Tocher, 2003). Los

ácidos grasos liberados son emulsificados en micelas de sales biliares y absorbidos por los enterocitos, en donde son esterificados para formar triacilglicéridos y unidos a lipoproteínas de transporte (quilomicrones, lipoproteínas de densidad muy baja, densidad baja y densidad alta) (Sheridan, 1988). Los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) son transportados principalmente por lipoproteínas de densidad alta y los ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) y saturados (AGS), por lipoproteínas de densidad baja y de densidad muy baja (Tocher, 2003) y son transportados por el sistema linfático al sistema circulatorio y distribuidos a los diferentes tejidos, en donde son utilizados como energía, para formar membranas celulares o acumulados como triacilglicéridos en el tejido adiposo mesentérico, muscular o en el hígado (Sheridan, 1994).

En especies semélparas que presentan ontogenias de transición (p.e. *Oncorhynchus* spp.) e iteróparas, que presentan ontogenias de transición y directa y frecuencia de desoves relativamente baja (p.e. *Oreochromis* spp.), los AGE son acumulados en el músculo y tejido mesentérico, y posteriormente son movilizados al hígado en el proceso de vitelogénesis (Sargent, 1995a).

En cambio, las especies iteróparas (p.e. *Sparus aurata*), que presentan ontogenia indirecta y frecuencia de desoves alta, tienden a acumular muy pocas reservas de AGE y a movilizarlos directamente del alimento al hígado en el proceso de vitelogénesis (Izquierdo *et al.*, 2001).

La vitelogénesis es el proceso mayor de producción de vitelo (Wiegand, 1996; Tyler y Sumpter, 1996) y es iniciada por estímulos ambientales (fotoperiodo, temperatura, alimento) (Van Der Kraak *et al.*, 1998) y autocrinos (eicosanoides) (Lieb, 2001) que disparan la liberación de la hormona liberadora de hormonas gonadotrópicas (HLHG) del hipotálamo, la cual estimula la liberación de hormonas gonadotrópicas (HG I y HG II), las que a su vez, actúan sobre el folículo para la producción de estradiol (Tyler y Sumpter, 1996). El estradiol estimula la activación de la lipasa sensible a las hormonas, en el tejido adiposo (Sheridan, 1994; Sargent, 1995a) y la producción de vitelogeninas en el hígado (Mommensen y Walsh, 1988; Sargent, 1995a), así como también interviene, por retroalimentación, en la modulación de la liberación de la HLHG (Holloway y Leatherland, 1998).

Los AGE (así también proteínas, pigmentos, vitaminas, hormonas, iones, entre otros) son movilizados de fuentes dietéticas o reservas corporales al hígado (Sargent, 1995a; Wiegand, 1996; Brooks *et al.*, 1997), para la producción de vitelogeninas, lipoproteínas y proteínas de la envoltura del huevo (Brooks *et al.*, 1997; Tocher, 2003). La vitelogenina transporta principalmente fosfolípidos (con alto nivel de AGE) y proteínas, y se acumula mediante endocitosis facilitada por receptores en el oocito (Wiegand, 1996; Brooks *et al.*, 1997), activados por la HG I (Tyler y Sumter, 1996). Los lípidos neutros (triacilglicéridos y ésteres de cera y colesterol, con altos niveles de AGS y AGMI) son transportados al oocito principalmente por lipoproteínas de densidad baja y de densidad muy baja (Wiegand, 1996, Tocher, 2003). Una vez en el oocito, la vitelogenina y las lipoproteínas son separadas en sus componentes (lipovitelina, fosvitina, proteínas de bajo peso molecular y lípidos neutros) por acción enzimática (catepsina L) (Mommensen y Walsh, 1988; Brooks *et al.*, 1997; Rønnestad *et al.*, 1999).

Después del proceso de vitelogénesis, ocurre la maduración final del oocito, que es estimulada por la HG II y la pregnenolona (17,20-PG) (Goetz y Garczynski, 1997). Durante la maduración final, la vesícula germinal (núcleo) migra a la periferia del oocito, en donde se efectúa la ruptura de la membrana nuclear, los glóbulos del vitelo y lipídicos se coalescen, debido a la proteólisis enzimática del vitelo (Mylonas *et al.*, 1997a y b) y con ello ocurre la formación del glóbulo de aceite, en el caso de las especies que lo presentan y un aumento del contenido aminoácidos libres (AAL) (Rønnestad *et al.*, 1999). El contenido alto de AAL, en oocitos de especies con estilo reproductivo no protector pelagófilo, incrementa la osmolaridad del vitelo y en consecuencia el oocito absorbe agua (proceso de hidratación), con lo que aumenta su tamaño y disminuye su densidad, lo cual le confiere al óvulo la capacidad de flotar en el medio marino (Craik y Harvey, 1987; Rønnestad *et al.*, 1999; Cerdà, 2002).

Antes de terminar la hidratación, comienza el proceso de ovulación, que consiste en la separación del oocito de la granulosa, la ruptura del folículo y la liberación del oocito maduro, por la zona de ruptura, al lumen gonadal (Goetz y Garczynski, 1997). La ovulación es inducida por estímulos ambientales y está controlada por la HG II y la 17,20-PG (Goetz y Garczynski, 1997; Peter y Yu, 1997),

las cuales activan la producción de prostaglandinas $\text{PGF}_{2\alpha}$ (derivadas del 20:4 (n-6)) que actúan, por medio de un proceso inflamatorio en el folículo, en la liberación del oocito maduro (Goetz y Garczynski, 1997).

Las prostaglandinas $\text{PGF}_{2\alpha}$, después de la ovulación, funcionan como feromonas que disparan la conducta de cortejo en los peces machos y con esto, intervienen en la sincronización del desove (Sorensen y Stacey, 2004).

Las especies con estilo reproductivo no protector pelagófilo, pueden presentar óvulos sin glóbulo de aceite o con uno o más glóbulos de aceite (Rønnestad *et al.*, 1999). En las especies que presentan óvulos sin glóbulo de aceite, el vitelo se compone principalmente de AAL, proteínas y fosfolípidos (Wiegand, 1996). En cambio, en las especies que lo presentan, el glóbulo de aceite se compone de ésteres de cera y triacilglicéridos con alto contenido de AGS y AGMI y el vitelo se compone mayoritariamente de aminoácidos (AAL y proteínas) y fosfolípidos (mayoritariamente fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina) con alto contenido de AGPI (incluyendo los AGE) (Wiegand, 1996; Rønnestad *et al.*, 1998).

En este último tipo de óvulo, una vez que inicia el periodo embrionario (activación), la secuencia de utilización de nutrientes como sustratos catabólicos comienza con la utilización de los carbohidratos, como fuente de energía durante la división inicial hasta el inicio de epibolia, en la fase de segmentación (Boulekbache, 1981, Heming y Buddington, 1988; Rønnestad *et al.*, 1999). Una vez formado el periblasto, los AAL del vitelo son utilizados mayoritariamente como fuente de energía y en menor cantidad los fosfolípidos, durante la organogénesis, en la fase de embrión (Rønnestad *et al.*, 1999). En ésta fase, los AGE del vitelo son utilizados para la formación de membranas y la producción de eicosanoides implicados en la diferenciación celular (Lieb, 2001). Durante la fase de eleuteroembrión, los AGS y AGMI (principalmente 16:0 y 18:1 (n-9)) derivados de lípidos neutros del glóbulo de aceite, comienzan a ser utilizados como la principal fuente de energía (Wiegand, 1996; Carrasco-Chávez *et al.*, 2005). Simultáneamente, los AGE de los fosfolípidos del vitelo son utilizados para la formación de membranas celulares del sistema nervioso y la retina (principalmente el 22:6 (n-3) en la formación de la membrana externa de los discos de los conos y de sinaptosomas de las neuronas) (Sargent *et*

al., 1999) y para la producción de eicosanoides implicados en la sincronización del desarrollo de los sistemas de órganos y su integración funcional (p.e. osmoregulación) (Lieb, 2001) en los umbrales entre los pasos de este periodo y en el umbral del inicio del periodo larvario.

Al inicio del periodo larvario, la cantidad de vitelo es muy reducida (Balon, 1986) y los AGS y AGMI, derivados de lípidos neutros del glóbulo de aceite, son la fuente de energía para cubrir la demanda metabólica originada por el inicio de la conducta de captura de presas (Rainuzzo *et al.*, 1997; Rønnestad *et al.*, 1999; Díaz *et al.*, 2002). Una vez consumido el glóbulo de aceite, en el caso de larvas que no se hayan alimentado, las proteínas y los ácidos grasos de sus tejidos son catabolizados (Blaxter, 1988; Rainuzzo *et al.*, 1994; Parra *et al.*, 1999; Sargent *et al.*, 2002). Bajo estas condiciones, los AGS y los AGMI son preferentemente utilizados como energía (Rainuzzo *et al.*, 1994; Carrasco-Chávez *et al.*, 2005) y los AGPI son el último recurso energético (Rainuzzo *et al.*, 1994; Tocher, 2003), sin embargo, el 22:6 (n-3) es retenido preferencialmente en los tejidos (Koven *et al.*, 1989; Watanabe, 1993; Rainuzzo *et al.*, 1994, Wiegand, 1996; Rodríguez-Trejo *et al.*, 2004).

2.4. Criterios para la evaluación de la calidad de embriones y larvas

De acuerdo con Bromage *et al.* (1995), la calidad del óvulo se define como esas características que determinan su capacidad para sobrevivir. Kjørsvik *et al.* (2003) definen la calidad del óvulo como el potencial para producir descendencia viable. Estas definiciones son ambiguas debido a que no especifican los criterios para hacer las distinciones y los intervalos en los que se precisa lo que es de buena calidad.

Por lo general se utiliza la sobrevivencia durante algún proceso ontogénico que se considere un punto crítico, tales como la fertilización, eclosión y primera alimentación (Blaxter, 1988), como una medida directa de la calidad (Bromage *et al.*, 1994). Sin embargo, la determinación de los puntos críticos no está sustentada en la determinación de los umbrales ontogénicos (Balon, 1999), ya que los puntos críticos no siempre corresponden a los umbrales ontogénicos. A la fecha, no existe un consenso o estandarización para determinar la calidad de los embriones y larvas en las diferentes especies estudiadas (Bromage, 1995) y evidentemente es la consecuencia de la carencia de estudios donde se especifiquen los umbrales ontogénicos, los cuales pueden ser tomados efectivamente como puntos críticos reales con los que se determine la calidad en cualquier paso del desarrollo.

La sobrevivencia en el umbral que da inicio al periodo larvario, en especies que presentan ontogenia indirecta, es el resultado de la integración y eficiencia funcional de las estructuras que le permiten a la larva mantener su homeorrésis y autopoiesis (Kováč, 2000; Balon, 2002), que es la consecuencia del estado fisiológico de los reproductores (condición nutricional, edad, estrés) (Bromage, 1995; Brooks *et al.*, 1997; Carrillo *et al.*, 2000).

Para intentar predecir la sobrevivencia al inicio del periodo larvario, se han utilizado como criterios de calidad, algunas variables del desempeño reproductivo, del periodo embrionario y del periodo larvario (Cuadro 2), con los cuales se busca caracterizar su condición fisiológica (salud) en condiciones ambientales estándar y de estrés, con lo que se pretende establecer una calidad de referencia para poder realizar comparaciones entre diferentes grupos de embriones y larvas y distinguir su calidad.

Cuadro 2. Criterios para la evaluación del desempeño reproductivo y calidad de embriones y larvas utilizados en especies que presentan ontogenia indirecta y estilo reproductivo no protector pelagófilo.

Criterios Reproductivos	Referencias
Fecundidad	Watanabe y Kiron (1995)
Fecundación	Bromage (1995)
Criterios en embriones	
Fase de segmentación	
<i>Morfológicos:</i>	
Morfología de los blastómeros	Shields <i>et al.</i> (1997)
Aberraciones cromosómicas en la mitosis	Kjørsvick <i>et al.</i> (1984)
Fase de embrión	
<i>Morfológicos:</i>	
Diámetro del huevo y glóbulo de aceite	Lavens <i>et al.</i> (1999)
Índices morfométricos del huevo y glóbulo de aceite	Lahnsteiner y Patarnello (2005)
Número de glóbulos de aceite	Watanabe y Kiron (1995)
<i>Bioquímicos:</i>	
Contenido de AGE, vitaminas, antioxidantes, fósforo, AA, etc.	Furuita <i>et al.</i> (2003a, b y 2006)
Actividad enzimática (del metabolismo de los carbohidratos)	Giménez <i>et al.</i> (2006)
Osmolaridad del vitelo	Kjørsvick <i>et al.</i> (1984)
<i>Zootécnicos:</i>	
Tasa de fecundación	Bromage (1995)
Fracción de embriones flotantes	Watanabe y Kiron (1995)
Fase de eleuteroembrión	
<i>Morfológicos:</i>	
Longitud notocordal	Fernández-Palacios <i>et al.</i> (1995)
Deformidades (torción notocordal, vitelo hipertrófico)	Furuita <i>et al.</i> (2000)
<i>Zootécnicos:</i>	
Tasas de eclosión (% embriones que eclosionan y sobreviven)	Carrillo <i>et al.</i> (2000)
Estrés hiperosmótico agudo en eleuteroembriones	Kjørsvick <i>et al.</i> (2003)
Criterios en larvas	
Fase de apterolarva	
<i>Morfológicos:</i>	
Longitud notocordal	Fernández-Palacios <i>et al.</i> (1995)
Deformidades	Fernández-Palacios <i>et al.</i> (1995)
<i>Bioquímicos:</i>	
Actividad enzimática (esterasa)	Matsuo <i>et al.</i> (2006)
Tasa ARN: ADN	Kono <i>et al.</i> (2003)
<i>Zootécnicos:</i>	
Conducta (frecuencia de nado)	Matsuo <i>et al.</i> (2006)
Sobrevivencia al inicio del periodo larvario	Furuita <i>et al.</i> (2000)
Sobrevivencia larvaria a la inanición e índice de actividad	Matsuo <i>et al.</i> (2006)
Sobrevivencia al estrés hiperosmótico agudo	El presente trabajo

2.5. Estudios sobre nutrición de reproductores

En la reproducción, como ya se expuso, la gametogénesis y particularmente la vitelogénesis, es uno de los procesos epigénicos que determinan mayoritariamente la composición del vitelo y con ello el curso de la ontogenia (Balon, 2001), y está afectada directamente por el estado nutricional de los reproductores (Brooks *et al.*, 1997; Carrillo *et al.*, 2000). Es por esto, que la determinación de los requerimientos nutricionales de los reproductores, es el factor fundamental para la elaboración de alimentos completos que garanticen la buena calidad y cantidad de los embriones producidos.

Sin embargo, a diferencia de los estudios sobre nutrición de larvas y juveniles, los estudios sobre la nutrición de reproductores han sido escasos (Izquierdo *et al.*, 2001). Esto es debido, por una parte, a las grandes dimensiones de la infraestructura necesaria para realizar diseños experimentales acordes a los métodos recomendados (dosis-respuesta, un factor a probar con un mínimo de 6 niveles y tres réplicas por nivel) para el estudio de los requerimientos nutricionales (D'Abramo y Castell, 1994 ; Robaina e Izquierdo, 2000) y por otra parte, al desconocimiento del metabolismo de los nutrientes durante la reproducción (Wiegand, 1996), así también, de la biología del desarrollo de embriones y larvas, con los cuales se haría posible estandarizar métodos de manejo de reproductores y criterios para la evaluación de la calidad de embriones y larvas, lo que resultaría en la posibilidad de hacer comparaciones intra e ínterespecíficas.

A pesar de estas limitaciones, los estudios sobre nutrición de reproductores se han enfocado fundamentalmente de tres formas:

1. En el estudio de la movilización de nutrientes de las reservas corporales durante el ciclo reproductivo en peces silvestres (particularmente Salmoniformes, Luquet y Watanabe, 1986).
2. En el efecto de diferentes ingredientes en alimentos artificiales o de diferentes alimentos frescos sobre el desempeño reproductivo y la calidad de embriones y larvas, deduciendo que el efecto se debió a cierto nutriente presente en algún ingrediente en particular.

3. En el efecto de diferentes niveles de un nutriente en particular en alimentos artificiales sobre el desempeño reproductivo y la calidad de embriones y larvas.

2.5.1. Estudios sobre requerimientos de ácidos grasos

A diferencia de los requerimientos de proteínas-aminoácidos en los diferentes periodos de vida de las especies de peces estudiadas, los requerimientos de lípidos no han sido óptimamente establecidos (Sargent *et al.*, 2002). El problema radica en la complejidad de las rutas bioquímicas de los ácidos grasos, la cual se debe fundamentalmente a que las reacciones enzimáticas del metabolismo de estas sustancias suceden en las membranas celulares, es decir, en la fase hidrofóbica de las células. Esto deriva en una baja especificidad de las enzimas por un ácido graso particular y que a diferencia del determinismo genético de las proteínas, la composición de ácidos grasos de los tejidos está afectada por una interacción entre el genoma y el ambiente (principalmente el alimento) (Sargent *et al.*, 2002). De esta manera, durante la vitelogénesis, la composición de ácidos grasos del alimento de los reproductores afecta de manera directa el contenido y proporciones de ácidos grasos del vitelo, por lo que resulta necesario establecer no solo las cantidades absolutas de ácidos grasos, sino también sus proporciones relativas en el alimento para reproductores (Bell, *et al.*, 1997; Bruce *et al.*, 1999; Sargent *et al.*, 1999).

Uno de los primeros estudios sobre la relación entre la composición de ácidos grasos del alimento y de los tejidos asociados a la reproducción fue el realizado por Lasker y Theilacker (1962) en *Sardinops caerulea* (= *S. sagax*). Estos autores encontraron en general, que los ovarios en los diferentes estadios de maduración, tejido sanguíneo y embriones obtenidos de organismos silvestres tuvieron un patrón de composición de ácidos grasos similar, con excepción del tejido mesentérico adiposo que retuvo cantidades mayores de ácidos grasos de 18 carbonos. Así también observaron que la composición de ácidos grasos de un alimento artificial modificó la composición de ácidos grasos del tejido ovárico, sanguíneo y mesentérico adiposo de los organismos en cautiverio. Sugirieron que la acumulación de ácidos

grasos en los ovarios está bajo un control metabólico y es afectada por la composición del alimento.

Fernández-Palacios *et al.* (1995) probaron cuatro alimentos artificiales con diferentes niveles de AGAI (n-3) (1.13, 1.6, 2.18 y 3.15 % del peso del alimento en base seca) en reproductores de *S. aurata*. Encontraron una relación positiva entre el nivel de AGAI (n-3) en el alimento y la morfología de los blastómeros, pero no con la tasa de eclosión y la sobrevivencia de eleuteroembriones. No obstante la fecundidad relativa y el diámetro de los embriones fue significativamente mayor cuando se utilizó el alimento con el nivel de AGPI (n-3) de 1.6 %. El contenido de AGAI (n-3), principalmente el 20:5 (n-3) en los embriones aumentó conforme aumentó su contenido en el alimento. No encontraron diferencias significativas de contenido de AGS, AGMI, (n-6) y (n-9), aunque sí en el 18:0, 18:1 (n-9) y 20:4 (n-6) en embriones obtenidos con los diferentes tratamientos. Concluyeron que el contenido de AGAI (n-3) de los embriones no es un buen indicador de la calidad debido a que bajos y altos niveles están asociados a la hipertrofia del vitelo y la baja sobrevivencia de eleuteroembriones, pero sí lo son la fecundidad y la morfología de los embriones. Recomiendan como el más adecuado, un nivel de 1.6 % de AGAI (n-3) en el alimento para reproductores de ésta especie.

Navas *et al.* (1997) probaron el efecto de un alimento con nivel de AGE alto (17.4% del total de ácidos grasos) en reproductores de *D. labrax* durante el periodo vitelogénico, desove o postdesove, y el resto del tiempo alimentaron con un alimento con nivel de AGE bajo (10.9 %). Encontraron que el alimento con nivel de AGE alto administrado durante el periodo de vitelogénesis afectó el contenido de ácidos grasos de los embriones, con una incorporación preferencial del 22:6 (n-3) y una tasa mayor de 22:6 (n-3)/20:5 (n-3), la cual se relacionó con una mayor fecundidad y tasa de eclosión. No encontraron diferencias en el contenido de lípidos totales, polares y neutros entre los embriones obtenidos con los diferentes tratamientos, sin embargo, la disminución en la fecundidad y la baja tasa de eclosión se relacionaron con las altas concentraciones de triacilglicéridos en embriones, que ocurrieron cuando se alimentaron a los reproductores con alimento con bajo nivel de AGE durante el periodo de vitelogénesis.

Bell *et al.* (1997) evaluaron el efecto de un alimento artificial con aceite de pescado y maíz y uno fresco (*Boops boops*) administrados a reproductores de *D. labrax*, sobre la composición de ácidos grasos y clases lipídicas de los embriones. Ambos alimentos tuvieron 23 % (del total de los ácidos grasos) de 22:6 (n-3), pero el artificial con 18.7 % de 20:5 (n-3) y 1.3 % de 20:4 (n-6), y 7 % de 20:5 (n-3) y 4.8 % de 20:4 (n-6) el fresco. Estos autores reportaron que el contenido de las diferentes clases lipídicas en embriones no fue afectado por los alimentos probados. No obstante, los fosfolípidos de los embriones obtenidos con alimento fresco tuvieron mayor concentración de 22:6 (n-3) y 20:4 (n-6), mientras que en los obtenidos con alimento artificial se acumuló mayormente 20:5 (n-3) y 18:2 (n-6). Con esto sugieren que es importante que el alimento de reproductores tenga una razón 22:6 (n-3)/20:5 (n-3) mayor que 1 y una razón 20:5 (n-3)/20:4 (n-6) menor que 3, así como la exclusión, en la formulación, de aceites vegetales con alto nivel de 18:2 (n-6), con el objeto de mejorar la calidad de los embriones.

Rodríguez *et al.* (1998) y Almansa *et al.* (1999; 2001) compararon al inicio, a mediados y al final de la estación reproductiva, la tasa de fecundación, de eclosión, la composición de clases lipídicas y ácidos grasos de embriones, gónadas, hígado y músculo obtenidos a partir de reproductores de *S. aurata* alimentados con un alimento húmedo deficiente en AGAI (n-3) y uno con 1.8 % (en base seca). Encontraron que la composición, tasa de fecundación y eclosión de los embriones obtenidos a partir del alimento con 1.8 % de AGAI (n-3) no fue diferente a lo largo de la estación reproductiva. Sin embargo, la composición de ácidos grasos, tasa de fecundación y eclosión de los embriones obtenidos a partir del alimento deficiente en AGPI (n-3) no fue alterado al inicio de la estación reproductiva, pero sí a mediados y a finales. La composición de lípidos polares de los tejidos examinados se mantuvo estable, mientras que el contenido de lípidos neutros fue afectado por el alimento. No obstante, encontraron una correlación negativa entre la tasa de fecundación y el contenido de 18:1 (n-9) y 18:3 (n-3) en los fosfolípidos de los embriones. Concluyeron que es necesario mantener un balance entre los AGAI (n-3) y 18:1 (n-9) y 18:3 (n-3) en el alimento de reproductores, lo cual es importante durante la estación

de desove y antes del inicio de la vitelogénesis para obtener embriones de buena calidad.

Bruce *et al.* (1999) probaron dos alimentos artificiales para reproductores de *D. labrax* con diferente fuente de AGE (aceite de pescado y aceite de órbita de atún) y los compararon con uno fresco (*Boops boops*) en dos temporadas reproductivas consecutivas. El alimento artificial con aceite de órbita de atún tuvo mayor contenido de 22:6 (n-3) (19.5 % del total de los ácidos grasos) y 20:4 (n-6) (1.4 %) que el de aceite de pescado (con 7.8 % de 22:6 (n-3) y 0.4 % de 20:4 (n-6)). El contenido de 20:5 (n-3) fue similar en los dos alimentos experimentales. El contenido de 22:6 (n-3), 20:5 (n-3) y 20:4 (n-6) en el alimento fresco fue de 22.1, 6.7 y 4.6 %, respectivamente. Estos autores reportaron que los embriones obtenidos a partir del alimento con aceite de pescado contuvieron menos 22:6 (n-3) y 20:4 (n-6) y más 20:5 (n-3), y resultaron significativamente con menor tasa de eclosión y sobrevivencia a las 48h solo durante la primera temporada reproductiva; no obstante los embriones obtenidos a partir del alimento con aceite de órbita de atún, además de exhibir una composición de ácidos grasos similar a los embriones obtenidos con alimento fresco, tendieron a mostrar en ambas temporadas valores mayores de fecundidad, tasa de sobrevivencia a las 48h y eclosión. Con esto sugirieron que además de mantener un nivel alto de 22:6 (n-3) en el alimento de reproductores, es necesario mantener un nivel alto de 20:4 (n-6) con respecto al nivel de 20:5 (n-3).

Furuita *et al.* (2000; 2002; 2003) realizaron una serie de estudios para determinar el mejor nivel de AGPI (n-3) y 20:4 (n-6) en el alimento de reproductores de *Paralichthys olivaceus*. En los dos primeros experimentos probaron diferentes niveles de AGPI (n-3) (0.4, 0.8, 2.1 % en el primer experimento y 2.1, 4.8 y 6.2 %, en el segundo). Encontraron en ambos experimentos que la tasa de eclosión, el porcentaje de eleuteroembriones normales, la sobrevivencia a los tres días después de la eclosión y el índice de actividad de sobrevivencia tendió a ser mayor (aunque no siempre significativamente) con el nivel de 2.1 %. Encontraron que el contenido de AGPI (n-3) en embriones correspondía con su nivel en los alimentos de reproductores, así como también que el contenido de 20:4 (n-6) fue mayor en embriones con mejor calidad. Por ello, realizaron un experimento en donde probaron

tres niveles de 20:4 (n-6) (0.1, 0.6 y 1.2 % del alimento en base seca) en el alimento de reproductores. Reportaron que el nivel de 0.6% aumentó significativamente la fecundidad, las tasas de eclosión, de eleuteroembriones normales, de sobrevivencia al día tres después de la eclosión y el índice de actividad de sobrevivencia y que el contenido de 20:4 (n-6) en embriones aumentó con respecto su nivel en el alimento. Con la información generada en los tres trabajos, concluyeron que niveles de AGE bajos y altos tienen un efecto negativo sobre la calidad de embriones y recomiendan un nivel de 1.5-2 % de AGPI y uno de 0.6 % de 20:4 (n-6) en el alimento de reproductores.

Mazorra *et al.* (2003) realizaron dos experimentos sobre nutrición de reproductores de *Hippoglossus hippoglossus*. En el primero probaron dos alimentos artificiales, uno con alto y otro con bajo nivel de 22:6 (n-3) y 20:4 (n-6) (19.5 y 5.4 %; 7 y 0.5 %, respectivamente) y un alimento a base de una combinación de pescados frescos, el cual tuvo niveles intermedios entre los alimentos artificiales. Los autores reportaron que no hubo diferencias significativas entre la fecundidad, la tasa de fecundación, la morfología de los blastómeros y el contenido de 22:6 (n-3) en embriones obtenidos con los diferentes tratamientos alimentarios. No obstante, el contenido de 20:4 (n-6) fue significativamente mayor y el de 20:5 (n-3) menor, en los embriones obtenidos de reproductores alimentados con el alimento con alto nivel de 22:6 (n-3) y 20:4 (n-6). En el segundo experimento, en dos temporadas de desove consecutivas, probaron dos alimentos artificiales con diferente nivel de 20:4 (n-6) (1.8 y 0.4 %). Encontraron que el contenido de 20:4 (n-6), la tasa de fecundación, la morfología de los blastómeros y la tasa de eclosión fue significativamente mayor en los embriones obtenidos con el alimento con nivel alto de ese ácido graso. No obstante el contenido de 22:6 (n-3) fue similar en embriones obtenidos con ambos alimentos. Concluyeron que el 20:4 (n-6) tuvo un efecto positivo en las variables medidas, por lo que recomiendan un nivel de 1.8 % (del total de los ácidos grasos) y una razón 20:4 (n-6)/20:5 (n-3) de 0.2-0.3 en el alimento de reproductores.

2.5.2. Estudios sobre requerimientos de proteínas

Los peces no tienen requerimientos de proteínas, sino de una mezcla balanceada de aminoácidos (Wilson, 1985). Sin embargo, los pocos estudios realizados en reproductores de especies que presentan ontogenia indirecta y con estilo reproductivo no protector pelágico, se han dirigido a establecer el nivel y/o las fuentes de proteína que satisfagan los requerimientos de aminoácidos, en lugar de determinar el requerimiento de los aminoácidos esenciales. En este sentido Watanabe *et al.* (1984, *sensu* Watanabe y Vasallo-Angius, 2003) realizaron una serie de estudios dirigidos a determinar los componentes alimentarios (deducidos de la composición de los ingredientes de los alimentos) que afectan el desempeño de reproductores y la calidad de embriones de *Pagrus major*. Estos autores reportaron que con alimentos con nivel bajo de proteína (35 %), fósforo disponible y AGE, se obtuvieron embriones con deformidades, tasa de eclosión baja y contenido de proteínas bajo. Por otra parte, encontraron que con alimentos cuya fuente de proteína principal fue harina de jibia, se obtuvieron mayor fecundidad, fracción de embriones flotantes y tasa de eclosión, y menos deformidades. Concluyeron que el nivel de proteína óptimo estaba alrededor del 45 % y que la harina de jibia fue mejor fuente de proteína que la de pescado en el alimento de reproductores.

Posteriormente, Cerdà *et al.* (1994) probaron, en reproductores de *D. labrax*, dos alimentos isocalóricos e isolipídicos (13 %), uno con 51 % de proteína y 10 % de carbohidratos y otro con 32 % de proteína y 32 % de carbohidratos. Encontraron que la fecundidad, fracción de embriones flotantes y la tasa de eclosión se redujo con el tratamiento de nivel de proteínas bajo, sin embargo, no encontraron diferencias en la composición proximal de las gónadas y embriones, diámetro del glóbulo de aceite y huevo, número de glóbulos de aceite, longitud de eleuteroembriones y larvas, sobrevivencia, y deformidad larvaria obtenidos con los tratamientos alimentarios. Concluyeron, al comparar con sus resultados la calidad reportada de embriones y larvas obtenidas de reproductores alimentados con alimento fresco, que ninguno de los dos alimentos utilizados fue adecuado para mantener una buena calidad de embriones, no obstante, el nivel de 35 % de proteína fue demasiado bajo y que las

diferencias encontradas se debieron a factores nutricios que no se determinaron (aminoácidos, AGE, minerales y vitaminas).

Por su parte, Fernández-Palacios *et al.* (1997) probaron en reproductores de *S. aurata* cuatro alimentos artificiales isolipídicos (15-16 %) e isoproteínicos (53-55 %), con diferente fuente de proteínas (harina de calamar o de sardina) y de lípidos (aceite de calamar o de sardina) y un alimento comercial. Reportaron que la composición proximal de los embriones no se vio afectada por los tratamientos alimentarios. Sin embargo, la fecundidad relativa, tasa de fecundación y la fracción de embriones flotantes fueron mayores con el alimento con harina de calamar. Concluyen que la harina de sardina y la de calamar cubren los requerimientos de aminoácidos esenciales de reproductores, y que las diferencias obtenidas son consecuencia de una mayor digestibilidad de la harina de calamar.

2.5.3. Estudios sobre nutrición de reproductores de *P. maculatofasciatus*

A la fecha, son solo dos los estudios realizados sobre alimentación de reproductores de *P. maculatofasciatus*. El primero es el efectuado por Rosales-Velázquez (1997), en el cual probó dos alimentos semihúmedos (30 y 50 % de proteínas) y uno fresco (juveniles de *Eucinostomus* spp.) como alimento para reproductores. Reportó que el diámetro del huevo, la tasa de eclosión, de sobrevivencia a la transición a larva, longitud notocordal de eleuteroembriones y de larvas no fue significativamente diferente entre los embriones-larvas obtenidos con los tratamientos alimentarios. Sin embargo, el diámetro del glóbulo de aceite fue significativamente mayor en embriones obtenidos con el alimento fresco. En una segunda prueba, al alimentar con alimento fresco al lote de reproductores sometidos previamente al tratamiento alimentario de 50 % de proteína, encontró un aumento en la fecundidad en solo tres días, por lo que sugirió utilizar ingredientes de origen marino como fuentes de proteínas y AGPI (n-3) para la elaboración de alimentos balanceados para reproductores de esta especie.

El segundo es el efectuado por Avilés-Quevedo (2005) en donde probó, como alimento para reproductores, a trozos de *Mugil* sp. descongelado (66 % de proteínas y 7 % de lípidos, en base seca), *Mugil* sp. más cabezas de *Dosidicus gigas*

descongelados (68 % de proteínas y 7 % de lípidos, en base seca) y un alimento húmedo (54 % proteínas y 11 % de lípidos, en base seca). El estudio lo realizó en un sistema abierto sin control de la calidad del agua, durante la época reproductiva natural en la bahía de La Paz, B.C.S., México. Esta autora reporta que el diámetro del huevo fue mayor en embriones obtenidos a partir del alimento húmedo y el diámetro del glóbulo de aceite fue mayor en los obtenidos con trozos de *Mugil* sp. y *Dosidicus gigas* descongelados. No obstante, no encontró diferencias significativas en la fecundidad relativa, tasa de eclosión y sobrevivencia a la inanición de los embriones-larvas obtenidos con los diferentes alimentos. La autora no genera ninguna explicación, desde un punto de vista fisiológico-nutricional, de sus resultados.

Debido a la falta de información sobre las necesidades nutricionales de reproductores de *Paralabrax maculatofasciatus*, en el presente trabajo se intenta contribuir al entendimiento del efecto del nivel de proteínas y de los AGE sobre algunos fenómenos reproductivos y ontogénicos que determinan la calidad de los embriones, y en consecuencia, de las larvas de esta especie.

3. Justificación

Paralabrax maculatofasciatus es una de las pocas especies marinas, estudiadas a la fecha en México, que han sido cultivadas de forma intensiva a escala experimental. Es la única especie en la que se ha logrado la reproducción (maduración, ovulación y desove voluntario) fuera de su temporada reproductiva natural, mediante el control de los factores ambientales, sin la necesidad de inducción hormonal e inseminación artificial, por lo que la calidad de los embriones no se ve mermada debido a la manipulación de los gametos y al estrés causado a los reproductores. Esto ha permitido la obtención de embriones de buena calidad en cualquier estación del año y ello a su vez, el desarrollo de estudios para la evaluación y estandarización de protocolos para la cría de larvas en sistemas cerrados y para la engorda de juveniles en jaulas flotantes. No obstante, la tecnología para su producción masiva no ha sido completada, por lo que es indispensable seguir realizando estudios dirigidos hacia la optimización y el control de cada uno de los procesos del ciclo productivo. Así, uno de los puntos necesarios para llevar el cultivo de escala experimental a piloto-comercial, es la sustitución del alimento fresco (pescado y calamar) utilizado en la nutrición de los reproductores, por un alimento artificial completo, debido a que la calidad y disponibilidad del alimento fresco resultan ser muy variables, lo que a su vez afecta a la calidad y cantidad de los embriones necesarios para realizar proyecciones de producción masiva. Por tal motivo y atendiendo a las recomendaciones propuestas por Rosales-Velázquez (1997), el presente trabajo pretende ayudar a determinar los niveles de ácidos grasos esenciales y de proteínas en el alimento de reproductores, con los que se puedan obtener embriones de buena calidad y con esto, contribuir con una parte de la información básica para el diseño de un alimento artificial completo que permita la nutrición de reproductores de *P. maculatofasciatus*, así como también con la estandarización de métodos para la evaluación de la calidad de embriones y larvas.

4. Objetivos

4.1 Objetivo general

Determinar el efecto de diferentes niveles de inclusión de ácidos grasos esenciales y proteínas en alimentos para reproductores de *Paralabrax maculatofasciatus*, sobre la calidad de embriones y larvas.

4.2 Objetivos específicos

1. Evaluar y comparar el efecto de los tratamientos alimentarios de 45 % de proteínas, 0.5, 1.2 y 1.9 de AGE y 55 % de proteínas, 0.5, 1.2 y 1.9 de AGE en reproductores, sobre parámetros reproductivos (fecundidad parcial e índice de viabilidad de los embriones).
2. Evaluar y comparar el efecto de los tratamientos alimentarios de 45 % de proteínas, 0.5, 1.2 y 1.9 de AGE y 55 % de proteínas, 0.5, 1.2 y 1.9 de AGE en reproductores, sobre parámetros morfológicos de embriones y larvas (morfología de los blastómeros, morfometría de embriones y longitud notocordal de larvas).
3. Evaluar y comparar el efecto de los tratamientos alimentarios de 45 % de proteínas, 0.5, 1.2 y 1.9 de AGE y 55 % de proteínas, 0.5, 1.2 y 1.9 de AGE en reproductores, sobre índices zootécnicos (tasas de eclosión, transformación larvaria, sobrevivencia larvaria, normalidad larvaria, sobrevivencia al estrés osmótico, sobrevivencia a la inanición y normalidad larvaria a la inanición).
4. Determinar y comparar el efecto de los tratamientos alimentarios de 45 % de proteínas, 0.5, 1.2 y 1.9 de AGE y 55 % de proteínas, 0.5, 1.2 y 1.9 de AGE ofrecidos a reproductores, sobre la composición de ácidos grasos de embriones.

5. Materiales y métodos

5.1. Sistemas de soporte de vida

5.1.1. Sistema cerrado de inducción al desove

El Sistema cerrado de inducción al desove (SCID) está diseñado para inducir a la maduración gonadal, ovulación y desove voluntario a peces con estilo reproductivo no protector pelágico, por medio del control del régimen fototérmico. Este es una de las áreas húmedas del Laboratorio de Biología Experimental del Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR-IPN). El sistema descrito por Rosales-Velázquez (1997) fue modificado para la realización del presente trabajo. Esto consistió en añadir dos tanques al sistema y rediseñar la unidad de recolección de huevos y la configuración de las unidades de filtración y desinfección, para aumentar la capacidad de carga del SCID.

El SCID (Figura 2), está constituido por seis tanques (unidades de cultivo) cilíndricos de fibra de vidrio con fondo plano y 1,100 l de capacidad. En el centro de cada tanque está ubicado un tubo de PVC de 1.5 " que mantiene el drenaje superficial y 1 m de columna de agua. Los drenajes son independientes y desembocan en canastas individuales de recolección de huevos (luz de malla de 500 μm), de las cuales, cuatro quintas partes están sumergidas dentro de un tanque de fibra de vidrio de 150 l, que funciona también como un tanque de precipitación. El agua de mar, una vez filtrada por las canastas, rebosa a través de un drenaje central hacia el tanque reservorio de 100 l, ubicado inferiormente. En el reservorio, el agua es bombeada (bomba centrífuga de 3/4 HP) hacia un filtro mecánico con capacidad de retención de 20 μm (Jaccuzzi little rock, modelo CFR 100), en donde quedan retenidos los sólidos suspendidos. Posteriormente, una parte pasa a través de dos inyectores Venturi al espumador, en donde son retenidos los coloides (albúminas, grasas, etc.) y la otra regresa, por una válvula de liberación de presión y línea de retorno, al reservorio. Después del espumador, una parte del flujo es conducido a un filtro biológico de lecho fluido (20 $\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$; 20 l de sustrato) para la oxidación bacteriana de NH_4^+ - NH_3 y NO_2^- y regresa al reservorio. La segunda parte del flujo se

dirige hacia una unidad de desinfección por radiación UV (8 lámparas de 30 W). Inmediatamente, el agua es conducida a las unidades de cultivo por la línea de alimentación, en donde el gasto es regulado con válvulas de esfera. La descarga es en sentido tangencial sobre el fondo del tanque, lo que favorece la circulación tipo ciclónica y ello a su vez facilita la concentración de sólidos sedimentados alrededor del tubo central, así como también la extracción de partículas suspendidas y huevos, por rebosamiento a la línea de drenado. El gasto para cada tanque es de aproximadamente $20 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$, lo que permite tener una tasa de renovación de 1.09 veces el volumen total del sistema cada hora.

La temperatura del agua de cultivo ($23 \text{ }^{\circ}\text{C}$) es regulada indirectamente por medio del control de la temperatura ambiental del SCID, con un aire acondicionado a modo automático.

El régimen de fotoperiodo (13 L: 11 O) se realiza con un temporizador electrónico y uno mecánico, de los cuales, el primero mantiene encendidas diez lámparas fluorescentes (luz de día; 35 W), de 06:30 a 19:30 horas y el segundo seis, de 07:00 a 19:00 horas.

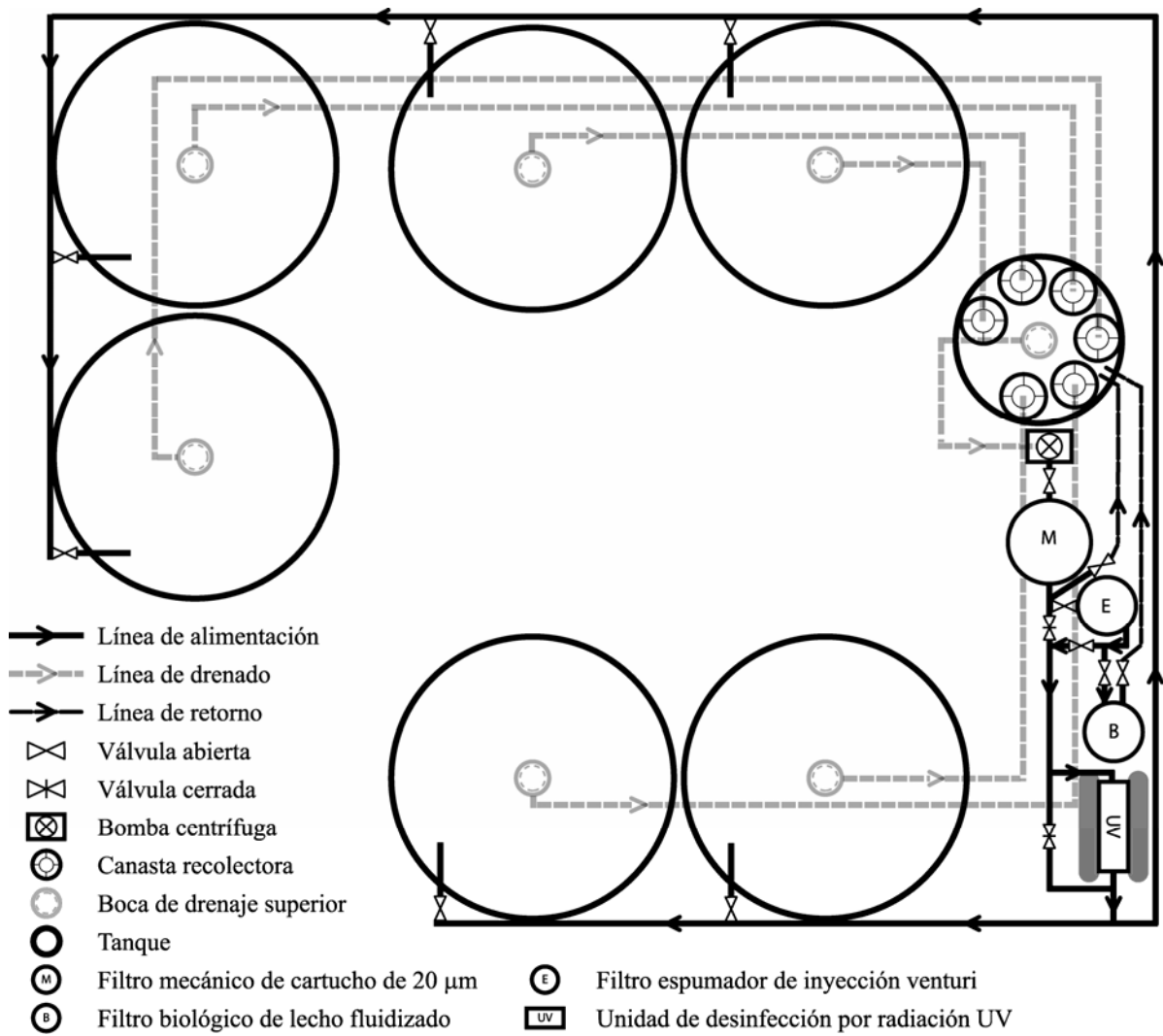


Figura 2. Diagrama esquemático del Sistema Cerrado de Inducción al Desove (SCID) utilizado con reproductores de *Parabrax maculatofasciatus*.

5.1.2. Sistema de cultivo de embriones y larvas

El sistema de cultivo de embriones y larvas (SCEL) es un sistema para evaluar la sobrevivencia de embriones y larvas durante eventos “decisivos” (eclosión y absorción del vitelo, entre otros), bajo condiciones ambientales estándar y de estrés. Éste sistema se diseñó, de acuerdo a las necesidades de alta calidad de agua ($[O_2] > 5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; $[NH_4^+] < 0.10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; $[NO_2^-] < 10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), circulación no turbulenta y homogeneidad térmica requeridas para el cultivo de larvas. El sistema fue montado dentro del área húmeda de cultivo de rotíferos en la Unidad Piloto de Maricultura (UPIMA) del CICIMAR-IPN. Esta área cuenta con temperatura ambiental controlada ($22 \text{ }^\circ\text{C}$) por medio de un aire acondicionado y fotoperiodo artificial (12 L: 12 O).

El SCEL (Figura 3) estuvo compuesto de cuatro tanques rectangulares de fibra de vidrio, fondo plano y 300 l de capacidad. En el centro de cada tanque se ubicó un tubo de PVC de 1.5 ”, el cual mantuvo el drenaje superficial y una columna de agua de 30 cm. Cada tanque tuvo drenajes independientes que desembocaban en un mismo tanque reservorio (tanque de acrílico de 150 l de capacidad). La temperatura se mantuvo a $23 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ con dos calentadores automáticos sumergibles (Visi-Therm modelo VTN 300, 300 W, Aquarium-System) ubicados en el reservorio. En éste se instaló una bomba sumergible (Aqua Clear 402, Hagen) que bombeó agua de mar hacia un espumador de contracorriente con inyección de aire por medio de un difusor de madera. Al efluente del espumador se adaptó un filtro de carbón activado (Aqua Clear 20, Hagen) para la remoción de compuestos orgánicos y nitrogenados. El agua fue bombeada (bomba sumergible Aqua Clear 802, Hagen) del reservorio, por la línea de alimentación, hacia los tanques. En el fondo de cada tanque se ubicó un sistema de distribución de descarga, el cual consistió en un rectángulo de tubería de PVC de 0.5 ” con poros de 1 mm dirigidos hacia arriba. Ello permitió un flujo ascendente de baja turbulencia y extendido a lo largo y ancho del tanque, así se facilitó la homogeneidad de la calidad de agua en cada uno de éstos.

Dentro de los tanques se ubicaron las unidades de cultivo (UC), las cuales consistieron en frascos de policarbonato en posición invertida (la boca fue la base descubierta y el fondo la tapa enroscada), con tres ventanas laterales de malla de $200 \text{ }\mu\text{m}$. Las unidades fueron agrupadas en tres, mediante una varilla que las

atravesó en su parte superior, lo que permitió colocarlas dentro de una estructura de soporte (reja de plástico).

Cada vez que terminó la evaluación de un grupo de desoves, se realizó la limpieza total del sistema. Ello consistió en drenar los tanques, tubería y tanque reservorio; luego, tallar, con una esponja y una solución concentrada de cloro (solución comercial de hipoclorito de sodio al 4 %), la superficie de los tanques, estructuras de soporte y tuberías. Después, enjuagar con agua dulce, secar con una esponja y dejarlo así por un día. Las unidades de cultivo solo se lavaron con agua a presión y se dejaron secar. Una vez limpio el sistema, se llenó lentamente con agua de mar filtrada (filtro de cartucho de 10 μm), esterilizada con radiación UV (dos unidades VECTON 25 W, Tropical Marine Centre) y filtrada, al final, con carbón activado. La calidad de agua del SCEL fue determinada diariamente por la mañana, de acuerdo con los métodos descritos en la sección 5.7.1.

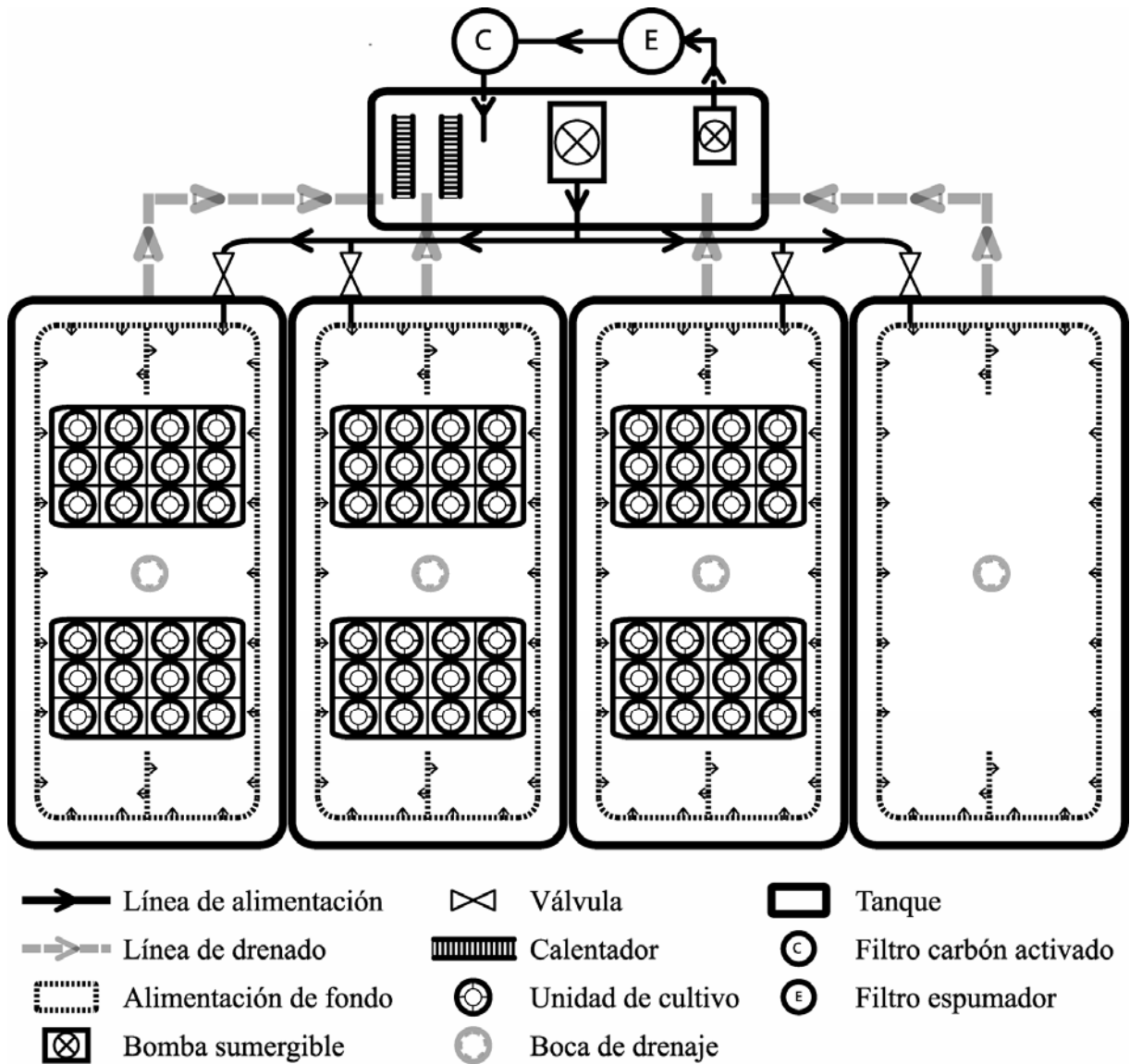


Figura 3. Diagrama esquemático del Sistema de Cultivo de Embriones y Larvas (SCEL) utilizado con *Paralabrax maculatofasciatus*.

5.2. Animales experimentales

5.2.1. Captura

La obtención del lote de reproductores se llevó a cabo en marzo del 2004, mediante dos salidas realizadas en las inmediaciones de la Bahía de La Paz B.C.S., frente a la zona denominada “El Merito”, a bordo de una embarcación menor con motor fuera de borda. La captura se efectuó por pesca con hilo de nylon, anzuelo y manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) como carnada. Los peces capturados fueron confinados al tanque vivero de la embarcación, bajo un constante recambio de agua. Una vez capturados cerca de 80 peces, se trasladaron al SCID, en donde fueron distribuidos en aproximadamente 14 individuos por tanque.

La mayoría de los peces presentaron distensión de la vejiga gaseosa, causado por el método y la profundidad de pesca (de entre 8 y 12 m), por lo que flotaban orientados con el abdomen hacia arriba. No se realizó punción de la vejiga natatoria, para evitar focos de infección y mayor estrés a los animales. Después de 12 h de estancia en el SCID, la distensión desapareció y los peces nadaron normalmente.

5.2.2. Cuarentena, determinación del sexo, biometría, marcado y distribución

Se estableció un periodo de dos semanas de cuarentena, con el objeto de dar tiempo a la reposición de los peces al estrés causado por la pesca y el cautiverio. Una vez acondicionados al cautiverio se procedió con la determinación del sexo, biometría, marcado y distribución, siguiendo el procedimiento descrito por Rosales-Velázquez (1997) con modificaciones. Los especímenes que aparentaron mejor condición fueron anestesiados uno a uno con una solución de MS 222 a 75 ppm. Posteriormente, los animales se manipularon con una franela húmeda, para obtener esperma u óvulos por presión abdominal (en dirección desde la inserción de las aletas torácicas hasta el poro genital), con el fin de determinar el sexo. En caso de no obtener gametos, se practicaron biopsias ováricas con una cánula de polietileno (1.2 mm diámetro externo). Se consideró macho cuando no se encontró el oviducto y hembra cuando éste fue encontrado, aún cuando no se haya logrado la extracción de oocitos.

Una vez determinado el sexo, los peces se pesaron (peso total) en una balanza electrónica (A&D modelo FX-4000; ± 0.01 g) y se midieron (longitud patrón) con un ictiómetro convencional (± 1 mm). Posteriormente, el pedúnculo caudal se perforó por medio de una aguja previamente esterilizada con flama y simultáneamente una marca se insertó en éste. Ésta consistió de tres “chaquiras” de colores, arregladas en serie a través de un hilo de nylon, las cuales indicaron el tanque, sexo e identidad individual. Una vez colocada la marca, se introdujeron los extremos del hilo en un pequeño tubo de cobre (empate) y al presionar a éste lateralmente quedaron unidos. Después de colocar la marca, se aplicaron sobre la herida, varias gotas de una solución concentrada de azul de metileno, como antiséptico.

La distribución final fue de diez peces por tanque con una proporción sexual de seis hembras y cuatro machos.

5.2.3. Condiciones ambientales, y rutinas de alimentación y mantenimiento

Desde su ingreso al SCID y durante el experimento, los peces estuvieron sometidos a un régimen fototérmico de 13 L: 11 O y 23 °C para la inducción a la reproducción (Rosales-Velázquez *et al.*, 1992; Rosales-Velázquez, 1997). Diario por la mañana se determinó la calidad del agua del SCID, de acuerdo con los métodos descritos en la sección 5.7.1. Posteriormente (11:30 horas), las raciones de los alimentos correspondientes a cada etapa del experimento se pesaron y se les suministraron a saciedad aparente (hasta que dejaron de comer); después de media hora de haber dejado de comer, se limpió el fondo de cada tanque con un sifón, con el cual se retiró el alimento no consumido y los excrementos depositados. La ingesta se determinó por la diferencia entre el peso de la ración (alimento experimental 1.5 % y fresco 10 % de la biomasa \cdot tanque⁻¹) y la porción del alimento no consumida.

El agua retirada en la limpieza fue aproximadamente del 10 % (700 l) del volumen total del sistema y se reemplazó con agua de mar filtrada a través de un filtro de cartucho de 20 μ m. La limpieza de las paredes de los tanques se realizó una vez por semana, misma que consistió en remover con una esponja la biopelícula que

crece sobre las superficies internas y así evitar la acumulación de parásitos (en periodos enquistados) que pudiesen causar eventualmente una epizootia.

5.3. Alimentos experimentales

5.3.1. Formulación

Una vez conocida la composición proximal y de AG de los ingredientes, determinadas con las técnicas descritas en las secciones 5.7.2 y 5.7.3., respectivamente, se realizaron las formulaciones de los alimentos experimentales (Cuadro 3) en el Laboratorio de Nutrición Acuícola del CIBNOR con el programa de cómputo MIXIT v. 4. La formulación del alimento de “destete” con 45 % de proteína (Álvarez-González *et al.*, 2001a) se tomó como referencia y a partir de ella, con modificaciones en la lista de ingredientes, se formularon seis alimentos con dos niveles de proteína (45 y 55 %) y tres de AGE (suma del 20:4 (n-6), 20:5 (n-3) y 22:6 (n-3)) (0.5, 1.2 y 1.9%). El nivel de 45 % proteína se fijó de acuerdo a los requerimientos de juveniles de *P. maculatofasciatus* (Álvarez-González *et al.*, 2001a; Civera-Cerecedo, com pers. CIBNOR) y el de 55 % correspondió al nivel máximo con el que se pudieron balancear las formulaciones. Ambos niveles están dentro de los requerimientos determinados para peces carnívoros estrictos como *Plecoglossus altivelis*, 45-55 % (Kanazawa, 1991), *Sciaenops ocellatus*, 50 % (Robinson, 1991), *Lates calcarifer*, 40-45 %, (Boonyaratpalin, 1991), *Seriola quinqueradiata*, 50 %, (Shimeno, 1991). Los niveles de AGE se fijaron en un intervalo (lo que permitió balancear con la limitación de AGE de los ingredientes), de acuerdo con los requerimientos de *Sparus aurata* de 1.6 % (Fernández-Palacios *et al.*, 1995) y *Paralichthys olivaceus* de 1.5 – 2 % (Furuita *et al.*, 2000) y el nivel de AGE de juveniles de mojarra (*Eucinostomus currani*) (2.24 %).

Cuadro 3. Fórmulas de los alimentos experimentales utilizados para alimentar reproductores de *Paralabrax maculatofasciatus*.

Ingredientes (%)	55-0.5	45-0.5	55-1.2	45-1.2	55-1.9	45-1.9
Harina de sardina ^a	65.65	47.08	65.65	47.08	65.65	47.08
Hidrolizado de pescado ^b	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
Harina de calamar ^a	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Harina integral de trigo ^c	0.93	19.15	0.93	19.15	0.93	19.15
Aceite de bacalao ^d	3.22	3.30	8.32	8.38	13.51	13.86
Aceite de girasol ^e	10.29	10.55	5.20	5.48	0.00	0.00
Lecitina de soya ^f	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Alginato de Sodio ^g	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Premezcla de minerales ^h	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Premezcla vitaminas ⁱ	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70
Cloruro de colina ^j	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13
Vitamina C ^k	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
BHT ^l	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004

^a PIASA, La Paz, Baja California Sur, México; ^b Francia; ^c Gluten y Almidones Industriales S.A. de C.V., D.F. México; ^d Farmacias París, D.F., México; ^e Cristal, D.F., México; ^f ODANAJI, Distribuidora de Alimentos Naturales y Nutricionales S.A. de C.V., México; ^g ALGIMAR Na-K 56, Alginato de Sodio, pH 8.5, viscosidad 137 cp, CICIMAR-IPN, La Paz, Baja California Sur, México.

^h Premezcla de minerales (mg·kg⁻¹; SIGMA): CaCl₂·2H₂O, 2575; MgSO₄·7H₂O, 1491,4; ZnSO₄·7H₂O, 27,6; MnCl₂·4H₂O, 9,6; CuSO₄·5H₂O, 2,5; KI, 0,0003; Na₂SeO₃, 0,05; Na₂HPO₄, 5715,8; FeSO₄·7H₂O, 178,8.

ⁱ Premezcla de vitaminas (mg·kg⁻¹): Vitamina A (Retinol), 0.602 (ICN); Vitamina D₃ (Colecalciferol), 0.042 (SIGMA); Vitamina E (Tocoferol), 35 (SIGMA); Vitamina K (Menadiona), 7 (SIGMA); Vitamina B₁ (Tiamina), 0.07 (SIGMA); Vitamina B₂ (Riboflavina), 2.8 (SIGMA); Vitamina B₆ (Piridoxina), 2.1 (SIGMA); Ac. DL-Pantoténico, 14 (SIGMA); Niacina (ácido nicotínico), 7 (SIGMA); Biotina, 0.112 (ICN); Inositol, 210 (SIGMA); Vitamina B₁₂ (Cianocobalamina), 0.014 (SIGMA); Vitamina B₉ (Ac. Fólico), 0.7 (SIGMA); Vehículo (harina de sorgo), 6720; ^j Sigma, 65%; ^k Stay-C 35%, Roche; ^l ICN.

5.3.2. Elaboración

Los alimentos experimentales se elaboraron uno a uno, en las instalaciones de la Planta de Alimentos Experimentales del CIBNOR, de acuerdo con el protocolo de fabricación de Avarez-González *et al.* (2001a). El procedimiento fue el siguiente: una vez verificadas las fórmulas y la hoja de fabricación, primero, se identificaron los ingredientes mayoritarios secos (harinas de sardina, calamar, trigo e hidrolizado de pescado), mayoritarios líquidos (aceites de bacalao, girasol y lecitina de soya), minoritarios (vitamina C, cloruro de colina y premezclas de vitaminas y minerales) y aditivos (alginato de sodio e hidroxitolueno butilado o BHT). Los ingredientes mayoritarios secos fueron tamizados con el fin de homogeneizar el tamaño de partícula, a menos de 250 μm . Luego, cada uno de los ingredientes (mayoritarios, minoritarios y aditivos) se pesó, de acuerdo con las cantidades especificadas en la hoja de fabricación. Después, los ingredientes mayoritarios secos se mezclaron dentro del tazón metálico de la batidora vertical (ARM-30, Thunderbird) a velocidad lenta, hasta obtener una mezcla homogénea (≈ 8 min), con lo que se obtuvo la premezcla 1. Paralelo a esto, los ingredientes minoritarios y aditivos se mezclaron a mano con una espátula, obteniéndose así la premezcla 2. Posteriormente, a la premezcla 2 se adicionó una porción pequeña (≈ 200 g) de la premezcla 1, se pulverizó por porciones (molino de café Braun, modelo 4041) y se volvió a mezclar manualmente hasta homogeneizarse; ésta mezcla se agregó a la premezcla 1 y se mezcló a velocidad baja, hasta homogeneizar completamente (≈ 8 min). Simultáneamente, con los ingredientes mayoritarios líquidos se hizo una emulsión (premezcla 3). Una vez incorporadas las premezclas 1 y 2, se agregó poco a poco la premezcla 3 y se mezcló a velocidad media, hasta observar una homogeneización completa (≈ 5 min). Después, a esta mezcla se le agregó agua en pequeñas porciones (30-50 % del peso de la masa) y mezcló (≈ 5 min) hasta tener una masa de textura adecuada (puños que no se desmoronan; arcillosa). Para hacer los comprimidos, la masa se pasó de dos a tres veces por un molino de carne (Tor-Rey modelo 22; cedazo 9 mm) hasta obtener cilindros macizos y largos de superficie lisa; luego, se distribuyeron en canastas con fondo de red de plástico y fueron secados a

40 °C en una estufa de convección (1600 HAFO SERIES, modelo 1680, VWR), hasta alcanzar la humedad deseada (8 - 10 %; ≈ 24 h).

La humedad fue supervisada y determinada con una termobalanza (A&D, modelo AD 4713). Una vez secos los alimentos, se guardaron en bolsas negras, las cuales fueron etiquetadas y almacenadas a -20 °C (congelador KELVINATOR, CORPOMEX) hasta su utilización. Los alimentos experimentales se cortaron manualmente en fragmentos de aproximadamente 1 cm de longitud, al momento de su administración a los reproductores.

De los alimentos terminados se tomaron muestras al azar, las cuales se molieron en un mortero para determinar su composición proximal y de ácidos grasos, de acuerdo con los métodos descritos en las secciones 5.7.2 y 5.7.3.

5.4. Alimentos frescos

5.4.1. Calamar

Se utilizó calamar de California (*Loligo opalescens*) (Fiesta del Mar, marqueta de 2.27 kg) fresco congelado, debido a que su calidad y disponibilidad en el mercado se supuso menos variable y que para entonces, cada marqueta adquirida (siempre en la misma casa comercial) presuntamente perteneció al mismo lote de captura. La adquisición se realizó cada tres días con el objeto de ofrecer a los peces el producto lo más fresco posible. La composición proximal y de AG se determinó a una porción de la ración troceada, utilizada para alimentar a los peces, de acuerdo con los métodos descritos en las secciones 5.7.2 y 5.7.3, respectivamente.

5.4.2. Mojarra

Los juveniles de mojarra (*Eucinostomus* spp.) se obtuvieron cada tres días, por medio de una atarraya de 4 m de diámetro y luz de malla de 1cm o de arrastres de playa con una red de cerco de 20 m de longitud, 2 m de altura y luz de malla de 1 cm. La pesca se efectuó en las playas adyacentes a las instalaciones del CICIMAR-IPN. De la pesca fueron separados juveniles de mojarra, y posteriormente, se sometieron a un baño de agua dulce por 30 min para matar a los parásitos externos

que pudiesen portar. Una vez terminado el tratamiento, se empacaron en bolsas de plástico (≈ 200 g por bolsa) y se mantuvieron en un congelador a -20 °C. Únicamente se suministraron peces entre uno y tres días de congelamiento, como medida profiláctica. La composición proximal y de AG se determinó a juveniles completos, tomados al azar de los utilizados para alimentar a los peces, de acuerdo con los métodos descritos en los capítulos 5.7.2 y 5.7.3, respectivamente.

5.5. Diseño experimental

Se realizó un experimento para determinar el efecto de diferentes niveles de de proteínas (45 y 55 %) y ácidos grasos esenciales (0.5, 1.2 y 1.9 %) en el alimento de los reproductores de *Paralabrax maculatofasciatus*, sobre la calidad de los embriones y larvas. El experimento se dividió en cuatro periodos de un mes (Cuadro 4). Durante cada periodo, a partir de la segunda semana de administración del alimento, se evaluó la calidad de los embriones y larvas; tiempo suficiente para verificar el efecto del alimento sobre éstos (Rosales-Velázquez, 1997). La calidad se evaluó con el uso, como variables de respuesta, de parámetros reproductivos (fecundidad y viabilidad), morfológicos (forma de los blastómeros, morfometría de embriones y larvas), índices zootécnicos (tasas de eclosión; transición larvaria, sobrevivencia de larvas al tiempo de absorción del vitelo, normalidad larvaria, sobrevivencia al estrés osmótico, a la inanición y normalidad de larvas en inanición) y bioquímicos (perfil de ácidos grasos de embriones).

En el primer periodo como primer tratamiento testigo, a todos los tanques se les suministró calamar de California para estandarizar el estado nutricional de los peces. En el segundo periodo, los alimentos experimentales 55-0.5, 55-1.2 y 55-1.9 se distribuyeron en los tanques 1, 2 y 3 y los alimentos experimentales 45-0.5, 45-1.2 y 45-1.9, en los tanques 4, 5 y 6, respectivamente. En el tercer periodo, los alimentos experimentales 55-0.5, 55-1.2 y 55-1.9 se distribuyeron en los tanques 2, 3 y 4 y los alimentos experimentales 45-0.5, 45-1.2 y 45-1.9, en los tanques 5, 6 y 1, respectivamente. En el cuarto periodo, como segundo tratamiento testigo a todos los tanques se les suministraron juveniles de mojarra.

Cuadro 4. Configuración del experimento para determinar el efecto del nivel de ácidos grasos esenciales y proteínas en el alimento de reproductores de *Paralabrax maculatofasciatus* sobre la calidad de embriones y larvas.

Periodo	Tanque					
	1	2	3	4	5	6
I	Calamar	Calamar	Calamar	Calamar	Calamar	Calamar
II	55-0.5	55-1.2	55-1.9	45-0.5	45-1.2	45-1.9
III	45-1.9	55-0.5	55-1.2	55-1.9	45-0.5	45-1.2
IV	Mojarra	Mojarra	Mojarra	Mojarra	Mojarra	Mojarra

5.6. Criterios de calidad

5.6.1. Parámetros reproductivos

5.6.1.1. Fecundidad parcial

La fecundidad (número de embriones) y la fracción de embriones vivos por tanque se determinó diario, con un método volumétrico (Carrillo *et al.*, 1995) que consistió en tomar, de las canastas de recolección, los huevos y verterlos en una probeta de 100 ml. Inmediatamente, se aforó a 100 ml con agua de mar (35 ‰) y se vigiló la separación de embriones vivos (fracción flotante) de los muertos (fracción precipitada). El volumen (ml) que ocupó la fracción flotante, se registró cuando éste alcanzó su valor mínimo. El número de embriones de ambas fracciones se determinó multiplicando el volumen de la fracción correspondiente con el factor de conversión de 1,867, el cual corresponde al número de embriones contenidos en 1 ml (Rosales-Velázquez, 1997). La fecundidad parcial se determinó con la relación:

$$FP = EV + EM$$

En donde: *FP* = Fecundidad parcial; *EV* = Embriones vivos; *EM* = Embriones muertos.

5.6.1.2. Viabilidad de embriones

La fracción de embriones vivos (viables) se expresó como un porcentaje de la fecundidad por tanque.

5.6.2. Parámetros morfológicos

5.6.2.1. Morfología de los blastómeros

Todos los días, entre las 15:00 y 20:00 horas, se vigiló la actividad reproductiva y una vez que se observó el desove, se obtuvieron muestras cada 10 min, tomadas directamente de las canastas de recolección con cubetas de 5 ml, para examinar el desarrollo del embrión. Cuando se encontraron en el estadio de 4 células, se tomaron tres muestras (≈ 100 embriones) de cada tanque y trasladaron a la UPIMA. Una vez que los embriones alcanzaron el estadio de 8-32 células, se montaron en una placa de Mazzini y se les tomaron imágenes digitales a 4x con un microscopio estereoscópico (Olympus modelo SZ40) acoplado a una cámara de video (HITACHI, modelo KP-D50) y el programa de digitalización de imágenes *Image-Pro Plus*® v. 4.1. Las imágenes tomadas se utilizaron para determinar la forma de los blastómeros con los criterios propuestos por Shields *et al.* (1997). Los embriones se caracterizaron individualmente en la escala de: 1 (deformes), 2 (sub-regulares), 3 (regulares) y 4 (normales), para los parámetros de simetría celular (en el patrón de división), tamaño celular (uniformidad en el tamaño), adhesión celular (contacto de las membranas), márgenes (resolución de las membranas) e inclusiones (número de vacuolas) de los blastómeros (Figura 4). El valor de forma de los blastómeros para cada desove se tomó como el promedio de la suma de los valores asignados a cada embrión de los cinco parámetros morfológicos (Mazorra *et al.*, 2003).

$$VF = \frac{\sum_{i=1}^k s + t + m + i + a}{n}$$

En donde: VF = valor de forma de los blastómeros; s = simetría; a = adhesión; t = tamaño; m = márgenes; i = inclusiones; n = número de embriones.

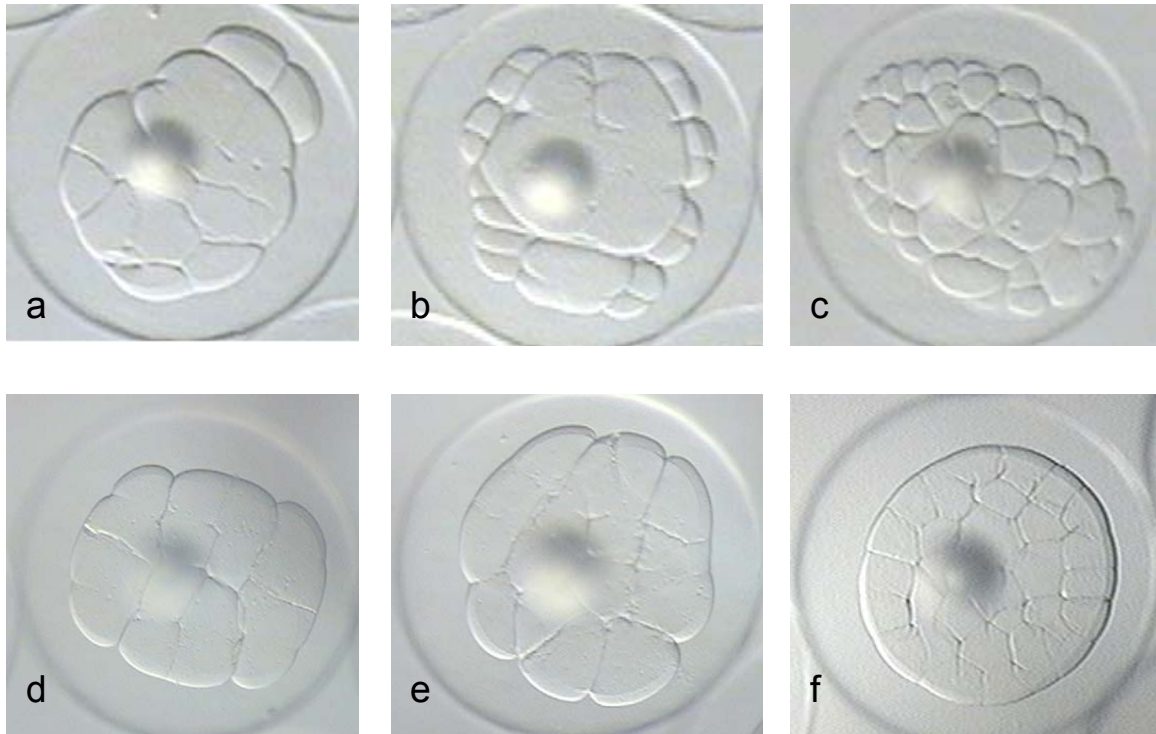


Figura 4. Embriones de *Parabrax maculatofasciatus* en fase de segmentación, con deformidades extremas en cada parámetro determinado. a, embrión en estadio de 16 células con valor de simetría celular de 1; b, embrión en estadio de 32 células con valor de resolución de márgenes celulares de 1; c, embrión en estadio de 32 células con valor de adhesión celular de 1; d, embrión en estadio de 16 células con valor de inclusiones de 1; e, embrión en estadio de 16 células con valor de tamaño celular de 2; f, embrión normal en estadio de 32 células.

5.6.3. Índices zootécnicos

Las tasas de eclosión, transición a larva, sobrevivencia larvaria, normalidad larvaria, sobrevivencia al estrés osmótico e inanición y la normalidad larvaria en la inanición, se determinaron, por triplicado, de la fracción de embriones vivos de cada desove. Ésta se concentró con un tamiz de 300 μm y se enjuagó con agua de mar filtrada (a 10 μm) hasta quitar todas las partículas posibles. Después, se vertió en un vaso de precipitado de 500 ml y se trasladó a la UPIMA, en donde, con un microscopio estereoscópico (Olympus modelo SZ40), se aislaron y sembraron 100 embriones en cada UC del SCEL, hasta tener 12 UC por desove.

El desarrollo se vigiló a nivel de fases, con la observación directa de los organismos en las UC. Una vez que los organismos alcanzaron el estado de desarrollo en el que se evaluaría el índice zootécnico correspondiente, se tomaron tres UC y cada una se concentró, con el mayor cuidado posible de no exponer los organismos al aire, en un vaso de precipitados de 500 ml. Los organismos muertos se montaron en una placa de Mazzini y se contaron en un microscopio estereoscópico (Olympus modelo SZ40). Inmediatamente, los organismos vivos se anestesiaron con tres gotas de una solución de MS222 a 75 ppm, se montaron en la placa de Mazzini, se contaron y en su caso, se registraron los tipos de deformidades observadas (torciones, posición del glóbulo de aceite). A los organismos vivos (en fase de embrión, eleuteroembrión o apterolarva) se les tomaron imágenes digitales a 3.5x con un microscopio estereoscópico (Olympus modelo SZ40) acoplado a una cámara de video (HITACHI, modelo KP-D50) y el programa de digitalización de imágenes *Image-Pro Plus*® v. 4.5. Todos los organismos se concentraron en un vial de 10 ml y se fijaron en una solución de formol al 10 %, pH 7 y amortiguado con una solución saturada de boratos.

5.6.3.1. Tasa de eclosión

La tasa de eclosión se evaluó cuatro horas después de observarse la presencia de eleuteroembriones (tiempo suficiente para que, todos los embriones con potencial de eclosión, eclosionaran). Éste índice se calculó mediante la siguiente relación:

$$TE = [(E) (100)]/Em$$

En donde: TE = Tasa de eclosión; E = Número de eleuteroembriones; Em = Número de embriones sembrados.

5.6.3.2. Tasa de transición larvaria

La tasa de transición a larva se evaluó al término de la absorción del vitelo (sin incluir el glóbulo de aceite), tres horas después de observar las primeras larvas y se determinó con la relación:

$$TL = [(Lv+Lm) (100)]/Em$$

En donde: TL = Tasa de transición larvaria; Lv = Número de larvas vivas; Lm = Número de larvas muertas; Em = Número de embriones sembrados.

5.6.3.3. Tasa de sobrevivencia larvaria

La tasa de sobrevivencia al inicio del periodo larvario se determinó con la relación:

$$SL = [(L) (100)]/LT$$

En donde: SL = Tasa de sobrevivencia al inicio del periodo larvario; L = Número de larvas vivas; LT = Número total de larvas (vivas + muertas).

5.6.3.4. Tasa de normalidad larvaria

La tasa de normalidad larvaria se calculó a partir de la cuenta de larvas normales (sin deformidad aparente) y deformes (incorrecta posición del glóbulo de aceite, torsiones en la notocorda y deformidad cefálica) con la siguiente ecuación:

$$TNL = [(Ln) (100)]/Lv$$

En donde: TNL = Tasa de normalidad larvaria; Ln = Número de larvas normales; Lv = Número de larvas vivas.

5.6.3.5. *Sobrevivencia al estrés osmótico*

Una vez iniciado el periodo larvario, se evaluó la sobrevivencia de las larvas a un tratamiento agudo de alta salinidad. La concentración salina y el tiempo de exposición se tomaron de los resultados con los que se alcanzó la LC 50, obtenidos de la información que presentó Enciso-Lizarraga *et al.* (2004). Para realizar ésta prueba, un tanque del SCEL se aisló del sistema (se cerró el drenaje y la línea de alimentación) y se agregó sal natural hasta alcanzar la salinidad de 55 ‰ (los valores se vigilaron con el sistema multi-pruebas YSI 556 MPS hasta que se estabilizó la salinidad). Tres UC se tomaron del tanque de incubación del SCEL y se sumergieron dentro del tanque con alta salinidad. Después de 32 min de exposición, se regresaron las UC al tanque de incubación y se dio 1 h de recuperación. Pasado este lapso, se realizó la cuenta de las larvas vivas (transparentes y con latidos) y se calculó la sobrevivencia con la siguiente relación:

$$SLE = [(L) (100)]/SL$$

En donde: *SLE* = Tasa de sobrevivencia al estrés; *L* = Número de larvas vivas; *PSL* = Valor de la supervivencia larvaria.

5.6.3.6. *Sobrevivencia larvaria a la inanición*

La sobrevivencia a la inanición se evaluó al día 5 después de la activación de los huevos, que corresponde al tiempo en el que se agotan la mayoría de los AG ricos en energía (Carrasco-Chavéz, 2004). Este índice se estimó con la ecuación:

$$Si = [(Lv) (100)]/Em$$

En donde: *Si* = Sobrevivencia de larvas a la inanición; *Lv* = Número de larvas vivas; *Em* = Número de embriones sembrados.

5.6.3.7. *Normalidad larvaria en inanición*

Se registró el número de larvas deformes (incorrecta posición del glóbulo de aceite y torsión de la notocorda) y normales (sin ninguna deformidad aparente) para determinar la tasa de normalidad de las larvas sobrevivientes a la inanición, con la siguiente relación:

$$NLI = [(Ln) (100)]/Lv$$

En donde: *NLI* = Larvas normales en inanición; *Ln* = Número de larvas normales vivas; *Lv* = Número de larvas vivas.

5.6.4. Morfometría de embriones y longitud notocordal de larvas

Las mediciones se realizaron a partir de las imágenes tomadas de los embriones y las larvas *in vivo*, con la utilización del programa de procesamiento de imágenes *Image-Pro Plus*® v. 4.5. La calibración de las medidas se realizó con la imagen de una escala de 2,000 μm , tomada con los mismos aumentos de las imágenes problema.

Los parámetros morfométricos (Cuadro 5) de embriones se determinaron de acuerdo con Lahnsteiner y Patarnello (2005). Las longitudes fueron tomadas con respecto al eje del embrión y perpendicular a éste.

A treinta larvas se les determinó la longitud notocordal (medida comprendida entre el extremo de la mandíbula superior y la punta de la notocorda).

Cuadro 5. Parámetros morfométricos medidos y calculados de embriones de *Paralabrax maculatofasciatus*.

Parámetros	Abreviaciones y fórmulas
<i>Medidos</i>	
Diámetros mínimo y máximo de:	
Huevo	<i>dmH</i> y <i>DMH</i>
Glóbulo de aceite	<i>dmG</i> y <i>DMG</i>
<i>Calculados</i>	
Diámetro promedio de:	
Huevo	$DPH = (dmH + DMH)/2$
Glóbulo de aceite	$DPG = (dmG + DMG)/2$
Coefficiente de forma de:	
Huevo	$CFH = [(DMH - dmH)/(DMH + dmH)]100$
Glóbulo de aceite	$CFG = [(DMG - dmG)/(DMG + dmG)]100$
Razón de diámetro de:	
Huevo	DMH/dmH
Glóbulo de aceite	DMG/dmG

5.6.5. Composición de ácidos grasos de embriones

Los embriones no utilizados en la evaluación de la calidad con los índices zootécnicos, se concentraron con un tamiz (300 μm) y se enjuagaron con agua destilada. Inmediatamente, se secaron, con papel secante, por adsorción a través de la malla del tamiz y se pesaron (balanza analítica METTLER TOLEDO modelo AG245; ± 0.01 mg). En seguida, los embriones se empacaron dentro de bolsas de

plástico, etiquetaron y congelaron (ultracongelador REVCO, modelo ULT 1386-3-A34). Posteriormente, se liofilizaron y determinó su composición de AG, de acuerdo con los métodos descritos en la sección 5.7.3. La humedad de los embriones se determinó con la diferencia entre el peso húmedo y el peso liofilizado.

5.7. Técnicas analíticas

5.7.1. Calidad del agua

En ambos sistemas de soporte de vida, la salinidad ($\text{‰} \pm 0.001$), temperatura ($^{\circ}\text{C} \pm 0.001$) y oxígeno disuelto ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1} \pm 0.001$) se midió con el sistema multi-pruebas YSI 556 MPS. Los datos fueron guardados en la memoria del aparato y descargados a una computadora por medio del programa EcoWatch[®] v. 3.17, para su posterior análisis estadístico. Después del registro de los factores anteriores, se tomaron muestras de agua para determinar la concentración de NH_4^+ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1} \pm 0.01$) y NO_2^{-2} ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1} \pm 0.001$) por medio de las técnicas colorimétricas propuestas por Strickland y Parsons (1972), modificadas para pequeños volúmenes de muestra (Carrasco Chávez, 2004) y el uso de un espectrofotómetro (SPECTRONIC, modelo Genesys 2).

5.7.2. Análisis químico proximal

Los análisis fueron realizados en el Laboratorio de Bromatología del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), de acuerdo con AOAC (1995). A los ingredientes, alimentos experimentales y frescos, se les determinó por triplicado el contenido de: humedad, por diferencia de peso al secar a $70^{\circ}\text{C}\cdot 24\text{ h}^{-1}$; proteínas, mediante el método de microkjeldahl ($\% \text{N}\cdot 6.25$); extracto etéreo, por el método soxleth; fibra cruda, con el método de hidrólisis sucesiva (ácido/base); cenizas, por diferencia de peso al calcinar a $500^{\circ}\text{C}\cdot 24\text{ h}^{-1}$; extracto libre de nitrógeno (ELN), por medio de la diferencia de $100 - (\% \text{ proteínas} + \% \text{ extracto etéreo} + \% \text{ fibra cruda} + \% \text{ cenizas})$; energía, solo en los alimentos, mediante el cálculo con la siguiente fórmula: $(\text{fracción de proteínas}) 5.8 + (\text{fracción de lípidos totales}) 9.4 + (\text{fracción de ELN}) 4.2 = \text{Kcal} \cdot \text{g}^{-1}$ (Smith, 1989; Lovell, 1998).

5.7.3. Análisis de ácidos grasos

La extracción y análisis de lípidos totales y ácidos grasos se efectuó en el Laboratorio de Biotecnología de Microalgas del CIBNOR. La determinación se realizó a los ingredientes mayoritarios de los alimentos experimentales (harinas de sardina, calamar, integral de trigo; hidrolizado de pescado; aceites de bacalao, girasol y lecitina de soya), alimentos frescos (calamar y mojarra), alimentos experimentales terminados y embriones. Todas las muestras analizadas (excepto aceites), fueron previamente liofilizadas a $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 0.180 mb durante 24 h (liofilizador LABCONCO, modelo 77520-J) y posteriormente congeladas a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ (ultracongelador REVCO, modelo ULT 1386-3-A34), mantenidas así hasta su análisis. Los reactivos y solventes utilizados en las técnicas fueron de grado analítico y HPLC bidestilados, respectivamente. El agua utilizada fue siempre destilada. La manipulación de las muestras durante la extracción con solventes y evaporación de los mismos se realizó en una campana de extracción y se evitó, en lo posible, la incidencia de luz directa.

5.7.3.1. Extracción de lípidos totales

Los lípidos totales se determinaron mediante el método propuesto por Bligh y Dyer (1956), modificado por Carrasco-Chávez (2004) para pequeñas cantidades. El procedimiento fue el siguiente: en tubos de ensayo de 10 ml se pesó, con la mayor exactitud posible y por triplicado, 100 mg de muestra liofilizada. Inmediatamente se agregaron 3 ml de una mezcla de cloroformo:metanol (1:2 v/v) y 10 μl de BHT al 0.1 % como antioxidante; se molió con una varilla de vidrio de punta redonda, se llenó con nitrógeno y se selló (tapón con empaque y cinta de teflón). Luego, para facilitar la extracción, las muestras se sometieron a ultrasonido en baño frío por 3 ciclos de 5 min (sonicador BRANSON, modelo 3510-DHT) y dejaron macerar por 24 h a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ en obscuridad. Pasado este lapso, se centrifugó a 4,500 rpm y $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 15 min (centrífuga BECKMAN, modelo 349702). Una vez centrifugado, el sobrenadante se transfirió, con una pipeta Pasteur, a un segundo tubo. El precipitado sólido fue lavado con 0.5 ml de cloroformo y se repitieron los pasos del ultrasonido, centrifugado y recuperación del sobrenadante. Éste procedimiento se realizó dos veces. Ulteriormente fueron agregados 1.8 ml de agua a la solución recuperada, para

obtener una proporción de cloroformo:metanol:agua de 2:2:1.8 y se homogeneizó (agitador de tubos BAXTER, modelo S8223-1); se centrifugó a 4,500 rpm y 5 °C por 15 min. Esto permitió la separación de la solución en dos fases: una inferior no polar (de cloroformo y lípidos) y una superior polar (agua, metanol y solutos no lipídicos). Posteriormente, la fase inferior fue filtrada a través de una pipeta Pasteur empacada con filtro de fibra de vidrio y cloruro de sodio anhidro para evitar su hidratación y contaminación con las partículas suspendidas de la interfase. Durante el proceso de filtrado fue transferida a un tercer tubo, en donde se concentró mediante evaporación con corriente de nitrógeno. Una vez concentrada la solución, se trasladó a un vial de 2 ml (peso conocido) con una pipeta Pasteur. Las paredes del tubo se lavaron tres veces con cloroformo, para obtener el máximo de recuperación de la solución. El cloroformo se evaporó del vial bajo corriente de nitrógeno y el contenido de lípidos totales se determinó por gravimetría (balanza analítica A&D HR-60; ± 0.0001 g), con la relación:

$$LT = (PV + LT) - PV$$

En donde: LT = Lípidos totales; PV = Peso del vial.

Los extractos de lípidos se guardaron secos en atmósfera de nitrógeno, en viales con empaque y sello de teflón, en obscuridad y a -80 °C para su análisis posterior de ácidos grasos.

5.7.3.2. Extracción de ésteres metílicos de ácidos grasos

Para determinar la concentración de ácidos grasos, los extractos de lípidos totales se transesterificaron a ésteres metílicos de ácidos grasos (EMAG) por medio de la técnica de metanólisis ácida (Sato y Murata, 1988). Los extractos fueron suspendidos con algunas gotas de hexano, extraídos del vial y transferidos, con pipeta Pasteur, a un tubo de ensayo de 10 ml. Posteriormente se evaporó el hexano con corriente de nitrógeno y se agregaron 2.5 ml de una mezcla de ácido clorhídrico:metanol (5:95 v/v); se selló con empaque y cinta de teflón y se puso en baño María a 85 °C por 2.5 h. Transcurrido el tiempo y después de dejar enfriar, se agregó 1 ml de hexano; luego se homogeneizó, se agregaron 2 ml de agua y se volvió a homogeneizar. Este procedimiento originó la separación de dos fases: una

inferior (agua e impurezas de la derivatización) y una superior (hexano y EMAG). La fase superior fue extraída con pipeta Pasteur y trasferida a un vial de 2 ml (de peso conocido). El proceso desde la homogenización se repitió dos veces, con el uso de 0.5 ml de hexano cada vez. Después de concentrada la solución de hexano y EMAG, el hexano se evaporó bajo corriente de nitrógeno y se determinó la concentración de EMAG por gravimetría (balanza analítica A&D HR-60; ± 0.0001 g), con la relación:

$$AG = (PV + AG) - PV$$

En donde: AG = Ácidos grasos; PV= Peso del vial.

Los EMAG obtenidos se guardaron secos en atmósfera de nitrógeno, en viales con empaque y sello de teflón, en obscuridad y a -80 °C, hasta su preparación para el análisis en el cromatógrafo de gases.

5.7.3.3. Identificación y cuantificación de ácidos grasos

En los viales, los extractos secos de EMAG fueron resuspendidos en 1 ml de hexano. Después se extrajo, con una jeringa cromatográfica, un volumen tal que contuviese 300 μ g de EMAG; se transfirió a un inserto contenido en un vial de inyección y aforó a 250 μ l con hexano. Una vez preparados los viales de inyección, se montaron en el carrusel del inyector automático y se especificó la identidad de las muestras y la rutina de inyección, mediante el programa GCD Plus ChemStation versión A.01 (Hewlett Packard®). Para el análisis se utilizó un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas (GCD Hewlett Packard, modelo G1800B). Se utilizó, como fase estacionaria, una película de glicol de polietileno de 0.25 μ m de espesor empacada en una columna capilar de sílice fundida (supelco Omegawax 250) de 30 m de longitud y 0.25 mm de diámetro interno. La fase móvil (gas de acarreo) consistió en Helio a un flujo de 0.9 ml/min. Las condiciones de trabajo y el programa de temperaturas fueron: la temperatura del inyector de 250 °C; la temperatura inicial de 110 °C durante 3.30 min, posteriormente aumentó a una tasa de 30 °C·min⁻¹ hasta alcanzar 165 °C, en donde se mantuvo por 2 min. Ulteriormente, aumentó a una tasa de 2.2 °C·min⁻¹ hasta alcanzar 209 °C y se mantuvo así por 35

min; la temperatura del detector de 260 °C; el tiempo de corrimiento de 62 min. El rango de masas de 45:450.

La identificación de los EMAG se llevó a cabo por medio de la comparación de los tiempos de retención de los estándares inyectados durante la realización de la curva de calibración de cada AG, al inicio de la puesta en marcha de la columna capilar utilizada en el presente trabajo y de los espectros de masas de las bases de datos NIST02, NIST98 y NBS75K, con el programa GCD Plus ChemStation versión A.01 (Hewlett Packard®).

La cuantificación se realizó por medio de la integración del área de cada pico. El área de la línea base se incluyó en la integración, con el propósito de tener un punto de referencia y disminuir el error de paralaje al delimitar el área bajo la curva entre réplicas. Una vez identificados los picos y obtenidas las áreas, se calculó la concentración de cada ácido graso con la siguiente relación:

$$AG = \left\{ \left[\frac{(A/FC)100}{\sum (A/FC)} \right] AGT \right\} / PSM$$

En donde: *A* = Área bajo la curva; *FC* = Factor de corrección (pendiente de la curva de calibración para cada AG); *PSM* = Peso seco de la muestra; *AGT* = Contenido de ácidos grasos totales en la muestra; *AG* = Contenido del ácido graso individual.

5.8. Análisis estadísticos

Los resultados fueron organizados y analizados con el criterio del diseño experimental completamente al azar, debido a las pocas réplicas obtenidas de algunos tratamientos. Los datos porcentuales se transformaron con la función raíz arco seno. La normalidad y la homoscedasticidad se determinaron a todos los datos, con las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Levene, respectivamente; si cumplieron estos supuestos, se realizó un análisis de varianza de una vía para determinar la existencia de diferencias entre tratamientos ($P < 0.05$) para cada criterio de calidad. Cuando hubo diferencias, se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Holm-Sidak. A los datos que no se ajustaron a la normalidad y no fueron homoscedásticos se les aplicó una prueba por rangos de Kruskal-Wallis y cuando se hallaron diferencias, se utilizó la prueba de comparaciones múltiples de Duncan. Los análisis estadísticos paramétricos se realizaron con el programa SigmaStat® v. 3.0 (SPSS, Inc.) y los no paramétricos con Statistica® v. 6.0 (StatSoft, Inc.).

6. Resultados

6.1. Calidad de agua de los sistemas de soporte de vida

Las concentraciones ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) de amonio (NH_4^+) y nitrito (NO_2^-) (Cuadro 6), se mantuvieron por debajo de los niveles recomendados para el cultivo de peces marinos adultos (Tucker, 1998) en el SCID y para el cultivo de larvas (Holt y Arnold, 1983), en el SCEL. En ambos sistemas, la concentración de oxígeno se mantuvo cerca de la saturación, la salinidad próxima al promedio oceánico y la temperatura cerca de 23°C , la cual fue recomendada por Rosales-Velázquez *et al.* (1992) para la reproducción en cautiverio de *Paralabrax maculatofasciatus* mediante inducción fototérmica, y está dentro del intervalo térmico de la estación reproductiva natural en la Bahía de La Paz (Ocampo-Cervantes, 2002).

La calidad del agua se mantuvo estable, dentro de los niveles aceptables y no fue estadísticamente diferente entre los tanques de cada sistema, por lo que se considera que no tuvo un efecto negativo sobre el desempeño reproductivo de los adultos o algún efecto teratogénico o toxicológico en embriones y larvas, que pudiese causar cambios en las variables de respuesta medidas.

Cuadro 6. Factores físicos y químicos de los sistemas de soporte de vida de *Paralabrax maculatofasciatus* durante el periodo experimental.

Tanque	Amonio ($\text{mg NH}_4^+\text{-N}\cdot\text{L}^{-1}$)	Nitritos ($\text{mg NO}_2^-\text{-N}\cdot\text{L}^{-1}$)	Temperatura ($^\circ\text{C}$)	Oxígeno ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	Salinidad (‰)
SCID					
1	0.15 ± 0.09	0.03 ± 0.014	23.3 ± 0.6	6.2 ± 0.4	35.7 ± 0.5
2	0.15 ± 0.07	0.03 ± 0.019	23.3 ± 0.6	6.2 ± 0.4	35.7 ± 0.4
3	0.14 ± 0.07	0.03 ± 0.014	23.3 ± 0.6	6.1 ± 0.4	35.7 ± 0.4
4	0.14 ± 0.07	0.03 ± 0.016	23.3 ± 0.5	6.1 ± 0.4	35.7 ± 0.4
5	0.15 ± 0.08	0.03 ± 0.016	23.3 ± 0.6	6.1 ± 0.3	35.7 ± 0.5
6	0.14 ± 0.08	0.03 ± 0.016	23.3 ± 0.6	6.1 ± 0.3	35.7 ± 0.4
SCEL					
1	0.05 ± 0.08	0.01 ± 0.004	23.0 ± 0.5	6.4 ± 0.7	35.5 ± 1.0
2	0.05 ± 0.07	0.01 ± 0.006	22.9 ± 0.5	6.3 ± 0.3	35.4 ± 1.0
3	0.05 ± 0.06	0.01 ± 0.004	22.9 ± 0.6	6.3 ± 0.3	35.4 ± 1.0
4	0.05 ± 0.08	0.01 ± 0.006	22.9 ± 0.6	6.3 ± 0.4	35.3 ± 1.0

Los valores representan la media \pm la desviación estándar; no existieron diferencias significativas ($P > 0.05$).

6.2. Biometría de reproductores

Los promedios de longitud (cm) y peso (g) por sexo de los reproductores, al inicio del experimento, se presentan en el Cuadro 7. El promedio de la longitud patrón y del peso total fueron mayores en machos que en hembras y no resultaron estadísticamente diferentes entre tanques, por lo que se considera que cualquier diferencia existente de las variables medidas entre tanques, no es producto de sus diferencias de talla o peso.

Cuadro 7. Longitud patrón (cm) y peso total (g) por sexo de los reproductores de *Paralabrax maculatofasciatus* al inicio del experimento.

Tanque	1	2	3	4	5	6
Longitud patrón						
♂ (n = 4)	23.3 ± 1.1	22.2 ± 1.5	22.1 ± 2.0	22.2 ± 0.9	22 ± 1.4	21.2 ± 0.8
♀ (n = 6)	18.8 ± 1.6	19.6 ± 2.2	18.9 ± 1.4	19.7 ± 1.8	18 ± 1.7	18.8 ± 0.9
Peso total						
♂ (n = 4)	339.4 ± 45.1	295.5 ± 78.8	282.2 ± 78.3	289.5 ± 27.3	276.0 ± 43.0	237.2 ± 23.1
♀ (n = 6)	164.0 ± 39.7	201.6 ± 89.4	181.5 ± 47.2	204.6 ± 61.8	146.8 ± 42.9	165.0 ± 28.2

Los valores representan el promedio ± desviación estándar; no se encontraron diferencias significativas entre tanques ($P > 0.05$).

6.3. Alimentos

6.3.1. Composición química proximal de los alimentos experimentales y frescos

Los resultados del análisis de composición química proximal (Cuadro 8), muestran que los alimentos experimentales tuvieron niveles de proteína próximos al de su formulación (45 y 55 %), excepto los alimentos 55-1.2 y 55-1.9, los cuales resultaron con un nivel más bajo (53 %).

El nivel de lípidos totales no presentó diferencias estadísticas (osciló entre el 20 y 21 %), por lo que se consideraron como isolipídicos.

El contenido de fibra cruda de los alimentos experimentales no fue significativamente diferente (varió entre el 0.1 y 0.4 %). Este contenido fue similar en los alimentos 45-0.5, 45-1.2 y 45-1.9 (0.2 %) y en los alimentos 55-0.5 y 55-1.2 (0.1%), a excepción del alimento 55-1.9, que presentó el valor más alto (0.4 %).

El nivel de cenizas fue similar en los alimentos 45-0.5, 45-1.2 y 45-1.9 (cerca del 11 %) y en los alimentos 55-0.5, 55-1.2 y 55-1.9 (próximo al 15 %). El nivel de

humedad fue menor en los alimentos 45-1.9 y 55-0.5 (4.4 y 3.2 %, respectivamente), que en el resto de los alimentos experimentales (cercaos al 6 %).

El nivel de extracto libre de nitrógeno fue mayor y similar entre los alimentos 45-0.5, 45-1.2, 45-1.9 (próximo al 23 %), con respecto a los alimentos 55-0.5, 55-1.2 y 55-1.9 (aproximadamente el 10 %).

El análisis de composición química proximal de los alimentos frescos (Cuadro 8) mostró que el nivel de humedad fue mayor en la mojarra (80 %) que en el calamar (75 %).

Los niveles de proteína resultaron con valores muy cercanos entre el calamar (65 %) y la mojarra (68 %).

El nivel de extracto etéreo fue mayor en el calamar (4.9 %) con respecto a la mojarra (3.2 %). La fibra cruda no pudo ser detectada en ambos alimentos frescos.

El nivel de cenizas resultó ser mayor en la mojarra (20 %), que en el calamar (5.9 %).

El extracto libre de nitrógeno fue mayor en el calamar (23.4 %), que en la mojarra (6.23 %).

6.3.2. Composición de ácidos grasos de los alimentos experimentales y frescos

Los resultados de la composición de ácidos grasos de los alimentos experimentales y frescos, expresados en $\text{mg} \cdot 100 \text{ mg}^{-1}$ de materia seca (Cuadro 8), muestran 40 ácidos grasos identificados, los cuales fueron agrupados en clases para una mejor comparación entre los alimentos, de acuerdo al número de enlaces dobles y a su función fisiológica conocida. Así, en las clases formadas, se observa que los niveles de AGS fueron significativamente mayores en los alimentos experimentales (entre 4 y 7 %) que los encontrados en el calamar (2.5 %) y en la mojarra (1.1 %). De este grupo de ácidos grasos, el 16:0 3,7,11,15 metilo únicamente fue encontrado en el calamar y el 16:0 *iso* solo fue detectado en el calamar y la mojarra. El 16:0 *anteiso* y el 15:0 *iso* fueron detectados en los alimentos experimentales, pero no en el calamar y la mojarra, aunque el 15:0 *iso* se encontró como traza en la mojarra. Los ácidos grasos 17:0 *iso*, 19:0, 22:0 y 24:0 no fueron detectados únicamente en el calamar. El ácido graso 16:0 fue el más abundante AGS en todos los alimentos.

Los niveles de AGMI resultaron significativamente mayores en los alimentos experimentales (entre 5 y 9.2 %) con respecto al calamar (1 %) y la mojarra (0.6 %). De este grupo de ácidos grasos, el 16:1 (n-10) 7 metilo únicamente fue detectado en la mojarra y el 20:1 (serie no identificada) en el calamar. Los ácidos grasos 22:1 (n-9) y 22:1 (n-7) fueron detectados en los alimentos experimentales y no en los frescos. El AGMI más abundante en los alimentos fue el 18:1 (n-9).

Los niveles de AGPI resultaron significativamente mayores en los alimentos 45-1.9 y 55-0.5 y el calamar (cerca de 6 %), seguidos de la mojarra (3 %), alimentos 55-1.2 y 55-1.9 (1.3 %) y alimentos 45-0.5 y 45-1.2 (0.6 %). De estos ácidos grasos, el 16:2 (n-4) y 22:2 (serie no identificada) solamente se encontraron en el calamar y el 20:3 (n-6) y 22:4 (n-6) en la mojarra. De la misma manera el 22:5 (n-6) y 22:5 (n-3) fueron detectados solamente en ambos alimentos frescos. El 20:2 (n-6) y el 18:4 (n-3) se encontraron en todos los alimentos, con excepción del calamar. El AGPI más abundante fue el 18:2 (n-6) en los alimentos experimentales, excepto en el alimento 45-1.9, el cual se comportó como los alimentos frescos en donde el más abundante fue el 22:6 (n-3).

El nivel de AGE (suma de 20:4 (n-6), 20:5 (n-3) y 22:6 (n-3)) en el calamar fue significativamente mayor (6 %) que el encontrado en la mojarra (2.2 %). En los alimentos experimentales, los niveles de AGE difirieron de los valores correspondientes a su formulación, excepto para el alimento 45-0.5 (0.36 %), que resultó cercano al nivel determinado de 0.5 %. En los alimentos 45-1.9 y 55-0.5, el nivel de AGE resultó ser el doble de la cantidad determinada en su formulación (4.1 y 0.9 %, respectivamente) y en los alimentos 45-1.2, 55-1.2 y 55-1.9, resultó por debajo de sus respectivos niveles (próximo a 0.24 %). Debido a esto, en los alimentos experimentales, cualquier efecto de éstos sobre alguna variable de respuesta medida, solo es posible considerarlos en los niveles de AGE de 0.2 % (alimentos 45-1.2), 1 % (alimento 55-0.5) y 4 % (alimento 45-1.9).

El nivel mayor del ácido graso 20:4 (n-6) correspondió a la mojarra (0.18 %), seguido del calamar, del alimento 45-1.9 (ambos con cerca del 0.1 %) y de los alimentos 55-0.5, 55-1.2 y 55-1.9 (entre 0.01 y 0.04 %). En los alimentos 45-0.5 y 45-1.2 el ácido araquidónico se detectó como trazas y no pudo cuantificarse.

El nivel mayor del ácido graso 20:5 (n-3) se determinó en el calamar (2 %), seguido del alimento 45-1.9 (1.5 %), el alimento 55-0.5 y la mojarra (0.4 y 0.3 %, respectivamente) y el resto de los alimentos con niveles muy bajos (entre 0.07 y 0.13 %).

El nivel del ácido graso 22:6 (n-3) fue más elevado en el calamar, el alimento 45-1.9 y la mojarra (4.0, 2.6 y 1.8 %, respectivamente) que en los alimentos experimentales (entre el 0.2 y 0.5 %).

La razón 22:6 (n-3)/20:5 (n-3) resultó ser mayor y estadísticamente diferente en la mojarra (con 6.3) con respecto a los demás alimentos. En los alimentos experimentales y el calamar no se encontraron diferencias significativas (entre 1.7 y 2.4), a excepción del alimento 55-0.5, que resultó significativamente más bajo (1.0).

La razón 20:4 (n-6)/20:5 (n-3) fue significativamente mayor en la mojarra (0.7) que en los demás alimentos. En los alimentos 55-1.2 y 55-1.9 la razón fue semejante (con 0.2) y estadísticamente menor a los alimentos 45-1.9, 55-0.5 y calamar (entre 0.5 y 0.9). En los alimentos 45-0.5 y 45-1.2 no fue posible determinar esta razón, debido a que el nivel del ácido 20:4 (n-6) en estos alimentos fue detectado como traza.

Cuadro 8. Composición química proximal y de ácidos grasos ($\text{mg} \cdot 100 \text{mg}^{-1}$ de materia seca) de los alimentos experimentales y frescos utilizados para alimentar a reproductores de *Paralabrax maculatofasciatus*.

	Alimentos							
	45-0.5	45-1.2	45-1.9	55-0.5	55-1.2	55-1.9	Calamar	Mojarra
Humedad χ	5.99 ± 0.10	5.94 ± 0.11	4.45 ± 0.02	3.28 ± 0.11	6.35 ± 0.11	6.15 ± 0.10	75.27 ± 0.86	80.20 ± 0.18
Proteína	45.11 ± 0.4	44.94 ± 0.34	45.44 ± 0.16	54.69 ± 0.06	52.85 ± 0.19	53.05 ± 0.13	65.61 ± 0.25	69.93 ± 0.06
Extracto etéreo	-	-	-	-	-	-	4.94 ± 0.10	3.22 ± 0.06
Lípidos totales	21.5 ± 0.33	20.5 ± 0.92	20.0 ± 0.66	20.7 ± 0.28	21.8 ± 0.62	21.7 ± 1.41	-	-
Fibra cruda	0.26 ± 0.02	0.20 ± 0.06	0.23 ± 0.06	0.09 ± 0.01	0.10 ± 0.02	0.42 ± 0.04	N.D.	N.D.
Cenizas	10.78 ± 0.05	11.15 ± 0.03	11.11 ± 0.03	14.86 ± 0.18	15.14 ± 0.06	15.33 ± 0.12	5.96 ± 0.02	20.62 ± 0.24
Extracto libre de Nitrógeno	22.3 ± 0.50	23.0 ± 1.00	23.1 ± 0.50	9.6 ± 0.20	10.0 ± 0.80	9.4 ± 1.00	23.49	6.23
Energía ¥	5573.9	5499.5	5485.7	5521	5534.5	5511.5	5256.3	4620.2
14:0	0.81 ± 0.004	1.14 ± 0.090	1.07 ± 0.038	0.06 ± 0.011	1.20 ± 0.063	1.50 ± 0.023	0.32 ± 0.002	0.04 ± 0.003
15:0	0.08 ± 0.004	0.09 ± 0.008	0.08 ± 0.003	0.05 ± 0.001	0.10 ± 0.004	0.12 ± 0.001	0.02 ± 0.002	0.02 ± 0.002
15:0 iso	0.02 ± 0.002	0.01 ± 0.001	0.01 ± 0.001	0.01 ± 0.001	0.01 ± 0.002	0.02 ± 0.001	N.D.	Traza
16:0	3.44 ± 0.036	3.72 ± 0.292	0.29 ± 0.093	2.50 ± 0.028	3.82 ± 0.205	3.99 ± 0.052	1.69 ± 0.011	0.53 ± 0.022
16:0 iso	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.01 ± 0.004	0.01 ± 0.001
16:0 3,11,7,15 metilo	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.06 ± 0.006	N.D.
16:0 anteiso	0.02 ± 0.002	0.02 ± 0.001	0.01 ± 0.002	0.01 ± 0.001	0.02 ± 0.001	0.02 ± 0.002	N.D.	N.D.
17:0	0.08 ± 0.005	0.08 ± 0.006	0.06 ± 0.003	0.05 ± 0.002	0.09 ± 0.004	0.10 ± 0.002	0.02 ± 0.004	0.03 ± 0.002
17:0 iso	0.02 ± 0.003	0.02 ± 0.001	0.02 ± 0.001	0.01 ± 0.001	0.03 ± 0.004	0.03 ± 0.002	N.D.	0.01 ± 0.002
18:0	1.08 ± 0.008	0.93 ± 0.080	0.05 ± 0.020	0.72 ± 0.015	0.97 ± 0.052	0.83 ± 0.018	0.40 ± 0.001	0.31 ± 0.020
19:0	0.03 ± 0.005	0.02 ± 0.002	0.02 ± 0.001	0.02 ± 0.002	0.02 ± 0.002	0.02 ± 0.003	N.D.	0.01 ± 0.002
20:0	0.10 ± 0.007	0.07 ± 0.005	0.04 ± 0.004	0.05 ± 0.006	0.07 ± 0.003	0.06 ± 0.005	0.02 ± 0.004	0.02 ± 0.002
22:0	0.19 ± 0.014	0.10 ± 0.007	0.03 ± 0.003	0.08 ± 0.005	0.10 ± 0.002	0.05 ± 0.005	N.D.	0.03 ± 0.005
24:0	0.21 ± 0.013	0.11 ± 0.011	0.04 ± 0.002	0.10 ± 0.001	0.11 ± 0.006	0.08 ± 0.004	N.D.	0.08 ± 0.016
16:1 (n-10) 7 metilo	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.01 ± 0.003
16:1 (n-9)	0.04 ± 0.006	0.05 ± 0.002	0.05 ± 0.002	0.03 ± 0.001	0.05 ± 0.003	0.06 ± 0.003	0.02 ± 0.004	0.01 ± 0.002
16:1 (n-7)	0.81 ± 0.003	1.12 ± 0.103	1.23 ± 0.046	0.72 ± 0.013	1.18 ± 0.065	1.55 ± 0.023	0.14 ± 0.010	0.10 ± 0.007
16:1 (n-5)	0.03 ± 0.003	0.04 ± 0.003	0.04 ± 0.002	0.02 ± 0.001	0.04 ± 0.001	0.06 ± 0.002	0.01 ± 0.003	0.01 ± 0.001
17:1 *	0.04 ± 0.005	0.04 ± 0.003	0.04 ± 0.001	0.03 ± 0.001	0.04 ± 0.001	0.06 ± 0.002	0.01 ± 0.003	0.02 ± 0.003

Los valores representan la media ± desviación estándar ($n = 3$). Literales diferentes entre columnas indican diferencias estadísticas ($P < 0.05$). N.D., es no detectado. Trazas < 0.01 . * Indica que la familia no pudo ser identificada. χ Determinación en base húmeda. ¥ indica $\text{Cal} \cdot \text{g}^{-1}$.

Cuadro 8. Continuación. Composición de ácidos grasos ($\text{mg} \cdot 100 \text{mg}^{-1}$ de materia seca) de los alimentos experimentales y frescos utilizados para alimentar a reproductores de *Paralabrax maculatofasciatus*.

	45-0.5	45-1.2	45-1.9	55-0.5	55-1.2	55-1.9	Calamar	Mojarra
18:1 (n-9)	5.37 ± 0.057	4.34 ± 0.415	2.70 ± 0.087	3.71 ± 0.088	3.94 ± 0.198	3.24 ± 0.066	0.27 ± 0.011	0.28 ± 0.039
18:1 (n-7)	0.56 ± 0.008	0.65 ± 0.060	0.61 ± 0.018	0.44 ± 0.007	0.66 ± 0.038	0.79 ± 0.018	0.20 ± 0.007	0.09 ± 0.003
20:1 *	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.11 ± 0.007	N.D.
20:1 (n-9)	0.57 ± 0.007	0.88 ± 0.080	0.94 ± 0.021	0.27 ± 0.007	0.86 ± 0.088	1.18 ± 0.028	0.17 ± 0.003	0.01 ± 0.001
22:1 (n-9)	0.75 ± 0.010	1.20 ± 0.115	1.31 ± 0.032	0.32 ± 0.012	1.07 ± 0.032	1.68 ± 0.054	N.D.	N.D.
22:1 (n-7)	0.19 ± 0.014	0.19 ± 0.015	0.14 ± 0.009	0.08 ± 0.001	0.18 ± 0.004	0.22 ± 0.011	N.D.	N.D.
24:1 (n-9)	0.34 ± 0.024	0.31 ± 0.033	0.24 ± 0.003	0.16 ± 0.007	0.34 ± 0.021	0.42 ± 0.022	0.07 ± 0.009	0.10 ± 0.014
16:2 (n-4)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.02 ± 0.004	N.D.
18:2 (n-6)	0.89 ± 0.025	0.94 ± 0.194	1.12 ± 0.051	5.58 ± 0.142	0.38 ± 0.027	0.27 ± 0.007	0.03 ± 0.006	0.04 ± 0.003
22:2 *	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.04 ± 0.001	N.D.
20:2 (n-6)	Traza	0.03 ± 0.004	0.05 ± 0.001	0.03 ± 0.008	Traza	0.03 ± 0.000	N.D.	0.01 ± 0.001
20:3 (n-6)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.02 ± 0.003
20:4 (n-6)	Traza	Traza	0.09 ± 0.002	0.04 ± 0.001	0.01 ± 0.001	0.01 ± 0.000	0.10 ± 0.006	0.18 ± 0.004
22:4 (n-6)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.19 ± 0.037
22:5 (n-6)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.08 ± 0.010	0.11 ± 0.006
18:3 (n-3)	0.04 ± 0.006	0.03 ± 0.004	0.26 ± 0.019	0.16 ± 0.003	0.03 ± 0.003	0.04 ± 0.004	0.04 ± 0.007	0.02 ± 0.002
18:4 (n-3)	0.04 ± 0.007	0.04 ± 0.001	0.34 ± 0.013	0.10 ± 0.004	0.04 ± 0.002	0.03 ± 0.003	N.D.	0.02 ± 0.002
20:3 (n-3)	Traza	Traza	0.02 ± 0.002	Traza	Traza	Traza	0.02 ± 0.009	0.02 ± 0.004
20:5 (n-3)	0.13 ± 0.055	0.08 ± 0.016	1.51 ± 0.046	0.44 ± 0.014	0.07 ± 0.008	0.08 ± 0.014	2.01 ± 0.044	0.28 ± 0.017
22:5 (n-3)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.15 ± 0.014	0.26 ± 0.019
22:6 (n-3)	0.27 ± 0.037	0.16 ± 0.027	2.56 ± 0.046	0.46 ± 0.016	0.16 ± 0.008	0.18 ± 0.014	3.96 ± 0.042	1.77 ± 0.102
∑ AGS	6.06 ± 0.02 b	6.31 ± 0.50 c	4.84 ± 0.16 d	4.23 ± 0.06 e	6.62 ± 0.35 a	6.83 ± 0.11 ab	2.58 ± 0.05 f	1.11 ± 0.09 g
∑ AGMI	8.71 ± 0.03 c	8.82 ± 0.82 b	7.25 ± 0.14 d	5.77 ± 0.13 e	8.36 ± 0.29 c	9.26 ± 0.22 a	1.01 ± 0.04 f	0.62 ± 0.07 g
∑ AGPI	1.33 ± 0.11 e	1.27 ± 0.24 f	5.94 ± 0.16 c	6.80 ± 0.18 a	0.68 ± 0.04 g	0.61 ± 0.03 g	6.46 ± 0.03 b	2.91 ± 0.16 d
∑ AGE	0.36 ± 0.12 e	0.23 ± 0.04 e	4.16 ± 0.0 b	0.92 ± 0.05 d	0.24 ± 0.01 e	0.26 ± 0.03 e	6.07 ± 0.06 a	2.24 ± 0.12 c
∑ (n-6)	0.89 ± 0.03 c	0.97 ± 0.19 c	1.26 ± 0.05 b	5.64 ± 0.15 a	0.39 ± 0.02 e	0.29 ± 0.01 f	0.20 ± 0.02 f	0.55 ± 0.03 d
∑ (n-3)	0.44 ± 0.13 e	0.30 ± 0.05 f	4.69 ± 0.11 b	1.16 ± 0.04 d	0.29 ± 0.02 f	0.32 ± 0.04 f	6.19 ± 0.04 a	2.36 ± 0.13 c
22:6 (n-3)/20:5 (n-3)	2.42 ± 0.95 b	2.05 ± 0.07 b	1.70 ± 0.02 b	1.05 ± 0.01 c	2.27 ± 0.18 b	2.19 ± 0.19 b	1.97 ± 0.04 b	6.32 ± 0.19 a
20:4 (n-6)/20:5 (n-3)	-	-	0.06 ± 0.00 d	0.09 ± 0.00 c	0.20 ± 0.01 b	0.20 ± 0.12 b	0.05 ± 0.003 d	0.66 ± 0.03 a

Los valores representan la media ± desviación estándar ($n = 3$). Literales diferentes entre columnas indican diferencias estadísticas ($P < 0.05$). N.D., es no detectado. Trazas < 0.01. * Indica que la familia no pudo ser identificada.

6.4. Criterios de calidad

6.4.1. Parámetros reproductivos

6.4.1.1. Fecundidad parcial

No se detectaron diferencias significativas entre los promedios de la fecundidad parcial (número de embriones \cdot tanque \cdot día⁻¹) (Figura 5) de reproductores sometidos a los alimentos experimentales y frescos. No obstante, se observaron promedios de fecundidad parcial ligeramente mayores en los reproductores alimentados con los alimentos frescos y el alimento 55-0.5 (de 31,000 a 34,000 embriones \cdot tanque \cdot día⁻¹), con respecto a los alimentados con los demás alimentos experimentales (17,000 a 26,000 embriones \cdot tanque \cdot día⁻¹).

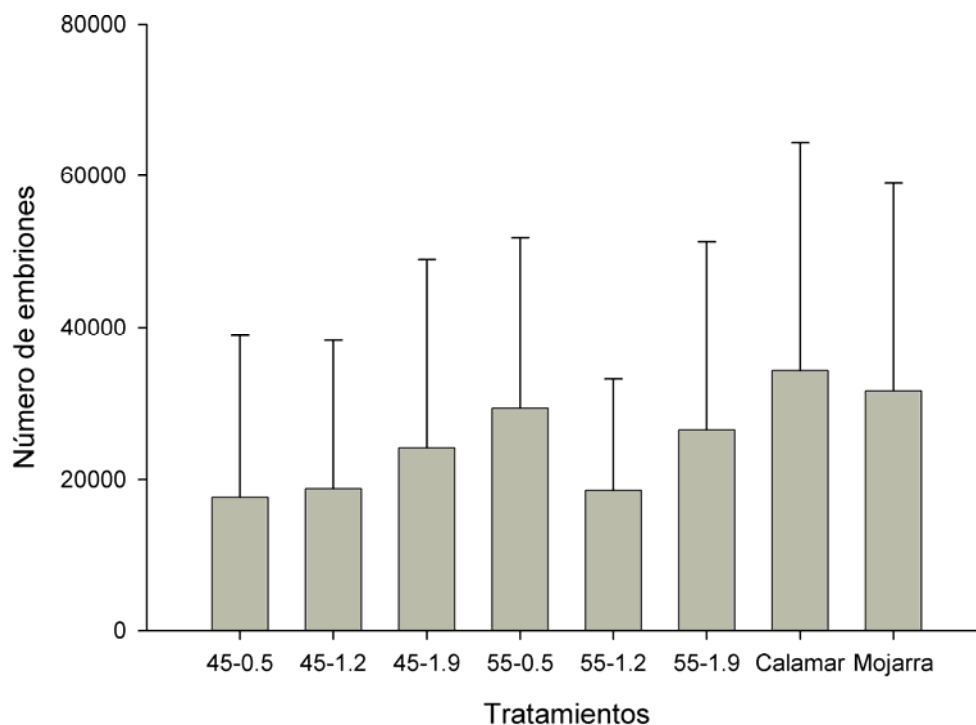


Figura 5. Fecundidad parcial promedio de reproductores de *Paralabrax maculatofasciatus* sometidos a los tratamientos alimentarios. Las barras indican el valor promedio y los bigotes la desviación estándar. No se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$); Prueba no paramétrica.

6.4.1.2. Viabilidad de embriones

Los promedios del índice de viabilidad ($\%$ de embriones vivos \cdot tanque \cdot día⁻¹) (Figura 6) de los embriones obtenidos de reproductores alimentados con calamar y mojarra mostraron los índices significativamente más altos (con 64 y 63 %, respectivamente), aunque no fueron estadísticamente diferentes de los obtenidos con los alimentos 45-1.2, 55-0.5 y 55-1.9 (entre 42 y 47 %). Éstos últimos no presentaron diferencias significativas con los embriones obtenidos con el resto de los alimentos experimentales, en los que el promedio fue menor (entre 26 y 30 %).

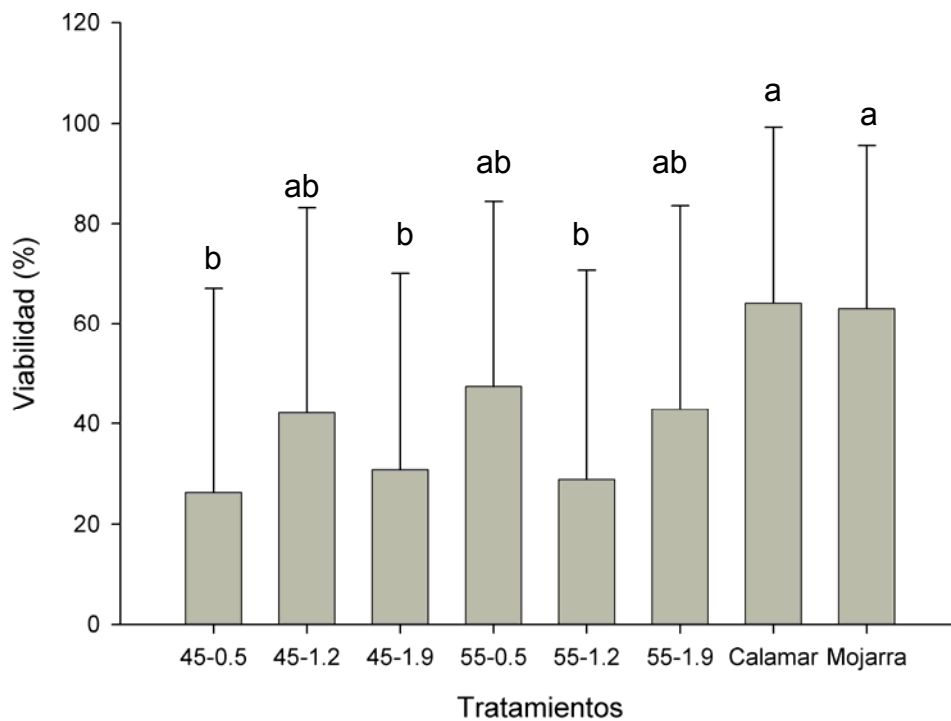


Figura 6. Valores del índice de viabilidad (porcentaje de la fecundidad parcial \cdot tanque \cdot día⁻¹) determinados en los peces reproductores de *Paralabrax maculatofasciatus* sometidos a los tratamientos alimentarios. Las barras indican el valor promedio y los bigotes la desviación estándar. Literales diferentes indican diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$). Prueba no paramétrica.

6.4.2. Parámetros morfológicos

6.4.2.1. Morfología de los blastómeros

Los embriones en fase de segmentación obtenidos de reproductores alimentados con mojarra tuvieron el promedio significativamente mayor del valor de forma de los blastómeros (18) (Figura 7) con respecto a los promedios alcanzados por los embriones obtenidos con los demás tratamientos alimentarios (cerca de 15).

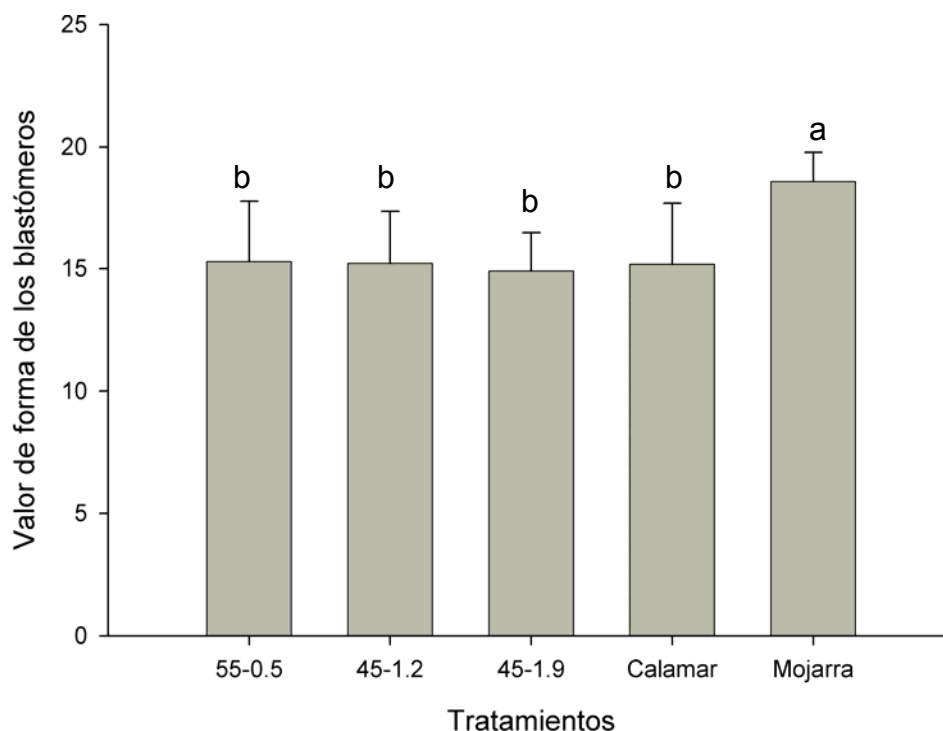


Figura 7. Valor de forma de los blastómeros de embriones en fase de segmentación obtenidos de reproductores de *Paralabrax maculatofasciatus* alimentados con alimentos experimentales y frescos. Las barras indican la media y los bigotes la desviación estándar. Literales diferentes indican diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$).

6.4.3. Índices zootécnicos

6.4.3.1. Tasa de eclosión

Los valores promedio de tasa de eclosión (Cuadro 9) de los embriones obtenidos de reproductores alimentados con mojarra (91.5 %) y con el alimento 45-1.2 (91.3 %) fueron significativamente mayores al promedio que tuvieron los embriones obtenidos con calamar (73 %). A su vez, éste último no presentó diferencias significativas con el promedio que tuvieron los embriones obtenidos con los demás alimentos experimentales (cerca de 80 %).

6.4.3.2. Tasa de transición larvaria

Los promedios de la tasa de transición larvaria (% larvas vivas y muertas observadas) (Cuadro 9) resultantes de los embriones que se transformaron a larvas, obtenidos de reproductores sometidos a los tratamientos alimentarios (entre 51 y 71 %) no presentaron diferencias estadísticas.

6.4.3.3. Tasa de sobrevivencia larvaria

Los promedios de la sobrevivencia larvaria (Cuadro 9) que resultaron de las larvas vivas observadas durante la transición larvaria no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos alimentarios (entre 27 y 48 %) de reproductores.

6.4.3.4. Tasa de normalidad larvaria

Los resultados de la tasa de normalidad larvaria (% larvas normales · larvas vivas⁻¹) (Cuadro 9) muestran que solo el promedio que tuvieron las larvas obtenidas de reproductores alimentados con calamar (51.3 %) fue significativamente menor a los promedios que tuvieron las larvas obtenidas con los demás tratamientos alimentarios (entre 81 y 93 %).

6.4.3.5. Tasa de sobrevivencia al estrés osmótico

Los resultados de la prueba de sobrevivencia al estrés osmótico agudo (% larvas vivas después una hora de recuperación) (Cuadro 9) muestran que el

promedio de la sobrevivencia de larvas obtenidas de reproductores alimentados con mojarra (73.1 %) fue significativamente mayor a los promedios que tuvieron las larvas obtenidas con el resto de los tratamientos alimentarios. A su vez, el promedio que tuvieron las larvas obtenidas con calamar (22.2 %) fue significativamente menor al que tuvieron las larvas obtenidas con el alimento 45-1.2 (42.6 %) y éste no mostró diferencias estadísticas con los promedios de las larvas obtenidas con los demás alimentos experimentales (entre 31 y 44.3 %).

6.4.3.6. Tasa de sobrevivencia a la inanición

Los promedios de la tasa de sobrevivencia a la inanición (Cuadro 9), de larvas obtenidas de reproductores alimentados con alimentos frescos y experimentales no presentaron diferencias significativas.

6.4.3.7. Tasa de normalidad larvaria en la inanición

Los resultados de la evaluación de la normalidad larvaria a la inanición (Cuadro 9) mostraron que los promedios que tuvieron las larvas obtenidas de reproductores sujetos a los tratamientos alimentarios no fueron significativamente diferentes.

Cuadro 9. Índices zootécnicos de embriones y larvas de *Paralabrax maculatofasciatus* obtenidos de reproductores alimentados con alimentos experimentales y frescos.

Parámetros zootécnicos	55-0.5 (n=9)	45-1.2 (n=6)	45-1.9 (n=3)	Calamar (n=36)	Mojarra (n=15)
Tasa (%) de:					
Eclósión	82.2 ± 15.1 ^{ab}	91.3 ± 5.80 ^a	78.3 ± 1.2 ^{ab}	73.5 ± 10.8 ^b	91.5 ± 7.7 ^a
Transición larvaria §	58.8 ± 30.8	71.5 ± 9.30	51.5 ± 4.9	58.9 ± 13.4	63.6 ± 8.8
Sobrevivencia larvaria §	48.4 ± 25.2	45.2 ± 15.10	27.9 ± 4.2	48.2 ± 10.7	38.2 ± 7.3
Larvas normales §	81.6 ± 23.1 ^a	93.9 ± 5.90 ^a	82.3 ± 9.5 ^a	51.3 ± 19.8 ^b	89.6 ± 8.7 ^a
Estrés osmótico	31.0 ± 13.7 ^{bc}	42.6 ± 12.6 ^b	44.3 ± 7.9 ^{bc}	22.2 ± 12.6 ^c	73.1 ± 20.5 ^a
Inanición §	24.4 ± 19.9	28.3 ± 11.8	10.0 ± 6.2	23.2 ± 10.1	29.9 ± 7.1
Larvas normales en inanición §	97.2 ± 5.30	98.5 ± 1.70	83.8 ± 14	95.3 ± 6.00	95.4 ± 5.2

Los valores representan la media ± desviación estándar. Literales diferentes entre columnas indican diferencias estadísticas ($P < 0.05$). § indica prueba no paramétrica.

6.4.4. Parámetros morfométricos de embriones

Los parámetros morfométricos medidos (diámetro mínimo y máximo) del glóbulo de aceite y del huevo, son presentados en el Cuadro 10 pero no son considerados en la descripción debido a que solo fueron registrados para calcular los parámetros coeficiente de forma y razón del diámetro.

6.4.4.1. Diámetro promedio del glóbulo de aceite

El diámetro promedio del glóbulo de aceite en los embriones obtenidos de reproductores alimentados con mojarra (186.5 μm) fue significativamente mayor (Cuadro 10) a los que tuvieron los embriones obtenidos con los otros tratamientos alimentarios. Los diámetros promedio de los embriones obtenidos con los alimentos 55-05, 45-1.2 y 45-1.9 (182.2, 181.2 y 179.2 μm , respectivamente) no mostraron diferencias significativas entre ellos, y solo los dos primeros fueron significativamente menores al promedio que tuvieron los embriones obtenidos con calamar (180.4 μm).

6.4.4.2. Coeficiente de forma y razón del diámetro del glóbulo de aceite

Los promedios del coeficiente de forma y razón del diámetro del glóbulo de aceite de embriones obtenidos de reproductores alimentados con mojarra (2.7 y 1.05, correspondientemente) fueron significativamente mayores a los promedios que tuvieron los embriones obtenidos con los demás tratamientos alimentarios (Cuadro 10). Los promedios de los embriones obtenidos con calamar (2.1 y 1.04) y el alimento 45-1.2 (2 y 1.04) fueron significativamente mayores a los promedios que mostraron los embriones obtenidos con los alimentos 55-0.5 (1.2 y 1.02) y 45-1.9 (1.4 y 1.02).

6.4.4.3. Diámetro promedio del huevo

El valor del diámetro promedio del huevo fue significativamente mayor en embriones obtenidos de reproductores alimentados con el alimento 45-1.9 (912 μm), con respecto del promedio que mostraron los embriones obtenidos con los alimentos 55-0.5 (882 μm), 45-1.2 (880 μm), mojarra (879 μm) y calamar (857 μm). A su vez, el

promedio que mostraron los embriones producidos con el calamar fue significativamente menor al de los demás (Cuadro 10).

6.4.4.4. Coeficiente de forma y razón del diámetro del huevo

Los promedios del coeficiente de forma y la razón del diámetro del huevo de los embriones obtenidos de reproductores alimentados con mojarra (1.2 y 1.02) fueron significativamente mayores a los de los demás (de 0.8 a 0.9 y 1.01, correspondientemente) (Cuadro 10).

6.4.5. Longitud notocordal de larvas

Los promedios de la longitud notocordal de larvas (Cuadro 10) obtenidas de reproductores alimentados con los alimentos 55-0.5 y 45-1.2 presentaron los valores más altos (2,830 y 2,844 μm) y fueron significativamente diferentes de los promedios que tuvieron las larvas obtenidas con el resto de los alimentos. Los promedios resultantes de las larvas obtenidas con el alimento 45-1.9 (2,792 μm) y el calamar (2,767 μm) no presentaron diferencias significativas entre ellos, pero sí con el de las larvas obtenidas con mojarra, el cual mostró el valor más bajo (2,694 μm).

Cuadro 10. Parámetros morfométricos de embriones y longitud notocordal de larvas de *Paralabrax maculatofasciatus* obtenidas de reproductores alimentados con alimentos experimentales y frescos.

	55-0.5	45-1.2	45-1.9	Calamar	Mojarra
Glóbulo					
Diámetro (µm):					
Máximo §	184.5 ± 8.9 b	185.0 ± 5.9 b	181.8 ± 4.7 c	184.3 ± 7.3 b	191.8 ± 13.1 a
Mínimo §	179.8 ± 7.8 a	177.4 ± 6.3 b	176.6 ± 4.0 b	176.5 ± 7.0 b	181.2 ± 10.5 a
Promedio §	182.2 ± 8.1 b	181.2 ± 5.3 b	179.2 ± 3.9 c	180.4 ± 6.6 bc	186.5 ± 11.3 a
Coefficiente de forma §	1.2 ± 1.1 c	2.0 ± 1.6 b	1.4 ± 1.1 c	2.1 ± 1.5 b	2.7 ± 2.0 a
Razón del diámetro §	1.02 ± 0.02 c	1.04 ± 0.03 b	1.02 ± 0.02 c	1.04 ± 0.03 b	1.05 ± 0.04 a
Huevo					
Diámetro (µm):					
Máximo §	889.8 ± 13.7 b	889.3 ± 23.0 b	920.5 ± 9.7 a	866.0 ± 11.2 c	890.3 ± 31.1 b
Mínimo §	874.9 ± 13.4 b	872.3 ± 23.1 bc	905.0 ± 10.4 a	849.6 ± 10.7 d	868.9 ± 32.7 c
Promedio §	882.3 ± 12.3 b	880.8 ± 22.1 b	912.7 ± 8.7 a	857.8 ± 9.2 c	879.6 ± 30.9 b
Coefficiente de forma §	0.8 ± 0.6 b	0.9 ± 0.7 b	0.8 ± 0.5 b	0.9 ± 0.7 b	1.2 ± 0.9 a
Razón diámetro §	1.01 ± 0.01 b	1.01 ± 0.01 b	1.01 ± 0.01 b	1.01 ± 0.01 b	1.02 ± 0.01 a
Larvas					
Longitud notocordal §	2830.7 ± 124.6 a	2844.1 ± 90.6 a	2792.0 ± 145.0 b	2767.5 ± 131.8 b	2694.6 ± 144.9 c

Los valores representan la media ± desviación estándar. Literales diferentes entre columnas indican diferencias estadísticas ($P < 0.05$). § indica prueba no paramétrica.

6.5. Composición de ácidos grasos de embriones

El tratamiento 55-1.2 no pudo ser analizado y se incluyeron en el análisis de ácidos grasos embriones obtenidos de un desove voluntario realizado en el SCID, de reproductores madurados en campo, los cuales fueron considerados como de campo.

Los resultados de la composición de ácidos grasos de embriones ($\mu\text{g} \cdot \text{embrión}^{-1}$ en base seca) (Cuadro 11) mostraron 35 ácidos grasos identificados de los 40 encontrados en los alimentos experimentales y frescos. Para su descripción fueron agrupados en clases, de acuerdo al nivel de insaturaciones y su función fisiológica conocida.

El peso seco promedio del embrión no presentó diferencia significativa entre los tratamientos alimentarios de reproductores, sin embargo, los embriones obtenidos con mojarra y el alimento 45-1.2 mostraron los valores más altos (29.9 y $30 \mu\text{g} \cdot \text{embrión}^{-1}$, respectivamente).

No se detectaron diferencias significativas en la composición de AGT de los embriones obtenidos de reproductores alimentados con los diferentes tratamientos, no obstante los embriones obtenidos con mojarra alcanzaron el valor mayor ($4.76 \mu\text{g} \cdot \text{embrión}^{-1}$) y los valores menores los obtenidos con los alimentos 55-1.9 y 45-0.5 (3.89 y $3.58 \mu\text{g} \cdot \text{embrión}^{-1}$, respectivamente).

La concentración de AGS de los embriones no fue estadísticamente diferente entre los tratamientos alimentarios de reproductores, aunque los embriones obtenidos con los alimentos 55-1.9 y 45-0.5 presentan los promedios menores (0.88 y $0.76 \mu\text{g} \cdot \text{embrión}^{-1}$, correspondientemente). Los ácidos grasos 15:0 *iso* y 16:0 *iso* no fueron detectados en embriones provenientes de reproductores alimentados con los alimentos experimentales y calamar, pero sí en los obtenidos con mojarra y de campo. El ácido graso 17:0 *iso* solo fue detectado en los embriones de campo y los obtenidos con alimentos frescos. El ácido graso 16:0 3, 11, 7, 15, que únicamente fue detectado en el calamar, no se encontró en los embriones obtenidos con éste alimento. El ácido graso 24:0 que se detectó en todos los alimentos con excepción del calamar, no fue detectado en los embriones producidos con los respectivos tratamientos alimentarios. Los AGS que representaron las mayores concentraciones

en los embriones obtenidos con todos los alimentos fueron, de mayor a menor, el 16:0, 18:0 y 14:0.

La concentración de AGMI de los embriones presentó diferencias significativas entre los tratamientos alimentarios de reproductores. Los embriones obtenidos con los alimentos 45-1.2, 45-1.9 y con mojarra, mostraron la concentración mayor ($0.86 \mu\text{g} \cdot \text{embrión}^{-1}$ el primero y $0.81 \mu\text{g} \cdot \text{embrión}^{-1}$ los dos últimos), sin embargo no difirieron estadísticamente de los embriones obtenidos con los alimentos 55-0.5, 45-1.9 y de campo, los cuales a su vez, no presentaron diferencias significativas con los obtenidos de los alimentos 55-1.9, 45-0.5 y calamar, que presentaron los valores menores ($0.59 \mu\text{g} \cdot \text{embrión}^{-1}$ para el primero y el tercero, y $0.48 \mu\text{g} \cdot \text{embrión}^{-1}$ para el segundo). En los embriones de campo no se detectaron los ácidos grasos 16:1 (n-5) y 22:1 (n-9) y éste último tampoco fue detectado en los obtenidos con mojarra, aunque sí en los embriones producidos con los demás tratamientos alimentarios, solo que en cantidades traza. El ácido graso 20:1 (serie no identificada), aunque se encontró en el calamar, no fue detectado en los embriones obtenidos con este alimento. El ácido graso 22:1 (n-7) que solo fue detectado en los alimentos experimentales, no lo fue en los embriones producidos con esos alimentos. Los AGMI con mayor concentración en los embriones obtenidos con todos los tratamientos alimentarios fueron, en orden de magnitud, el 18:1 (n-9), 16:1 (n-7), 18:1 (n-7) y el 16:1 (n-9).

La concentración de AGPI de embriones obtenidos de reproductores sometidos a los tratamientos alimentarios no difirió significativamente, no obstante se observó que los embriones obtenidos con mojarra y el alimento 55-0.5 mostraron los promedio más altos (2.87 y $2.83 \mu\text{g} \cdot \text{embrión}^{-1}$, respectivamente). Los ácidos grasos 18:2 (serie no identificada), 20:3 (n-6), 22:4 (n-6) y 22:5 (n-6) fueron detectados solo en los embriones de campo y los producidos con mojarra, y los dos últimos ácidos grasos también en los obtenidos con calamar. El ácido graso 18:4 (n-3) solamente no fue detectado en embriones obtenidos con calamar. El ácido graso 22:2 (serie no identificada), que se encontró únicamente en el calamar, no lo fue en embriones obtenidos con ese alimento fresco. Los AGPI más abundantes de los embriones

obtenidos de reproductores bajo los diferentes tratamientos alimentarios fueron, de mayor a menor, el 22:6 (n-3), 20:5 (n-3) y el 18:2 (n-6).

La concentración de AGE de embriones obtenidos de campo y de reproductores alimentados con alimentos experimentales y frescos no presentó diferencias estadísticas, aunque se observó la mayor concentración promedio en los embriones producidos con mojarra ($2.28 \mu\text{g} \cdot \text{embrión}^{-1}$) y la menor en los obtenidos con el alimento 45-1.9 ($1.88 \mu\text{g} \cdot \text{embrión}^{-1}$).

La concentración del ácido 20:4 (n-6) presentó diferencias significativas en los embriones provenientes de campo y de peces alimentados con mojarra, ya que presentaron una concentración mayor (0.14 y $0.13 \mu\text{g} \cdot \text{embrión}^{-1}$, respectivamente) que los embriones obtenidos con los demás tratamientos alimentarios (cerca de $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{embrión}^{-1}$).

La concentración del ácido 20:5 (n-3) no fue diferente estadísticamente entre los embriones provenientes del campo y producidos por reproductores alimentados con los alimentos experimentales, calamar (cerca de $0.4 \mu\text{g} \cdot \text{embrión}^{-1}$) y solo los obtenidos con el tratamiento 45-1.9 no presentaron diferencias significativas con los obtenidos con la mojarra, los cuales presentaron el promedio significativamente más bajo ($0.25 \mu\text{g} \cdot \text{embrión}^{-1}$).

A pesar de que la concentración de ácido 22:6 (n-3) en los alimentos fue muy variable (entre 0.2 y 4%), no existieron diferencias significativas en los embriones obtenidos de reproductores bajo diferentes tratamientos alimentarios, no obstante los provenientes de reproductores alimentados con mojarra, calamar y con el alimento 45-1.2, mostraron los promedios más altos (entre 1.7 y $1.9 \mu\text{g} \cdot \text{embrión}^{-1}$) con respecto a los de campo y los obtenidos con el alimento 45-1.9, que resultaron ser los más bajos (cerca de $1.5 \mu\text{g} \cdot \text{embrión}^{-1}$).

La razón 22:6 (n-3)/20:5 (n-3) en los embriones provenientes de los reproductores alimentados con mojarra presentó el valor más alto (7.68) y fue significativamente diferente a los embriones producidos con los demás alimentos, incluyendo a los embriones de campo. Los embriones de campo y los obtenidos con los alimentos experimentales y calamar no presentaron diferencias entre sí, excepto

los embriones obtenidos con el alimento 45-1.2, que fue significativamente mayor a los embriones de campo.

La razón 20:4 (n-6)/ 20:5 (n-3) de embriones obtenidos de reproductores alimentados con mojarra (0.5) resultó significativamente más alta que la de los obtenidos con los demás alimentos experimentales y los de campo. A su vez, el valor de los embriones obtenidos de campo (0.3) fue significativamente mayor que el de los obtenidos de reproductores a los que se les suministraron los alimentos experimentales y el calamar (entre 0.09 y 0.12).

La concentración de ácidos grasos de la serie n-6, no fue estadísticamente diferente entre los embriones obtenidos de campo y los de reproductores sujetos a los diferentes tratamientos alimentarios, no obstante, los promedios mayores se encontraron en los embriones obtenidos de campo ($0.32 \mu\text{g} \cdot \text{embrión}^{-1}$) y los obtenidos con los alimentos 45-1.9, 55-0-5 y mojarra (0.58 , 0.55 y $0.35 \mu\text{g} \cdot \text{embrión}^{-1}$, respectivamente).

La concentración de ácidos grasos de la serie n-3 no mostró diferencias significativas entre embriones obtenidos de campo y de reproductores bajo los tratamientos alimentarios, sin embargo los peces alimentados con el tratamiento 45-1.2 y el calamar tuvieron los promedios más altos (2.50 y $2.42 \mu\text{g} \cdot \text{embrión}^{-1}$, correspondientemente).

Cuadro 11. Composición de ácidos grasos de los embriones ($\mu\text{g} \cdot \text{embrion}^{-1}$ en base seca) obtenidos de reproductores de *Paralabrax maculatofasciatus* alimentados con alimentos experimentales y frescos, y de reproductores madurados en campo.

Ácido graso	55-0.5 (n=3)	55-1.9 (n=3)	45-0.5 (n=3)	45-1.2 (n=4)	45-1.9 (n=3)	Calamar (n=14)	Mojarra (n=13)	De campo Ж (n=1)
14:0	0.079 ± 0.015	0.078 ± 0.006	0.066 ± 0.003	0.086 ± 0.012	0.085 ± 0.018	0.070 ± 0.006	0.097 ± 0.011	0.096 ± 0.003
15:0	0.008 ± 0.001	0.007 ± 0.002	0.006 ± 0.000	0.009 ± 0.002	0.012 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.016 ± 0.002	0.035 ± 0.001
15:0 iso	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.002 ± 0.001	0.004 ± 0.000
16:0	0.698 ± 0.065	0.668 ± 0.079	0.648 ± 0.035	0.723 ± 0.106	0.663 ± 0.064	0.689 ± 0.061	0.742 ± 0.079	0.655 ± 0.016
16:1 (n-9)	0.021 ± 0.003	0.016 ± 0.001	0.014 ± 0.000	0.030 ± 0.006	0.026 ± 0.002	0.017 ± 0.003	0.032 ± 0.004	0.030 ± 0.001
16:1 (n-7)	0.133 ± 0.013	0.142 ± 0.008	0.124 ± 0.006	0.158 ± 0.024	0.137 ± 0.024	0.127 ± 0.012	0.171 ± 0.020	0.207 ± 0.005
16:1 (n-5)	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.000	0.004 ± 0.000	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.004 ± 0.000	0.006 ± 0.001	N.D.
16:0 iso	0.004 ± 0.000	0.004 ± 0.000	0.003 ± 0.000	0.005 ± 0.002	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.000	0.009 ± 0.002	0.011 ± 0.001
16:0 anteiso	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.004 ± 0.003	0.005 ± 0.000
16:1 (n-10) 7 metilo	0.007 ± 0.003	0.008 ± 0.001	0.007 ± 0.000	0.008 ± 0.002	0.007 ± 0.001	0.009 ± 0.001	0.009 ± 0.001	0.009 ± 0.000
17:0	0.006 ± 0.005	0.007 ± 0.001	Traza	0.008 ± 0.002	0.011 ± 0.001	0.008 ± 0.001	0.017 ± 0.002	0.028 ± 0.001
17:1*	0.006 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.006 ± 0.000	0.009 ± 0.003	0.008 ± 0.000	0.007 ± 0.001	0.020 ± 0.003	0.025 ± 0.001
17:0 iso	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.003 ± 0.000	0.003 ± 0.000	0.005 ± 0.000
18:0	0.130 ± 0.082	0.111 ± 0.017	0.035 ± 0.061	0.155 ± 0.017	0.128 ± 0.022	0.141 ± 0.025	0.168 ± 0.024	0.178 ± 0.006
18:1 (n-9)	0.428 ± 0.210	0.285 ± 0.037	0.229 ± 0.012	0.480 ± 0.097	0.448 ± 0.078	0.312 ± 0.076	0.434 ± 0.059	0.339 ± 0.016
18:1 (n-7)	0.076 ± 0.018	0.071 ± 0.009	0.056 ± 0.003	0.090 ± 0.019	0.091 ± 0.013	0.059 ± 0.005	0.092 ± 0.016	0.093 ± 0.004
18:2*	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.014 ± 0.004	0.010 ± 0.001
18:2 (n-6)	0.500 ± 0.784	0.072 ± 0.064	0.020 ± 0.001	0.152 ± 0.091	0.525 ± 0.120	0.008 ± 0.002	0.189 ± 0.089	0.038 ± 0.002
19:0	0.005 ± 0.006	0.001 ± 0.000	0.001 ± 0.000	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.000
18:3 (n-3)	0.018 ± 0.026	0.007 ± 0.005	0.002 ± 0.000	0.011 ± 0.007	0.022 ± 0.004	0.003 ± 0.001	0.012 ± 0.002	0.021 ± 0.001
18:4 (n-3)	0.012 ± 0.014	0.006 ± 0.004	0.003 ± 0.000	0.008 ± 0.004	0.017 ± 0.003	N.D.	0.007 ± 0.001	0.016 ± 0.000
20:0	0.008 ± 0.004	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.000	0.009 ± 0.002	0.008 ± 0.002	0.007 ± 0.001	0.009 ± 0.001	0.012 ± 0.001

Los valores representan la media ± desviación estándar. Literales diferentes entre columnas indican diferencias estadísticas ($P < 0.05$). § indica prueba no paramétrica. n.d. = no detectado. * indica que la familia no pudo ser identificada. Ж indica embriones obtenidos de reproductores madurados en campo y desovados en el SCID.

Cuadro 11. Continuación. Composición de ácidos grasos de los embriones ($\mu\text{g} \cdot \text{embrión}^{-1}$ en base seca) obtenidos de reproductores de *Paralabrax maculatofasciatus* alimentados con alimentos experimentales y frescos, y de reproductores madurados en campo.

Ácido graso	55-0,5 (n=3)	55-1,9 (n=3)	45-0,5 (n=3)	45-1,2 (n=4)	45-1,9 (n=3)	Calamar (n=14)	Mojarra (n=13)	De campo Ж (n=1)
20:1 (n-9)	0.02 ± 0.007	0.02 ± 0.007	0.01 ± 0.001	0.03 ± 0.008	0.03 ± 0.006	0.02 ± 0.002	0.02 ± 0.002	0.01 ± 0.000
20:2 (n-6)	Traza	Traza	Traza	Traza	0.02 ± 0.004	Traza	0.01 ± 0.004	0.02 ± 0.000
20:3 (n-6)	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	0.01 ± 0.005	0.02 ± 0.002
20:4 (n-6)	0.04 ± 0.009 b	0.04 ± 0.005 b	0.04 ± 0.001 b	0.04 ± 0.008 b	0.04 ± 0.004 b	0.05 ± 0.002 b	0.13 ± 0.026 a	0.14 ± 0.006 a
20:3 (n-3)	Traza	Traza	Traza	Traza	Traza	Traza	Traza	Traza
20:5 (n-3)	0.38 ± 0.104 a	0.40 ± 0.057 a	0.40 ± 0.022 a	0.38 ± 0.097 a	0.33 ± 0.014 ab	0.42 ± 0.022 a	0.25 ± 0.031 b	0.44 ± 0.015 a
22:0	Traza	Traza	Traza	Traza	Traza	Traza	Traza	Traza
22:1 (n-9)	Traza	Traza	Traza	Traza	Traza	Traza	N.D	N.D
22:4 (n-6)	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	0.03 ± 0.005	0.09 ± 0.023	0.07 ± 0.001
22:5 (n-6)	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	0.02 ± 0.004	0.07 ± 0.019	0.05 ± 0.003
22:5 (n-3)	0.09 ± 0.025	0.12 ± 0.016	0.11 ± 0.005	0.12 ± 0.030	0.12 ± 0.015	0.11 ± 0.017	0.18 ± 0.025	0.28 ± 0.011
22:6 (n-3) §	1.77 ± 0.794	1.77 ± 0.299	1.75 ± 0.096	1.97 ± 0.381	1.52 ± 0.042	1.87 ± 0.141	1.90 ± 0.245	1.50 ± 0.047
24:1 (n-9)	0.02 ± 0.006	0.02 ± 0.005	0.02 ± 0.001	0.03 ± 0.005	0.03 ± 0.005	0.03 ± 0.005	0.03 ± 0.003	0.03 ± 0.002
Peso de embrión	28.4 ± 2.4	28.6 ± 3.3	27.0 ± 1.7	30.2 ± 0.7	27.7 ± 0.5	27.7 ± 1.4	29.9 ± 3.0	27.5
Total AGT	4.50 ± 0.320	3.89 ± 0.336	3.58 ± 0.133	4.56 ± 0.636	4.32 ± 0.377	4.06 ± 0.229	4.76 ± 0.551	4.34 ± 0.156
∑ AGS	0.95 ± 0.139	0.88 ± 0.091	0.76 ± 0.024	1.00 ± 0.132	0.92 ± 0.110	0.94 ± 0.069	1.08 ± 0.115	1.05 ± 0.047
∑ AGMI	0.73 ± 0.226 ab	0.59 ± 0.058 b	0.48 ± 0.024 b	0.86 ± 0.157 a	0.81 ± 0.120 ab	0.59 ± 0.087 b	0.81 ± 0.099 a	0.74 ± 0.029 ab
∑ AGPI	2.83 ± 0.111	2.43 ± 0.303	2.34 ± 0.126	2.70 ± 0.455	2.59 ± 0.157	2.53 ± 0.174	2.87 ± 0.099	2.54 ± 0.081
∑ AGE §	2.19 ± 0.906	2.21 ± 0.360	2.19 ± 0.119	2.40 ± 0.482	1.88 ± 0.040	2.31 ± 0.152	2.28 ± 0.274	2.08 ± 0.065
∑ (n-6)	0.55 ± 0.786	0.12 ± 0.063	0.06 ± 0.002	0.20 ± 0.091	0.58 ± 0.114	0.11 ± 0.009	0.35 ± 0.101	0.32 ± 0.007
∑ (n-3) §	2.28 ± 0.883	2.31 ± 0.364	2.28 ± 0.124	2.50 ± 0.487	2.01 ± 0.043	2.42 ± 0.169	2.36 ± 0.276	2.19 ± 0.073
22:6 (n-3)/20:5 (n-3)	4.51 ± 1.027 bc	4.41 ± 0.143 bc	4.34 ± 0.028 bc	5.18 ± 0.437 b	4.62 ± 0.267 bc	4.41 ± 0.316 bc	7.68 ± 0.930 a	3.37 ± 0.022 c
20:4 (n-6)/20:5 (n-3)	0.10 ± 0.008 c	0.095 ± 0.006 c	0.09 ± 0.001 c	0.12 ± 0.015 c	0.12 ± 0.017 c	0.12 ± 0.007 c	0.50 ± 0.095 a	0.31 ± 0.012 b

Los valores representan la media ± desviación estándar. Literales diferentes entre columnas indican diferencias estadísticas ($P < 0.05$). N.D., es no detectado. Trazas < 0.01. * Indica que la familia no pudo ser identificada. Ж indica embriones obtenidos de reproductores madurados en campo y desovados en el SCID.

7. Discusión

7.1. Efecto de la composición del alimento sobre los parámetros reproductivos

Estudios realizados sobre la alimentación (composición de AG, proteínas, vitaminas, régimen alimentario, entre otros) de reproductores, han demostrado que deficiencias alimentarias tienen como consecuencia una reducción de la fecundidad (Izquierdo *et al.*, 2001).

En este estudio, la fecundidad parcial no presentó diferencias significativas entre reproductores sometidos a los alimentos frescos y experimentales. No obstante, se observó un patrón general en donde los valores mayores de fecundidad parcial se obtuvieron de los reproductores alimentados con los alimentos que presentaron los niveles de AGE más altos, y parecieron ser independientes del nivel de proteínas de estos alimentos. Resultados similares fueron reportados en *Hippoglossus hippoglossus* (Mazorra *et al.*, 2003), *Sparus aurata* (Fernández-Palacios *et al.*, 1995) y *Paralichthys olivaceus* (Furuita *et al.*, 2000; Furuita *et al.*, 2002).

Esta tendencia podría ser el resultado de la acción de los AGE, particularmente del 20: 4 (n-6), como precursor de la prostaglandina PGF_{2α} que actúa en la ovulación (Goetz y Grarczinsky, 1997) y funciona como feromona postovulatoria que sincroniza el comportamiento reproductivo (Sorensen y Stacey, 2004). Por lo que el contenido de este ácido graso en el alimento pudo condicionar la cantidad de huevos ovulados y la frecuencia de la actividad reproductiva.

El nivel de proteínas de los alimentos experimentales (en base seca) no afectó negativamente la fecundidad parcial de los reproductores sometidos a estos alimentos. El nivel de 45 % de proteínas utilizado en el presente trabajo es el mismo que Watanabe y Vasallo-Angius (2003) reportaron como el nivel de proteínas que satisface el requerimiento de reproductores de *Pagrus major*.

El índice de viabilidad (% de embriones que flotan) en este trabajo representa la tasa de fecundación. Los valores mayores del índice de viabilidad los tuvieron los embriones obtenidos con los alimentos frescos, aunque no presentaron diferencias significativas con los embriones obtenidos con los alimentos 45-1.2, 55-0.5 y 55-1.9,

los cuales a su vez no fueron significativamente diferentes de los obtenidos con los alimentos 45-0.5, 45-1.9 y 55-0.5, quienes presentaron los valores menores. Los valores mayores parecen estar relacionados con el contenido de 20:4 (n-6) en el calamar y la mojarra. Furuita *et al.* (2000; 2002) probaron diferentes niveles de AGE en el alimento de reproductores de *P. olivaceus* y encontraron que bajos y altos contenidos de AGE resultan en un efecto negativo sobre la viabilidad. No obstante, al revisar la composición de los alimentos que éstos autores utilizan, se pudo observar que los mayores valores de viabilidad corresponden a los alimentos con más alto nivel de 20:4 (n-6). Lo mismo puede observarse en los resultados de Rodríguez *et al.* (1998) en *S. aurata*.

Ésto puede deberse a que el 20:4 (n-6) es precursor de la PGE₂ que estimula la producción de testosterona en el tejido testicular, mientras que el 20:5 (n-3) es precursor de la PGE₃, la cual tienen un efecto inhibitor en la síntesis de esteroides estimulada por hormonas gonadotropinas (Bell *et al.*, 1996; Asturiano *et al.*, 2000; Rurangwa *et al.*, 2004), lo cual sugiere un efecto sobre la calidad y la cantidad del esperma producido, y en consecuencia, un efecto sobre las tasas de fecundación alcanzadas.

7.2. Efecto de la composición de ácidos grasos de los alimentos experimentales y frescos suministrados a reproductores sobre la composición de ácidos grasos de los embriones

Los peces marinos de mayor importancia en acuicultura a nivel mundial, están incluidos en la clasificación de los estilos reproductivos propuesta por Balon (1990) dentro de la sección etológica de los no guardianes, en el grupo ecológico de los esparcidos de huevos en sustrato descubierto y en el gremio de los desovadores pelágicos. Las especies de peces incluidas en este estilo reproductivo presentan ontogenia indirecta, la cual se caracteriza por la producción de un gran número de huevos (alta fecundidad) con poco vitelo (huevos oligolécitos) que al finalizar la nutrición endógena el embrión se transforma en una larva, la cual es básicamente una entidad alimentaria que desarrollará cambios ecomorfofisiológicos (entre pasos ontogénicos) que culminarán en la metamorfosis en juvenil (Balon,

2002). Las sustancias que se transfieran de los reproductores al embrión, a través de la vitelogenénesis (proteínas, vitaminas, AGE, hormonas, entre otras) (Brooks *et al.*, 1997), tendrán un efecto sobre el desarrollo normal de los órganos y sistemas del embrión, y por ende, sobre las capacidades ecofisiológicas de las larvas producidas (calidad).

Gran parte de los estudios realizados sobre la interacción de la nutrición con la reproducción – calidad de embriones y larvas, han determinado que la composición de AGE del alimento suministrado a reproductores se ve reflejada en la composición de AGE de los embriones producidos. Esto ha sido reportado en *Sardinops sagax* (Lasker y Theilacker, 1962), *Sparus aurata* (Fernández-Palacios, *et al.*, 1995; Rodríguez *et al.*, 1998; Almansa *et al.*, 2001), *Dicentrarchus labrax* (Bell *et al.*, 1997; Navas *et al.*, 1997; Bruce *et al.*, 1999), *Pagrus major* (Watanabe y Vasallo-Angius, 2003) y *Paralichthys olivaceus* (Furuita *et al.*, 2000, 2002).

En este estudio, se encontró un comportamiento diferente en la acumulación de los AG en el vitelo de los embriones. El peso seco total, el contenido de AGT, AGS, AGE, AGPI, AG (n-6), AG (n-3) y de 22:6 (n-3) se mantuvieron dentro de una aparente estabilidad y sin diferencias significativas en embriones obtenidos de reproductores alimentados con mojarra, calamar y los alimentos experimentales, así como en embriones obtenidos a partir de reproductores madurados en campo, a pesar de las marcadas diferencias en la composición de esas mismas clases de AG en los alimentos. No obstante, el contenido de 20:4 (n-6) y 20:5 (n-3) presentó diferencias estadísticas entre los embriones y se vio afectado conforme a su contenido en los alimentos.

Estos resultados son congruentes con los encontrados por Mazorra *et al.* (2003) y Salze *et al.* (2005) quienes probaron en reproductores de *Hippoglossus hippoglossus* y *Gadus morhua*, respectivamente, alimentos con diferentes niveles de 22:6 (n-3) (0.5, 1.8 y 3.9 %, los primeros y 1.2 y 2.5 %, los segundos) y no encontraron diferencias significativas en el contenido de este ácido graso en los embriones obtenidos con los diferentes alimentos, mientras que el contenido de 20:4 (n-6) y 20:5 (n-3) presentó una tendencia a aumentar con respecto al contenido del alimento.

Durante la vitelogénesis (*sensu lato*), los ácidos grasos son movilizados de las reservas corporales (tejido adiposo mesentérico, hígado o músculo) (Sheridan, 1994; Sargent, 1995a) y del alimento (Wiegand, 1996; Rainuzzo, *et al.*, 1997), a través de apoproteínas al hígado, en donde son incorporados a la vitelogenina (principalmente los AGPI en la fracción polar) y a las diferentes lipoproteínas de baja densidad (principalmente AGS y AGMI, en la fracción neutra) precursoras del vitelo (Sargent, 1995a; Wiegand, 1996; Tocher, 2003). Debido a que los AG son transportados por proteínas, se ha sugerido que el contenido de AGE en los oocitos debe estar afectado por influencia genética (Pickova *et al.*, 1997), ya que las proteínas transportadoras presentan especificidad por ciertos AG, como ocurre con las proteínas unidas a los AG, que son las proteínas de transporte intracelular de AG (Storch y Thumser, 2000; Tocher, 2003). Esta puede ser la razón por la cual el 22:6 (n-3) tendió a mantener una concentración alta entre los embriones obtenidos con los diferentes alimentos y los AG 20:1 (n-9), 22:1 (n-9) y 22:1 (n-7), que se encontraron solo en los alimentos experimentales, fueran detectados en cantidades pequeñas en los embriones obtenidos con esos alimentos.

La discriminación de la acumulación de los AG 20:1 (n-9), 22:1 (n-9) y 22:1 (n-7) en el vitelo ha sido reportada por Henderson *et al.* (1984) para *Mallotus villosus* y por Henderson y Altamar (1989) en *Clupea harengus*.

Las diferencias encontradas en el contenido de 20:4 (n-6) y 20:5 (n-3) en embriones, se debe a que por su semejanza estructural compiten por los mismos sistemas enzimáticos (Sargent, *et al.*, 1999, 2002), lo que podría ocurrir también con las proteínas de transporte, por lo que la cantidad relativa de estos ácidos grasos regularía su mutua presencia en los embriones. Es por esto que la razón 20:4 (n-6)/20:5 (n-3) en los embriones obtenidos con calamar y los alimentos experimentales fuera significativamente menor que los obtenidos con mojarra, en los cuales la razón fue mayor, pero más cercana a la de los embriones obtenidos de campo. Esto es debido a que el contenido de 20:4 (n-6) en los embriones obtenidos con mojarra y los de campo fue prácticamente el mismo.

Ferry *et al.* (1997) realizaron un estudio sobre hábitos alimentarios de *Paralabrax maculatofasciatus* en Bahía de Los Ángeles, Baja California, México y

mencionaron que es un carnívoro generalista con un amplio espectro trófico que incluye, entre las especies que consume en su periodo adulto, a *Eucinostomus gracilis*.

Los reproductores utilizados en este estudio provinieron de la zona denominada el Merito en La Bahía de La Paz, la cual esta bordeada de playas arenosas en donde *Eucinostomus* spp. son abundantes, por lo que suponemos que *Eucinostomus* spp. son presas comunes de *P. maculatofasciatus* en esa zona durante la temporada reproductiva, y de ahí la posible explicación, al menos parcial, del contenido de 20:4 (n-6) encontrado en los embriones de campo.

No obstante, el contenido de 20:5 (n-3) fue significativamente mayor en los embriones obtenidos de reproductores alimentados con calamar, alimentos experimentales y en los embriones obtenidos de campo, que los obtenidos con mojarra. Por esto, la razón 22:6 (n-3)/20:5 (n-3) fue significativamente mayor en los embriones obtenidos con mojarra, seguidos por los obtenidos con calamar y los alimentos experimentales, y por último en los obtenidos de campo, que fueron significativamente menores. Estos resultados corresponden con los encontrados por Cejas *et al.* (2003) en *Diplodus sargus*.

7.3. Efecto de la composición de AG de los embriones sobre su calidad

Los embriones de la mayoría de los peces del suborden Percoidei que están dentro del gremio reproductivo de los pelágofilos presentan un glóbulo de aceite, el cual esta compuesto principalmente por AGMI y AGS en la fracción de lípidos neutros (Wiegand, 1996). Los ácidos AGS y los AGMI son utilizados por los embriones principalmente como fuente de energía (Sargent, 1995a,b; Wiegand, 1996; Carrasco-Chavez *et al.*, 2004) a partir del inicio de la formación del periblasto al inicio de la epibolia (Heming y Buddington, 1988).

En el presente estudio, el valor significativamente mayor del diámetro promedio del glóbulo de aceite lo presentaron los embriones obtenidos de reproductores alimentados con mojarra, con respecto a los diámetros promedio de los embriones obtenidos con calamar y alimentos experimentales. Esto puede ser debido a que los embriones obtenidos con mojarra presentan el mayor contenido de

AGS, AGMI y AGPI. Lavens *et al.* (1999) mencionaron un aumento en el diámetro del glóbulo de aceite de embriones de *Psetta* (= *Scophthalmus*) *maxima* al enriquecer con capsulas de AGE la macarela suministrada a los reproductores. Fernández-Palacios *et al.* (1995) presentaron resultados, sin discutir, de diámetros de glóbulos de aceite de embriones obtenidos de reproductores de *S. aurata* alimentados con alimentos experimentales con diferentes niveles de AGE. En sus resultados no se observa una relación entre la composición de los alimentos y el diámetro del glóbulo de aceite.

Los resultados del presente estudio contrastan con los obtenidos por Rosales-Velázquez (1997) en embriones de *P. maculatofasciatus* obtenidos de reproductores alimentados con mojarra y alimentos semihúmedos (lípidos de origen vegetal), en los cuales registra diámetros del glóbulo de aceite 16% menores que los reportados en este trabajo. Butler *et al.* (1982) determinaron en embriones de *P. maculatofasciatus* obtenidos en campo (San Diego, California) un diámetro promedio de 170 μm , el cual resulta menor a los obtenidos en este estudio. No obstante, están dentro del intervalo que ellos mencionan (160-190 μm).

El coeficiente de forma y la razón de diámetro del glóbulo de aceite fueron propuestos por Lahnsteiner y Patarnello (2005) como indicadores de calidad de embriones de *S. aurata* y *Diplodus puntazzo*. Valores de 0 para el coeficiente de forma y 1 para la razón de diámetro indican glóbulos de aceite esféricos y los valores alejados de estos, formas elipsoidales. En este trabajo los glóbulos de aceite de los embriones obtenidos con mojarra presentaron los valores significativamente más altos de ambos parámetros. Sin embargo, nunca resultaron tan altos como los valores obtenidos en embriones de *S. aurata* determinados como de mala calidad (glóbulos extremadamente elipsoidales) por Lahnsteiner y Patarnello (2005), que fueron de 0.9 para la razón de diámetro y 4.44 para el coeficiente de forma. Esto sugiere que la razón de diámetro y el coeficiente de forma del glóbulo de aceite no fueron parámetros que permitieran hacer una distinción de la calidad de los embriones en *P. maculatofasciatus* bajo las condiciones experimentales de este estudio, debido a que no se presentaron en ningún tratamiento, glóbulos de aceite con formas extremadamente elipsoides.

El diámetro del huevo de embriones obtenidos con el alimento 45-1.9 fue significativamente mayor que en los embriones obtenidos por los demás alimentos, y no parece estar relacionado con la composición de AG de los embriones o de los alimentos con los que se obtuvieron. Esto es similar a los resultados obtenidos por Fernández-Palacios *et al.* (1995) en *S. aurata*. Por el contrario, Lavens *et al.* (1999) reportaron un incremento en el diámetro del huevo en embriones obtenidos de reproductores de *S. maximus* alimentados con macarela enriquecida con cápsulas de AGE.

Los valores de diámetro promedio del huevo en embriones obtenidos de reproductores bajo los diferentes tratamientos alimentarios contrastan con los diámetros del huevo determinados de los embriones obtenidos con los diferentes tratamientos experimentales por Rosales-Velázquez (1997), los cuales variaron entre 770 y 820 μm y su promedio fue menor en aproximadamente 8% con respecto a los determinados en este trabajo. Así también contrastan con el valor del diámetro del huevo (840 μm) reportado por Butler *et al.* (1982), el cual resulta menor a los determinados en este estudio.

Balon (1999), mencionó que el tamaño del huevo no puede ser tomado como un indicador de calidad debido a que puede variar por el aumento del espacio perivitelino y que es más recomendable determinar la densidad del vitelo o la razón de volumen entre el blastódisco y el vitelo.

El coeficiente de forma y la razón de diámetro del huevo de embriones obtenidos de reproductores alimentados con mojarra, fue significativamente mayor a los obtenidos con el resto de los alimentos. Estos valores indican el grado de esfericidad del huevo, por lo que los obtenidos con mojarra fueron más elípticos. La razón puede deberse a que el espacio perivitelino pudo haber sido menor en estos embriones, lo cual les confirió la forma elíptica por el aumento de presión del embrión sobre el vitelo durante su desarrollo en la fase de embrión. Los embriones obtenidos cuando se alimentó a reproductores de *P. maculatofasciatus* con mojarra, presentaron mejor calidad (sobrevivencia al estrés osmótico agudo, ver más adelante) comparados con los obtenidos con el resto de los alimentos, por lo que ambos parámetros pueden ser tomados como indicadores de calidad para los

embriones de esta especie. No obstante, Lahnsteiner y Patarnello (2005) no encontraron correlación entre estos parámetros con la calidad de embriones de *S. aurata* y *D. puntazzo*.

La longitud notocordal de las larvas obtenidas de reproductores alimentados con mojarra fueron menores que las obtenidas con los otros tratamientos experimentales y no parece haber una relación con el contenido de AG de sus respectivos embriones. Sin embargo fueron 15% menores con respecto a las longitudes reportadas por Rosales-Velázquez (1997) para la misma especie y mayores a las reportadas por Butler *et al.* (1982), las cuales midieron 2,200 μm .

La morfología de los blástomeros (simetría celular, tamaño celular, adhesión intercelular, entre otros) ha sido utilizada como un criterio de calidad del embrión en *Gadus morhua* (Kjørsvick y Lonning, 1983; Kjørsvick *et al.*, 1994; Mangor-Jensen y Holm, 1994; Pickova *et al.*, 1997; Nissling *et al.*, 1998, Vallin y Nissling, 1998; Salze *et al.*, 2005), *H. hippoglossus* (Bromage *et al.*, 1994; Shields *et al.*, 1997; Mazorra *et al.*, 2003), *P. maxima* (Kjørsvick *et al.*, 2003) y *S. aurata* (Fernández-Palacios *et al.*, 1995), *Melanogrammus aeglefinus* (Rideout *et al.*, 2004) o como un criterio de calidad del ambiente (xenobióticos que causan efectos teratogénicos) (Westernhagen, 1998).

En el presente estudio, el valor de forma de los blastómeros de embriones en fase de segmentación obtenidos de reproductores alimentados con mojarra fue significativamente mayor que el de los obtenidos con el resto de los alimentos y coincide con el alto contenido de 20:4 (n-6) y el valor mayor de la razón 20:4 (n-6)/20:5 (n-3) en los embriones obtenidos con mojarra, los cuales fueron similares a los determinados en embriones obtenidos de campo. Estos resultados son congruentes con los reportados por Pickova *et al.* (1997) y Salze *et al.* (2005) en *G. morhua* y por Mazorra (2003) en *H. hippoglossus*.

Una posible explicación puede estar en que la división celular es un evento que requiere de la mayor coordinación de los procesos que involucran la mitosis y la adhesión celular en la formación de membranas. Los eicosanoides de la serie 2, formados a partir del 20:4 (n-6), presentan la mayor actividad biológica y están implicados en los procesos parácrinos de regulación celular, como mensajeros

intercelulares (Sargent, 2002) y moduladores de la producción de proteínas (Cahu *et al.*, 2003). Bajo este esquema, es posible sugerir que las diferencias observadas en los tratamientos fueron debidas al contenido de 20:4 (n-6) de los embriones y su interacción con las proteínas responsables de la adhesión celular (Truong e Ikura, 2002).

La tasa de eclosión fue significativamente mayor en los embriones obtenidos con mojarra y los alimentos experimentales que en los embriones obtenidos con calamar. Rosales-Velázquez (1997) determinó, para la misma especie, tasas de eclosión parecidas a estos resultados. Por otro lado, en el presente estudio la tasa de eclosión no parece tener relación con la composición de los embriones y su respectivo valor de forma de los blastómeros. Esto contrasta con los resultados obtenidos con *G. morhua* (Kjørsvick y Lonning, 1983; Kjørsvick, 1994; Mangor-Jensen y Holm, 1994; Pickova *et al.*, 1997; Nissling *et al.*, 1998; Salze *et al.*, 2005), *H. hippoglossus* (Bromage *et al.*, 1994; Shields *et al.*, 1997; Mazorra *et al.*, 2003), *S. maximus* (Kjørsvick *et al.*, 2003) y *S. aurata* (Fernández-Palacios *et al.*, 1995), en donde la tasa de eclosión tiene una relación directa con la morfología de los blastómeros.

Por el contrario, Vallin y Nissling (1998) estudiaron las deformidades del blastodisco en embriones de *Gadus morhua* y observaron que tales malformaciones, en algunos casos, fueron corregidas en el curso del desarrollo y que estos embriones eclosionaban normalmente. Estos autores concluyeron que no difería la viabilidad entre eleuteroembriones con historial de deformidades durante la fase de segmentación con los que no fueron deformes.

Los resultados del presente trabajo sugieren que la tasa de eclosión en *Paralabrax maculatofasciatus* no es un parámetro fiable de calidad de embriones, debido a que se observó que eclosionaron embriones de mala calidad (bajos valores de forma de los blastómeros). Esto puede deberse a que la eclosión es un evento disparado por las condiciones ambientales y ha sido señalado como un evento que no corresponde, en algunas especies, a un umbral ontogénico (Balon, 2002), como ha sido evidenciado en *Coregonus albula* y *C. lavaretus* (Luczynski y Kolman, 1987) y *Gadus morhua* (Jordaan *et al.*, 2006) y podría suceder con *P. maculatofasciatus*.

En los umbrales se esperarían las mayores mortalidades debido a la pérdida de la sincronización de los sistemas de órganos (Kováč, 2000) que mantendrían la homeorresis (Balon, 2002) en el próximo paso ontogénico (estado estabilizado) y por ende la autopoiesis del organismo (Maturana y Varela, 1994).

La transición y la sobrevivencia de larvas obtenidas de reproductores alimentados con los alimentos frescos y experimentales no mostraron diferencias significativas. Los valores resultaron 60% menores que los reportados por Rosales-Velázquez (1997) para larvas de *P. maculatofasciatus* obtenidas de reproductores alimentados con mojarra y alimentos experimentales. La transición larvaria ha sido señalada como un umbral ontogénico importante (periodo crítico) por el inicio de la alimentación exógena y la sincronización de los sistemas que conlleva dicha transformación (Balon, 2002). Los resultados de este estudio no muestran una relación entre la composición de los embriones, y la transición y sobrevivencia larvaria. No obstante, la sobrevivencia tendió a ser menor en larvas obtenidas con el alimento 45-1.9 y la normalidad larvaria en larvas obtenidas con calamar, sin embargo no parece estar relacionado con la composición de los embriones.

Estos resultados contrastan con los obtenidos por Furuita *et al.* (2000; 2002 y 2003) en *P. olivaceus* y los de Fernández-Palacios *et al.* (1995) en *S. aurata*, quienes probaron diferentes niveles de 20:4 (n-6) o AGE en el alimento de reproductores y encontraron una relación entre el contenido de estos ácidos grasos en el alimento de reproductores y la sobrevivencia larvaria. Estos autores concluyeron que niveles muy altos o muy bajos de estos AGE tienen efecto negativo sobre la sobrevivencia larvaria.

En el presente trabajo, las larvas obtenidas de reproductores alimentados con mojarra presentaron mayor sobrevivencia a la prueba de estrés osmótico que las obtenidas de los demás tratamientos alimentarios. El contenido de 20:4 (n-6) en los embriones parece estar implicado en estos resultados. No se encontraron reportes de estudios similares sobre estrés osmótico agudo en larvas recientemente transformadas, sin embargo, sí sobre el efecto del nivel de 20:4 (n-6) en el alimento sobre la resistencia de larvas. Van Anholt *et al.* (2004) revelaron que el

enriquecimiento del alimento de larvas de *Sparus aurata* con 20:4 (n-6) mejora la sobrevivencia de estas a un estrés hiposmótico agudo.

La explicación de los resultados de estos trabajos y los encontrados en el presente estudio puede estar en que el 20:4 (n-6), como en los mamíferos, es el AGPI más abundante en la composición de las membranas celulares de la hipófisis (Singh y Carroll, 1970) y sus metabolitos (prostaglandinas de la serie 2) están implicados, en conjunto con la hormona liberadora de la hormona corticotrópica producida en el hipotálamo, en la liberación de la hormona adrenocorticotrópica producida en la hipófisis (Katoh *et al.*, 2004; Ganga *et al.*, 2006), la cual estimula la producción de cortisol en el tejido interrenal (Iwama, 1998; Mommsen *et al.*, 1999; Bell y Sargent, 2003). El cortisol estimula la proliferación de ionocitos y la actividad Na^+/K^+ -ATPasa (Varsamos *et al.*, 2005), lo cual es la respuesta del organismo hacia el estrés para mantener su balance osmótico. Por lo que se puede sugerir que la sobrevivencia significativamente mayor de las larvas obtenidas de reproductores alimentados con mojarra fue consecuencia de una respuesta mejor de osmorregulación al estrés salino, debido a un mayor contenido de 20:4 (n-6) en los fosfolípidos de sus membranas.

La sobrevivencia y la normalidad a la inanición no fueron diferentes entre las larvas obtenidas con los tratamientos alimentarios, por lo que no parece estar relacionado con la composición de AG de los embriones y no ha sido reportado para otras especies. Sin embargo, se pudo observar que en todos los tratamientos, las larvas que presentaron el glóbulo de aceite en posición lateral con respecto al cuerpo, morían antes que las que no presentaron esta deformidad, posiblemente debido a la incapacidad de estas en la utilización del glóbulo de aceite durante la etapa de nutrición mixta. Esta deformidad puede tener también implicaciones sobre el equilibrio hidrostático y la natación de las larvas y ello a su vez, en las capacidades de depredación de estas en la primera alimentación, lo que parece ser una consecuencia de la pérdida de la sincronización del proceso del desarrollo heterocrónico (Kovac, 2000) de los sistemas de nutrición (función del periblasto que rodea el glóbulo de aceite) y de locomoción.

8. Conclusiones

De acuerdo con las condiciones experimentales que prevalecieron en el presente estudio y el tipo de análisis que se realizó, se concluye que:

La fecundidad parcial, viabilidad, y calidad de embriones y larvas no fue afectada por las diferencias del nivel de proteínas de los alimentos experimentales y frescos, por lo que se puede sugerir tentativamente el nivel de 45 % como suficiente para nutrición de reproductores de *Paralabrax maculatofasciatus*.

El contenido de 20:4 (n-6) y de 20:5 (n-3) en los embriones fue afectado por el contenido de estos ácidos grasos en los alimentos experimentales y frescos, mientras que el resto de los ácidos grasos, en su generalidad, tuvieron un comportamiento más estable en los embriones, a pesar de sus contenidos en los alimentos.

De las pruebas de calidad, solo la sobrevivencia larvaria al estrés osmótico y la morfología de los blastómeros tuvieron, aparentemente, una relación mayor con el contenido mayor de 20:4 (n-6) y la mayor razón 20:4 (n-6)/20:5 (n-3), que correspondieron a los embriones obtenidos de reproductores alimentados con mojarra, por lo que en éste trabajo, la morfología de los blastómeros y el contenido de 20:4 (n-6) en los embriones tuvieron un valor predictivo sobre la sobrevivencia al estrés osmótico agudo.

La tasa de eclosión no es un buen criterio de calidad para esta especie, debido a que las mayores mortalidades ocurrieron durante la fase de eleuteroembrión y no en la de embrión, lo cual es evidencia de que este proceso no corresponde a un umbral.

Niveles entre 1 % y 2 % de 22:6 (n-3) en el alimento de reproductores son suficientes para obtener niveles normales en los embriones y niveles de 20:4 (n-6) mayores a 0.18% y una razón 20:4 (n-6)/20:5 (n-3) de 0.5 en el alimento de reproductores son necesarios para obtener embriones de buena calidad.

9. Recomendaciones

Se recomienda realizar estudios para determinar el efecto del nivel de 20:4 (n-6) en el alimento de reproductores de *Paralabrax maculatofasciatus* sobre la calidad de los embriones y larvas, evaluándola con los criterios utilizados en este trabajo. Así también, estudiar la ontogenia de *P. maculatofasciatus* con el enfoque de la teoría del desarrollo en saltos, para determinar los eventos que son umbrales del desarrollo, con lo cual se tendría un punto de referencia general con el que se podría generar mejores mecanismos explicativos durante los periodos embrionario y larvario, en los trabajos de nutrición de reproductores.

A pesar de los cuidados que se tuvieron para evitar la oxidación de los AGE, los alimentos experimentales no resultaron con los niveles de AGE esperados, por lo que se recomienda reducir los riesgos de oxidación durante el proceso de elaboración y el almacenamiento, como almacenar los alimentos en condiciones no oxidantes (atmósfera de nitrógeno, liofilizados) y a la temperatura más baja posible (-60 °C).

El método de incubación para la evaluación de los índices zootécnicos resultó eficiente pero presentó los siguientes inconvenientes:

1. Las instalaciones del SCEL demandan mucho espacio e infraestructura especializada.
2. El mantenimiento del SCEL demanda mucho tiempo
3. No es posible dar un seguimiento individual al desarrollo de los organismos en las unidades de cultivo, lo cual sería muy útil para determinar un efecto más directo de los factores experimentales sobre las variables medidas.
4. La manipulación de los organismos puede ser una variable más que incrementa el error experimental.

Por lo que se recomienda adoptar los métodos de incubación en placas de cultivos celulares, propuestos por Carrillo *et al.* (2000) y Unuma *et al.* (2004), para la evaluación de la calidad con los criterios descritos en este trabajo.

10. Bibliografía

- Agaba, M.K., D.R. Tocher, X. Zheng, C.A. Dickson, J.R. Dick y A.J. Teale. 2005. Cloning and functional characterisation of polyunsaturated fatty acid elongases of marine and freshwater teleost fish. *Comp. Biochem. Phys. B*, 142: 342–352.
- Allen, G.R. y D.R. Robertson. 1998. *Peces del Pacífico oriental tropical*. CONABIO y Agrupación Sierra Madre S.C. México. 327 p.
- Allen, L.G., T.E. Hovey, M. Love y T. Smith. 1995. The life history of the spotted sand bass (*Paralabrax maculatofasciatus*) within the southern California Bight. *Calif. Coop. Ocean. Fish. Invest. Rep.*, 36: 193-203.
- Almansa, E., M.V. Martín, J.R. Cejas, P. Badía, S. Jerez, y A. Lorenzo. 2001. Lipid and fatty acid composition of female gilthead seabream during their reproductive cycle: effects of a diet lacking n-3 HUFA. *J. Fish Biol.*, 59: 267–286.
- Almansa, E., M.J. Pérez, J.R. Cejas, P. Badía, J.E. Villamandos y A. Lorenzo. 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-González, C.A. 1999. *Optimización del proceso de producción de semilla de la cabrilla arenera Paralabrax maculatofasciatus (Percoidei: Serranidae) en sistemas de circulación cerrada*. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN, La Paz, B.C.S., México. 108 p.
- Alvarez-González, C.A. 2003. *Actividad enzimática digestiva y evaluación de dietas para el destete de larvas de la cabrilla arenera Paralabrax maculatofasciatus (Percoidei: Serranidae)*. Tesis de Doctorado. CICIMAR-IPN, La Paz, B.C.S., México. 164p.
- Alvarez-González, C.A., R. Civera-Cerecedo, J.L. Ortiz-Galindo, S. Dumas, M. Moreno-Legorreta y T. Grayeb-Del Alamo. 2001a. Effect of dietary protein level on growth and body composition of juvenile spotted sand bass, *Paralabrax maculatofasciatus*, fed practical diets. *Aquaculture*, 194: 151-159.
- Alvarez-González, C.A., H. Nolasco-Soria, R. Civera-Cerecedo, S. Dumas, J.L. Ortiz-Galindo, M.O. Rosales-Velázquez. 2001b. Development of some digestive enzymes in spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* larvae, 44-47. *En: Hendry C.I., G. Van Stapien, M. Wille y P. Soorgelos (Eds.). Larvi '05 – fish and shellfish larviculture symposium*, European Aquaculture Society, publicación especial no. 30, Oostende, Bélgica.
- Alvarez-González, C.A., J.L. Ortiz-Galindo, S. Dumas, S.F. Martínez-Díaz, D.E. Hernández-Ceballos, T. Grayeb-Del Alamo, M. Moreno-Lagorreta, R. Peña-Martínez y R. Civera-Cerecedo. 2001c. Effect of stocking density on growth and survival of spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* larvae in a closed recirculating system. *J. World Aquac. Soc.*, 32: 130-137.
- Anguas-Vélez, B.H., R. Civera-Cerecedo, M. Cadena-Roa, J. Guillaume y S.F. Martínez-Díaz. 2000a. Studies on the nutrition of spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus*: effect of the dietary protein level on growth and protein utilization in juveniles fed semipurified diets. *J. World Aquac. Soc.*, 31: 580-591.
- Anguas-Vélez, B.H., R. Civera-Cerecedo, M. Contreras-Olguín, R.A. Rueda-Jasso y J. Guillaume. 2000b. Preliminary study on the timing of weaning of spotted sand bass (*Paralabrax maculatofasciatus*) larvae with a prepare diets: effects on growth and survival. *J. Appl. Aquaculture*, 10:1-15.

- AOAC.** 1995. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist Vol. 1.* 16 ed. Washintong, D.C. 1234 p.
- Arredondo-Figueroa, J.L., L.M. Zabalegui-Medina, J.L. Espinosa-Aranda, R. Campos-Verduzco, F. Gutiérrez-Salcedo y S. Hernández-Urbe.** 1994a. *Desarrollo científico y tecnológico del cultivo de corvina.* SEPESCA-IMIT, A.C. 72 p.
- Arredondo-Figueroa, J.L., L.M. Zabalegui-Medina, J.L. Espinosa-Aranda, R. Campos-Verduzco y C. Hernández-Espíndola.** 1994b. *Desarrollo científico y tecnológico del cultivo de jurel.* SEPESCA-IMIT, A.C. 62 p.
- Asturiano, J.F., L.A. Sorbera, S. Zanuy y M. Carrillo.** 2000. Effects of polyunsaturated fatty acids and gonadotropin on prostaglandin series E production in a primary testis cell culture system for the european sea bass. *J. Fish Biol.*, 57: 1563–1574.
- Avilés-Quevedo, A.** 2005. *Calidad de huevos y larvas según el manejo de los reproductores de la cabrilla (Paralabrax maculatofasciatus, Pisces:Serranidae).* Tesis de Doctorado. Universidad de Barcelona, Barcelona, España. 187 p.
- Avilés-Quevedo, A. y J.M. Mazón-Suástegui.** 1996. Cultivo de peces marinos, 651-684 p. *En:* Casas-Valdez, M. y Ponce-Díaz, G (Eds.) *Estudio del potencial pesquero y acuícola de Baja California Sur.* SEMARNAP, Gobierno del Estado de Baja California Sur, FAO, Instituto Nacional de la Pesca, UABCS, CIBNOR, CICIMAR, CETMAR.
- Avilés-Quevedo, A., U. Mc Gregor-Pardo, R. Rodríguez-Ramos, O. Morales-Castro, M.A. Huerta-Bello y M. Lizawa.** 1995. *Biología y cultivo de la cabrilla arenera Paralabrax maculatofasciatus (Steindachner, 1868).* Secretaria de Pesca. Instituto Nacional de la Pesca y JICA. México. 85 p.
- Balon, E.K.** 1981. Saltatory processes and altricial to precocial forms in the ontogeny of fishes. *Amer. Zool.*, 21: 573-596.
- Balon, E.K.** 1986. Types of feeding in the ontogeny of fishes and the life-history model, 11-24. *En:* Simenstad C.A. y Cailliet G.M. (Eds) *Contemporary Studies on Fish Feeding (Developments in Environmental Biology of Fishes).* Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht. 331p.
- Balon, E.K.** 1990. Epigenesis of an epigeneticist: the development of some alternative concepts on the early ontogeny and evolution of fishes. *Guelph Ichthyol. Rev.*, 1: 42 p.
- Balon, E.K.** 1999. Alternative ways to become a juvenile or a definitive phenotype (and on some persisting linguistic offenses). *Environ. Biol. Fishes*, 56: 17–38.
- Balon, E.K.** 2001. Saltatory ontogeny and the life-history model: neglected processes and patterns of evolution. *J. Bioecon.*, 3: 1-26.
- Balon, E.K.** 2002. Epigenetic processes, when *natura non facit saltum* becomes a myth, and alternative ontogenies a mechanism of evolution. *Environ. Biol. Fishes*, 65: 1-35.
- Barrera-Guevara, J.C., M.J. Román-Rodríguez y H.A. Licón-González.** 1994. *Desarrollo de la biotecnología para el cultivo de la totoaba.* SEPESCA-CIDESON. 89 p.
- Bazan, N.G.** 2006. Cell survival matters: docosahexaenoic acid signaling, neuroprotection and photoreceptors. *Trends Neurosci.*, 29: 263-271.
- Bell, M.V., J.R. Dick, M. Thrush y J.C. Navarro.** 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, J.G., B.M. Farndale, M.P. Bruce, J.M. Navas y M. Carrillo.** 1997. Effects of broodstock dietary lipids on fatty acids composition of eggs from sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 149: 107-119.

- Bell, J.G. y J.R. Sargent.** 2003. Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. *Aquaculture*, 218: 491-499.
- Blaxter, J.H.S.** 1988. Pattern and variety in development, 1-58. *En:* Hoar W.S. y Randall D.J. (Eds.) *Fish Physiology Vol. 11*. Academic Press, California. 546 p.
- Bligh, E.G. y W.J. Dyer.** 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37 (8): 911-917.
- Boonyaratpalin, M.** 1991. Asian Seabass, *Lates calcarifer*, 5-11. *En:* Wilson, R.P. (Ed.) *Handbook of nutrient requirements of finfish*. CRC Press. 196 p.
- Boulekbache, H.** 1981. Energy metabolism in fish development. *Amer. Zool.*, 21: 377-389.
- Bromage, N.** 1995. Broodstock management and seed quality – general considerations. *En:* Bromage, N y Roberts, R. (Eds.) *Broodstock management and egg and larval quality*. Blackwell Science. 424 p.
- Bromage, N., M. Bruce, N. Basavaraja y K. Rana.** 1994. Egg quality determinants in finfish: the role of overripening with special reference to the timing of stripping in the Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*. *J. World Aquac. Soc.*, 25: 13-21.
- Brooks, S., C.R. Tyler y J.P. Sumpter.** 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg?. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 7: 387-416.
- Brown, J.A., G. Minkoffb y V. Puvanendran.** 2003. Larviculture of Atlantic cod (*Gadus morhua*): progress, protocols and problems. *Aquaculture*, 227: 357–372.
- Bruce, M., F. Oyen, G. Bell, J.F. Asturiano, B. Farndale, M. Carrillo, S. Zanuy, J. Ramos y N. Bromage.** 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 acid to reproductive performance. *Aquaculture*, 177: 85-97.
- Butler, L.J., G.S. Hageman y L.E. Nordgren.** 1982. Developmental stages of three California sea basses (*Paralabrax*, Pisces, Serranidae). *Calif. Coop. Ocean. Fish. Invest. Rep.*, 23: 252-268.
- Cadena-Roa, M. y G. Roldan-Liebenson.** 1994. *Desarrollo científico y tecnológico del cultivo de la cabrilla*. SEPESCA-UABCS, La Paz, B.C.S. 93 p.
- Cahu, C., J. Zambonino-Infante y T. Takeuchi.** 2003. Nutritional components affecting skeletal development in fish larvae. *Aquaculture*, 227: 245-258.
- Carrasco-Chávez, V.** 2004. *Variación de ácidos grasos durante la ontogenia inicial y requerimientos lipídicos de juveniles en cautiverio, de cabrilla arenera Paralabrax maculatofasciatus*. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN, La Paz, B. C. S., México. 76 pp.
- Carrasco-Chávez, V., J.L. Ortíz-Galindo, R. Civera-Cerecedo, C.A. Alvarez-González, T. Grayeb-Del Alamo, M.O. Rosales-Velázquez, M. Rodríguez-Trejo y J.M. Martínez-Brown.** 2005. Fatty acid composition of spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* during early ontogeny, 79-80. *En:* Hendry C.I., G. Van Stapien, M. Wille y P. Soorgelos (Eds.) *Larvi '05 – fish and shellfish larviculture symposium*, European Aquaculture Society, publicación especial no. 36, Oostende, Bélgica. 591 p.
- Carrillo, M., N. Bromage, S. Zanuy, R. Serrano y F. Prat.** 1989. The effects of modifications in photoperiod on spawning time, ovarian development and egg quality in the sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 81: 351-365.
- Carrillo, M., S. Zanuy, F. Oyen, J. Cerdà, J.M. Navas y J. Ramos.** 2000. Some criteria of the quality of the progeny as indicators of physiological broodstock fitness. *Cah. Options Mediterr.*, 47: 61-73.

- Carrillo, M., S. Zanuy, F. Prat, J. Cerdà, J. Ramos, E. Mananos y N. Bromage.** 1995. Sea bass (*Dicentrarchus labrax*), 138-168. *En: Bromage, N y Roberts, R. (Eds.) Broodstock management and egg and larval quality.* Blackwell Science. 424 p.
- Cejas, J. R., E. Almansa, J. E. Villamandosa, P. Badía, A. Bolaños y A. Lorenzo.** 2003. Lipid and fatty acid composition of ovaries from wild fish and ovaries and eggs from captive fish of white sea bream (*Diplodus sargus*). *Aquaculture*, 216: 299–313.
- Cerdà, J.** 2002. Mecanismos fisiológicos durante la hidratación del huevo de teleósteos: hacia el desarrollo de nuevos métodos de criopreservación. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 18: 145-152.
- Cerdà, J., M. Carrillo, S. Zanuy, J. Ramos y M. de la Higuera.** 1994. Influence of nutritional composition of diet on sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., reproductive performance and egg and larval quality. *Aquaculture*, 128: 345-361.
- Chakraborti, S.** 2003. Phospholipase A2 isoforms: a perspectiva. *Cell. Signal.*, 15: 637–665.
- Civera-Cerecedo, R., C.A. Alvarez-González, R.E. García-Gómez, V. Carrasco-Chávez, J.L. Ortiz-Galindo, M.O. Rosales-Velazquez, T. Grayeb-Del Álamo y F.J. Moyano-López.** 2007. Effects of micro-particulate diets on growth and survival of spotted sand bass larvae *Paralabrax maculatofasciatus* at tow early weaning times. *J. World Aquac. Soc.*, en prensa.
- Craik, J.C.A. y S.M. Harvey.** 1987. The causes of buoyancy in eggs of marine teleosts. *J. Mar. Biol. Assoc. (UK)* 67: 169-82.
- D'Abrahamo, L.R. y J.D. Castell.** 1994. Metodología para la investigación nutricional, 103-121. *En: Mendoza-Alfaro, R.E., L.E. Cruz-Suarez y D. Rique-Marie (Eds.) Memorias del II Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*, noviembre de 1994, Monterrey, N.L., México.
- Díaz, J.P., L. Mani-Ponset, C. Blasco y R. Connes.** 2002. Cytological detection of the main phases of lipid metabolism during early post-embryonic development in three teleost species: *Dicentrarchus labrax*, *Sparus aurata* and *Stizostedion lucioperca*. *Aquat. Living Resour.*, 15: 169–178.
- Dumas, S., O. Rosales-Velázquez, M. Contreras-Olguín, D. Hernández-Ceballos y N. Silverberg.** 2004. Gonadal maturation in captivity and hormone-induced spawning of the Pacific red snapper *Lutjanus peru*. *Aquaculture*, 234: 615-623.
- Duncan, N.J., N. Garcia-Aguilar, G. Rodríguez-M. de O., M. Bernadet, C. Martínez-Chávez, C. Komar, P. Estañol y A. Garcia-Gasca.** 2003a. Reproductive biology of captive bullseye puffer (*Sphoeroides annulatus*), LHRHa induced spawning and egg quality. *Fish Physiol. Biochem.*, 28: 505–506.
- Duncan, N.J., G.A. Rodríguez-M. de O., D. Alok y Y. Zohar.** 2003b. Effects of controlled delivery and acute injections of LHRHa on bullseye puffer fish (*Sphoeroides annulatus*) spawning. *Aquaculture*, 218: 625-635.
- Enciso-Lizárraga, S.L., J.M. Martínez-Brown, M.O. Rosales-Velázquez, C.A. Alvarez-González, R.E. García-Gómez y J.L. Ortiz-Galindo.** 2004. Determinación de los límites de tolerancia a la salinidad que presentan las larvas de la cabrilla arenosa *Paralabrax maculatofasciatus*, 49. *En: Resúmenes IX Congreso Nacional de Ictiología.* Villahermosa, Tabasco. México.
- Fernández-Palacios, H., M. Izquierdo, L. Robaina, A. Valencia, M. Salhi y D. Montero.** 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., M. Izquierdo, L. Robaina, A. Valencia, M. Salhi y J. Vergara.** 1995. Effect of HUFA n-3 level in broodstock diets on egg quality of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 132: 325-337.
- Ferry, L.A., S.L. Clark y G.M. Cailliet.** 1997. Food habits of spotted sand bass (*Paralabrax maculatofasciatus*) from Bahía de Los Angeles, Baja California. *Bull. South. Calif. Acad. Sci.*, 96: 1-21.
- Fulks, W. y K.L. Main.** 1991. *Rotifer and microalgae culture systems*. Argent. 364 p.
- Furuïta, H., H. Ohta, T. Unuma, H. Tanaka, H. Kagawa, N. Suzuki y T. Yamamoto.** 2003a. Biochemical composition of eggs in relation to egg quality in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Fish Physiol. Biochem.*, 29: 37-46.
- Furuïta, H., H. Tanaka, T. Yamamoto, M. Shiraishi y T. Takeuchi.** 2000. Effects of 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.
- Furuïta, H., H. Tanaka, T. Yamamoto, N. Suzuki y T. Takeuchi.** 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.
- Furuïta, H., T. Unuma, K. Nomura, H. Tanaka, K. Okuzawa, T. Sugita y T. Yamamoto.** 2006. Lipid and fatty acid composition of eggs producing larvae with high survival rate in the Japanese eel. *J. Fish Biol.*, 69: 1178-1189.
- Furuïta, H., T. Yamamoto, T. Shima, N. Suzuki y T. Takeuchi.** 2003b. Effect of arachidonic levels in broodstock diet on larval egg quality of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 220: 725-735.
- Fushimi, H.** 2001. Production of juvenile marine finfish for stock enhancement in Japan. *Aquaculture*, 200: 33-53.
- Ganga, R., L. Tort, L. Acerete, D. Montero y M.S. Izquierdo.** 2006. Modulation of ACTH-induced cortisol release by polyunsaturated fatty acids in interrenal cells from gilthead seabream, *Sparus aurata*. *J. Endocrinol.*, 190:39-45.
- García-Gómez, R.E., J.L. Ortiz-Galindo, F.J. Alarcón-López, D. Tovar-Ramírez, R. Civera-Cerecedo, V. Carrasco-Chávez, T. Grayeb-Del Álamo, M.O. Rosales-Velázquez y J.N. Gutiérrez-Rivera.** 2005. Effect of microencapsulated diets on growth and digestive tract development of the spotted sand bass (*Paralabrax maculatofasciatus*) larvae, 168-171. En: Hendry C.I., G. Van Stapien, M. Wille y P. Soorgelos (Eds.) *Larvi '05 – fish and shellfish larviculture symposium*, European Aquaculture Society, publicación especial no. 36, Oostende, Bélgica. 591 p.
- García-Ortega, A., I. Abdo y C. Hernández.** 2003. Weaning of bullseye puffer (*Sphoeroides annulatus*) from live food to microparticulate diets made with decapsulated cysts of *Artemia* and fishmeal. *Aquacult. Int.*, 11:183-194.
- García-Ortega, A., I. Abdo-De la Parra, N. Duncan, E. Rodríguez-Ibarra, G. Velasco, B. González-Rodríguez, A. Puello-Cruz e I. Martínez.** 2005. Larval rearing of spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* under experimental conditions, 172-175. En: Hendry C.I., G. Van Stapien, M. Wille y P. Soorgelos (Eds.) *Larvi '05 – fish and shellfish larviculture symposium*, European Aquaculture Society, publicación especial no. 36, Oostende, Bélgica. 591 p.
- Giménez, G., A. Estévez, F. Lahnsteiner, B. Zecevic, J.G. Bell, R.J. Henderson, J.A. Piñera y J.A. Sanchez-Prado.** 2006. Egg quality criteria in common dentex (*Dentex dentex*). *Aquaculture*, 260: 232-243.
- Goetz, F.W. y M. Grarczinsky.** 1997. The ovarian regulation of ovulation in teleost fish. *Fish Physiol. Biochem.*, 17: 33-38.

- Gracia-López, V., J. Rodríguez-Romero y J.M. Pérez-Ramírez.** 2004a. Hormone induced spawning (HCG), and embryonic and larval development of the leopard grouper, *Mycteroperca rosacea* (Streets, 1877). *Ciencias Marinas*, 30:279-284.
- Gracia-López, V., M. Kiewek-Martínez y M. Maldonado-García.** 2004b. Effects of temperature and salinity on artificially reproduced eggs and larvae of the leopard grouper *Mycteroperca rosacea*. *Aquaculture*, 237:485-498.
- Gracia-López, V., M. Kiewek-Martínez, M. Maldonado-García, P. Monsalvo-Spencer, G. Portillo-Clark, R. Civera-Cerecedo, M. Linares-Aranda, M. Robles-Mungaray, J.M. Mazón-Suástegui.** 2005. Larvae and juvenile production of the leopard grouper, *Mycteroperca rosacea* (Streets, 1877). *Aquac. Res.*, 36:110-112.
- Grayeb-Del Alamo, T.** 2001. *Efecto de la densidad en el crecimiento de la cabrilla arenera Paralabrax maculatofasciatus (Percoidei:Serranidae) cultivada en jaulas flotantes*. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN, La Paz, B. C. S., México. 119 p.
- Gunstone, F.D. y B.G. Herslöf.** 2000. *Lipid glossary 2*. The Oil Press. 237 p.
- Hagiwara, A., W.G. Gallardo, M. Assavaaree, T. Kotani y A.B. de Araujo.** 2001. Live food production in Japan: recent progress and future aspects. *Aquaculture*, 200: 111–127.
- Helfman, G.S., B.B. Collette y D.E. Facey.** 1997. The diversity of fishes. Blackwell Science. 528 p.
- Heming H. y R.K. Buddington.** 1988. Yolk absorption in embryonic and larval fishes, 407-446. *En: Hoar W.S. y Randall D.J. (Eds.) Fish Physiology Vol. 11*. Academic Press, California. 546 p.
- Henderson, R.J. y S.M. Altamar.** 1989. Seasonal changes in the lipid composition of herring (*Clupea harengus*) in relation to gonad maturation. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, 69: 323-334.
- Henderson, R.J., J.R. Sargent y C.C.E. Hopkins.** 1984. Changes in the content and fatty acids composition of lipid in an isolated population of capelin *Mallotus villosus* during sexual maturation and spawning. *Mar. Biol.*, 78: 255-263.
- Hold, G.J., y C.R. Arnold.** 1983. Effects of ammonia and nitrite on growth and survival of red drum eggs and larvae. *T. Am. Fish. Soc.*, 112: 314-318.
- Holloway, A.C. y J.F. Leatherland.** 1998. Neuroendocrine regulation of growth hormone secretion in teleost fishes with emphasis on the involvement of gonadal sex steroids. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 8: 409-429.
- Hong, W. y Q. Zhang.** 2003. Review of captive bred species and fry production of marine fish in China. *Aquaculture*, 227: 305–318.
- Hovey, T.E. y L.G. Allen.** 2000. Reproductive patterns of six populations of the spotted sea bass, *Paralabrax maculatofasciatus*, from Southern and Baja California. *Copeia*, 459-468.
- Izquierdo, M. y Fernández-Palacios, H.** 1997. Nutricional requeriments of marine fish larvae and broodstock. *En: Tacon A.G. J. y B. Basurco (Eds.) (Cahiers options Méditerranennes vol.2) Workshop of the CIHEAM Network on technology of Aquaculture in the Mediterranean (TECAM)*. Mazarrón, España. 24-26 pp.
- Izquierdo, M., H. Fernández-Palacios y A.G.J. Tacon.** 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*, 197: 25–42.
- Iwama, G.K.** 1998. Stress in fish. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 851: 304-310.
- Jordaan, A., S.E. Hayhurst y L.J. Kling.** 2006. The influence of temperature on the stage at hatch of laboratory reared *Gadus morhua* and implications for comparisons of length and morphology. *J. Fish Biol.*, 68: 7-24.
- Kanazawa, A.** 1991. Ayu, *Plecoglossus altivelis*, 23-29. *En: Wilson, R.P. (Ed.) Handbook of nutrient requirements of finfish*. CRC Press. 196 p.

- Katoh, K., M. Asari, H. Ishiwata, Y. Sasaki y Y. Obara.** 2004. Saturated fatty acids suppress adrenocorticotrophic hormone (ACTH) release from rat anterior pituitary cells in vitro. *Comp. Biochem. Physiol. A: Physiol.*, 137: 357-364.
- Kjørsvik, E.** 1994. Egg quality in wild and broodstock cod *Gadus morhua* L. *J. World Aquac. Soc.*, 25: 22-29.
- Kjørsvik, E., K. Hoehne-Reitana y K.I. Reitan.** 2003. Egg and larval quality criteria as predictive measures for juvenile production in turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture*, 227: 9–20.
- Kjørsvik, E. y S. Lønning.** 1983. Effects of egg quality on normal fertilization and early development of the cod, *Gadus morhua* L. *J. Fish Biol.*, 23: 1-3.
- Kjørsvik, E., A. Stene y S. Lønning.** 1984. Morphological, physiological and genetical studies of egg quality in cod (*Gadus morhua* L.), 67-86. *En: Dahl, E., D.S. Danielssen, E. Morkness y P. Solomdal (Eds.) The propagation of cod Gadus morhua L. Parte 1. Flødevigen rapportser.* 439 p.
- Komar, C., J.F. Turnbull, A. Roque, E. Fajer y N.J. Duncan.** 2004. Effect of water treatment and aeration on the percentage hatch of demersal, adhesive eggs of the bullseye puffer (*Sphoeroides annulatus*). *Aquaculture*, 229:147-158.
- Kono, N., Y. Tsukamoto y H. Zenitani.** 2003. RNA:DNA ratio for diagnosis of the nutritional condition of Japanese anchovy *Engraulis japonicus* larvae during the first-feeding stage. *Fisheries Sci.*, 69: 1096-1102.
- Kováč, V.** 2000. Synchrony and heterochrony in ontogeny (of fish). *J. Theor. Biol.*, 217: 499–507.
- Koven, W.M., G. Wm. Kissil y A. Tandler.** 1989. Lipid and *n*-3 requirement of *Sparus aurata* larvae during starvation and feeding. *Aquaculture*, 79: 185-191.
- Lasker, R. y G.H. Theilaker.** 1962. The fatty acid composition of lipids of some Pacific sardine tissues in relation to ovarian maturation and diet. *J. Lipid Res.*, 3: 60-64.
- Lahnsteiner, F. y P. Patarnello.** 2005. The shape of the lipid vesicle is a potential marker for egg quality determination in the gilthead seabream, *Sparus aurata*, and in the sharpsnout seabream, *Diplodus puntazzo*. *Aquaculture*, 246: 423-435.
- Lavens, P., E. Lebegue, H. Jaunet, A. Brunel, P.H. Dhert y P. Sorgeloos.** 1999. Effect of dietary essential fatty acids and vitamins on egg quality in turbot broodstocks. *Aquacult. Int.*, 7: 225–240.
- Lee, C.S. y A.C. Ostrowski.** 2001. Current status of marine finfish larviculture in the United States. *Aquaculture*, 200: 89–109.
- Lieb, J.** 2001. Eicosanoids: the molecules of evolution. *Med. Hypotheses*, 56: 686–693.
- Lluch-Cota, D.B.** 1995. *Aspectos reproductivos de la cabrilla arenera Paralabrax maculatofasciatus (Pisces: Serranidae) en Bahía Magdalena-Almejas, Baja California Sur, México.* Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN. 116 p.
- Lovell, T.** 1998. *Nutrition and feeding of fish.* Kluwer Academic Publishers. 267 p.
- Luczynski, M. y R. Kolman.** 1987. Hatching of *Coregonus albula* and *C. lavaretus* embryos at different stages of development. *Environ. Biol. Fishes*, 19: 309-315.
- Luquet, P. y Watanabe T.** 1986. Interaction “nutrition-reproduction” in fish. *Fish Physiol. Biochem.*, 2: 121-129.
- Mangor-Jensen, A. y J.C. Holm.** 1994. Effects of dietary vitamin C on maturation and egg quality of cod *Gadus morhua* L. *J. World Aquac. Soc.*, 25: 30-40.
- Marte, C.L.** 2003. Larviculture of marine species in Southeast Asia: current research and industry prospects. *Aquaculture*, 227: 293–304.

- Matsuo, Y., Y. Kasahara, A. Hagiwara, Y. Sakakura y T. Arakawa.** 2006. Evaluation of larval quality of viviparous scorpionfish *Sebastiscus marmoratus*. *Fisheries Sci.* 72: 948-954.
- Maturana, H.R. y J. Mpodozis.** 2000. El origen de las especies por medio de la deriva natural. *Rev. Chil. Hist. Nat.*, 73: 261-310.
- Maturana, H.R. y F.G. Varela.** 2004. *De máquinas y seres vivos: autopoiesis, la organización de lo vivo*. Editorial Lumen y Universitaria. Buenos Aires. 135 p.
- Matus-Nivón, E., R. Ramírez-Sevilla, R. Martínez-Pecero y J.L. Ortíz-Galindo.** 1990. Potencial acuacultural de ocho especies de peces marinos del Pacífico mexicano, con base en su biología temprana, 67-74. *En: De la Lanza-Espino, G. y Arredondo-Figueroa J.L. (Eds.) La acuacultura en México: de los conceptos a la producción*. Instituto de Biología-UNAM.
- Mazorra, C., M. Bruce, J.G. Bell, A. Davie, E. Alorend, N. Jordan, J. Rees, N. Papanikos, M. Porter y N. Bromage.** 2003. Dietary lipid enhancement of broodstock reproductive performance and egg and larval quality in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture*, 227: 21–33.
- Mendoza-Carranza, M. y J.A. Rosales-Casián.** 2000. The feeding habits of spotted sand bass (*Paralabrax maculatofasciatus*) in Punta Banda estuary, Ensenada, Baja California, México. *Calif. Coop. Ocean. Fish. Invest. Rep.*, 41:194-200.
- Miller, E.F. y L.G. Allen.** 2006. Observations on the mating behavior of captive spotted sand bass (*Paralabrax maculatofasciatus*). *Bull. Southern California Acad. Sci.*, 105: 17-29.
- Mommsen, T.P., M.M. Vijayan y T.W. Moon.** 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 9: 211-268.
- Mommsen, T.P. y P.J. Walsh.** 1988. Vitellogenesis and oocyte assembly, 347-406. *En: Hoar W.S. y Randall D.J. (Eds.) Fish Physiology Vol. 11*. Academic Press, California. 546 p.
- Moretti, A., P. Fernández-Criado, G. Cittolin y R. Guidiastri.** 1999. *Manual on the hatchery production of sea bass and gilthead seabream*. Vol. 1. FAO, Roma. 194 p.
- Mourente, G., A. Rodríguez, E. Grau y Pastor.** 1999. Utilization of lipids by *Dentex dentex* L. (Osteichthyes, Sparidae) larvae during lecithotrophía and subsequent starvation. *Fish Physiol. Biochem.*, 21: 45-58.
- Muhlía-Melo, A.J., J. Arvízu-Martínez, J. Rodríguez-Romero, D. Guerrero-Tortolero, F. Gutiérrez y A. Muhlía-Almazán.** 1994. *Desarrollo científico y tecnológico del cultivo de robalo*. SEPESCA-CIBNOR. 66 p.
- Mylonas, C.C., Y. Magnus, Y. Klebanov, A. Gissis y Y. Zohar.** 1997a. Reproductive biology and endocrine regulation of final oocyte maturation of captive white bass. *J. Fish Biol.*, 51: 234-250.
- Mylonas, C.C., L.C. Woods III y Y. Zohar.** 1997b. Cyto-histological examination of post-vitellogenesis and final oocyte maturation in captive-reared striped bass. *J. Fish Biol.*, 50: 34-49.
- Navas, J.M., M. Bruce, M. Thrush, B. M. Farndale, N. Bromage, S. Zanuy, M. Carrillo, J. G. Bell y J. Ramos.** 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.
- Nelson, J.S.** 2006. *Fishes of the world*. 4 ed. John Wiley y Sons. 600 p.
- Nissling, A., R. Larsson, L. Vallin y K. Frohland.** 1998. Assessment of egg and larval quality in cod, *Gadus morhua*: methods and results from an experimental study. *Fish. Res.*, 38: 169-186.
- Ocampo-Cervantes, J.A.** 2002. *Desarrollo gonádico y actividad reproductiva de la cabrilla arenera Paralabrax maculatofasciatus (Teleostei: Serranidae), en La Bahía de la Paz, Baja California Sur*. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN, La Paz, B.C.S., México. 78 p.

- Oda, D.L., R.J. Lavenberg y J.M. Rounds.** 1993. Reproductive biology of three California species of *Paralabrax* (Pisces: Serranidae). *Calif. Coop. Ocean. Fish. Invest. Rep.*, 34: 122-132.
- Olalde-Rodríguez, A.M., D. Tovar-Ramírez, F. Ascencio-Valle, J.N. Gutiérrez-Rivera y R. Vázquez-Juárez.** 2005. Effects of polyamines on amilase and immunoglobulin M gene expression in spotted sand bass larvae (*Paralabrax maculatofasciatus*), 370-373. *En: Hendry C.I., G. Van Stapien, M. Wille y P. Soorgelos (Eds). Larvi '05 – fish and shellfish larviculture symposium*, European Aquaculture Society, publicación especial no. 36, Oostende, Bélgica. 591 p.
- Parra, G., I. Rønnestad y M. Yúfera.** 1999. Energy metabolism in eggs and larvae of the Senegal sole. *J. Fish Biol.*, 55 (suplemento A): 205-214.
- Peña, R. y S. Dumas.** 2005. Effect of delayed first feeding on development and feeding ability of *Paralabrax maculatofasciatus* larvae. *J. Fish Biol.*, 67: 640-651.
- Peña, R., S. Dumas, R. Saldivar-Lucio, G. García, A. Trasviña y D. Hernández-Ceballos.** 2004. The effect of light intensity on first feeding of the spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* (Steindachner) larvae. *Aquacult. Res.*, 35: 345-349.
- Peña, R., S. Dumas, A. Trasviña, G. García, y H. Pliego-Cortéz.** 2005. Effects of tank colour and prey density on first feeding of the spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* (Steindachner) larvae. *Aquacult. Res.*, 36: 1239-1242.
- Peña, R., S. Dumas, M. Villarejo-Fuerte y J.L. Ortiz-Galindo.** 2003. Ontogenetic development of the digestive tract in reared spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* larvae. *Aquaculture*, 219: 633-644.
- Peter, R.E. y K.L. Yu.** 1997. Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes: basic and applied aspects. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 7: 173-197.
- Pickova, J., P.C. Dutta, P. Larsson y A. Kiessling.** 1997. Early embryonic cleavage pattern, hatching success, and egg-lipid fatty acid composition: comparison between tow cod (*Gadus morhua*) stock. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 54: 2410-2416.
- Rainuzzo, J.R., K.I. Reitan, L. Jørgensen y Y. Olsen.** 1994. Lipid composition in turbot larvae fed live feed cultured by emulsions of different lipid classes. *Comp. Biochem. Physiol.*, 107: 699-710.
- Rainuzzo, J.R., K.I. Reitan, y Y. Olsen.** 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. *Aquaculture*, 115: 103-115.
- Rideout, R. M., E. A. Trippel y M. K. Litvak.** 2004. Predicting haddock embryo viability based on early cleavage patterns. *Aquaculture*, 230: 215-228.
- Robaina, L. y M. Izquierdo.** 2000. Methodological strategies for the determination of nutrient requirements in finfish. *Cah. Options Mediterr.*, 47:25-41.
- Robinson, E.** 1991. Red drum, *Sciaenops ocellatus*, 145-152. *En: Wilson, R.P. (Ed.) Handbook of nutrient requirements of finfish*. CRC Press. 196 p.
- Rodríguez, C., J.R. Cejas, M.V. Martín, P. Badía, M. Samper y A. Lorenzo.** 1998. Influence of n-3 highly unsaturated fatty acid deficiency on the lipid composition of broodstock gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) and on egg quality. *Fish Physiol. Biochem.*, 18: 177-187.
- Rodríguez-Trejo, M., V. Carrasco-Chávez, C.A. Alvarez-González, J.L. Ortiz-Galindo, R. Civera-Cerecedo, J.M. Martínez-Brown, M.O. Rosales-Velázquez, L. Carreon-Palau y T. Grayeb-Del Álamo.** 2004. Variación en la concentración de ácidos grasos esenciales durante la ontogenia inicial de la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus*, 146. *En: Resúmenes IX Congreso Nacional de Ictiología*. Villahermosa, Tabasco, México.

- Rønnestad, I., A. Thorsen y R.N. Finn.** 1999. Fish larval nutrition: a review of recent advances in the roles of amino acids. *Aquaculture*, 177: 201–216.
- Rønnestad, I., W. Koven, A. Tandler, M. Harel y H.J. Fyhn.** 1998. Utilisation of yolk fuels in developing eggs and larvae of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 162: 157–170.
- Rosales-Velásquez, 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, La Paz, B.C.S., México. 62 p.
- Rosales-Velásquez, M.O., R. E. Martínez-Pecero, B. Anguas-Velez, M. Contreras-Olguín y O. Rodríguez-Morales.** 1992. Inducción al desove de la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* (Steindachner) (Pisces: Serranidae) mantenida en laboratorio, 18. *En: Resúmenes III Congreso Nacional de Ictiología*. Oaxtepec, Mor., México.
- Rurangwa, E., D.E. Kime, F. Ollevier y J.P. Nash.** 2004. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture*, 234: 1–28.
- Salem, N., B. Litman, H.Y. Kim y K. Gawrisch.** 2001. Mechanisms of action of docosahexaenoic acid in the nervous system. *Lipids*, 36: 945–959.
- Salze, G., D.R. Tocher, W.J. Roy y D.A. Robertson.** 2005. Egg quality determinants in cod (*Gadus morhua* L.): egg performance and lipids in eggs from farmed and wild broodstock. *Aquacult. Res.*, 36: 1488-1499.
- Sargent, J.** 1995a. Origins and functions of egg lipids: nutritional implications, 353-372. *En: Bromage, N y Roberts, R. (Eds.) Broodstock management and egg and larval quality*. Blackwell Science. 424 p.
- Sargent, J.R., J.G. Bell, M.V. Bell, R.J. Henderson y D.R. Tocher.** 1995b. Requirements criteria for essential fatty acids. *J. Appl. Ichthyol.* 11: 183-198.
- Sargent, J., G. Bell, L. McEvoy, D. Tocher y A. Estevez.** 1999. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture*, 177: 191–199.
- Sargent, J.R., T.R. Tocher y J.G. Bell.** 2002. The lipids, 181-257. *En: Halver, J.E. y R.W. Hardy (Eds.) Fish Nutrition*. 3^{ra} ed. Academic Press. 500 p.
- Sato, N. y N. Murata.** 1988. Membrane Lipids, 251-159. *En: Abelson J.N., M.I. Simon, y A.N. Glazer (Eds.) Methods of Enzymology Vol. 167*. Academic Press. 915 p.
- Seilliez, I., S. Panserat, G. Corraze, S. Kaushik y P. Bergot.** 2003. Cloning and nutritional regulation of a $\Delta 6$ -desaturase-like enzyme in the marine teleost gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Comp. Biochem. Phys. B*, 135: 449–460.
- Shepherd, C.J.** 1988. What is fish farming?, 1-16. *En: Shepherd C.J. y N.R. Bromage (Eds.) Intensive Fish Farming*. BSP Professional Books. 404 p.
- Sheridan, M.K.** 1988. Lipid dynamics in fish: aspects of absorption, transportation, deposition and mobilization. *Comp. Biochem. Physiol.*, 90: 679-690.
- Sheridan, M.K.** 1994. Regulation of lipid metabolism in poikilothermic vertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.*, 107: 495-508.
- Shields, R.J., N.P. Brown y N.R. Bromage.** 1997. Blastomere morphology as a predictive measure of fish egg viability. *Aquaculture*, 155: 1-12.
- Shimeno, S.** 1991. Yellowtail, *Seriola quinqueradiata*, 181-191. *En: Wilson, R.P. (Ed.) Handbook of Nutrient Requirements of Finfish*. CRC Press. 196 p.
- Singh, H., y K.K. Caroll.** 1970. Lipid composition of beef and human pituitary glands. *Lipids*, 5:121-127.
- Smith, R.R.** 1989. Nutritional energetic, 1-29. *En: Halver, J.E. (Ed.) Fish Nutrition*. 2^{da} ed. Academic Press. 798 p.

- Smith, C.L. y P.H. Young.** 1966. Gonad structure and the reproductive cycle of the kelp bass, *Paralabrax clathratus* (Girard), with comments on the relationships of the serranid genus *Paralabrax*. *Calif. Fish and Game*, 52: 283-292.
- Sorensen, P.W., T.J. Hara, N.E. Stacey y F.W. Gotees.** 1998. F prostaglandins function as potent stimulants that comprise the post-ovulatory female sex pheromone in goldfish. *Biol. Reprod.*, 39: 1039-1050.
- Sorensen, P.W. y N.E. Stacey.** 2004. Brief review of fish pheromones and discussion of their possible uses in the control of non-indigenous teleost fishes. *N. Z. J. Mar. Freshw. Res.*, 38: 399-417.
- Storch, J. y A.E.A. Thumser.** 2000. The fatty acid transport function of fatty acid-binding proteins. *Biochim. Biophys. Acta*, 1486: 28-44.
- Strickland, J.D.H. y T.R. Parsons.** 1972. *A practical handbook of seawater analysis*. 2^{da} ed. Bull. 167. *J. Fish. Res. Board Can.* Ottawa. 310 p.
- Takeuchi, T.** 2001. A review of feed development for early life stages of marine finfish in Japan. *Aquaculture*, 200: 203-222.
- Thomson, D.A., L.T. Findley y N. Kerstitch.** 2000. *Reef Fishes of the Sea of Cortez. The rocky shore fishes of the Gulf of California*. The University of Texas Press. 535 p.
- Tocher, D.R.** 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Rev. Fish. Sci.*, 11: 107-184.
- Tovar-Ramírez, D., C.A. Alvarez-González, R. Civera-Cerecedo, V. Carrasco-Chávez, J.L. Ortiz-Galindo, V. Gleaves-López y J.N. Gutiérrez-Rivera.** 2005. Effect of dietary lipid levels on lipase activity on spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* juveniles, 530-533. *En: Hendry C.I., G. Van Stapien, M. Wille y P. Soorgelos (Eds). Larvi '05 – fish and shellfish larviculture symposium*, European Aquaculture Society, publicación especial no. 36, Oostende, Bélgica. 591 p.
- Truong, K. y M. Ikura.** 2002. The cadherin superfamily database. *J. Struct. Funct. Genomics*, 2: 135-143.
- Tyler, C.R. y J.P. Sumpter.** 1996. Oocyte growth and development in teleosts. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 6: 287-318.
- Unuma, T., S. Kondo, H. Tanaka, H. Kagawa, K. Nomura y H. Ohta.** 2004. Determination of the rates of fertilization, hatching and larval survival in the Japanese eel, *Anguilla japonica*, using tissue culture microplates. *Aquaculture*, 241: 345-356.
- Vallin, L. y A. Nissling.** 1998. Cell morphology as an indicator of viability of cod egg – results from an experimental study. *Fish. Res.*, 38: 247-255.
- Van Anholt, D.R., W.M. Koven, S. Lutzky y S.E. Wendelaar-Bonga.** 2004. Dietary supplementation with arachidonic acid alters the stress response of gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture*, 238: 369-383.
- Van Der Kraak, G., J.P. Chang y D.M. Janz.** 1998. Reproduction, 465-488. *En: Evans, D.H. (Ed.) The physiology of the fishes*, 2 ed. CRC Press. 519 p.
- Varsamos, S., C. Nebel y G. Charmantier.** 2005. Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish: a review. *Comp. Biochem. Physiol.*, A, 141: 401-429.
- Watanabe, T.** 1993. Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. *J. World Aquac. Soc.*, 24: 152-161.
- Watanabe, T. y V. Kiron.** 1995. Red sea bream (*Pagrus major*). *En: Bromage, N y Roberts, R. (Eds.) Broodstock management and egg and larval quality*. Blackwell Science. 424 p.
- Watanabe, T., C. Kitajima y S. Fujita.** 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. *Aquaculture*, 34: 115-143.

- Watanabe, T., T. Koizumi, H. Suzuki, S. Satoh, T. Takeuchi, N. Yoshida, T. Kitada e Y. Tsukashima.** 1985. Improvement of quality of red sea bream eggs by feeding broodstock on a diet containig cuttlefish meal or on raw krill shorthy before spawning. *Bull. Jap. Soc. Sci.*, 51: 1511-1521.
- Watanabe, T. y R. Vasallo-Angius.** 2003. Broodstock nutrition research on marine finfish in Japan. *Aquaculture*, 227: 35–61.
- Weibel, E.R., C.R. Taylor y H. Hoppeler.** 1991. The concept of symmorphosis: A testable hypothesis of structure-function relationship. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 88: 10357-10361.
- Westernhagen, H.** 1998. Sublethal effects of pollutants on fish egg, 253-347. *En: Hoar W.S. y Randall D.J. (Ed.) Fish Physiology Vol. 11.* Academic Press. 546 p.
- Wilson, R.P.** 1985. Aminoacid and protein requirements of fish, 1-16. *En: Cowey, C.B., A.M. Mackie y J.G. Bell (Eds.) Nutrition and Feeding in Fish.* Academic Press. 489 p.
- William, S. y S.R. Wassall.** 2003. Docosahexaenoic acid: membrane properties of a unique fatty acid. *Chem. Phys. Lipids*, 126: 1–27.
- Wheaton, F.W.** 1982. *Acuacultura: Diseño y construcción de sistemas.* AGT editor, S.A. 704 p.
- Wiegand, M.D.** 1996. Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleost fish. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 6: 259-286.
- Zheng, X., I. Seilliez, N. Hastings, D.R. Tocher, S. Panserat, C.A. Dickson, P. Bergot y A.J. Teale.** 2004. Characterization and comparison of fatty acyl $\Delta 6$ desaturase cDNAs from freshwater and marine teleost fish species. *Comp. Biochem. Phys. B*, 139: 269–279.