

2020

## **Perfil de ácidos grasos, proteínas y lípidos en diferentes estadios del desarrollo embrionario-larvario en trucha arco iris, (*Oncorhynchus mykiss* Walbaun, 1972) y su relación con análisis morfométricos e índices de eficiencia**

Mauricio Federico Ospina Robles  
*Universidad de La Salle, Bogotá*

Follow this and additional works at: [https://ciencia.lasalle.edu.co/maest\\_agrociencias](https://ciencia.lasalle.edu.co/maest_agrociencias)



Part of the [Aquaculture and Fisheries Commons](#)

---

### **Citación recomendada**

Ospina Robles, M. F. (2020). Perfil de ácidos grasos, proteínas y lípidos en diferentes estadios del desarrollo embrionario-larvario en trucha arco iris, (*Oncorhynchus mykiss* Walbaun, 1972) y su relación con análisis morfométricos e índices de eficiencia. Retrieved from [https://ciencia.lasalle.edu.co/maest\\_agrociencias/13](https://ciencia.lasalle.edu.co/maest_agrociencias/13)

This Tesis de maestría is brought to you for free and open access by the Facultad de Ciencias Agropecuarias at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Maestría en Agrociencias by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact [ciencia@lasalle.edu.co](mailto:ciencia@lasalle.edu.co).



**Perfil de ácidos grasos, proteínas y lípidos en diferentes estadios del desarrollo  
embrionario-larvario en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss Walbaun, 1972*) y su  
relación con análisis morfométricos e índices de eficiencia**

**Mauricio Federico Ospina Robles**

**Universidad De La Salle**

**Facultad de Ciencias Agropecuarias**

**Maestría en Agrociencias**

**Bogotá, Colombia**

**2020**



**Perfil de ácidos grasos, proteínas y lípidos en diferentes estadios del desarrollo  
embrionario-larvario en trucha arco iris, (*Oncorhynchus mykiss* Walbaun, 1972) y su  
relación con análisis morfométricos e índices de eficiencia**

**Mauricio Federico Ospina Robles**

**Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:  
Magister en Agrociencias**

**Director**

**Biol. Esp. MSc. Julio Alberto González Acosta**

**Universidad De La Salle**

**Facultad de Ciencias Agropecuarias**

**Maestría en Agrociencias**

**Bogotá, Colombia**

**2020**

APROBACIÓN

DIRECTOR

---

Dr. Julio Alberto González Acosta

JURADO

---

Dr. Jorge Andrés Zambrano Navarrete

JURADO

---

Dr. Abelardo Conde Pulgarín

## DIRECTIVAS UNIVERSIDAD DE LA SALLE

RECTOR	HNO. NIKY ALEXANDER MURCIA
VICERRECTORA ACADÉMICA	HNO. CRISTHIAN JAMES DÍAZ
VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN Y TRANSFERENCIA	DRA. LEONOR BOTERO ARBOLEDA
VICERRECTOR DE PROMOCIÓN Y DESARROLLO HUMANO	HNO. DIEGO ANDRÉS MORA ARENAS
VICERRECTOR ADMINISTRATIVO	DRA ADRIANA PATRICIA LÓPEZ
DECANO FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS	DR. JUAN DAVID CORRALES
DIRECTORA MAESTRÍA EN AGROCIENCIAS	DRA. LILIANA CHACÓN JARAMILLO

## **DECLARATORIA DE ORIGINALIDAD**

Yo, MAURICIO FEDERICO OSPINA ROBLES, certifico como autor de este trabajo de grado en Maestría de Agrociencias y como primer autor de las publicaciones resultantes, que soy el autor principal en los procesos de diseño y aplicación del estudio aquí presentado y de igual manera en la fase de análisis de los resultados y la preparación de los manuscritos. Expreso que la información que se derive de los artículos publicados y no publicados producto del trabajo de los demás, ha sido detalladamente reconocida dentro del texto y en las citas que aparecen en la bibliografía. Doy certeza que el presente trabajo de grado no ha sido sometido a evaluación ni ha sido presentado en otra institución de educación superior.

## **DEDICATORIA**

A mis padres, por todo el apoyo incondicionado, por el gusto, valor y fomento a la educación

A mis hermanas, por la comprensión

A mi hermano, por el apoyo moral y la comprensión.

A mis sobrinos, por ser la nueva generación de la familia

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad De La Salle por el apoyo ofrecido para culminar el posgrado, al Biólogo Marino Rafael Rosado Puccini, por brindar apoyo, orientación, comprensión en los aspectos académicos del trabajo de grado, como también a nivel profesional, porque con el espacio brindado recogí experiencia en producciones piscícolas y en especial en la parte de reproducción e incubación, porque fue la guía y con el realicé los primeros pasos en escribir la tesis de maestría.

Al profesor Julio Alberto González Acosta, el cual fue compañero de estudio en el programa de maestría, fue el impulsor a que no desfalleciera en el gusto por la piscicultura, el que me abrió las puertas y fue mi apoyo en los momentos que necesitaba un aliento para culminar el posgrado.

En la orientación metodológica del proyecto, surgieron opiniones valiosas y que aportaron significativamente, como las realizadas por la Dra. Liliana Betancourt, Universidad Nacional de Colombia.

A mis padres, siempre han sido la guía para seguir adelante en los estudios académicos, son los artífices de la formación personal, académica y política de mi vida

A todos ellos, mi sincero agradecimiento.

## RESUMEN

En cuanto a calidad de la ova en todas las etapas de desarrollo embrionario-larvario, esta se ve afectada por factores ambientales que pueden ser determinantes en cuanto a calidad. Los cuales pueden concatenar a procesos del desarrollo óptimos o malformaciones y aumento de la tasa de mortalidad de la ova. Por tanto, se realizan medidas de seguimiento de un conjunto de variables en las hembras reproductoras como peso, longitud total y variables para las ovas como peso gr, volumen ml, cantidad, densidad ( $\text{mg}/\text{mm}^3$ ), mortalidad y fertilidad, entre otros.

Además, determinantes de calidad de ova son la serie de sucesos intrínsecos donde están involucrados nutrientes como proteínas, lípidos, ácidos grasos y el gasto energético. Es por eso que se realizan análisis puntuales del porcentaje de composición de los nutrientes; adicional a el contenido, se inicia una serie de análisis del comportamiento a todo lo largo de la línea del tiempo para determinar posibles patrones que concatenen en determinantes de calidad de la ova.

Al relacionar los datos obtenidos en los análisis morfométricos, y el contenido proteico con reportes de otros autores, se evidenciaron diferencias, los cuales están determinados por factores ambientales, de manejo, la alimentación de los reproductores y la maduración de las ovas.

**Palabras clave:** Trucha arco iris, ova, proteína, lípidos, ácidos grasos.

**ABSTRAC**

Regarding the quality of the eggs at all stages of embryonic and larval development, the ova is affected by environmental factors that can be determinant in terms of quality. Which can concatenate to optimal development processes or malformations and increase the mortality rate of the ova. Therefore, follow-up measures are carried out on a set of variables in breeding females, such as weight gr, length cm, and variables for the eggs, such as weight gr, volume mL, quantity, density ( $\text{mg} / \text{mm}^3$ ), mortality and fertility, among others.

In addition, ova quality determinants are the series of intrinsic events where nutrients such as proteins, lipids, fatty acids and energy expenditure are involved. That is why specific analyzes of the percentage of nutrient composition are carried out; In addition to the content, a series of behavioral analysis is initiated along the timeline to determine possible patterns that concatenate in quality determinants of the ova.

When relating the data obtained in the morphometric analysis, and the protein content with reports from other authors, differences were evidenced, which are determined by environmental factors, management, the feeding of the breeding animals and the maturation of the eggs.

**Key words:** Rainbow trout, ova, protein, lipids, fatty acids.

## TABLA DE CONTENIDO

<b>Capítulo 1</b> .....	13
<b>Parámetros determinantes de calidad en ova de trucha arco iris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) durante la fase de incubación</b> .....	13
<b>Resumen</b> .....	13
<b>1.1. Introducción</b> .....	14
1.1.2. Factores medioambientales y de manejo.....	17
1.1.3. Hidratación.....	17
1.1.4. Temperatura .....	18
1.1.5. Oxígeno.....	19
1.1.6. Luminosidad .....	20
1.1.7. Parámetros físicos .....	21
1.1.7.1. Morfología .....	21
1.1.7.2. Tamaño .....	23
1.1.8. Factores internos .....	23
1.1.8.1. Proteínas.....	24
1.1.8.2. Lípidos .....	25
1.1.8.3. Ácidos grasos .....	28
1.1.8.3.1 Ácidos Grasos Saturados .....	30
1.1.8.3.2. Ácidos Grasos Insaturados (PUFA´s) .....	31
1.1.8.3.3. Ácidos Grasos Esenciales (EFAs).....	32
1.1.8.4. Vitaminas .....	34
1.1.8.5. Hormonas .....	35
1.1.8.6. Enzimas.....	36
1.1.8.8. Metabolismo .....	38
<b>1.2. Referencias</b> .....	39
<b>Capítulo 2</b> .....	48
<b>Relación de las características morfológicas e índices de eficiencia en la determinación de la calidad de ova de trucha arco iris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) en la etapa de incubación.</b> .....	48
<b>Resumen</b> .....	48

<b>2.1. Introducción</b> .....	49
<b>2.2. Materiales y métodos</b> .....	50
2.2.1. Localización .....	50
2.2.2. Reproductores .....	51
2.2.3. Desove, fecundación e hidratación .....	52
2.2.4. Incubación .....	53
2.2.5. Datos referentes al conjunto de variables.....	54
2.2.6. 2.3. Resultados .....	55
<b>2.4. Discusión</b> .....	58
<b>2.6. Referencias</b> .....	61
<b>Capítulo 3</b> .....	64
<b>Determinación del contenido nutricional de proteína, lípido, energía y ácidos grasos, en el desarrollo embrionario-larvario de trucha arco iris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) y su relación con las características morfométricas e índices de eficiencia</b> .....	64
<b>Resumen</b> .....	64
<b>3.1. Introducción</b> .....	65
<b>3.2. Materiales y métodos</b> .....	66
3.2.2. Incubación.....	67
3.2.3. Análisis de composición nutricional y densidad calórica .....	67
<b>3.3. Análisis de datos</b> .....	68
<b>3.4. Resultados</b> .....	68
<b>3.4. Discusión</b> .....	74
<b>3.5. Conclusiones</b> .....	84
<b>3.6. Referencias</b> .....	85
<b>4. Anexos</b> .....	90
Anexo 1. Índices de eficiencia .....	90
Anexo 2. Metodología para determinar el contenido de Proteína cruda por el Método de Kjeldahl (AOAC, 1990).....	90
Anexo 3. Metodología para determinar el contenido de Lípidos por el método de Goldfish (AOAC, 1990). .....	91
Anexo 4. Metodología para determinar la densidad calórica utilizando Bomba Calorimétrica el equipo Parr 6300 (Beltran P. A. y Guerrero A. Y., 2018). .....	92
Anexo 5. Metodología para el Análisis de Ácidos Grasos.....	92
Anexo 6. Descriptivos para proteína, lípidos y energía de las ovas en toda la etapa de incubación y larvicultura. ....	93

Anexo 7. Pruebas de Normalidad utilizando el programa SPSS para proteína para las ovas embrionadas y larvicultura.....	93
Anexo 8. Pruebas de Normalidad utilizando el programa SPSS para lípidos para las ovas embrionadas y larvicultura.....	94
Anexo 9. Histograma para proteína y lípidos en la incubación de las ovas y larvicultura de trucha arco iris.....	94

**LISTA DE TABLAS**

Tabla 1. Conjunto de variables_____	54-55
Tabla 2. Registros de la temperatura del agua_____	56
Tabla 3. Porcentaje de fertilidad de las ovas de trucha arco iris_____	56
Tabla 4. Análisis morfométricos de las hembras reproductoras_____	57
Tabla 5. Variables morfométricas de las ovas de trucha arco iris_____	57
Tabla 6. Índice de eficiencia en la etapa de incubación y larvicultura _____	57
Tabla 7. Variables morfométricas de las ovas de trucha arco iris_____	68
Tabla 8. Total, de ovas y promedios de las variables morfométricas_____	68
Tabla 9. Índice de eficiencia_____	69
Tabla 10. Contenido nutricional (proteína y lípidos) y energía de las ovas de trucha arco iris _____	69-70
Tabla 11. Porcentaje de ácidos grasos en ovas, durante la etapa de incubación y larvicultura _____	70

**LISTA DE FIGURAS**

- Figura 1. Movimientos nutricionales en todo el desarrollo embrionario-larvario. \_\_ 71
- Figura 2. Histograma del contenido de ácidos grasos en todo el desarrollo embrionario – larvario. \_\_\_\_\_ 72-73
- Figura 3. Comparación del comportamiento los diferentes grupos de ácidos grasos con el tiempo de incubación y larvicultura. \_\_\_\_\_ 73
- Figura 4. Mortalidad de las ovas en toda la etapa de incubación y larvicultura. \_\_ 74

### LISTA DE SIGLAS

<b>Sigla</b>	<b>Inglés</b>	<b>Español</b>
<b>AG</b>	Fatty acid	Ácidos grasos
<b>MUFAS</b>	Monounsaturated fatty acids	Ácidos grasos monoinsaturados
<b>PUFAS</b>	Polyunsaturated fatty acids	Ácidos grasos poliinsaturados
<b>PL</b>	Polar lipids	Lípidos polares
<b>TAG</b>	Triacylglycerol	Triacilglicerol
<b>NL</b>	Neutral lipids	Lípidos neutrales
<b>EFAS</b>	Essential fatty acids	Ácidos grasos esenciales
<b>PC</b>	Phosphatidylcholine	Fosfatidilcolina
<b>PE</b>	Phosphatidylethanolamine	Fosfatidiletanolamina
<b>HUFAS</b>	Unsaturated fatty acids	Ácidos grasos insaturados
<b>SFAS</b>	Saturated fatty acids	Ácidos grasos saturados
<b>EPA</b>	Eicosapentaenoic acid	Eicosapentaenoico
<b>DHA</b>	Docosahexaenoic acid	Docosahexaenoico
<b>ARA</b>	Arachidonic acid	Ácido araquidónico
<b>ODC</b>	ornithine decarboxylase	Ornitina descarboxilasa
<b>ATP</b>	Adenosine triphosphate	adenosín trifosfato
<b>ADP</b>	Adenosine diphosphate	adenosín difosfato
<b>AMP</b>	Adenosine monophosphate	adenosín monofosfato

## LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Análisis Estadístico.

Anexo 2. Metodología para determinar el contenido de proteína cruda por el método de Kjeldahl (AOAC, 1990).

Anexo 3. Metodología para determinar el contenido de lípidos por el método de Goldfish (AOAC, 1990).

Anexo 4. Metodología para determinar la densidad calórica utilizando bomba calorimétrica el equipo Parr 6300 (Beltrán P. A. y Guerrero A. Y., 2018)

Anexo 5. Metodología para el análisis de ácidos grasos.

Anexo 6. Descriptivos para proteína, lípidos y energía de las ovas en toda la etapa de incubación y larvicultura.

Anexo 7. Pruebas de Normalidad utilizando el programa SPSS para proteína para las ovas embrionadas y larvicultura.

Anexo 8. Pruebas de Normalidad utilizando el programa SPSS para lípidos para las ovas embrionadas y larvicultura.

Anexo 9. Histograma para proteína y lípidos en la incubación de las ovas y larvicultura de trucha arco iris.

## Capítulo 1

### **Parámetros determinantes de calidad en ova de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) durante la fase de incubación**

#### **Resumen**

En todos los procesos de incubación de ovas de trucha arco iris, el embrión se encuentra susceptible a factores externos que conllevan a la viabilidad del desarrollo del embrión, donde se ve afectado en varios parámetros que son determinantes de calidad de la ova, los cuales pueden llevar a un desarrollo embrionario y larvario óptimo o a malformaciones de la ova y aumento de la tasa de mortalidad; parámetros externos como luminosidad, hidratación, oxígeno disuelto y temperatura, entre otros. Es de resaltar que los factores intrínsecos como la proteína y los lípidos, tienen una alta incidencia en la formación de la ova, cuya principal función es la utilización de estos nutrientes como fuente energética para los procesos metabólicos en todo el desarrollo embrionario y larvario, la formación del embrión, su eclosión y el desarrollo y crecimiento de la larva antes de iniciar el consumo de alimento exógeno. Se ha determinado que los ácidos grasos, principales componentes estructurales de los lípidos, desempeñan importantes funciones en todo el desarrollo embrionario y larvario. Todos estos compuestos son analizados para argumentar que el estudio hace parte como posibles determinantes en predecir de manera oportuna calidad la calidad de la ova.

**Palabras clave:** calidad de ova, incubación, trucha arco iris

## 1.1. Introducción

En la definición de calidad de semilla en peces, hace referencia a los determinantes que implican la habilidad de los gametos para fertilizar y ser fertilizado lo que, en consecuencia, debe dar origen a un embrión normal; el concepto abarca tanto ovocitos como, por analogía al espermatozoide (Migaud et al. 2013); la forma en la que esta puede ser determinada abarca desde los procesos de incubación hasta las etapas de reabsorción de vesícula; incluso, los resultados finales en supervivencia cuando las larvas ya están en capacidad de recibir alimento exógeno (Kjörsvik, Mangor-Jensen A. & Holmefjord, 1990). Dichos elementos del concepto “*calidad*”, se mantienen tanto para especies dulceacuícolas como marinas, aunque con desarrollos experimentales diferenciales (Aegerter & Jalabert, 2004; Patiño & Sullivan, 2002 Pavlov & Emel’yanova, 2008). En la supervivencia del embrión hay múltiples factores que interactúan, estos se integran de forma muy general dentro de tipo físico, químico y biológico (Kjörsvik et al. 1990).

Al incorporar estos conceptos, se determina que la buena calidad de los huevos está asociados a una alta fertilización y una baja mortalidad en todo el proceso de incubación y en los primeros momentos de alimentación exógena (Bromage et al. 1992). Por tanto, Blanco (1995) menciona que a nivel industrial en la producción de trucha arco iris, la mortalidad es alta en los primeros estadios de vida, ya que se obtienen mortalidades del 20% en los procesos de desarrollo embrionario, 35% en el momento de eclosión y 40% hasta que la larva puede alimentarse con alimento exógeno. Debido a la alta mortalidad, es preciso determinar factores que pueden alterar la calidad del gameto, en las primeras etapas (embriogénesis, eclosión y larva antes que inicie el consumo de alimento exógeno), ya que los porcentajes de mortalidades son los más elevados comparándolas con todas las etapas productivas posteriores (Rosado, 2011). En peces

salmónidos, se han podido establecer métodos de incubación, pero estos estándares no determinan una reducción significativa de la mortalidad, pues se pueden alcanzar pérdidas hasta del 50% hasta eclosión (Brooks et al. 1997; Migaud et al. 2013). Todos estos factores se deben valorar de una manera integral, como lo sugiere Rosado (2011) y es preciso agruparlos como factores intrínsecos y extrínsecos. Variables como medio ambiente, efectos de la dieta (Patiño & Sullivan, 2002) o composición química, tamaño del huevo, sobre-maduración, entre otros (Bromage et al. 1992).

La alimentación de los reproductores repercute en la calidad de la descendencia (Furuita et al. 2003; Kjörsvik et al. 1990; Migaud et al. 2013; Morehead, Hart, Dunstan, Brown & Pankhurst 2001; Zengin & Akpınar 2006) y en el número (Migaud et al. 2013; Morehead et al. 2001); en particular la hembra, que deposita esos nutrientes esenciales en los procesos de ovogénesis, una vez el huevo es fecundado, el embrión utiliza dichos nutrientes (macro y micro nutrientes (Migaud et al. 2013) para su óptimo desarrollo y crecimiento (Kjörsvik et al. 1990; Lund, Steinfeldt, Suhr & Hansen, 2008). Es decir que el material materno tiene una influencia directa en el contenido nutricional del huevo, desarrollo del embrión y durante el periodo endógeno de alimentación larval (Czesny & Dabrowski, 1998; Fraser, Gamble & Sargent, 1988; Mazorra, 2003). Además, Watanabe et al. (1984 citado en Ulvund & Grahl-Nielse, 1988), demuestra que el contenido de ácidos grasos (AG) en los huevos de trucha arco iris se encuentra determinado por el contenido nutricional del alimento consumido por la hembra.

Es preciso señalar a Vladimirov (1974, citado en Kjörsvik et al. 1990), el cual encuentra cierta relación entre algunos aminoácidos en las ovas y la supervivencia en pez esturión, señalando que hay cierta probabilidad en cuanto a su correlación como posibles factores determinantes en la calidad de la ova. “Hasta los años 90 no se habían podido hallar relaciones entre indicadores o

parámetros de calidad con componentes bioquímicos y estos pueden ser un factor clave en la calidad de la ova”, indicando como posibles vías de estudio los aminoácidos libres y ácidos grasos en la ova (Aegerter & Jalabert, 2004). Debido a esto se deben realizar modelos asociados a las funciones de los ácidos grasos, particularmente el ácido graso docosahexaenoico (DHA) ya que es uno de los principales ácidos grasos en la composición de la ova (Wiegand, 1996).

En los últimos años se han realizado investigaciones significativas hacia mecanismos moleculares, los cuales son determinantes en la buena o deficiente calidad del huevo, en etapa exploratoria se encuentran los enfoques genómicos y proteómicos (Crespel, Rime, Fraboulet, Bobe & Fauvel, 2008; Migaud et al. 2013). Se han realizado en algunas especies de peces proyectos genómicos acompañado de los nuevos marcadores genéticos; donde incluyen la secuenciación genética del cDNA derivado del mRNA en tejidos específicos que tienen funciones biológicas. Al identificar esa expresión genética con bases de datos (Biblioteca Genética), se esperan encontrar homologías de esas secuencias de genes en otras especies; estos genes se expresan en diversos tejidos bajo diferentes condiciones ambientales (Migaud et al. 2013). En este mismo sentido, el enfoque proteómico según Crespel et al. (2008) es la identificación de proteínas específicas que inciden en la calidad de los huevos y con esa variable contribuir a identificar mecanismos, los cuales determinan defectos en la calidad del huevo. Por lo antes mencionado, son pocos los acuerdos respecto a métodos confiables como posibles determinantes de calidad de huevo; pues es complejo extrapolar dichos resultados a otras especies, disminuyendo la probabilidad de realizar modelos predictivos, limitando poder alcanzar niveles de precisión en explotaciones piscícolas enfocadas a la producción de ovas.

### 1.1.2. Factores medioambientales y de manejo

Se han analizado las condiciones medioambientales, tales como luz y temperatura entre otros, para la incubación de los huevos y el desarrollo larval, donde tienen impacto sobre la calidad del gameto y la larva (Migaud et al. 2013), ya que una vez se extraen los huevos de la hembra, se encuentra en un entorno adverso donde es necesario proporcionarles las condiciones ambientales adecuadas para la hidratación y el buen desarrollo y crecimiento del embrión (Crespel et al. 2008).

La luminosidad y componentes del agua (temperatura, oxígeno y otros componentes físico-químicos) impactan directamente en la viabilidad del embrión; de otra parte, el manejo por parte del operario impacta directamente en la calidad del huevo en cuanto golpes por el movimiento, esto es, debido al traslado y limpieza en el cuarto de incubación (Crespel et al. 2008; Migaud et al. 2013); es necesario realizar más estudios sobre parámetros medioambientales con la fisiología del pez, dado que es importante para las producciones piscícolas poder estandarizar los controles medioambientales.

### 1.1.3. Hidratación

Consiste en la capacidad del huevo en absorber agua para el endurecimiento, según Falahatkar, Dabrowski, Arslan & Rinchar, (2006) proporcionando la posibilidad de introducir elementos minerales o nutrientes. La hidratación pos-fertilización incorpora agua en el espacio previtelino del huevo durante el endurecimiento (Falahatkar et al. 2006 Kjørsvik & Lønning, 1983), aumentando el peso hasta en un 24,7% del peso total, en un tiempo que oscila entre 30 a 120 minutos (Falahatkar et al. 2006; Rosado, 2011).

La hidratación también se correlaciona con la viabilidad del huevo, pues los huevos de mejor calidad tienden a absorber más agua que los de mala calidad (Kjørsvik & Lønning, 1983;

Lahnsteiner & Patzner, 2002); se ha demostrado con estudios en especies como bacalao común (*Gadus morhua*) (Kjørsvik & Lønning, 1983), salmónidos y ciprínidos (Lahnsteiner & Patzner, 2002). De acuerdo con Kjørsvik & Lønning (1983) quienes realizaron ensayos sobre bacalao común, demostrando que las ovas sin fertilizar no aumentaron de tamaño con relación a las ovas fertilizadas, pues los huevos fertilizados contribuyen al endurecimiento del huevo, esto es debido a una ruptura incompleta de los alveolos corticales, donde se desarrolla normalmente sustancias coloidales liberadas durante la reacción cortical. Es debido a una segregación de la enzima del endurecimiento, que se encuentra almacenada en el espacio previtelino; adicional a esto, se afirma también que existen unos coadyuvantes para esta enzima como el calcio y oxígeno que contribuyen en este proceso de endurecimiento (Zotin, 1953 citado en Blanco, 1995).

El endurecimiento del huevo se realiza por la hidratación debido a la reacción cortical en la vesícula cortical, el agua se incorpora en el espacio previtelino, hasta que el corion del huevo alcanza un equilibrio en el entorno interno y externo. La vesícula cortical es tan importante en los procesos de hidratación, que han encontrado que al hidratar huevos sobremaduros, la velocidad de reacción en la vesícula cortical disminuye y el proceso de endurecimiento finaliza (Lahnsteiner, 2000). Según Lahnsteiner & Patzner (2002) esto se debe a que la tensión del corion alcanza su límite; el cambio estructural del corion en el endurecimiento es una manera de protección (Valdebenito, Datagnan & Gallegos, 2007); mientras en trucha, la hidratación es un proceso que tarda en completarse alrededor de una hora y al menos, se debe mantener entre 10 a 20 minutos en agua antes de ingresar a la incubadora (Rosado, 2005).

#### 1.1.4. Temperatura

En varias especies de salmónidos, la temperatura es un factor predominante el cual influencia el desarrollo embrionario (Gabillard, Rescan, Fauconneau, Weil & Le Bail, 2003), en

general la incubación de los salmónidos es prolongada, siendo para truchas arco iris manteniendo constante la temperatura del agua a 10°C, un periodo de incubación cercano a los 30 días. Estos procesos de crecimiento y desarrollo embrionario hasta la eclosión, se estandarizan en términos de grado/día, con los eventos de medición en fertilización (70 a 100 grados día), en el embrionamiento (180 a 200 grados día), en la eclosión (300 a 320 grados día) y finalizan con alevinos consumiendo alimento (180 a 200 grados día) (Rosado, 2011).

Brooks et al. (1997) determinaron que en embriones sometidos a temperaturas extremas (altas o bajas) se aumentan la tasa de mortalidad hasta en un 50%. Concluyen que, en la familia de salmónidos, las temperaturas altas incrementan la incidencia de deformidades embrionarias y la aparición alevinos triploides. En la etapa de incubación y los primeros estados larvarios de trucha arco iris las temperaturas óptimas se encuentran entre 9 a 12,5 °C. Según Balon (1980); Embury (1934 citado en Brinkworth, Hodson, Tabash & Lee 2003) los rangos óptimos de temperatura del agua para un normal desarrollo embrionario de la trucha arco iris se deben encontrar entre 9 a 10 °C.

#### 1.1.5. Oxígeno

El oxígeno incide directamente en los procesos de incubación y eclosión del huevo, pues la membrana del huevo es permeable para absorber el oxígeno requerido y la deficiencia causa alteraciones durante la incubación. Niveles bajos de oxígeno disuelto son el principal causante del aumento de mortalidad (Einum, Hendry & Fleming, 2002). De acuerdo con Hammer (1975, citado en Brinkworth et al. 2003), la cantidad de oxígeno disuelto se debe encontrar cercano al 100% de saturación, es decir alrededor de 10,5 mg/L; en cuanto a (OD) mínimo, los peces pueden soportar hasta 7,75 mg/L (Hisar, Hísar, Sírkecioğlu, Karataş & Yannik, 2007); no obstante reportes de (OD) en salmónidos, afirman que pueden soportar en la etapa de desarrollo

del huevo, concentraciones mínimas hasta de 5,0 a 5,5 mg/L y no ser inferior del 80% de saturación (Crips, 1993).

#### 1.1.6. Luminosidad

De acuerdo a Boeuf & Le Bail (1999) la intensidad de luz debe ser controlada debido a su importancia para el cultivo de peces y larvas. Estos necesitan de un rango específico de luz, dependiendo la especie y su etapa de desarrollo. En el medio acuático la luz se mide por diferentes longitudes de onda (calidad), dichas longitudes son absorbidas por el agua en diferentes grados (cantidad) y en diferentes intensidades (periodos), todo ello sometido en ciclos diarios que varían según la temporada y latitud. Muchas especies dependen de los ciclos de iluminación diurna y anual para el normal desarrollo, crecimiento y reproducción y de allí el efecto secundario que tiene la luz (Boeuf & Le Bail, 1999); según Lam (1983 citado en Pohl-branscheid & Holtz, 1990; Scott, 1990) la longitud de onda de la luz del día ha demostrado ser un factor determinante para el desove. En salmonicultura en países con latitudes altas, aplican el fotoperiodo para inducir al desove, bajo condiciones naturales la hembra solo desova una vez al año (Boeuf & Le Bail, 1999); según Pohl-branscheid & Holtz (1990) la actividad reproductiva de la trucha sigue un patrón estacional y el desove ocurre durante el otoño invierno o principios de la primavera.

Bajo condiciones de cautiverio se pueden controlar variables y el rango de intensidad de luz es fácil de encontrar (Boeuf & Le Bail, 1999). Al realizar programas de luz, la hembra desova dos veces en el año, en promedio cada seis meses (Boeuf & Le Bail, 1999; Pohl-branscheid & Holtz, 1990), logrando huevos de buena calidad (Pohl-branscheid & Holtz, 1990). Por tanto, el crecimiento de la trucha se debe mantener en completa oscuridad. La iluminación no altera la pigmentación y maduración sexual en el desarrollo embrionario y tampoco causa daños a las

larvas (Bieniarz, 1973). Un estudio realizado por Pohl-branscheid & Holtz (1990) donde controlaban la intensidad de luz, e induciendo a las hembras a dos desoves anuales, encontraron pequeñas diferencias en cuanto la calidad del huevo, lo estimaron con el porcentaje de sobrevivencia del huevo embrionado. Los rangos óptimos en la etapa de incubación se encuentran entre 0,2 a 2,0 lux a temperaturas entre 7 a 10 °C.

### 1.1.7. Parámetros físicos

#### 1.1.7.1. Morfología

Una vez la ova se encuentra hidratada, se inicia el proceso de embriogénesis, el cual concluye con la ruptura de la ova y eclosión de la larva; en esta etapa se aprecia la movilidad del embrión con contracciones bruscas y frecuentes. En los procesos de embriogénesis son fundamentales las características morfofisiológicas y conductuales para incrementar las posibilidades de supervivencia. La morfología de las células en todos sus estados, es utilizada como indicador de calidad (Kjørsvik et al. 1990; Pavlov & Emel'yanova, 2008) debido a que el citoplasma de los teleósteos se distribuye proporcionalmente sobre la superficie (Pavlov & Emel'yanova, 2008), Por tanto, Kjørsvik et al. (1990) determinaron que la buena calidad del huevo está dada por las características morfológicas como transparencia, distribución de las gotas de lípidos, el tamaño en el espacio previtelino, el que sea perfectamente esférica, el diámetro después de la fertilización y los primeros clivajes simétricos del huevo. Todas estas características se correlacionan con indicadores de supervivencia para determinar la calidad del huevo.

En estudios en bacalao del atlántico (*Gadus morhua*), rodaballo (*Scophthalmus maximus*) y halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), realizados por Kjørsvik, Hoehne-Reitan & Reitan (2003), se encontró una correlación positiva entre calidad del huevo y algunos aspectos morfológicos en

las primeras etapas de clivaje, tasas de eclosión y la viabilidad de la larva con saco vitelino; también Ciereszko, Wojtczak, Dietrich, Kuźmiński & Stefan (2009) definen que el color y la transparencia pueden variar la calidad del huevo. En truchas se han encontrado que las malformaciones son específicamente inducidas por factores medioambientales o por prácticas de manipulación, aunque también hay relación con las características de la hembra reproductora (Migaud et al. 2013).

Es claro que en los diferentes estadios del desarrollo embrionario (cigoto, clivaje, blástula, gástrula, segmentación y eclosión) se presentan diferentes porcentajes de sobrevivencia, por tanto, es preciso medir momentos específicos en el desarrollo embrionario, siendo para trucha, medir momentos como la tasa de fertilización, embrionamiento, eclosión y reabsorción del saco vitelino (Bobe & Labbé, 2009). Para una mejor comprensión del desarrollo embrionario es mejor dividirlo en tres fases: clivaje, fase embrionaria y embrión libre. La fase de clivaje comienza con el primer intervalo de desarrollo de las membranas y el inicio de la organogénesis; la fase embrionaria inicia en el clivaje hasta la eclosión y la fase de embrión libre, desde el fin de la eclosión hasta la reducción del saco vitelino y el inicio del consumo de alimento exógeno (Balon, 1975). Según Gabillard et al. (2003) para identificar los estados de desarrollo embrionario es necesario usar la tabla de Vernier (1969); donde se debe hacer énfasis en unos estados; por ejemplo, en el estado 22: se pigmenta la periferia de la coroides en el ojo y aparece la vena cardinal; en el estado 24: aparecen 6 arcos aórticos y la aleta caudal; en el estado 25: sobresalen la aleta anal, la arteria caudal y la vena caudal se expanden hasta llegar a la extremidad de la cola.

#### 1.1.7.2. Tamaño

No se ha definido una relación directa entre el tamaño del huevo y calidad de la ova, sobrevivencia embrionaria y crecimiento (Kjörsvik et al. 1990). Hay consenso en que el tamaño tiene implicaciones de carácter ecológico (Bromage et al. 1992; Bonisławska, 2001).

(Bonisławska, 2001) también menciona, que el tamaño del huevo es debido a una adaptación a diferentes hábitats, mecanismos de supervivencia y condiciones ambientales como temperatura y oxígeno. En resumen, determinaron que el comportamiento de los huevos pelágicos de peces marinos, no se debe aseverar indicador de calidad del huevo por el tamaño; ya que como resultados ha obtenido como indicador determinante de la calidad del huevo, la producción homogénea sin importar el tamaño (Pavlov & Emel'yanova, 2008).

#### 1.1.8. Factores internos

La calidad del huevo se encuentra determinada individualmente por la hembra, la cual varía el traslado de nutrientes a la ova según su régimen de alimentación y determina su viabilidad según las condiciones de sobremaduración (Lahnsteiner et al. 1999). La mayor cantidad de nutrientes que llegan a la ova son trasladados por el plasma durante los procesos de vitelogénesis (Wiegand, 1996, Patiño & Sullivan, 2002). La incorporación de dichos nutrientes al oocito se realiza a través de la vitelogenina (VT), la cual es un precursor de la formación proteica del vitelo en el huevo; la VT es inducida por estrógenos durante la fase principal de crecimiento ovárico, e interviene en la ova en el control de flotabilidad, nutrición del embrión y de la larva durante el desarrollo (Reading et al. 2009). La lipovitelina es un precursor importante para trasladar al embrión lipoproteínas y fosfoproteínas fuentes principales en el desarrollo del embrión (Patiño & Sullivan, 2002); todos estos nutrientes son depositados en el vitelo del ovocito recurso nutricional en la formación del embrión (Wiegand, 1996).

En los factores de calidad, la producción busca un mayor control sobre los factores extrínsecos en la incubación y larvicultura, sin tener en cuenta la gran importancia que representa los factores intrínsecos, como los movimientos nutricionales en los procesos de desarrollo embrionario y larvario. Según Brooks et al. (1997), la única manera de poder determinar la calidad de los gametos es examinar el contenido químico de los nutrientes desde la fertilización, su desarrollo embriológico, hasta terminar con el primer consumo de alimento exógeno; ya que la construcción del embrión está determinado por nutrientes importantes como proteínas y ácidos grasos (AG), como lo enfatizan Brooks et al. (1997) y Morehead et al. (2001); en general se puede decir que en los procesos embriológicos los AG han sido poco estudiados.

En los estudios de calidad de huevo el análisis de la composición bioquímica es fundamental, considerando contenidos de lípidos, ácidos grasos, aminoácidos libres, minerales y vitaminas. La tendencia se dirige a mejorar el manejo de factores determinantes, con esfuerzos hacia la calidad de la ova y no a su cantidad (Kjörsvik et al. 1990; Patiño & Sullivan, 2002).

#### 1.1.8.1. Proteínas

El contenido proteico de los huevos en peces es elevado, el cual es fuente para el soporte de recursos y utilización de energía en los primeros momentos de desarrollo (Crespel et al. 2008). En peces teleósteos de agua dulce, la proteína representa aproximadamente un 80 a 90% de la materia seca del huevo (Henderson y Tocher, 1987), pero en huevos de peces demersales, el contenido en peso seco es aproximadamente del 75% de proteína (Craik & Harvey, 1984; Vetter, Hodson & Arnold, 1983). Se ha determinado que para trucha arcoíris el contenido de proteína en base seca se encuentra en rangos de 63,6% a 74,5%. En el vitelo del huevo tanto de ovíparos y teleósteos, el principal componente de la proteína son los aminoácidos libres (Ronnestad & Fyhn, 1993). El mayor porcentaje en el contenido de la proteína en el ovocito son

las lipoproteínas llamadas lipovitelinas y fosfoproteínas. En todos los teleósteos todas las proteínas derivan de la vitelogenina, (Brooks et al., 1997, Henderson & Tocher, 1987), almacenada en forma de esferas o glóbulos, (Brooks et al. 1997).

En todos los procesos del desarrollo embrionario las proteínas son utilizadas reabsorbiéndose, degradándose y utilizando los aminoácidos en la síntesis somática (Srivastava & Brown, 1992).

De manera proporcionada la entrega específica de nutrientes al embrión como lo indican Patiño & Sullivan (2002). El proceso se realiza desdoblado la proteína para obtener aminoácidos que son catabolizados para la producción de energía o en la construcción de nuevos tejidos, con la máxima disminución de los aminoácidos antes de la eclosión (Srivastava & Brown, 1992); pero también son consumidos durante el proceso de reabsorción del saco vitelino, por lo que Ronnestad & Fyhn (1993) explican la necesidad que tiene la larva para consumir alimento exógeno rico en aminoácidos libres.

#### 1.1.8.2. Lípidos

En peces teleósteos, el rango de contenido de lípidos se encuentra aproximadamente entre 4 a 10% en peso húmedo; en materia seca es aproximadamente un 20% de lípidos (Henderson & Tocher, 1987; Patiño & Sullivan, 2002); dentro de estos rangos Vetter et al. (1983) determinaron que en ovas de peces demersales, el contenido de grasa en peso seco es aproximadamente 25%, valor que se encuentran dentro del 22,8 a 27,5%, como lo define para truchas Craik & Harvey (1984).

Se debe tener en cuenta, que las clases de lípidos varían entre especies e incluso por el tipo de hábitat. Esto sucede según Wiegand (1996) por diferentes temperaturas del agua y el tipo de alimento al que tienen acceso los reproductores (Vetter et al. 1983). En general, los lípidos provienen de la hembra y son tomados por el ovocito durante la ovogénesis, proporcionándole al

embrión y a la larva, nutrientes para el normal desarrollo (Morehead et al. 2001); de igual forma, Kjörsvik et al. (1990) y Wiegand (1996), demostraron que la composición lipídica de la ova, se encuentra determinada por factores como la dieta y los procesos de vitelogénesis. En el hígado de la hembra, la vitelogenina incorpora los lípidos y los almacena en la ova (Íbrahim et al. 2004). Por tanto, Valdebenito et al. (2007); Mazorra (2003); Migaud et al. (2013); Sargent et al. (1976 citado en Vassallo-Agius et al. 2001), resaltan la gran importancia de los lípidos, ya que actúan como nutrientes donde son utilizados como reserva de energía en el desarrollo del embrión; pero también, para el crecimiento somático de la mayoría de peces (Migaud et al. 2013).

Inmediatamente después de eclosionar la larva, las gotas de aceite en el saco vitelino son mantenidas como fuente de reservas, otra parte del contenido lipídico es utilizado para funciones metabólicas y estructurales (Wiegand, 1996). Es por esto, la importancia de determinar la composición del contenido lipídico, ya que la hembra traslada al huevo ácidos grasos (AG), lípidos polares (PL) y triaglicerol (TAG), Wiegand (1996). Por lipogénesis dentro del huevo son obtenidas formando gotas de aceite, lípidos neutrales (NL) ricos en ácidos grasos monoinsaturados (MUFAs) y algunos ácidos grasos esenciales (EFAs), en el vitelo se encuentran lipoproteínas como PL y NL que son ricas en EFAs. En la familia de los salmónidos los huevos presentan mayor contenido lipídico (Valdebenito et al. 2007, Wiegand, 1996), ya que son huevos demersales (Wiegand, 1996) y es también utilizado para la flotabilidad en el agua (Valdebenito et al. 2007).

Los fosfolípidos son la principal fuente de lípidos en los huevos de peces, los cuales se encuentran entre un 80 a 90% en forma de fosfatidicolina (PC) o fosfatidiletanolamina (PE), el resto es encontrado como lípidos saponificables que contienen ácidos grasos (Patiño & Sullivan, 2002); el total de los lípidos en el huevo de peces de agua dulce comprenden entre un 69 a 82%

de proteína cruda y para trucha arco iris hasta un 90%. Los fosfolípidos compuestos en mayor cantidad de ácidos grasos insaturados (HUFAs) y ácidos grasos saturados (SFAs) en menor cantidad, constituyen el mayor componente de las membranas (Henderson & Tocher, 1987); en teleósteos los mayores componentes del vitelo son lipoproteínas y fosfoproteínas (Henderson & Tocher, 1987; Wiegand, 1996). Según Wiegand (1996), para especies de *Oncorhynchus* existe un alto contenido de TAG en las gotas de aceite y en el vitelo, fosfolípidos como (PC) y (PE). De igual forma Patiño & Sullivan (2002), encontraron que el mayor contenido del ooplasma se encuentra principalmente por glicerol, compuesto en gran parte por TAG y ceras; es de resaltar que los fosfolípidos con mayor contenido en las truchas son el PC y en menor proporción el PE (Wiegand, 1996).

En el contenido de lípidos se encuentra una concentración mayor de lípidos neutrales almacenados en las gotas de aceite, pero no en el vitelo. El contenido del vitelo de la ova se encuentra fosfolípidos y lipovitelinas (Henderson & Tocher, 1987). No obstante, sigue siendo contradictorio el efecto de lípidos sobre la calidad, pues para unas especies el alto contenido de lípidos se puede relacionar con el aumento en el porcentaje de fertilización, mientras que para otras especies la relación es contraria (Kjörsvik et al. 1990).

Se tiene establecido que los lípidos tienen diferentes funciones como: reguladores de la actividad metabólica de hormonas, también es utilizado como sustrato para el catabolismo, proporciona protección física al órgano, es aislante, promueve la flotabilidad, es un mensajero químico intracelular y extracelular (por medio de fosfolípidos de membrana); es de resaltar que en los peces teleósteos los lípidos se encuentran en el vitelo del huevo proporcionando nutrientes para el embrión (Wiegand, 1996) y son formadores estructurales para el desarrollo y crecimiento de la

membrana (Czesny & Dabrowski, 1998; Migaud et al. 2013; Morehead et al. 2001; Wiegand, 1996).

### 1.1.8.3. Ácidos grasos

De acuerdo con Lund et al. (2008) y Manor (2009), los componentes principales de los lípidos son los ácidos grasos (AG), por ser precursores de una variedad de mensajeros intra y extracelulares, adiciona Wiegand (1996) que, entre los AG, los eicosanoides son los más conocidos. En salmónidos se requieren ácidos grasos para conseguir un crecimiento y desarrollo normal del pez (Watanabe, 1982 citado en Bohórquez, Serrano, Dantagnan, Carrasco & Hernández, 2011 y Sargent et al. 1999).

El contenido y composición de los ácidos grasos en los huevos es fundamental durante el desarrollo de las primeras etapas de vida en peces marinos (Ulvund & Grahl-Nielsen, 1988). Durante la alimentación endógena, el rendimiento de la larva se afecta por la configuración bioquímica de los ácidos grasos en el saco vitelino (Lund et al. 2008), dichas funciones son de gran importancia, ya que actúa en actividades principalmente de la membrana celular (Furuita et al. 2003); por ejemplo, en estudios de peces salmónidos, se observa una relación directa de los ácidos grasos en el desarrollo de membranas y tejidos neurales, pero también en funciones endocrinas y en la regulación inmune (Migaud et al. 2013).

La gran mayoría de los ácidos grasos se encuentran asociados con moléculas lipídicas, formando micelas y bicapas, siendo estas últimas la base estructural de las membranas. La fluidez de la bicapa depende de la temperatura, al respecto Henderson & Tocher (1987) utilizan el término homeoviscus para describir cómo los animales poiquiloterms mantienen la membrana en un constante estado fluido independiente de la temperatura ambiental. Ya que, por debajo de la temperatura de transición los lípidos se comportan como un gel que se conoce como fase sólida,

es necesario que se encuentre por encima de esta temperatura de transición para tener lípidos altamente móviles. Por tanto, la mayoría de las membranas biológicas se encuentran en rangos de 10 a 40 °C; en los peces, por ser animales poiquiloterms, necesitan tener los lípidos altamente móviles, donde la membrana realiza una síntesis de degradación de los lípidos, manteniendo una composición de fluidez de los ácidos grasos a temperatura ambiente (Voet D., Voet J. & Pratt, 2011).

De igual forma, Wiegand (1996) confirma que en peces de aguas frías como el arenque (8 a 10 C°) los embriones retienen preferiblemente ácido oleico 18:1(n-9) ácido graso saturado y fosfolípidos en su desarrollo; pero en salmón del atlántico (4 a 9 C°) o el bacalao (8 a 9 °C) no retienen fosfolípidos, generando interrogantes sobre el comportamiento, composición y función de los lípidos. De esta manera, Bobe & Labbé (2010) hacen importantes aportes para comprender los factores que intervienen en la calidad del gameto. Los mecanismos que participan en la regulación y calidad celular y molecular, que siguen siendo poco conocidos; así, los mecanismos celulares y moleculares podrían desempeñar un papel importante en controlar el desarrollo de un embrión temprano.

Las truchas requieren en su dieta 0,5% de HUFAs y 1% de ácido linoleico (18:2n6) (Vassallo-Agius et al. 2001; Zengin & Akpınar, 2006), según Furuïta et al. (2003) lo más importante en la alimentación de los reproductores para mejorar la calidad del huevo, radica en la relación de AA/EPA/DHA respectivamente ácido araquidónico, ácido eicosapentaenónico y ácido docosahexaenoico. Según Ulvund & Grahl-Nielsen (1988) en los peces de agua dulce, la calidad de huevo está relacionada principalmente por la capacidad de eclosión, correlacionado con el contenido de ácidos grasos en los huevos, ya que se ha podido determinar que el consumo de PUFAs series n-3 y n-6 mejora la fecundidad, la calidad del huevo, el porcentaje de eclosión, la

supervivencia y la disminución en la incidencia de las deformidades fenotípicas, (Bell & Sargent, 2003; Lund et al. 2008), realizando estos mismos análisis pero con reproductores de bacalao, Migaud et al. (2013) ha tenido resultados similares lo cual indica que encontraron una correlación alta entre estas variables que podrían conducir a ser posibles determinantes de calidad de la ova.

En este mismo sentido, dietas modificadas, deficientes en ácidos grasos (PUFAs) series n-3 para los reproductores de trucha arco iris, han sido un factor limitante para el levante exitoso de larvas (Morehead et al. 2001), debido a que disminuye el número, tamaño del huevo y eclosión e incrementa la mortalidad del embrión y las larvas no viables (Li, Chen, Sun, Chen & Wu, 2005; Migaud et al. 2013; Vassallo-Agius et al. 2001; Wiegand, 1996; Zengin & Akpınar, 2006). Por tanto, el aumento de las HUFAS series n-3 en la alimentación de los reproductores, previene la deformación de las larvas (Watanabe, 1982 citado en Vasallo-Aguius et al. 2001).

#### 1.1.8.3.1 Ácidos Grasos Saturados

Según Henderson & Tocher (1987) los peces de aguas cálidas en condiciones de altas temperaturas, poseen una concentración mayor de ácidos grasos saturados; es decir que son más susceptibles a retener grasas las cuales no se encuentran en estado líquido a temperatura ambiente. De igual forma, Zengin & Akpınar (2006) determinaron que cadenas de carbono 14:0, 16:0 y 18:0, han sido la cadena de ácidos grasos más abundantes durante la embriogénesis y el desarrollo larvario de trucha arco iris. Según İbrahim et al. (2004), en el contenido lipídico de huevos de peces, el ácido graso saturado más abundante es el ácido palmítico (16:0), por ende, es fundamental su estudio. Los trabajos realizados por Wiegand (1996) argumenta que el fosfatidil etanolamina (PE) es importante en el tejido neural, dicho fosfolípido está compuesto de ácido esteárico y ácido palmítico, comparados con los estudios de Zengin & Akpınar (2006) son los

ácidos grasos saturados con mayor contenido. Es imperativo realizar estudios más detallados correlacionándolo con variables morfométricas e índices de eficiencia para determinar el papel predominante en el desarrollo embrionario.

#### 1.1.8.3.2. Ácidos Grasos Insaturados (PUFA's)

Los PUFAs son los ácidos grasos que se encuentran altamente relacionados en los procesos de desarrollo (Migaud et al. 2013; Valdebenito et al. 2007), particularmente los de la serie n-3, ya que se involucran en los procesos de desarrollo del sistema nervioso (Valdebenito et al. 2007), en aspectos de salud larval (Migaud et al. 2013) y son los precursores de prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos (Migaud et al. 2013; Valdebenito et al. 2007). Es por ello que Halüloúlu, Aras, Yanik, Atamanalp & Kocaman (2003), determinaron una alta actividad de los PUFAs durante todo el desarrollo embrionario y larvario de la trucha arco iris. Su papel es esencial para las diferentes fases normales de la embriogénesis (crecimiento y desarrollo), en particular para las primeras etapas de desarrollo larval y en los procesos de reproducción (Yanes-Roca et al. 2009), sistema inmune y eclosión (Furuita et al. 2003). Estudios dirigidos por Zengin & Akpınar (2006) indican que los PUFAs de la serie n-3 y n-6 son los ácidos grasos más requeridos para el embrión.

En ejemplares silvestres se encuentran relacionamiento directo, especialmente, con cantidades altas en el contenido de los PUFAs y con mayores porcentajes de fertilización (kjörsvik et al. 1990). De igual forma (Halüloúlu et al. 2003), demostraron que en todo el desarrollo utilizan ácidos grasos insaturados (UFAs), de los cuales los ácidos grasos monoinsaturados (MUFAs) fueron los más significativos, de igual forma, pero en menor cantidad los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) serie n-3 también fueron utilizados. Es de resaltar que los peces

marinos a diferencia de los peces de agua dulce, no son capaces de convertir cadenas largas de ácidos grasos 20 y 22 carbonos, en ácidos grasos de 18 carbonos (Morehead et al. 2001). En este mismo sentido, Halilóulu et al. (2003) argumentan que al analizar el ácido graso eicosadienóico 20:2n-6 en todo el desarrollo del embrión, fue el componente que disminuyó notoriamente, es decir, que una ruta probable fue la utilización de este ácido graso en el desarrollo del embrión, y por tanto es fundamental analizar más a fondo el comportamiento de este ácido graso ya que los n-3 PUFAs donde se encuentra este ácido graso están involucrados en los procesos fisiológicos. Los peces que habitan en aguas frías tienen un mayor contenido de PUFAs, la temperatura del agua en todo el desarrollo de embriogénesis de la trucha arcoíris corresponde a temperaturas entre 9 a 12,5 °C, por tanto, el alto contenido de las PUFAs en dicha especie (Henderson & Tocher, 1987).

#### 1.1.8.3.3. Ácidos Grasos Esenciales (EFAs)

Los ácidos grasos esenciales EFAs, intervienen en la formación de las membranas en el desarrollo larval (Sargent et al. 2002 citado en Migaud et al. 2013); por tanto son definitivos para determinar parámetros de calidad (Lund et al. 2008); particularmente el docosahexaenóico (22:6n-3) y el eicosapentaenoico 20:5n-3 (Mazorra, 2003; Migaud et al. 2013), pues se encuentran asociados con la calidad de la ova y el éxito de la larva, ya que hacen parte de la formación de la membrana celular, del cerebro y funciones de la retina (Migaud et al. 2013). En trucha arco iris Watanabe et al. (1984, citado en Vasallo-Aguius et al 2001) aseveran que las EFAs son determinantes en el efecto del rendimiento del desove y la calidad de los huevos, en especial los ácidos grasos EPA, DHA y ARA, los cuales parecen tener efectos directos sobre la fecundidad, la calidad de la ova, la tasa de eclosión, malformaciones y pigmentación en peces marinos (Salze, 2005). Según Migaud et al. (2013), en los últimos años encontraron una relación

directa entre EPA/ARA en cuanto a la calidad y supervivencia de larvas. Se debe destacar que unas de las funciones importantes del ARA es ser el precursor de los eicosanoides, compuesto activo fisiológicamente en los peces (Bell & Sargent, 2003).

Al realizar estudios con altos contenidos de ARA en dietas para peces como *Paralichthys olivaceus*, *Sparus aurata* y *Dicentrarchus labrax* se encontró una correlación positiva en calidad del huevo (Migaud et al. 2013), pues el ARA (20:4n-6) se encuentra involucrado en funciones fisiológicas, incluyendo la reproducción, el desarrollo de los huevos (Mazorra, 2003) y el sistema inmune, eclosión y rendimiento de los primeros estadíos larvales (Yanes-Roca et al. 2009); es decir, que es importante en el desarrollo embrionario-larvario (Zengin & Akpınar, 2006).

Los ácidos grasos EPA y DHA están correlacionados con los parámetros reproductivos en cuanto a calidad de la ova y parámetros morfométricos, de igual forma son la mayor cantidad de ácidos grasos en el total de los lípidos y tienen un importante papel para el mantenimiento de la estructura y función de las membranas celulares del tejido (Yanes-Roca et al. 2009). Furita et al. (2003) establece que el DHA mejora la resistencia al estrés en las larvas y alevinos. Los ácidos grasos altamente insaturados (HUFAs) como ARA, en menor medida EPA y el DHA, son principales fuentes en el desarrollo de los embriones; en cambio las fuentes principales en larvas son los DHA y ARA, las cuales se incorporan selectivamente en el huevo (Johnson et al. 2011). Como ya se ha mencionado, el DHA (22:6 serie n-3) y los fosfogliceridos, generan un gran interés debido a que son indispensables para el desarrollo neural (retina, tejidos olfatorios y otras células excitables) (Halıloğlu et al. 2003; Wiegand, 1996; Yanes-Roca et al. 2009; Zengin & Akpınar, 2006) y ontogénico (Furita et al. 2003). En uno de estos estudios, se analizó el contenido lipídico de las ovas, en la trucha arco iris y bacalao; demostrando la alta concentración de DHA 22:6, por tanto, es un factor determinante como posible parámetro de calidad de ovas

(Wiegand, 1996), aunque los aspectos sobre calidad de ova, supervivencia y crecimiento tempranos, aún requieren ser establecidos con mejor precisión (Johnson et al. 2011).

#### 1.1.8.4. Vitaminas

Niveles no óptimos de vitamina E y A dan como resultado la reducción de la sobrevivencia larvaria y la aparición de anormalidades, por lo que se acepta que la vitamina A es factor clave en el desarrollo embrionario y larval (Bobe & Labbé, 2009). En cambio, la vitamina E ( $\alpha$ -Tocoferol) previene la oxidación de los ácidos grasos (Manor, 2009). Los peces teleósteos no son capaces de sintetizar la vitamina C o ácido ascórbico, por lo que es una vitamina esencial; su deficiencia se debe a la falta de la enzima gluconolactona oxidasa (Ciereszko, Dabrowski, Lin & Liu, 1999). El ácido ascórbico varía en contenido durante la ontogénesis, los estados larvales y la maduración gonadal (Falahatkar et al. 2006; Dabrowski & Ciereszko, 2001). Valdebenito et al. (2007) señalan que las vitaminas C y E, así como los carotenoides (astaxantina) y algunos elementos traza, son cruciales para la supervivencia embrionaria; por tanto, la falta de vitamina C en el plasma seminal, está asociada un alto porcentaje de mutaciones letales de los embriones (Ciereszko et al. 1999).

Igualmente, Kjörsvik et al. (1990) encuentran una correlación directa entre el ácido ascórbico en la ova y la tasa de eclosión; reconocen que aún es necesario determinar su papel en la eclosión, en el desarrollo del ovocito o en la incorporación de las proteínas durante la vitelogenesis.

Deficiencias de la vitamina C en la larva se asocian a hiperplasia del colágeno en el cartílago de las branquias, además de deformidades en la columna, aletas, mandíbula y cavidad oral (Falahatkar et al. 2006). La necesidad de almacenar ácido ascórbico en el vitelo, probablemente puede darse para la síntesis del colágeno (Ciereszko et al. 1999). De otro lado, la deficiencia de la vitamina B1 (tiamina) en las larvas con saco vitelino, se reporta un síndrome de mortalidad

temprana (EMS); inmersiones del agua enriquecidas con tiamina aumenta la supervivencia de las larvas (Falahatkar et al. 2006); el incremento de la vitamina B2 en la dieta muestra relación directa con mayores porcentajes de eclosión (Craik & Harvey, 1984).

#### 1.1.8.5. Hormonas

Aunque es bajo su desarrollo experimental, se reconoce que también son importantes otros compuestos del ovocito como hormonas tiroideas, corticosteroides y esteroides sexuales, los cuales tienen efectos en el desarrollo y pueden influir en el metabolismo (Wiegand, 1996); estas podrían ser suministradas antes de la fertilización por transferencia materna, implicando entonces que son indispensables los estudios ontogénicos a nivel del sistema endocrino (Brooks et al. 1997). Los PUFAs agregan 20 o más átomos de carbono, a través de sus metabolitos y afectan directamente la maduración del pez y la esteroidogénesis (Li et al. 2005).

El conocimiento sobre el contenido hormonal incluye hormonas tiroideas, tiroxina, triyodotironina, cortisol y varios esteroides sexuales, donde las hormonas tiroideas son factores del crecimiento y son depositadas en el vitelo del huevo, (Brooks et al. 1997); el cortisol en trucha arco iris, declina rápidamente su contenido desde la fertilización y eclosión, donde el 90% se elimina durante el endurecimiento, fase de hidratación de la ova.

Las observaciones de Saga et al. (1993), sugieren que la GTH I regula el crecimiento gonadal inicial y el desarrollo embrional y larval de trucha arco iris, mientras que la GTH II no pudo ser detectada en el desarrollo embrionario y larval, los resultados sugieren más estudios ontogénicos.

En peces salmónidos, las células somatotropas encargadas de la producción de la hormona del crecimiento (GH), aparecen muy temprano en el embrión en los días 22 y 25 de incubación, lo cual sugiere su importante función durante el desarrollo (Gabillard et al. 2003).

#### 1.1.8.6. Enzimas

Estos compuestos se han encargado de caracterizar la vitelogenina y almacenarla como proteínas del vitelo en el ovocito. Después de la fertilización, las enzimas sintetizan todas esas proteínas almacenadas, convirtiéndolas en aminoácidos libres disponibles para el desarrollo del embrión. Se conoce muy poco sobre las enzimas en huevos de peces. Las actividades enzimáticas se encuentran en el desarrollo del embrión incluyendo la eclosión; provienen de fuentes externas al ovocito y están presentes en baja cantidad, pero son igualmente necesarios para producir ovas viables (Brooks et al. 1997). La enzima ornitina descarboxilasa (ODC) se encarga de iniciar y limitar la biosíntesis de poliamina o biosíntesis de proteína en condiciones normales y estas son utilizadas para el crecimiento a corto plazo, es decir durante el desarrollo embrionario (Srivastava & Brown, 1993).

De otro lado, en el proceso de endurecimiento en el espacio previtelino, se encuentra la enzima de endurecimiento de acción específica, la que se activa en su producción por encontrarse la ova en contacto con el agua, (Kjörsvik et al. 1990). En el proceso de eclosión se encuentra la enzima proteolítica de la eclosión liberada al fluido interno por el embrión, con la que se realiza la digestión de la capa interna del corion (Ninness, Stevens & Wright, 2006). Adicionalmente, (George y Tholppil, 1980 citado en Brinkworth et al. 2003) aseveran que los embriones secretan la enzima proteolítica antes de la eclosión, esta actúa sobre el corion rompiendo enlaces peptídicos entre los aminoácidos y debilitando la estructura de la membrana.

Sobre las enzimas como la superóxido dismutasa y catalasa; glutatión peroxidasa (EC 1.11.1.9.) y glutatión transferasa (EC 2.5.1.18), se sabe que el glutatión peroxidasa es una enzima Selenio dependiente y el glutatión transferasa es independiente y ambas se identifican como enzimas que actúan contra el ataque preoxidativo (Zengin H., Yilmaz Ö., Gökçe Z & Demir E., 2016).

#### 1.1.8.7. Minerales y otros

Los minerales son esenciales debido a que hacen parte en los procesos metabólicos, mantienen un equilibrio osmótico en los procesos de electrolitos, por tanto, juegan un papel importante en la membrana celular; de igual manera hacen parte en la estructura celular de los tejidos y son activadores de las enzimas. La compleja pero limitada literatura al respecto de estos macro y micro minerales, radica en la variación de funcionamiento entre especies. Estudios revelan que, en el caso del hierro, este tiene una correlación con la eclosión de las ovas; donde Kjörsvik et al. (1990) determinaron que el fosforo, calcio y hierro, tienen una pobre relación con la eclosión de las ovas; contrariamente, Craik & Harvey (1984) registran una fuerte correlación entre el contenido del hierro y la eclosión del de la ova. Ninness et al. (2006) señalan que el endurecimiento del corion es a causa del contenido del calcio, lo que aumenta la resistencia mecánica del huevo unas 10 veces.

Sobre otros compuestos presentes en el desarrollo del embrión, se encuentran los carotenoides los cuales pueden tener un efecto positivo en la supervivencia de la larva (Migaud et al. 2013). Sobre otros compuestos en el huevo Craik (1985) y Lahnsteiner et al. (1999) estudiaron los  $\beta$ -carotenos, pues son utilizados en la industria salmonera para aumentar la intensidad de la coloración en la ova. Craik (1985) encuentra que, en casos de baja concentración de oxígeno, la mortalidad de las ovas disminuye conforme aumenta la concentración de estos carotenoides (Craik, 1985; Lahnsteiner et al. 1999). Se ha determinado que en salmones durante el desarrollo embrionario se presenta un incremento metabólico aeróbico sugiriendo un peligro potencial por sus derivados tóxicos de oxígeno, los cuales deben ser controlados (Cowey, Bell, Knox, Fraser & Youngson, 1985). Por tanto, los carotenos como la astaxantina actúa como desactivador de la

molécula de oxígeno en un estado energéticamente excitado, previniendo el daño de otras moléculas como las PUFAs (Li et al. 2005; Morehead et al. 2001).

#### 1.1.8.8. Metabolismo

En los huevos de peces existen nutrientes que deben satisfacer las demandas de energía en el crecimiento del embrión y la larva hasta la etapa de absorción del saco vitelino (Cowey et al. 1985). Todos estos procesos se inician con un aumento de la actividad metabólica en el embrión, correlacionándose con divisiones celulares, diferenciación celular, organogénesis y demanda de energía que proviene de procesos catabólicos (Srivastava & Brown, 1992). Las potenciales reservas de energía corresponden a proteína y lípidos presentes como fosfolípidos y colesterol, (Ronnestad & Fyhn, 1993; Vetter et al. 1983) e hidratos de carbono (Ronnestad & Fyhn, 1993; Srivastava & Brown, 1992). Estudios en peces marinos determinaron que los aminoácidos libres, están implicados como sustrato del metabolismo energético en el desarrollo de huevos y larvas (Ronnestad & Fyhn, 1993).

Sucedan procesos de estrés metabólico derivados de factores medioambientales y de comportamiento, en todos los estadios embrionarios y de eclosión de las ovas, se requiere de gasto energético y una de esas fuentes es el lípido, pues es el compuesto que genera más energía y es utilizada para consumo endógeno del huevo (Vetter et al. 1983). Srivastava & Brown (1993) establecen que el principal consumo de energía está más en la proteína y los lípidos, que en los carbohidratos. Tales investigaciones demostraron que los niveles de proteína y lípidos se mantuvieron constantes en todo el desarrollo; no obstante, se comprobó que la disminución significativa de los niveles de carbohidratos, porque es utilizada como consumo energético. Núcleos de adenina, adenosín trifosfato (ATP), adenosín difosfato (ADP) y adenosín monofosfato (AMP), contienen poca energía con relación a los lípidos por su baja concentración

de células. Los nucleótidos de adenina son importantes porque regulan la producción de energía en el metabolismo del huevo (Vetter et al. 1983). Se ha encontrado en todo el desarrollo embrionario y larvario hasta absorber el saco vitelino una relación directa de la utilización de los lípidos por el embrión y la larva, con la acumulación en el vitelo y el metabolismo de los lípidos (Wiegand, 1996). Vetter et al. (1983) postulan que las diferentes clases de lípidos son la mayor fuente de energía utilizada para el desarrollo embrionario, en vez de proteínas y carbohidratos, las cuales son utilizadas de una forma simultánea y no secuencial. No obstante, Srivastava & Brown (1993) contradicen estas afirmaciones, encontrando que la fuente de consumo de energía durante el desarrollo de la ova es la proteína, posterior a la eclosión, corresponde el gasto energético a los lípidos.

## 1.2. Referencias

- Aegerter S. y Jalabert B. (2004). Effects of post-ovulatory oocyte ageing and temperature on egg quality and on the occurrence of triploid fry in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, (23), 59–71.
- Balon, E.K. (1975), Terminology of intervals in fish development. *J. Fish. Res. Board Can*, 32(9), 1663-1670.
- Bell J. y Sargent J. (2003). Arachidonic acid in aquaculture feeds: status and future opportunities. *Aquaculture*, 218(1), 491-499.
- Bieniarz K. (1973), Effect of light and darkness on incubation of eggs, length, weight and sexual maturity of sea trout (*Salmo trutta L.*), brown trout (*Salmo trutta fario L.*) and rainbow trout (*Salmo irideus Gibbons*). *Aquaculture*, 2, 299-315.
- Blanco C. (1995). La Trucha Cría Industrial (Segunda edición), Ediciones Mundi—Prensa, España, 43-48, 60-90, 95-134, 139, 151, 160-169, 230-233, 311-345.

- Bobe J. y Labbé C. (2010). Egg and sperm quality in fish. *General and Comparative Endocrinology*, 165(3), 535-548.
- Boeuf G. y Le Bail P. (1999). Does light have an influence on fish growth? *Aquaculture*, 177, 129–152.
- Bonislawska M., Formicki K., Korzelecka-Orkisz A. & Winnicki A. (2001). Fish egg size variability: biological significance. *EJPAU*, 4(2), 2. Recuperado de <http://www.ejpau.media.pl/volume4/issue2/fisheries/art-02.html>.
- Borquez A., Serrano E., Dantagnan P., Carrasco J. & Hernandez A. (2011). Feeding high inclusion of whole grain white lupin (*Lupinus albus*) to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects on growth, nutrient digestibility, liver and intestine histology and muscle fatty acid composition. *Aquaculture Research*, 42, 1067-1078.
- Brinkworth C., Hodson P., Tabash S. & Lee P. (2003), CYP1A induction and blue sac disease in early developmental stages of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to retene, *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*: 66(7), 627-646.
- Bromage N., Jones J., Randall C., Thrush M., Davies B., Springate J. (1992). Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 100, 141-166.
- Brooks S., Tyler C. & Sumpter J. (1997). Egg quality in fish: What makes a good egg? *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 7(4), 387-416.
- Ciereszko A., Dabrowski K., Lin F. & Liu L. (1999). Protective role of ascorbic acid against damage to male germ cells in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 56(2), 178-183.

- Ciereszko A., Wojtczak M., Dietrich G., Kuźmiński H. & Dobosz S. (2009). A lack of consistent relationship between distribution of lipid droplets and egg quality in hatchery-raised rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 289(1-2), 150–153.
- Cowey C.B., Bell J.G., Knox D., Fraser A. & Youngson A. (1985). Lipids and Lipid Antioxidant Systems in Developing Eggs of Salmon (*Salmo salar*). *Lipids*, 20, 9.
- Craik J.C.A. y Harvey S.M. (1984). Egg quality in rainbow trout: the relation between egg viability, selected aspects of egg composition, and time of stripping. *Aquaculture*, 40, 115-134.
- Craik J.C.A. (1985). Egg quality and egg pigment content in salmonid fishes. *Aquaculture*, 47, 61-88.
- Crespel A., Rime H., Fraboulet E., Bobe J. & Fauvel C. (2008). Egg quality in domesticated and wild seabass (*Dicentrarchus labrax*): A proteomic analysis. *Cybium, Revue Internationale d'Ichtyologie*, 32(2).
- Crisp Trevor (1993). The environmental requirements of Salmo and Trout in fresh water. *Freshwater*, 3 (3), 176–202.
- Czesny S. y Dabrowski K. (1998). The effect of egg fatty acid concentrations on embryo viability in wild and domesticated walleye (*Stizostedion vitreum*). *Aquatic Living Resources*, 11 (06), 371-378.
- Dabrowski K. y Ciereszko A. (2001). Ascorbic acid and reproduction in fish: endocrine regulation and gamete quality. *Aquaculture Research*, 32(8), 623-638.
- Einum S., Hendry A. & Fleming A. (2002). Egg-size evolution in aquatic environments: does oxygen availability constrain size?. *The Royal Society*, 269, 2325-2330.

- Falahatkar B., Dabrowski K., Arslan M. & Rinchard J. (2006). Effects of ascorbic acid enrichment by immersion of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) eggs and embryos. *Aquaculture Research*, 37(8), 834-841.
- Fraser A., Gamble J. & Sargent J. (1988). Changes in lipid content, lipid class composition and fatty acid composition of developing eggs and unfed larvae of cod (*Gadus morhua*). *Marine Biology*, 99(3), 307-313.
- Furuita H., Yamamoto T., Shima T., Suzuki N. & Takeuchi T. (2003). Effect of arachidonic acid levels in broodstock diet on larval and egg quality of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, 220 (1), 725-735.
- Gabillard J., Rescan P., Fauconneau B., Weil C. & Le Bail P. (2003), Effect of Temperature on Gene Expression of the Gh/Igf System During Embryonic Development in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal Of Experimental Zoology*. 298A, 134–142.
- Ghioni C., Tocher D.R. & Sargent J.R. (1997) The effect of culture on morphology, lipid and fatty acid composition, and polyunsaturated fatty acid metabolism of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) skin cell. *Fish Physiology and Biochemistry*, 16, 499-513.
- Halüloúlu H., Aras N., Yanik T., Atamanalp M. & Kocaman E. (2003). Investigation of Changes in Fatty Acid Compositions at Early Development Stages of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 27(5), 1105-1109.
- Henderson R. y Tocher D. (1987). The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Progress in Lipid Research*, 26(4), 281-347.

- Hisar O., Hı́sar A., Sırkeciođlu A., Karataş M. & Yannik T. (2007). Using an Oxygenating and Degassing Column to Improve Water Quality in Salmonid Hatcheries. *International Journal Of Natural & Engineering Sciences*, 1(3), 63-64.
- İbrahim Halilođlu, H., Bayır, A., Necdet Sırkeciođlu, A., Mevlüt Aras & Atamanalp, M. (2004). Comparison of fatty acid composition in some tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) living in seawater and freshwater. *Food Chemistry*, 86(1), 55-59.
- Johnson R., Kroeger E., Carter C., Reichert W. & Rust M. (2011), Transitioning Coho Salmon Broodstock to a Docosahexaenoic Acid (DHA)-Rich Diet during Vitellogenesis: Effects on Egg Composition and Embryo and Fry Quality. *North American Journal of Aquaculture*, 73, 409–417.
- Kjørsvik E. & Lønning S. (1983). Effects of egg quality on normal fertilization and early development of the cod, *Gadus morhua* L. *Journal Fish Biology*, 23, 1-12.
- Kjørsvik E., Hoehne-Reitan K. & Reitan K.I. (2003). Egg and larval quality criteria as predictive measures for juvenile production in turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture*, 227(1–4), 9-20.
- Kjörsvik E., Mangor-Jensen A. & Homefjord I. (1990). Egg quality in fishes. *Advances in Marine Biology*, 26, 71–113.
- Lahnsteiner F. y Patzner R. (2002). Rainbow trout egg quality determination by the relative weight increase during hardening: a practical standardization. *Journal of Applied Ichthyology*, 18(1), 24-26.
- Lahnsteiner F. (2000). Morphological, physiological and biochemical parameters characterizing the over-ripening of rainbow trout eggs. *Fish Physiology and Biochemistry*, 23, 107–118.

- Lahnsteiner F., Weismann T. & Patzner R. (1999). Physiological and biochemical parameters for egg quality determination in lake trout, *Salmo trutta lacustris*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 20, 375–388.
- Li Y., Chen W., Sun Z., Chen J. & Wu K. (2005). Effects of n-3 HUFA content in broodstock diet on spawning performance and fatty acid composition of eggs and larvae in (*Plectorhynchus cinctus*). *Aquaculture*, 245(1), 263-272.
- Lund I., Steinfeldt S.J., Suhr K.I. & Hansen B.W. (2008). A comparison of fatty acid composition and quality aspects of eggs and larvae from cultured and wild broodstock of common sole (*Solea solea L.*). *Aquaculture Nutrition*, 14(6), 544-555.
- Manor (2009). *Effects of age and polyploidy on growth, composition, fatty acids, and egg development in rainbow trout, Oncorhynchus mykiss*. (Thesis submitted, Master), Virginia University, Estados Unidos de Norte América, 3-12.
- Mazorra C., Bruce M., Bell J. G., Davie A., Alorend E., Jordan N. & Bromage N. (2003). Dietary lipid enhancement of broodstock reproductive performance and egg and larval quality in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture*, 227(1), 21-33.
- Migaud H., Bell G., Cabrita E., McAndrew B., Davie A., Bobe J. (2013). Gamete quality and broodstock management in temperate fish. *Reviews in Aquaculture*. 5(1), S194–S223.
- Morehead D.T., Hart P.R., Dunstan G.A., Brown M. & Pankhurst N.W. (2001). Differences in egg quality between wild striped trumpeter *Latris lineata*, and captive striped trumpeter that were fed different diets. *Aquaculture*, 192, 39 – 53.
- Ninness M., Stevens E. & Wright P (2006). Energy expenditure during hatching in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) embryos. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 63(6), 1405-1413.

- Patiño R. y Sullivan C. (2002). Ovarian follicle growth, maturation, and ovulation in teleost fish. *Fish Physiology and Biochemistry*, 26, 57–70.
- Pavlov D.A. y Emel'yanova N. G. (2008). Morphological Criteria of Egg Quality in Marine Fishes: Activation and Cleavage of Eggs of *Zebrasoma scopas* (Acanthuridae). *Journal of Ichthyology*, 48(7), 533–548.
- Pohl-Branscheid M. y Holtz W. (1990), Control of Spawning Activity in Male and Female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by Repeated Foreshortened Seasonal Light Cycles. *Aquaculture*, 86, 93-104.
- Reading B., Hiramatsu N., Sawaguchi S., Matsubara T., Hara T., Lively M. & Sullivan C. (2009). Conserved and variant molecular and functional features of multiple egg yolk precursor proteins (vitellogenins) in white perch (*Morone americana*) and other teleosts. *Marine Biotechnology*, 11(2), 169-87.
- Ronnestad I. y Fyhn H. (1993). Metabolic aspects of free amino acids in developing marine fish eggs and larvae. *Reviews in Fisheries Science*, 1:3, 239-259.
- Rosado R. (2005). Manejo Reproductivo en Cautiverio de la Trucha Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). INCODER, *Reproducción de Peces en el Trópico*, 123-145.
- Rosado R. (2011). Relación entre parámetros físicos y de composición de la ova con la eficiencia en fases de incubación y larvicultura en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). Tesis de Maestría en Producción Animal, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 16 - 105.
- Rosado R., Landines P. & González D. (2012). Composición de ácidos grasos en ova de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792). *Revista de Medicina Veterinaria Universidad de La Salle*, 23, 11-22.

- Saga T., Oota Y., Nozaki M. & Swanson P. (1993). Salmonid pituitary gonadotrophs. III. chronological appearance of GTH I and other adenohipophysial hormones in the pituitary of the developing rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss irideus*). *General and Comparative Endocrinology*, 92(2), 233-241.
- Salze G., Tocher D., Roy W. & Robertson D. (2005). Egg quality determinants in cod (*Gadus morhua* L.): egg performance and lipids in eggs from farmed and wild broodstock. *Aquaculture Research*, 36 (15), 1488-1499.
- Srivastava & Brown (1992). Assessment of egg quality in atlantic salmon, salmo salar, treated with testosterone-ii. Amino acids. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A-Physiology*, 103 (2), 397-402.
- Srivastava R. y Brown J. (1993). Assessment of egg quality in Atlantic salmon, *Salmo salar*, treated with testosterone: biochemical composition. *Canadian Journal of Zoology*, 71(1).
- Ulvund K.A. y Grahl-Nielsen O. (1988). Fatty acid composition in eggs of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 45 (5), 898-901.
- Valdebenito, Datagnan & Gallegos (2007). Fecundidad y Calidad de Gametos en peces: Parámetros de evaluación y efectos nutricionales. *Editorial Universidad Católica de Temuco, Producción de Larvas de Peces*, 183-191.
- Vassallo A., Watanabe T., Yoshizaki G., Satoh S. & Taekeuchi Y. (2001). Quality of eggs and spermatozoa of rainbow trout fed an n-3 essential fatty acid-deficient diet and its effects on the lipid and fatty acid components of eggs, semen and livers. *Fisheries Science*, 67(5), 818-827.

- Vetter R., Hodson R. & Arnold C. (1983). Energy metabolism in a rapidly developing marine fish egg, the red drum (*Sciaenops ocellata*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 40(5), 627-634.
- Voet D., Voet J. & Pratt (2011). *Fundamentos de Bioquímica: La vida a nivel molecular*. (Traducción Preciado María). Editorial Medica Panamericana (Segunda edición), España, 233-250.
- Wiegand M. (1996). Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleost fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 6, 259-286.
- Yanes R., Rhody N., Nystrom M. & Main K. (2009). Effects of fatty acid composition and spawning season patterns on egg quality and larval survival in common snook (*Centropomus undecimalis*). *Aquaculture*, 287(3), 335-340.
- Zengin H. y Akpınar M.A. (2006). Fatty acid composition of *Oncorhynchus mykiss* during embryogenesis and other developmental stages. *Journal of Biologia Bratislava*, 61(3), 305-312.
- Zengin H., Yılmaz Ö., Gökçe Z & Demir E. (2016) Antioxidant Enzyme Activities and Some Biochemical Changes in Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum 1792) Yolk-Sac Larvae. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 16, 961-970.

## Capítulo 2

### **Relación de las características morfológicas e índices de eficiencia en la determinación de la calidad de ova de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en la etapa de incubación.**

#### **Resumen**

Al estudiar las posibles relaciones de los índices de eficiencia y las características morfológicas, en todo el estado de desarrollo embrionario y larvario, podrían dar aportes o pautas sobre calidad de ova; cuando se determina calidad de la ova, se define como el alto porcentaje de sobrevivencia durante la incubación y eclosión, su velocidad de desarrollo y estado físico post eclosión. Por tanto, se realizan medidas en un conjunto de variables en las hembras reproductoras como peso gr, longitud cm, y variables para las ovas como peso en g, volumen en ml, cantidad, densidad ( $\text{mg}/\text{mm}^3$ ), mortalidad y fertilidad, entre otros. Dichas variables morfométricas, se correlacionan con índices productivos en la etapa de incubación, como son los índices de eficiencia como IE OVEM (índice de eficiencia en la fase de ova verde a ova embrionada), IE OEEC (índice de eficiencia desde el momento del embrionamiento hasta la eclosión larvaria), IEI (índice de eficiencia en incubación), IE LARV (índice de eficiencia durante la etapa de reabsorción de vesícula) y IE TOT (índice de eficiencia de la totalidad del proceso de producción). Dado la gran cantidad de datos obtenidos, se realizan análisis exploratorios para determinar posibles correlaciones.

**Palabras clave:** calidad de ova, caracteres morfológicos, eficiencia.

## 2.1. Introducción

Durante los primeros días de incubación de ovas en explotaciones piscícolas, la manipulación es mínima o nula, pues ciertas actividades de revisión excesiva pueden ocasionar efectos negativos. De esta manera en la industria piscícola, se define calidad de la ova como el alto porcentaje de sobrevivencia durante la incubación y eclosión, su velocidad de desarrollo y estado físico post eclosión (Aegerter & Jalabert, 2004; Blanco, 1995; Craik, 1985; Patiño & Sullivan, 2002; Pavlov & Emel'yanova, 2008). La industria maneja varios indicadores para estimar la calidad del huevo en los procesos de incubación, como el porcentaje de fertilización, el cual es más exitoso en especies donde el desarrollo embrionario es rápido. Trabajos con truchas han determinado que aproximadamente a los 70 grados día (Blanco, 1995; Bromage et al. 1992), o hasta 100 grados día (Rosado, 2011) se puede determinar el porcentaje de fertilización. Los huevos obtenidos en sistemas piscícolas y los generados en poblaciones silvestres de peces, tienen una alta variabilidad en cuanto a la calidad (Aegerter & Jalabert, 2004), es decir que ya existe una complejidad para establecer parámetros de calidad del huevo. Menciona Migaud et al. (2013) que al incorporar en los procesos productivos nuevas especies de importancia comercial, el grado de complejidad aumenta para determinar dichos parámetros. Autores como Kjörsvik et al. (1990) y Morehead et al. (2001) argumentan que en el proceso embrionario y las primeras etapas larvarias hasta el inicio de consumo de alimento exógeno es importante vincular en los parámetros generales de calidad, tasas de fertilización, procesos de activación, flotabilidad; también características morfológicas como patrones de división y distribución de los glóbulos de aceite, dureza y apariencia del corion, además porcentajes de embriones normales, supervivencia y eclosión. Complementan Migaud et al. (2013) y Morehead et al. (2001) que en las

características morfológicas fuera de la distribución de los glóbulos de aceite se debe tener claridad en la forma y transparencia del huevo.

Estudios con peces como el bacalao común tienen en cuenta observaciones en la morfología de los blastómeros y el éxito de la fertilización como posibles predictores de la viabilidad del huevo y el embrión. Además, los blastómeros anormales los han relacionado con larvas deformes (Hansen & Puvanendran, 2010). Por tanto, al controlar parámetros ambientales en el desarrollo y crecimiento del embrión de las truchas colombianas, se podría plantear posibles correlaciones de las características morfológicas y morfométricas con los indicadores de eficiencia, los cuales podría ayudar a predecir modelos de calidad de la ova.

## **2.2. Materiales y métodos**

### **2.2.1. Localización**

El proyecto se realizó en la granja de incubación de truchas dedicada a la producción y distribución de semilla importada (alevinos), la finca se encuentra localizada en la vereda Santa Ana Alta, municipio de Guasca, Cundinamarca, a una distancia aproximada de 45 km con Bogotá y altitud de 2.855 msnm; la finca capta el agua del río Siecha uno de los ríos más importantes del municipio, con una temperatura media del agua de 10,2 °C (Tobón, 2009). A alturas superiores de 2.200 msnm la vegetación predominante son árboles y arbustos característicos a la transición entre bosque andino y bosque alto andino.

La temperatura ambiente promedio en el casco urbano se encuentra en 13 °C con una altura de 2.717 msnm según Parques Naturales Nacionales de Colombia (2011). Al tomar esta temperatura, tenemos como resultante la función de temperatura con respecto a la altura, cuya variación es -0,6 grados por cada 100 metros ascendentes, por tanto, la temperatura media aproximada es de 12,1 °C con respecto a la altura de la finca. La precipitación promedio en el

casco urbano anual es de 768 mm; es una precipitación unimodal o bioestacional donde los periodos lluviosos se encuentran entre los meses de abril y noviembre. Los periodos secos se presentan entre los meses de diciembre y marzo, donde enero predomina como el mes más seco.

### 2.2.2. Reproductores

Se utilizó un lote de reproductores previamente separados por sexo en dos estanques con un área superficial aproximadamente 28 m<sup>2</sup> de cada uno y con una profundidad de 1,30 m. Previo a la selección de las ovas, las hembras son seleccionadas bajo parámetros fenotípicos como abultamiento del abdomen, enrojecimiento y proyección de la papila urogenital; los machos son seleccionados con la emisión de esperma por masaje cráneo-caudal, lo cual determina su madurez. Una vez seleccionadas las hembras se realiza un seguimiento metodológico práctico de cada 7 días determinando los grados de madurez de la ova, donde se evalúan características macroscópicas del huevo para observar los grados de distribución uniforme del vitelo, también aspectos como color, forma y cristalinidad; estos parámetros ayudan para determinar cuáles ovas no se encuentran sobremaduras y seleccionar hembras adecuadas para iniciar con ellas la fase experimental.

El alimento comercial suministrado a los reproductores fue Trucha 40 C.P. extruida, con pigmento, cuyo contenido nutricional es: Ceniza 10%, fibra máxima 5%, grasa mínima 10%, humedad máxima 12% y proteína mínima 40%, el cual es un alimento especializado para las truchas en etapa de finalización. Se suministró *ad libitum* en dos raciones. De esta manera el manejo en cuanto al suministro de alimento y densidad, proporcionó un ambiente menos estresante. Una vez las condiciones del huevo eran las adecuadas para el desove, se realizaba el desove en seco y las ovas fertilizadas son trasladadas a la finca, cuya duración no sobrepasan los

30 minutos, puesto que los reproductores eran de fincas aledañas y utilizan la misma fuente de agua con las mismas condiciones de temperatura y oxígeno disuelto.

### 2.2.3. Desove, fecundación e hidratación

Las hembras seleccionadas y trasladadas se mantuvieron en un estanque por un periodo de 24 horas reduciendo el estrés, pasadas 24 horas se procedió a capturar cada hembra del estanque, depositándolas en un recipiente con agua y anestésico metasulfonato de triclaína o MS 222 a una dosis de 75 ppm durante dos minutos (Rosado, 2011); es de resaltar que la literatura mantiene un rango entre 40 a 80 ppm durante cinco minutos (Blanco, 1995) lo cual determina que se trabajó dentro de los parámetros establecidos. De esta manera los peces disminuyen la frecuencia opercular y siguen teniendo alguna reacción frente a estímulos. Ese tipo de etología de los reproductores anestesiados facilitó la toma de registros de longitud total en centímetros (con aproximación a milímetro) y peso en gramos mediante una balanza digital con error de 0.1 g.

El procedimiento de desove en seco fue el convencional, el cual consistió en presionar el abdomen y realizar un masaje antero-posterior, las veces que fueran necesarias para extraer la totalidad de huevos, depositándolos directamente en un colador y de esta manera poder eliminar el fluido ovárico, heces fecales y ovas defectuosas. Seguido a esto, se depositaron en un recipiente; luego, se procedió con los machos el mismo masaje abdominal para extraer el semen el cual se deposita directamente sobre las ovas. En el mismo momento, utilizando una pluma, se procedió a realizar la mezcla continua y uniforme de las ovas y el semen para que ocurra la fecundación. Antes de ser lavados fue necesario dejarlos en reposo durante 2 a 3 minutos. Blanco (1995) recomienda establecer un margen de seguridad en la fecundación, que consiste en emplear 5 a 10 minutos de hidratación de los huevos fertilizados. Todo el proceso de

fecundación descrito es el llamado “fertilización en seco”; luego se proceden a pesar las ovas pasados los 10 minutos.

Al aplicar abundante agua de manera continua se inició el proceso de hidratación y limpieza de las ovas donde se eliminaron residuos como semen, heces fecales, ovas dañadas, pequeña cantidad de sangre y algún material en suspensión. Una vez limpias las ovas se procedió a depositarlas en cubetas con agua continua durante 30 minutos aproximadamente. La muestra se manipuló después de la hidratación ya que había adquirido un grado de dureza que finaliza entre 36 a 48 horas según Blanco, (1995) y según Rosado (2011) máximo 24 horas, donde es el tiempo posible para practicar algún tipo de manipulación sin provocar riesgos al huevo.

#### 2.2.4. Incubación

Se realizaron medidas de cada desove, en los cuales se estimó el diámetro (mm), peso (g) y volumen (ml), seguido del traslado de cada puesta previamente hidratada en frascos tapados depositados en una nevera de poliuretano, el cual mantuvo la temperatura del agua y no se generó choque térmico. El tiempo que gastó para trasladar el material experimental de la sala del laboratorio al cuarto de incubación y verter cada puesta por bandeja, no superó los 15 minutos. Las incubadoras empleadas son de flujo vertical tipo Heath, las cuales fueron previamente limpiadas, desinfectadas y se encontraban listas para recibir el material experimental. Una vez depositado el material experimental en cada bandeja, se procedió a tomar la primera muestra, lo cual consistió en mezclar el material y hacer un solo paquete; para determinar el número de ovas que se deben utilizar por bandeja, se pesaron 3 ovas de cada bandeja, se calculó la cantidad de ovas aproximadas que deberían participar de la muestra total equivalente a 13 gramos aproximadamente. Cada muestra se depositó dentro de un termo de nitrógeno líquido con capacidad de 50 L a temperaturas inferiores a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su uso, lo cual sirvió para detener por

completo cualquier proceso metabólico que esté sucediendo dentro del huevo y proceder a realizar los respectivos análisis. Por tanto, se realizan tomas cada 7 días donde las dos últimas muestras son en la etapa larval, de esta manera, se obtienen 7 muestras cada 7 días.

No obstante, los huevos en sus primeros estados hasta llegar al estadio de ova embrionada u ova ojada, debió permanecer en reposo ya que es muy delicada y cualquier tipo de manipulación podría llevar a la muerte de la ova; por tanto, en los primeros 7 días las ovas permanecieron quietas sin ningún tipo de manipulación, este día de limpieza se obtiene también la segunda muestra, y lo mismo se realizó en el día 14 y el día 21. Como rutina de manejo se procedió a realizar limpiezas periódicas cada 3 días hasta finalizar el experimento. Paralelamente, se efectuaron mediciones de temperatura del agua tres veces en el día (8 am, 12 pm y 8 pm), revisión de las bandejas y eliminación del sedimento, registrando la mortalidad, agrupando los datos para efectos de cálculo los días en los cuales se recogen las muestras.

#### 2.2.5. Datos referentes al conjunto de variables

Del lote experimental de ovas, se tomaron datos referentes al conjunto de variables consideradas en la Tabla (1), de igual forma se realizan los cálculos respectivos a los índices de eficiencia descritas en el (Anexo 1).

Tabla 1  
*Conjunto de variables*

<b>Variab</b> les	<b>Estimación</b>
<b>Peso de la hembra (g)</b>	Bascula con error de 0,1g.
<b>Longitud total (LT) de la hembra (cm):</b>	Ictiómetro, implemento para medir los animales.
<b>Peso total ovas (g)</b>	Solamente se emplean estos datos para obtener el porcentaje de hidratación.
<b>Volumen total ovas (ml)</b>	Se realizó de dos formas, por el método de von Bayer (1.910) y mejorado en 1.951, el cual es utilizar una regleta depositar las ovas en la regla, contarlas y remitirse a tabla para determinar la cantidad de ovas y su diámetro; por volumetría con el método de Burrow, que se obtiene por el desplazamiento de volumen con un número determinado de ovas, ejemplo 10 ovas desplazan

	1 cc, se debe tener en cuenta que la manipulación humana genera error, se encuentra medido este error humano donde alcanza máximos de 2,8% (Blanco, 1995).
<b>Número de ovas</b>	Se estableció por von Bayer y volumetría.
<b>Diámetro medio ova (mm)</b>	Utilizando el método de von Bayer.
<b>Hidratación (%)</b>	Fórmula, $[(\text{peso ovas hidratadas} - \text{peso del desove}) * 100] / \text{peso ovas hidratadas}$ .
<b>Peso medio ova (mg)</b>	Se realizaron entre 3 a 4 pesos de ova por puesta, empleando una balanza con error de 0,1g.
<b>Volumen medio ova (mm<sup>3</sup>)</b>	Se asume que la ova tiene una simetría esférica y se calcula, $\text{Volumen} = (4\pi * r^3) / 3$ .
<b>Densidad ova (mg/mm<sup>3</sup>)</b>	
<b>Factor de Fertilización (FF)</b>	Para obtener la cantidad de ovas fertilizadas que se necesitan en los cálculos de algunos indicativos de calidad, se procede en el día 7 de incubación a recoger una muestra de 100 huevos y depositarlos en un recipiente que contiene alcohol, ácido acético y agua en proporciones de 1:1:1, se dejan por 5 minutos y se procede a identificar los embriones marcados y no marcados donde determinamos el porcentaje de fertilidad (Rosado, 2011).
<b>Mortalidad inicial (M1)</b>	Corresponde a las primeras ovas retiradas, las ovas retiradas no se incluyen en los cálculos.

### 2.2.6. 2.3. Resultados

Se determinó la temperatura promedio de incubación, realizando chequeos en tres momentos del día, pues por acción de los rayos solares, el agua puede variar su temperatura; por lo tanto, se efectuaron medidas en la mañana, al medio día y en la noche, como se realizó en todo el proceso de incubación, se obtuvo una temperatura promedio de 10,3 °C, reportado en la (Tabla 2).

Tabla 2  
*Registros de la temperatura del agua*

Fecha	Muestra N°	Temperatura C°			
		Día	Tarde	Noche	Promedio
<b>14/06/2014</b>	1	10.1	10.1	10.9	10.4
<b>21/06/2014</b>	2	10.0	10.1	9.9	10.0
<b>28/06/2014</b>	3	10.3	10.3	11.1	10.6
<b>5/07/2014</b>	4	10.6	10.1	10.6	10.4
<b>12/07/2014</b>	5	10.1	11.1	10.6	10.6
<b>19/07/2014</b>	6	9.8	10.7	10.1	10.2
<b>26/07/2014</b>	7	10.0	10.1	10.2	10.1
<b>2/08/2014</b>	8	10.0	10.1	10.1	10.1

---

Total      10.3

---

El resultado promedio en la etapa de incubación hasta su eclosión fue de 320 grados día<sup>-1</sup>, ya que se inició en los lotes el proceso de eclosión desde el día 30 y finalizó hasta el día 34, a los 170 grados día<sup>-1</sup> después de eclosión, inicia el consumo de alimento exógeno.

A cada una de las hembras reproductoras se les realizó análisis morfométrico como peso (g), longitud total (cm), volumen de ovas (ml), número de ovas y número de ovas fertilizadas como se indica en la Tabla (3). Al realizar medidas del estado corporal de las reproductoras como bioindicador; el factor de condición K o factor Fulton arrojó que las hembras seleccionadas tienen factores de 1,03, 1,4 y 1,2, los cuales indica que las reproductoras se encuentran en condiciones deseadas y no sufren de algún tipo de estrés o deficiencias alimenticias. Ya que el factor determina que si  $k \geq 1$  los reproductores se encuentran en una condición corporal buena, en cambio sí  $k < 1$ , los reproductores se encuentran en una condición corporal deficiente.

Para determinar el porcentaje de fertilización de las ovas, se realiza a los 70 grados día<sup>-1</sup> de incubación, donde a una pequeña muestra de ovas, se dejan inmersas en una solución aclaradora y aquellas ovas que presentan cordón neural, serán embrionadas y las que no lo presenten, serán ovas no fertilizadas; así se obtiene el % de fertilidad, como se denota en la (Tabla 3).

Tabla 3  
*Porcentaje de fertilidad de las ovas de trucha arco iris*

Hembra	N° de Ovas	N° de Ovas Marcadas*	N° de Ovas No Marcadas**	% de Fertilidad
1	50	40	10	80.000
2	46	31	15	67.391
3	38	31	7	81.579
<b>Totales</b>	134	102	32	76.119

\*Presentan formación de cordón neural.

\*\* No presentan formación de cordón neural

Tabla 4

*Análisis morfométricos de las hembras reproductoras*

Hembra	Peso (g)	Longitud (cm)	Volumen de Ovas (ml)	Nº de Ovas	Nº de ovas Fertilizadas
1	1245	49.5	250	1563	1250
2	1280	45	155	2111	1414
3	1264	47	360	1459	1196

En cuanto a las variables morfométricas de las ovas, el peso promedio es de 0,073 gramos, con un diámetro promedio de 4,84 milímetros al inicio de la fertilización, en el momento de la hidratación, y porcentaje de mortalidad inicial, como se describe en la (Tabla 4).

Tabla 5

*Variables morfométricas de las ovas de trucha arco iris*

Hembra	Cantidad de ovas	Peso inicial (g)	Diámetro (mm)	Hidratación (%)	Mortalidad inicial (%)
1	1563	0.097	5,36	12,85	3,19
2	2111	0,043	4,06	12,19	3,31
3	1459	0,085	5,08	14,68	3,15

Igualmente, se calcularon los índices de eficiencia, como se describe en la Tabla (6), en la tabla (5) se describen la diferencia en cuanto a la medida de ova, de acuerdo a la tabla Von Bayer y volumen con mililitro.

Tabla 6

*Índice de Eficiencia en la etapa de incubación y larvicultura*

Medida	IE OVEM <sup>1</sup>	IE OEEC <sup>2</sup>	IEI <sup>3</sup>	IE Larvas <sup>4</sup>	IE TOT <sup>5</sup>
Volumen (ml)	0.73695652	0.76576348	0.56433439	0.95994996	0.54173277

<sup>1</sup> IE OVEM (índice de eficiencia en la fase de ova verde a ova embrionada), <sup>2</sup> IE OEEC (índice de eficiencia desde el momento de embrionamiento hasta la eclosión larvaria), <sup>3</sup> IEI (índice de eficiencia en la etapa de incubación), <sup>4</sup> IE Larvas (índice de eficiencia en la etapa de reabsorción de la vesícula) y <sup>5</sup> IE TOT (índice de eficiencia total).

## 2.4. Discusión

Al presentar una temperatura promedio del agua 10.3 °C, podemos determinar que se encuentra dentro de los parámetros deseables de la calidad del agua para una exitosa reproducción de truchas, pues en varias especies de salmónidos la temperatura es un factor predominante el cual afecta directamente el desarrollo embrionario (Gabillard, Rescan, Fauconneau, Weil & Le Bail, 2003). Para Brooks et al. (1997) la temperatura óptima debe encontrarse en un rango que oscila entre los 9,0 a 12,5 °C.

Como resultado en los análisis de fertilización se obtienen para cada hembra 1, 2 y 3 valores de 80%, 67% y 82% respectivamente, este factor relacionándolo con el tamaño de la ova y cantidad, determina que la hembra No. 2 obtuvo 2111 ovas la cual fue la mayor cantidad de ovas, pero con un menor diámetro 4,06 mm; incidiendo en el porcentaje de fertilización que fue el más bajo. Mientras que las hembras 1 y 3, que tienen una similitud en cuanto a producción de ovas el cual arrojó 1563 y 1459 y diámetro de las ovas 5,36 mm y 5,08 mm respectivamente, son las que alcanzan a tener un mejor resultado de fertilización, se podría deducir que a mayor tamaño mayor fertilización; No obstante, el argumento carece de validez ya que Bonislawska et al. (2001) y Bobe & Labbé (2009) deducen que en truchas la diferencia entre huevos grandes o pequeños no se relaciona con diferencias significativas en las tasas de fertilización. Según Valdimarsson et al. (2002) explican la diferencia de tamaños, estudiando en particular una subfamilia de salmónidos, determinan que el tamaño de la ova está determinado por una estrategia adaptativa al medio donde va a realizar su desarrollo y por ende su supervivencia; así, la oferta ambiental determina el tamaño del huevo, el tiempo de eclosión y el comportamiento de las larvas; ya que, en ovas pequeñas el desarrollo de las ovas es más rápido comparadas con ovas de mayor tamaño. De igual forma, la calidad de la ova está determinada por diferentes variables

de calidad, como su contenido nutricional, el manejo al momento de determinar su maduración, esta última variable es subjetiva ya que se realiza por observación donde el ojo crítico puede variar.

Las tasas de fertilización obtenidas presentaron alta similitud a las expuestas por Rosado (2011) el cual encuentra en promedio 78,9%. De igual manera, E. Kjørsvik, K. Hoehne-Reitan, K.I. Reitan (2003) encontraron con lotes experimentales, fertilizaciones promedio del 74% con un rango mínimo de 57% de fertilización, lo cual es semejante comparados a los encontrados en este estudio, donde la fertilización reportada fue en promedio del 76,3%.

En términos de fecundidad relativa, se ha determinado que en truchas la producción de ovas oscila entre 1500 a 2000 huevos/kg/hembra (Blanco, 1995; Breton, 2007; Rosado, 2005), no obstante, la hembra No. 2 obtuvo un resultado de 1649 ovas/kg lo cual se encuentra dentro de los parámetros referenciados anteriormente, pese a esto, fue la reproductora que menos huevos fertilizados obtuvo, mientras que las hembras 1 y 3 las cuales obtuvieron respectivamente 1255 y 1154 ovas/kg, fueron las hembras donde sus ovas obtuvieron un porcentaje de fertilización superior al 80 % y con una condición corporal más baja comparada con la hembra No. 2. Podría entenderse que la hembra N° 2 al tener la condición corporal más elevada podría tener un problema de obesidad, con el atenuante que influye en la calidad de las ovas, o como se indicó anteriormente donde el factor determinante como posible causa es el diagnóstico de la ova en campo para determinar el grado de maduración.

En cuanto a los índices de eficiencia, los resultados de índice de eficiencia en incubación (IEI) se consideran como elevados, dado que corresponde a todo el proceso de supervivencia en la etapa de incubación, el cual determina que la mortalidad de todo el lote experimental fue elevada. En este mismo sentido el índice de eficiencia total (IE TOT) mide todo el proceso de incubación

hasta que las larvas reducen la vesícula e inician la alimentación exógena, esta medida también fue elevada. Pese a esto, los rangos se encuentran dentro de lo reportado por Rosado (2011) cuyo promedio encontrado fue de IEI 0,506 y IE TOT 0,501, lo que, en términos prácticos de supervivencia, determinan una mayor estabilidad del lote en todo el desarrollo embrionario y larvario.

## **5. Conclusiones**

El reproductor que obtuvo mayor volumen de huevos fue el individuo con la condición corporal más obesa según el factor K y con los índices de eficiencia más bajos. Los cuales determinan las posibles relaciones entre la condición corporal y la calidad de la ova en trucha arco iris.

Utilizando los diferentes análisis morfométricos para determinar la calidad de la ova, actualmente no es posible inferir un modelo patrón en peces salmónidos ni mucho menos en trucha arco iris; pues si las ovas son de mayor o de menor tamaño (diámetro), esta condición en nada difiere en el rendimiento de los parámetros como tasa de fertilización y eficiencia de incubación de las mismas.

Los índices de eficiencia obtenidos en este trabajo referentes a la calidad de la ova en trucha arco iris, suelen ser semejantes a otros estudios, como también la similitud en el comportamiento de incubación de las ovas, en este caso los IEI y TOT.

Según el resultado del índice de eficiencia IE Larva que llega aproximadamente a 0,96, determina que la población en etapa de larva es muy estable al utilizar los nutrientes almacenados en el saco vitelino para su óptimo desarrollo y crecimiento. Por tanto, es relevante realizar análisis de los movimientos nutricionales en esta etapa de desarrollo y crecimiento, ya que pueden ser determinantes en calidad de ova.

## 2.6. Referencias

- Aegerter S. y Jalabert B. (2004). Effects of post-ovulatory oocyte ageing and temperature on egg quality and on the occurrence of triploid fry in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, *Aquaculture* 23, 59–71.
- Blanco C. (1995). *La Trucha Cría Industrial Segunda edición*, España, Ediciones Mundi—Prensa.
- Bobé J. y Labbé C. (2009). Egg and sperm quality in fish. *Gen Comp Endocrinol*, 165(3), 535-48.
- Bonislawska M., Formicki K., Korzelecka-Orkisz A. & Winnicki A. (2001). Fish egg size variability: biological significance. *EJPAU*, 4(2), 2. Recuperado de <http://www.ejpau.media.pl/volume4/issue2/fisheries/art-02.html>.
- Breton, B. (2007). El cultivo de la Trucha. Ediciones Omega S.A. Traducción Fernández, Núria. P121-132. España.
- Bromage N., Jones J., Randall C., Thrush M., Davies B., Springate J. (1992). Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) *Aquaculture*, 100, 141-166.
- Brooks S., Tyler C., & Sumpter J. (1997). Egg quality in fish: What makes a good egg? *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 7(4), 387-416.
- Craik J.C.A. (1985). Egg quality and egg pigment content in salmonid fishes. *Aquaculture*, 47, 61-88.
- Craik J.C.A. y Harvey S.M. (1984). Egg quality in rainbow trout: the relation between egg viability, selected aspects of egg composition, and time of stripping. *Aquaculture*, 40, 115-134.

- Kjørsvik E., Hoehne-Reitan K. & Reitan, K.I. (2003) Egg and larval quality criteria as predictive measures for juvenile production in turbot (*Scophthalmus maximus* L.), *Aquaculture*, 227, 1–4, recuperado de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848603004927>
- Gabillard J., Rescan P., Fauconneau B., Weil C. & Le Bail P. (2003). Effect of Temperature on Gene Expression of the Gh/Igf System During Embryonic Development in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal Of Experimental Zoology*. 298A, 134–142.
- Hansen Ø.J. & Puvanendran V. (2010). Fertilization rate and blastomere morphology as predictors of egg and juvenile quality for domesticated Atlantic cod, *Gadus morhua*, broodstock. *Aquaculture Research*, 41, 1791-1798.
- Henderson R. James y Tocher Douglas R. (1987). The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Progress in Lipid Research*, 26, 281-347. Recuperado de [http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00492-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00492-7).
- Kjørsvik E. y Lønning S. (1983). Effects of egg quality on normal fertilization and early development of the cod, *Gadus morhua* L. *Journal Fish Biology*, 23, 1-12.
- Kjørsvik E., Mangor-Jensen A. & Homefjord I. (1990). Egg quality in fishes. *Advances in Marine Biology*, 26, 71–113.
- Migaud H., Bell G., Cabrita E., McAndrew B., Davie A., Bobe J. (2013). Gamete quality and broodstock management in temperate fish. *Reviews in Aquaculture*, 5, S194–S223.
- Morehead D. T., Hart P. R., Dunstan G. A., Brown M., & Pankhurst N. W. (2001). Differences in egg quality between wild striped trumpeter (*Latris lineata*) and captive striped trumpeter that were fed different diets. *Aquaculture*, 192(1), 39-53.
- Parques Naturales Nacionales de Colombia (2011). Plan de manejo parque nacional natural de Chingaza. Colombia, 40.

- Patiño R. y Sullivan C. (2002). Ovarian follicle growth, maturation, and ovulation in teleost fish. *Fish Physiology and Biochemistry*, 26, 57–70.
- Pavlov D.A. y Emel'yanova N. G. (2008). Morphological Criteria of Egg Quality in Marine Fishes: Activation and Cleavage of Eggs of *Zebrasoma scopas* (Acanthuridae). *Journal of Ichthyology*, 48(7), 533–548.
- Rosado R. (2011). Relación entre parámetros físicos y de composición de la ova con la eficiencia en fases de incubación y larvicultura en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum), *Tesis MSc Producción Animal*, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia, 16 - 105.
- Rosado R. (2005). Manejo Reproductivo en Cautiverio de la Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*). INCODER. Reproducción de Peces en el Trópico, p123-145, Bogotá D. C. Colombia.
- Tobón C. (2009). *Los bosques andinos y el agua*. Serie investigación y sistematización N° 4 Programa Regional ECOBONA – INTERCOOPERATION, CONDESAN. Quito, 9-14, 27-36.
- Valdimarsson S., Skulason S. & Snorrason S. (2002). The relationship between egg size and the rate of early development in Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. *Environmental Biology of Fishes*, 65, 463–468.

### Capítulo 3

#### **Determinación del contenido nutricional de proteína, lípido, energía y ácidos grasos, en el desarrollo embrionario-larvario de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) y su relación con las características morfométricas e índices de eficiencia**

##### **Resumen**

En el presente estudio se realizaron análisis de proteína, lípidos, energía y ácidos grasos; para determinar el contenido nutricional las ovas. Las muestras se recolectaron el primer día después de la fertilización y cada siete días cuando se encontraban en las incubadoras para realizar 8 tomas de muestras. De esta forma se procedió a realizar análisis del comportamiento de los diferentes componentes nutrientes en todo lo largo del desarrollo embrionario y larvario, y las posibles relaciones con los índices de eficiencia y análisis morfométricos, utilizando estadísticos descriptivos, prueba Shapiro – Wilk ( $\alpha=0,05$ ) para probar la normalidad y determinar el comportamiento de los nutrientes. Al determinar días críticos como ova embrionada, eclosión y mortalidad, el presente estudio se enfatizó con mayor interés en los movimientos fluctuantes de los nutrientes. Por otro lado, se establece que en todo lo largo de estos procesos los ácidos grasos saturados en especial 16:0 (el ácido palmítico), es el elemento de mayor contenido nutricional, el cual marca un patrón de comportamiento con los días críticos.

**Palabras clave:** calidad de ova, proteína, lípido, energía, ácidos grasos, características morfométricas.

### 3.1. Introducción

El uso de nutrientes en todo el crecimiento y desarrollo embrionario-larvario es un indicativo de calidad en la ova, dado que solamente puede utilizar alimento endógeno. En cuanto al contenido lipídico para los peces teleósteos en materia seca se encuentra aproximadamente un 20% de lípidos (Henderson & Tocher, 1987; Patiño & Sullivan, 2002); otros autores como Vetter, Hodson & Arnold (1983) determinan que en la producción de ovas en peces demersales, el contenido de grasa en peso seco es aproximadamente 25%. En el caso de la trucha arco iris, según estudios de Craik & Harvey (1984) se determinó que el contenido en base seca de los lípidos totales se encuentra entre 22,8 a 27,5%.

En cuanto a las proteínas, en peces con huevos demersales el contenido en peso seco es aproximadamente del 75% de proteína (Vetter, Hodson & Arnold, 1983). Estudios de Craik & Harvey (1984) con trucha arco iris, determinan más exactamente que el contenido de proteína en base seca se encuentra en rangos de 63,6 a 74,5 %. Según Brooks et al. (1997) postulan que esas proteínas presentes en el huevo juegan un papel central en la síntesis de aminoácidos y de ácidos grasos.

Así, Vladimirov (1974, citado en Kjörsvik et al. 1990) determinaron que, en el esturión, se encuentra cierta relación entre algunos aminoácidos en las ovas y la supervivencia de estas. Estas investigaciones señalan que es probable que sea un factor determinante en la calidad de la ova y se pregunta: ¿Qué es lo que puede pasar con el contenido total de grasa en el desarrollo embrionario?, ¿Será que los valores químicos como los lípidos pueden servir como referentes de la calidad de la ova? Es por esto que los estudios intrínsecos en la ova serían en aminoácidos libres y ácidos grasos para poder determinar patrones de calidad con los componentes bioquímicos (Aegerter & Jalabert, 2004). Wiegand (1996) afirma que los futuros estudios

deberían realizarse con ácidos grasos en particular los DHA, ya que este ácido graso es una de los mayores componentes en las ovas de peces.

### **3.2. Materiales y métodos**

#### 3.2.1. Localización

El estudio se llevó a cabo en una granja productora de semilla importada de trucha arco iris, ubicada en el municipio de Guasca, Cundinamarca, Vereda Santa Ana Alta, a una altitud de 2855 msnm, temperatura ambiente promedio de 13 °C, la cual capta agua del río Siecha, con una temperatura promedio de 10,3°C. Las condiciones climatológicas son aptas para la fase incubación de ovas y posterior producción de alevinos.

Al recolectar las ovas de los reproductores, se realiza una mezcla de las ovas para trabajarlo como un solo paquete de 5132 ovas, según medida en ml, donde se ubicaron con un máximo de 1 litro de huevos por bandeja en la incubadora vertical tipo Heath. Las muestras son recolectadas a partir del día de ingreso en las incubadoras y cada siete días, a saber, en los días 1, 7, 14, 21, 28, 35 y 42 tomando por muestra 13 gramos de huevos, cada muestra es dividida en dos paquetes, el primer paquete de cada muestra, se empaca en nevera de polietileno con hielo y termómetro para mantener y controlar la temperatura de refrigeración, la cual se mantuvo en 4°C; inmediatamente es trasladada la muestra (< 6 horas) al laboratorio de nutrición de la Universidad De La Salle donde se realizan análisis nutricionales de lípidos, proteína y energía.

El segundo paquete de cada muestra, se empaca y deposita en un termo con nitrógeno líquido con capacidad de 50 L conservando las muestras a temperaturas inferiores a -80 °C hasta trasladarlos al laboratorio de análisis de alimentos de la Universidad Nacional, donde se determinaron los perfiles de ácidos grasos por cromatografía de gases acoplada a detector de masas empleando un patrón grado USP de FAMES.

### 3.2.2. Incubación

El flujo del agua fue constante donde se realizaron seguimientos de temperatura (8 am, 12 m y 5 pm) para establecer una temperatura promedio de 10,2°C, durante todo el proceso de desarrollo embrionario y larvario. Se estableció una rutina de limpieza cada 3 días, donde fue retirada la mortalidad y los sedimentos provenientes del agua y acumulados en la incubadora. La cantidad de mortalidad se fue agrupando de acuerdo a los análisis establecidos. Se obtuvieron datos referentes al conjunto de las variables: peso total ovas (g), volumen total ovas (ml), número de ovas, diámetro medio ova (mm), peso medio ova (mg), volumen medio ova (mm<sup>3</sup>), densidad ova (mg/mm<sup>3</sup>), factor de Fertilización (FF) y mortalidad inicial (M1). Con base a los anteriores datos se calcularon los índices de eficiencia según como lo indica (Anexo 1).

### 3.2.3. Análisis de composición nutricional y densidad calórica

Una vez el material fue transportado al Laboratorio de la Universidad de La Salle, se procedió a retirar la humedad utilizando estufa (Memmert) a una temperatura de 105° C por 24 horas (AOAC, 1990). A todas las muestras se les determinan el porcentaje de materia seca realizando peso de inicio y peso final después de pasar por la estufa, luego se almacenaron con cierre hermético para realizar los diferentes análisis del contenido nutricional.

Se continuó con los análisis del contenido nutricional donde se determinan: composición de proteína cruda utilizando el método de Kjeldahl (AOAC, 1990) descrito en el (Anexo 2), determinación del contenido lipídico utilizando la Metodología para Lípidos por el método de Goldfish (AOAC, 1990) descrito en el (Anexo 3) y se determinó la densidad calórica utilizando Bomba Calorimétrica Parr 6300 (Beltran P. A. & Guerrero A. Y., 2018) descrito en el (Anexo 4). El segundo paquete es transportado al Laboratorio de análisis de alimentos de la Universidad Nacional, para determinar el contenido de los ácidos grasos, por cromatografía de gases acoplada

a detector de masas empleando un patrón grado USP de FAMES (Betancourt et al. 2005) descrito en el (Anexo 5).

### 3.3. Análisis de datos

Los datos obtenidos fueron utilizados para realizar los respectivos análisis experimentales, con ayuda de los programas Excel y SPSS, donde se realizaron análisis descriptivos y pruebas de normalidad; una vez realizados el análisis descriptivo se utilizó la prueba de Shapiro – Wilk ( $\alpha=0,05$ ) para probar la normalidad de las variables.

### 3.4. Resultados

Se realizaron análisis morfométricos de las ovas, donde se determinó la cantidad, el peso inicial, diámetro, porcentaje de hidratación obtenida y mortalidad inicial, como se describe en la (Tabla 7).

Tabla 7

*Variables morfométricas de las ovas de trucha arco iris*

Hembra	Cantidad de ovas	Peso inicial (g)	Diámetro (mm)	Hidratación (%)	Mortalidad inicial (%)	Fertilización (%)
1	1563	0,09	5,36	12,85	3,19	80
2	2111	0,04	4,06	12,19	3,31	67
3	1459	0,08	5,08	14,68	3,15	82

El proceso de incubación duró 320 grados día<sup>-1</sup>, el proceso de eclosión inició en el día 30 y finalizó el día 34. En cuanto a la etapa larvicultura la duración hasta el momento que inician el consumo de alimento exógeno fue de 170 grados día<sup>-1</sup>. En cuanto a los totales de ovas y los respectivos promedios de las variables morfométricas, se describen en la (Tabla 8).

Tabla 8

*Total, de ovas y promedios de las variables morfométricas*

Cantidad de ovas	Peso inicial (g)	Diámetro (mm)	Hidratación (%)	Mortalidad inicial (%)	Fertilización (%)
5132	0,073	4,84	13,24	3.2	76.3

Al recopilar los datos del lote experimental, se inicia con cálculos de los índices de eficiencia los cuales se describen en la (Tabla 9).

Tabla 9  
*Índice de Eficiencia*

<b>Índices de Eficiencia</b>					
<b>Medida</b>	IE OVEM1	IE OEEC2	IEI3	IE Larvas4	IE TOT5
<b>Volumen (mL)</b>	0.73695652	0.76576348	0.56433439	0.95994996	0.54173277
<b>Bon Vayer</b>	0.73695652	0.98443967	0.72548923	0.98037026	0.71124807

1 IE OVEM (índice de eficiencia en la fase de ova verde a ova embrionada), 2 IE OEEC (índice de eficiencia desde el momento de embrionamiento hasta la eclosión larvaria), 3 IEI (índice de eficiencia en la etapa de incubación), 4 IE Larvas (índice de eficiencia en la etapa de reabsorción de la vesícula) y 5 IE TOT (índice de eficiencia total).

Teniendo en cuenta el material obtenido cada siete días en campo, se procede a realizar en el laboratorio de la Universidad de La Salle sede La Floresta, un análisis por triplicado de la misma muestra del contenido nutricional y energía dando como resultado lo descrito en la (Tabla 10).

Tabla 10  
*Contenido Nutricional (proteína y lípidos) y energía de las ovas de trucha arco iris*

<b>Contenido Nutricional y Energía</b>				
<b>Muestra</b>	<b>Día</b>	<b>Proteína</b>	<b>Lípidos</b>	<b>Energía</b>
<b>1</b>	<b>1</b>	6.413	1.222	5.511
		6.527	1.170	5.468
		6.299	1.188	5.490
<b>2</b>	<b>7</b>	7.450	1.340	5.896
		7.292	1.290	5.901
		7.135	1.262	5.899
<b>3</b>	<b>14</b>	7.539	1.221	5.003
		7.230	1.184	5.153
		7.385	1.254	5.078
<b>4</b>	<b>21</b>	7.507	1.238	5.799
		7.119	1.182	5.720
		7.313	1.164	5.759
<b>5</b>	<b>28</b>	7.129	1.205	5.804
		7.335	1.200	5.824
		6.923	1.154	5.814
<b>6</b>	<b>35</b>	7.806	1.305	0.000*

		7.885	1.269	0.000*
		7.964	1.266	0.000*
		7.397	1.174	5.118
7	42	7.290	1.195	5.036
		7.694	1.172	5.077

\* En la muestra 6 que representa el día 35, en el recuadro de energía se presenta una dificultad en el laboratorio en cuanto las muestras y por tanto es imposible la toma de datos.

Referente a las muestras para determinar el porcentaje de ácidos grasos, estas fueron trasladadas al laboratorio de la Universidad Nacional, como se presenta en la siguiente (Tabla 11).

Tabla 11

*Porcentaje de ácidos grasos en ova, durante toda la etapa de incubación y larvicultura*

<b>% de Ácidos Grasos de Ovas embrionadas y larvas de <i>O. mykiss</i>.</b>							
<b>FAMES/Días</b>	1	7	14	21	28	35	42
<b>C14:0</b>	1.2	2.1	0.2	1.1	1	1.4	1.2
<b>C16:0</b>	23.8	32.3	19.6	22.8	21.8	23.9	24.5
<b>C16:1</b>	4.4	1.8	2.7	4.9	4.6	4.8	4.9
<b>C18:0</b>	8.6	31.6	9.6	8	7.6	7.8	7.9
<b>C18:1n-9c/t</b>	25.5	4.8	36.8	37	31.9	27.1	29.4
<b>C18:1n-7</b>	3.4	10.3	4.4	5.2	5.6	4.6	4.7
<b>C:182n-6c</b>	9	8	14.5	15.8	13.1	11.5	11.3
<b>C18:3n-3</b>	0.4	0.8	1.2	0.6	0.6	0.7	0.6
<b>C20:5n-3 EPA</b>	1.3	1.7	1	1	0.9	1.6	1
<b>C22:5n-3 DPA</b>	0.1	5.4	0.4	3.2	0.5	0.7	0.6
<b>C22:6n-3 DHA</b>	21.8	1.2	9.7	0.5	12.4	15.8	13.9
	100	100	100	100	100	100	100
<b>PUFAS</b>	33.2	17	26.7	21.1	27.6	30.3	27.5
<b>MUFAS</b>	33.3	16.9	43.9	47.1	42.1	36.6	39
<b>SFAS</b>	33.5	66.1	29.4	31.9	30.4	33.1	33.5
<b>n-3</b>	24.2	9	12.2	5.3	14.4	18.8	16.2
<b>n-6</b>	9	8	14.5	15.8	13.1	11.5	11.2
<b>n6/n-3</b>	0.4	0.9	1.2	3	0.9	0.6	0.7

Dentro del manejo de los datos obtenidos, se realizó una estadística descriptiva para proteína, lípidos y energía, como se describe en Anexo (6), de igual forma se realizan pruebas de

Normalidad utilizando el programa SPSS para proteína y lípidos descritos en los Anexos (7 y 8) la representación gráfica de la normalidad para los lípidos y proteínas se ilustra en el histograma como se describe en el (Anexo 9), de igual forma el comportamiento lipídico y proteico en toda la etapa de incubación y larvicultura se ilustra en la (Figura 1).

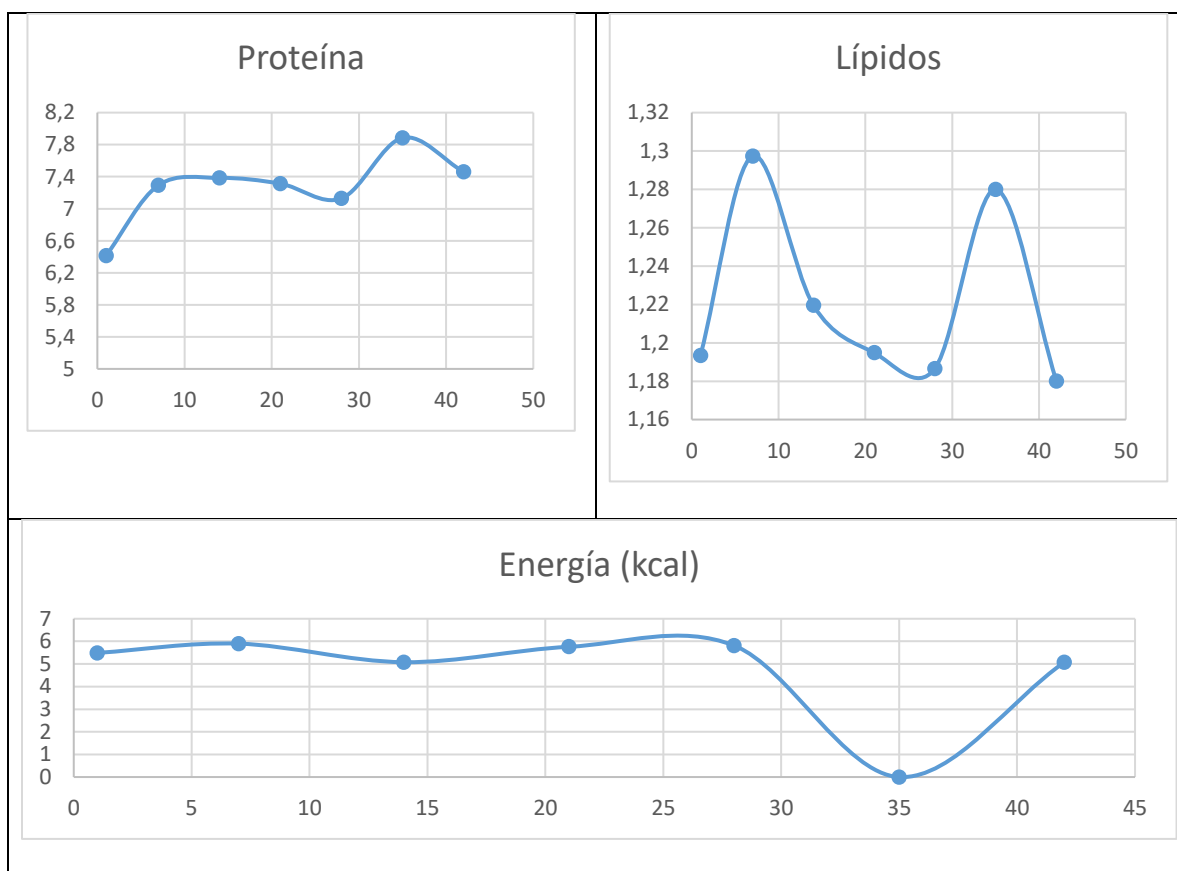
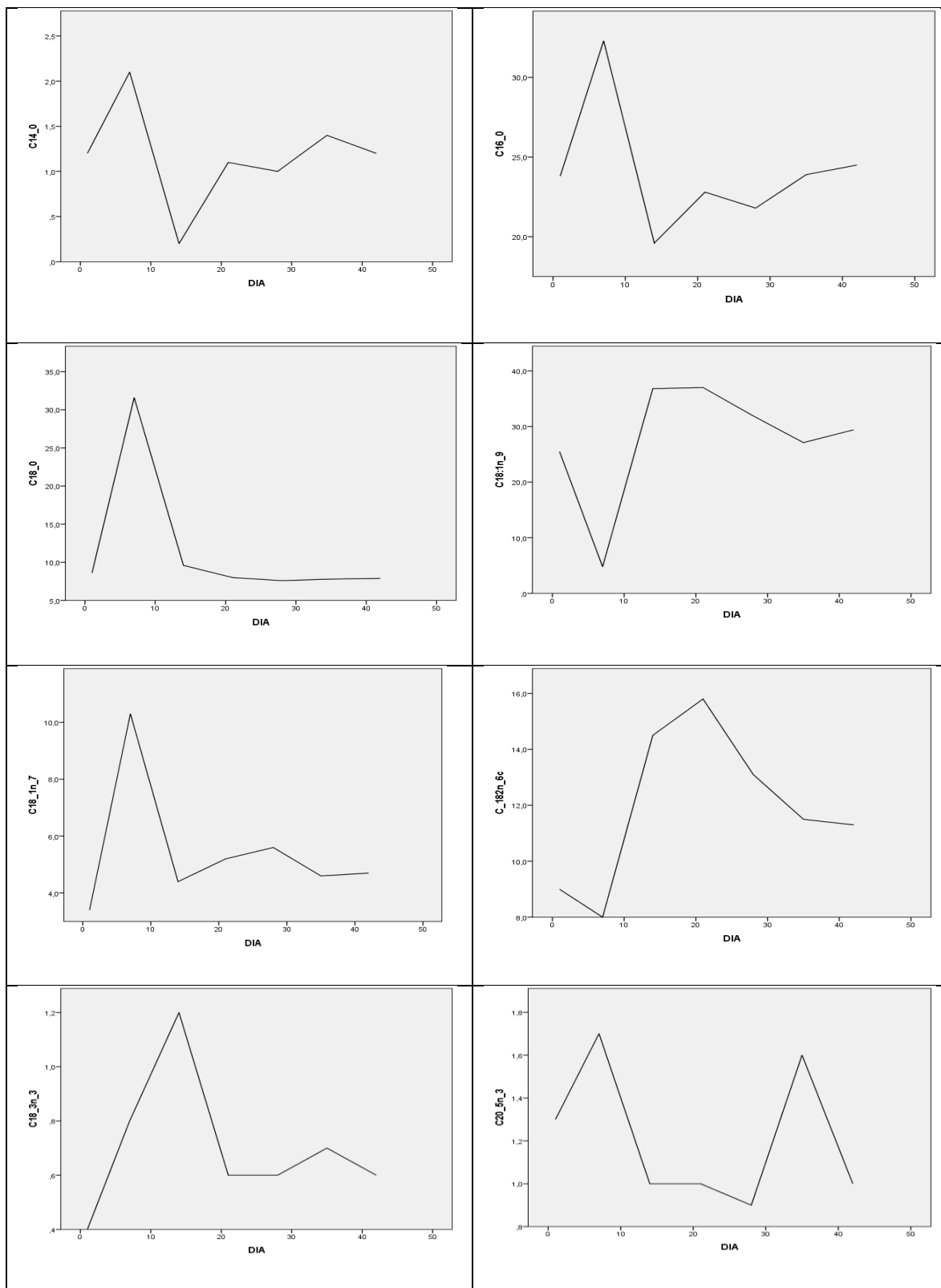


Figura 1. Movimientos nutricionales en todo el desarrollo embrionario-larvario.

\* El día 35 no se obtuvieron datos

En la Figura (2) se detalla con histogramas el comportamiento de los ácidos grasos en todo el desarrollo embrionario-larvario.



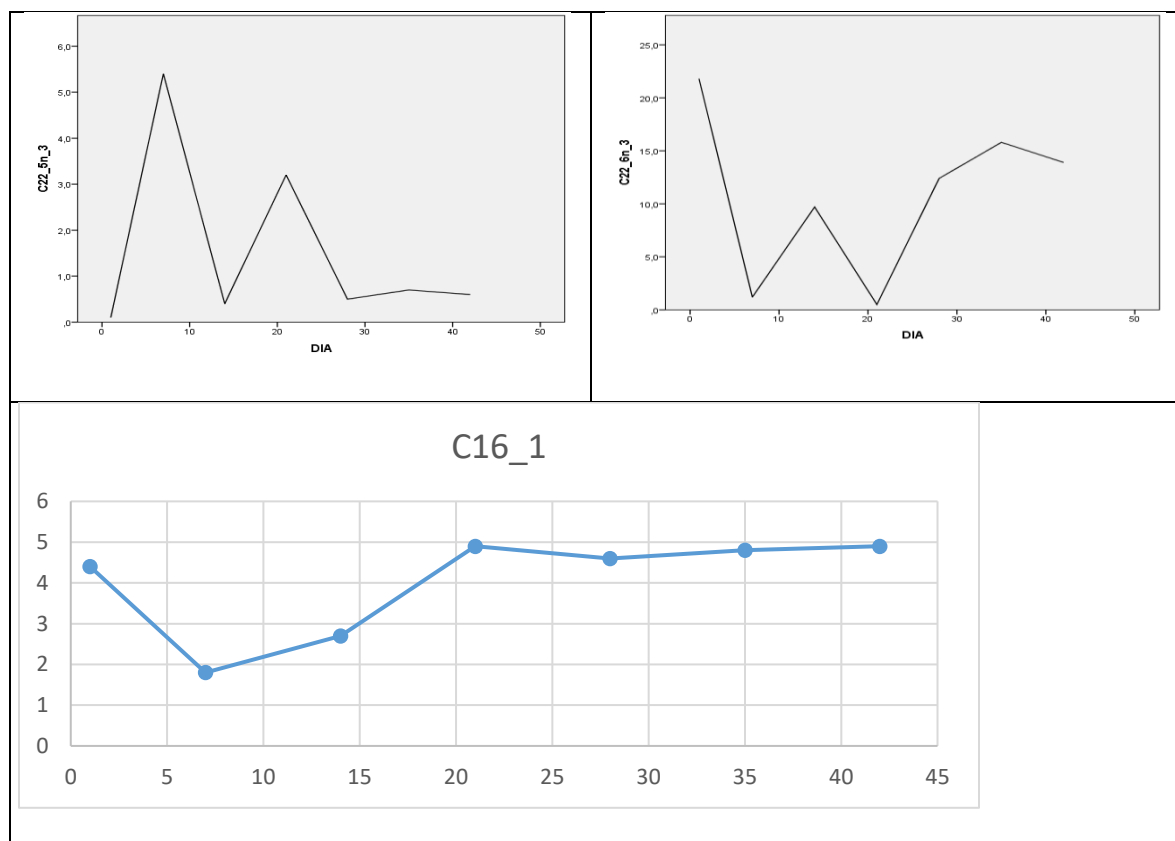


Figura 2. Histograma del contenido de ácidos grasos en todo el desarrollo embrionario – larvario.

El comportamiento de los ácidos grasos agrupados de acuerdo su estructura molecular en toda la etapa de incubación y parte de larvicultura es descrito en la (Figura 3).

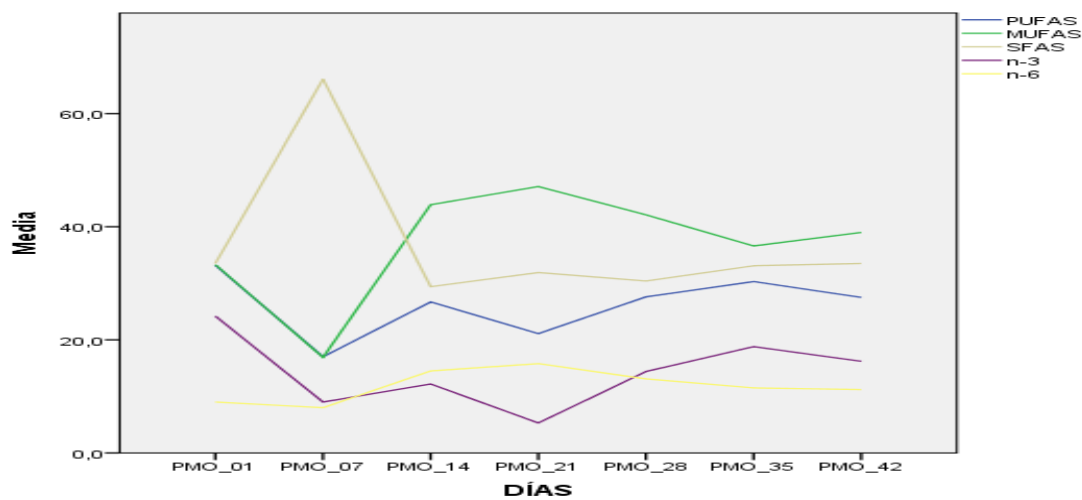
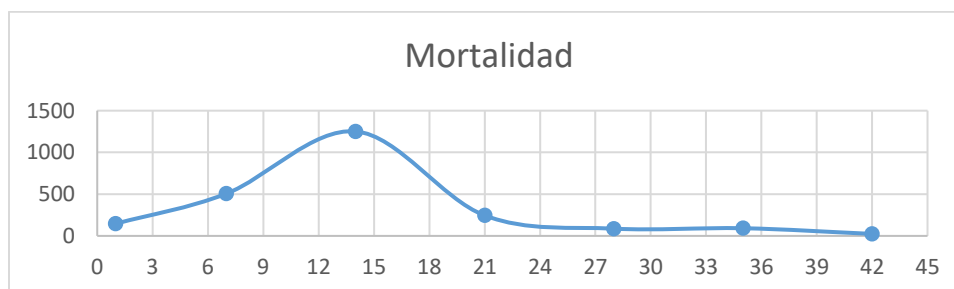


Figura 3. Comparación del comportamiento los diferentes grupos de ácidos grasos con el tiempo de incubación y larvicultura

Finalmente, en la Figura (4), se representa el comportamiento de la mortalidad en la etapa del desarrollo embrionario-larvario.



*Figura 4.* Mortalidad de las ovas en toda la etapa de incubación y larvicultura.

### 3.4. Discusión

Del material experimental se obtuvo un total de 5132 ovas, con un diámetro promedio de 4,84 milímetros y una fertilización promedio de 76,3%. Comparado a los resultados obtenidos por (Rosado, 2011), el cual encuentra ovas con un diámetro promedio de 5,001 mm y un porcentaje de fertilización promedio fue 78,89%, estos datos no difieren y demuestran que los reproductores seleccionados presentan parámetros similares como se describen en la Tabla (7). En cuanto a la mortalidad inicial, difiere con la encontrada en el presente estudio, lo cual demuestra gran relación a factores de manejo, como golpes debido a la manipulación y el traslado de las ovas o diferencias ambientales, como calidad del agua, cambios térmicos bruscos, turbidez que pueden tapar los poros de la membrana y dificultan la capacidad del embrión de recibir oxígeno como lo afirma Blanco (1995).

Para los análisis nutricionales en proteína, energía y lípidos, en el transporte las muestras se mantuvieron en nevera de polietileno con hielo para controlar una temperatura de refrigeración que no superó los 4°C y se trasladaron inmediatamente (< 6 horas.). Una vez en el laboratorio las muestras fueron deshidratadas y se conservaron para sus respectivos análisis; al reducir la

temperatura se controló alguna variación por movimientos metabólicos. A temperaturas inferiores a 4 °C en la etapa de incubación el metabolismo de las ovas es lento como lo demuestra Hayes (1949), Gabillard, Rescan, Fauconneau, Weil & Le Bail (2003) y Fondo Nacional de desarrollo pesquero [FONDEPES] (2014).

Al realizar análisis de estadística descriptiva Anexo (6), en el caso de la proteína se encontró una media de 7,2682%, con un intervalo de confianza del 95%, varianza del 0,197. De esta forma, se demuestra que los datos en toda la etapa de incubación no tuvieron cambios significativos; además, la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk Anexo (7) arrojó un valor de 0,148.

En cuanto al contenido de proteína, este presentó en promedio 70,98%, los cuales se encuentra dentro de los rangos encontrados por Craik & Harvey (1984) y Vetter, Hodson & Arnold (1983) aproximados de 75% del contenido proteico, como lo reportó (Rosado, 2011) de 69,71% en promedio y por Mazorra et al. (2003) del 70,1%. Ver Tabla 10.

En cambio, se encontraron en los lípidos lo descrito en el Anexo (6) donde la media obtenida fue del 1.22%, varianza del 0.003, variación estándar del 0,05174 y la normalidad con Shapiro-Wilk de 0,134 Anexo (8). Comparando los resultados de lípidos y proteína, se encontró que el comportamiento de los lípidos fue más estable que el de las proteínas, indicando que estas últimas son las que se consumen en los primeros momentos de desarrollo y juegan un papel predominante al inicio de la etapa de incubación. Rangos reportados por los trabajos de Henderson & Tocher (1987) y Patiño & Sullivan (2002) difieren a los encontrados en este trabajo, pues ellos reportan un contenido de lípidos del 20% mientras que en promedio se encontraron 11,91% de lípidos. Resultados similares obtuvo Mazorra et al. (2003) con concentraciones del 16,4%.

De esta manera se evidenció que las concentraciones bajas del contenido lipídico en las ovas, fueron consecuencia directa de la calidad de las hembras reproductoras, ya que posiblemente depositaron baja concentración de lípidos en el proceso de ovogénesis (Morehead et al. 2001).

De igual forma, Kjörsvik et al. (1990) y Wiegand (1996) especifican que la composición lipídica está determinada por varios factores como la dieta y el proceso de vitelogenénesis, donde el hígado de la hembra incorpora los lípidos y los almacena directamente en la ova por medio de la vitelogenina (Íbrahim et al. 2004).

En este mismo sentido el gasto energético es mayor, la desviación estándar de 2,0049 demuestra que el uso energético para el movimiento de nutrientes es indispensable en esta etapa de desarrollo embrionario-larvario Anexo (6). En la etapa de incubación, se inicia con un aumento de la actividad metabólica en el embrión, correlacionándose con divisiones celulares, diferenciación celular, organogénesis y demanda de energía que proviene de procesos catabólico (Srivastava & Brown, 1992).

Referente a los histogramas, se observa que los datos para proteínas y lípidos se encuentran dentro de los parámetros de normalidad Anexo (7); no obstante, con el histograma (Diagrama de cajas y bigotes), es evidente que el contenido proteico muestra tres datos atípicos en los días 1, 7 y 14, los cuales demuestran que la proteína en los días críticos del proceso de incubación es afectada comparándolos con el aumento de la mortalidad (Figura 4).

En cuanto al movimiento del contenido nutricional en la línea de tiempo Figura (1), se presentan datos discutibles para su análisis. En el caso de la proteína, se observa un progresivo aumento que alcanza su nivel más alto en la etapa de eclosión, inmediatamente inicia un gasto fuerte de la proteína donde la absorción del saco vitelino de la larva se encuentra reducida e inicia el consumo de alimento exógeno. Esto demuestra como posible vía un proceso de desdoblamiento

de la proteína para obtener aminoácidos que son catabolizados para la producción de energía o para la construcción de nuevos tejidos, por tanto, se realiza una máxima disminución de los aminoácidos antes de la eclosión (Srivastava & Brown, 1992). Estos resultados concuerdan con los presentados aquí, pues antes de la eclosión se presenta una disminución en la concentración de las proteínas. Lo reportado por Ronnestad & Fyhn (1993) demuestra que las proteínas también son consumidas durante el proceso de reabsorción del saco vitelino, de esta manera argumenta la necesidad que tiene la larva para consumir alimento exógeno rico en aminoácidos libres.

No obstante, en el comportamiento lipídico (Figura 1), se demuestra varias fluctuaciones críticas, es el caso en el día 7 donde se presenta un pico en la concentración. Es esta etapa, donde se forma un blastodermo y el embrión (Blanco, 1995). Además, se encuentra  $\frac{1}{2}$  de epibola y aparecen 5 somitas o estructuras segmentadas que se forman a los lados del túbulo neural (Valotaire & Borel, 2017). En los siguientes días (14, 21 y 28), se demuestra un considerable descenso o gasto de los lípidos, según Blanco (1995), en el día 13 se aprecia lóbulo óptico, cápsula óptica y futura aleta pectoral, además, el corazón late, en el día 14 se determina la formación de notocorda, miomero y ano. Coma también se aprecian entre 59 a 64 somitas y la cola es individualizada (Valotaire & Borel, 2017); en esta misma fase, complementa Saito (1950), afirmando que aparece la placa neural e inicia el desarrollo de los órganos auditivo y óptico, es decir, que en esta etapa de desarrollo embrionario donde se realiza la formación del sistema neural, se puede correlacionar con el descenso del contenido lipídico, demostrando el uso significativo de este componente. Por otro lado, al entender que en esta etapa, los resultados de mortalidad son los más altos en todo el proceso de incubación, implica que es un momento

crítico, la cual podría indicar correlación entre disminución de las grasas y aumento de la mortalidad.

Continuando con el día 18, aparece el hemisferio cerebral, lóbulo óptico, cerebro posterior, futuro cerebelo, futuro cuarto ventrículo (Blanco, 1995). El día 21 se observa formación de la vesícula urinaria, aleta dorsal y anal, y aparece pigmento biliar (Valotaire & Borel, 2017). Ya en el día 26 existe evidente formación de la aleta dorsal, aleta adiposa, aleta ventral, ano, aleta anal, plegamiento aleta anal (Blanco, 1995); continuando con el día 27, se observa ya de manera conspicua, la aleta dorsal, aleta caudal, aleta pélvica y pigmentación en la región cefálica (Valotaire & Borel, 2017). Todo esto demuestra, que inicia la formación del sistema nervioso el gasto lipídico es evidente. Al continuar a la etapa de eclosión, se evidencia un aumento de la concentración de lípidos, el cual es gastado inmediatamente hasta que la larva reduce su saco vitelino e inicia el consumo de alimento exógeno.

En otros estudios como los de Cowey et al. (1985) indican que se evidencia una reducción de los niveles lipídicos en el momento de ova embrionada hasta el momento de eclosión, no obstante, se encuentran diferencias significativas en cuanto a la concentración de lípidos una vez eclosiona la larva, no obstante, las tendencias son semejantes ya que se evidencia un descenso de la concentración de lípidos.

Los resultados encontrados difieren en el momento de eclosión, debido a que se observa aumento en la concentración de lípidos; no obstante, inmediatamente después de la eclosión del día 35 al día 42 se observa que el gasto de lípidos es fuerte como lo describe Hayes (1949) el cual asevera que la grasa después de eclosión tiene un consumo alrededor del 75%. En cuanto a la energía presentó un gasto mucho más uniforme, donde el día 7 y 28 son los momentos donde se evidencia un fuerte consumo energético; es evidente que el día 7 se determina un aumento de la

concentración lipídica, pero en el día 28 donde se encuentra el otro momento de consumo energético marcado, se evidencia un descenso en la concentración del contenido lipídico; no se debe tener en cuenta el día 35 ya que en ese día no se realizaron análisis en el laboratorio (Figura 1).

En cuanto a los análisis de ácidos grasos las muestras fueron almacenadas y transportadas en un termo con nitrógeno líquido a temperaturas inferiores a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  y enviadas al laboratorio de la Universidad Nacional, donde analizan el material para determinar el contenido de ácidos grasos. Los resultados demuestran un comportamiento fluctuante de todos los ácidos grasos en la etapa de incubación y alevinos hasta el consumo de alimento exógeno, descrito por Halüloúlu et al. (2003), Cowey et al. (2003) y Li et al. (2005).

El comportamiento de los ácidos grasos se observa en la (Figura 2), en donde se evidencia cierto patrón en los contenidos de ácidos grasos, como el ácido mirístico (C14:0), ácido esteárico (C18:0), ácido vaccénico (C18:1n-7), ácido palmítico (C16:0), ácido eicosapentaenoico (EPA) (C20:5n-3) y ácido docosapentaenoico (DPA) (C22:5n-3) los cuales aumentaron su concentración en el día 7 e inician una reducción al día 14. El comportamiento del ácido  $\alpha$ -Linolénico (ALA) (C18:3n-3) presentó un pico entre los días 7 y 14, con un descenso en el día 21. De igual manera, en el día 7 la mortalidad fue la más alta reportada, indicando que el día 7 es el momento más crítico en toda la etapa de incubación; además, las concentraciones de proteína y lípidos también aumentaron. Los ácidos grasos que tuvieron un comportamiento opuesto a los descritos anteriormente en el día 7 de incubación son ácido eláidico (C18:1n\_9), ácido linoléico (C18:2n\_6c), ácido docosahexaenoico (DHA) (C22\_6n\_3) y ácido palmitoleico (C16\_1).

En cuanto al contenido de ácidos grasos Tabla (11), se evidencia un comportamiento dentro de los parámetros encontrados por Wiegand (1996); Yanes-Roca et al. (2009); Salze et al. (2005);

Mazorra et al. (2003); Li et al. (2005); Cowey et al. (1985); Haliloulu et al. (2003) y Rosado (2011). Agrupando los ácidos grasos por su forma estructural, en cuanto a PUFAS, MUFAS, SFAS, n-3 y n-6; al relacionarlas con todo el proceso de desarrollo larvario como lo demuestra la Figura (3), se puede identificar que existe un aumento de retención de SFAS y un gasto en el día 7. Opuesto a esto, las MUFAS, PUFAS como también los ácidos grasos de los grupos omega-3 y omega-6 realizan un aumento. Es de resaltar que las MUFAS se encuentran con la mayor concentración después del día 7.

Las concentraciones descritas en la Tabla 11, muestran que los SFA en todo el desarrollo embrionario-larvario fueron similares a las encontradas por Yanes-Roca et al. (2009), no así las reportadas por Haliloulu et al. (2003); Mazorra et al. (2003); Salze, et al. (2005) y Wiegand, (1996) las cuales obtuvieron las concentraciones más bajas. En cuanto a las PUFAS los valores se encuentran dentro de los rangos encontrados, pero son más bajos a los encontrados por Rosado (2011); Haliloulu et al. (2003) y Salze et al. (2005), pero se encuentra dentro de los parámetros reportados por los trabajos de Mazorra et al. (2003) y Yanes-Roca et al. (2009). En cuanto a las MUFAS son las que se encuentran con mayor concentración comparadas a los otros grupos de ácidos grasos y los valores se encuentran dentro de los patrones reportados por Yanes-Roca et al. (2009) y Mazorra et al. (2003), aunque difieren de lo reportado por Salze et al. (2005) y Rosado (2011), que reportan concentraciones más elevadas.

Las comparaciones en cuanto a los ácidos grasos n-3 (Tabla 11), evidenciaron que el contenido se encuentra dentro de los rangos descritos por Haliloulu et al. (2003); Cowey et al. (1985); Li et al. (2005); Mazorra et al. (2003); Yanes-Roca et al. (2009) y Wiegand, (1996). Los ácidos grasos n-6 son menores a los reportados por Rosado (2011); No obstante, son afines a los parámetros

encontrados por Wiegand, (1996); Yanes-Roca et al. (2009) y Li et al. (2005) y superiores a los reportados por Mazorra et al. (2003) y Cowey et al. (1985).

Referente a los PUFAS (Tabla 11), estos presentaron una alta actividad en todo el desarrollo embrionario y larvario. Se ha determinado que los PUFAs son los ácidos grasos más importantes, particularmente los de la serie n-3, están involucrados en los procesos de desarrollo del sistema nervioso (Valdebenito et al. 2007) y son precursores de prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos (Migaud et al. 2013; Valdebenito et al. 2007). Recientemente se ha identificado la gran importancia en las funciones de desarrollo y salud larval (Migaud et al. 2013). PUFAs series n-3 y n-6 mejoran la fecundidad, la calidad del huevo, el porcentaje de eclosión, la supervivencia y la disminución en la incidencia de las deformidades fenotípicas, (Bell & Sargent, 2003; Lund et al. 2008).

Las deficiencias de ácidos grasos (PUFAs) series n-3 en el contenido de dietas para los reproductores de trucha arco iris, son un factor limitante para el levante exitoso de larvas (Morehead et al. 2001), debido a que disminuye el número, tamaño del huevo y eclosión e incrementa la mortalidad del embrión y larvas no viables (Li, Chen, Sun, Chen & Wu, 2005; Migaud et al. 2013; Vassallo-Agius et al. 2001; Wiegand, 1996; Zengin & Akpınar, 2006). Es de resaltar que los peces de agua dulce tienen la capacidad de convertir PUFAs en ácidos grasos altamente insaturados (HUFAs) (Morehead et al. 2001), además, peces que habitan en aguas frías tienen un mayor contenido de PUFAs (Henderson & Tocher, 1987).

Las comparaciones de los autores citados con relación a los resultados obtenidos, confirman que las diferencias encontradas podrían ser debidas a que la calidad del huevo se encuentra determinado individualmente por la hembra, su régimen de alimentación y las condiciones de sobremaduración (Lahnsteiner et al. 1999), pero también por factores ambientales y de manejo

críticos en la viabilidad de la ova, como los golpes o en calidad del agua, los cambios térmicos bruscos, también la turbidez, debido a que pueden tapar los poros de las membranas, obstruyendo la capacidad del embrión de recibir oxígeno disuelto (Blanco, 1995). En este mismo sentido, en la parte experimental, por razones ambientales el día 14 sucedieron problemas de sedimentación en el agua y se procedió a realizar limpiezas continuas, lo cual sin duda pudo repercutir en la mortalidad de las ovas como se observa en la (Figura 4).

El ácido graso C18:0, resulta importante debido a su posible función, Halüloúlu (2003) asevera que es almacenado para luego utilizarlo durante el desarrollo. Este patrón de comportamiento es similar a lo encontrado en este estudio como lo demuestra la Figura 2. Según Halüloúlu (2003), el propósito del ácido graso C16:0 es su función energética, el cual es utilizado desde el día 7 al 14 y nuevamente utilizado en los días de eclosión, después es almacenado (Figura 3). El ácido graso C20:5n-3 EPA es de gran importancia debido a sus concentraciones altas, también hacen parte de los ácidos grasos esenciales (EFA) (Cowey et al. 2003; Mazorra et al. 2003; Salze et al. 2005) y están encargados para el mantenimiento y fluidez de la membrana (Cowey et al. 2003), pero también involucrado en los procesos de eclosión y reducción de deformaciones fenotípicas en larvas (Salze et al. 2005). Pese a que según los autores indican el alto grado de contenido, los valores encontrados demuestran niveles bajos, no obstante, sus concentraciones elevadas están en los momentos de desarrollo embrionario y eclosión (Tabla 11). Con el ácido graso C18:3n-3 ALA es el principal ácido graso esencial (EFA) (Cowey et al. 2003; Li et al. 2005) y es el mayor contenido sostenido de los ácidos grasos en toda la etapa de desarrollo embrionario-larvario.

Los ácidos grasos más abundantes entre los ácidos grasos saturados según estudios por Zengin & Akpınar (2006) son las cadenas de carbono 14:0 (ácido mirístico), 16:0 (ácido palmítico) y 18:0 (ácido esteárico) durante la embriogénesis y el desarrollo larvario de trucha arco iris, comparado

con lo descrito en la Tabla 11, los cuales son los tres únicos ácidos grasos reportados en el trabajo según el análisis del laboratorio. En este mismo sentido la mayor concentración encontrada en todo el desarrollo embrionario-larvario es el ácido graso 16:0 igual a lo reportado por Ibrahim et al. (2004) el cual afirma su gran importancia en estudiarlo.

La función del ácido palmítico (16:0) y el ácido esteárico (18:0) tiene gran importancia en el tejido neural, como lo indica Wiegand (1996) y adiciona que es debido a que encontró, en el tejido concentraciones de fosfatidil etanolamina (PE), conformado por ácido esteárico y ácido palmítico y concluye que los ácidos grasos saturados (SFAS) en especial 16:0 y 18:0 se encuentran en una gran variedad de embriones de peces los cuales retienen estos dos compuestos y juegan un papel importante en la estructura celular.

Los ácidos grasos con mayor interés son los ácidos grasos esenciales (EFA), ya que se ha demostrado su importante papel en la formación de las membranas en el desarrollo larval (Sargent et al. 2002 citado en Migaud et al. 2013); por tanto, son definitivos para determinar parámetros de calidad (Lund et al. 2008). Particularmente el docosahexaenóico (22:6n-3) y el eicosapentaenoico (20:5n-3) (Mazorra, 2003; Migaud et al. 2013), debido al papel que desempeñan a nivel de membrana celular, especialmente en el cerebro y funciones de la retina (Migaud et al. 2013).

En trucha arco iris, los EFAs son determinantes en el efecto del rendimiento del desove y la calidad de los huevos (Watanabe et al. 1984 citado en Vasallo-Aguius et al. 2001), en especial EPA, DHA, parecen tener efectos directos sobre la fecundidad, la calidad del huevo, la tasa de eclosión, malformaciones y pigmentación en peces marinos (Salze, 2005). Según Migaud et al. (2013) DHA mejora la resistencia al estrés en las larvas y alevinos, además existe una alta concentración post-eclosión (Furita et al. 2003) como también se aprecia en la Figura 3. Por

tanto, el DHA (22:6 serie n-3) y los fosfogliceridos, generan un gran interés debido a que son indispensables para el desarrollo neural (retina, tejidos olfatorios y otras células excitables) (Halüloúlu et al. 2003; Wiegand, 1996; Yanes-Roca et al. 2009; Zengin & Akpinar, 2006) y en general en toda la ontogénesis (Furuita et al. 2003).

### **3.5. Conclusiones**

Al relacionar los datos obtenidos en los análisis morfométricos, y el contenido nutricional con reportes de otros autores, se evidenciaron diferencias, los cuales están determinadas por factores ambientales como el fotoperiodo y temperatura, ya que los trabajos se han realizado en lugares donde se tienen cambios de temperatura e intensidad lumínica diferente a los colombianos. Por otro lado, el tipo de manejo como la alimentación de los reproductores ya que en este trabajo es utilizado concentrado de la etapa de finalización, la cual no aporta los nutrientes necesarios para que la hembra los incorpore en los huevos, de igual forma la frecuencia de raciones que se suministra el alimento; por otro lado, al determinar la maduración de la ova es realizado por observación, donde el criterio subjetivo puede variar significativamente la calidad del huevo. Las diferencias presentadas en la mortalidad inicial, pudieron ser debidas a problemas inherentes de manejo y/o condiciones ambientales, los cuales probablemente obstruyen los poros de las ovas y dificultan la capacidad del embrión de recibir oxígeno.

Los diferentes tratamientos de las dietas de los reproductores alteran el contenido nutricional de los huevos debido a la VT en los procesos de vitelogénesis; por tanto, el contenido lipídico y de ácidos grasos en el inicio de los procesos de clivaje, varió al compararlo con diferentes autores, lo cual demostró que las características nutricionales del huevo están dadas por factores de dieta. Las fluctuaciones encontradas de los lípidos y los ácidos grasos en diferentes momentos del desarrollo embrionario-larvario, demuestra que son componentes que juegan un papel

importante; por tanto, es necesaria la ejecución de futuras investigaciones, realizando correlaciones en cada estado de incubación y corroborar si son factores determinantes en calidad de ova.

Finalmente, y como recomendaciones para futuros estudios similares, se deben realizar correlaciones entre el contenido de los ácidos grasos esenciales y los ácidos grasos saturados con los demás factores, pues los primeros juegan un papel principal en el desarrollo del sistema nervioso del embrión y los segundos se encuentran en gran concentración en todo el desarrollo embrionario-larvario sobre todo el ácido graso 16:0. De igual forma, es prudente realizar nuevos estudios del contenido nutricional y los ácidos grasos en las etapas críticas (ova embrionada y eclosión), dado que la tasa de mortalidad aumenta, y se reporta cambios pronunciados de las concentraciones del contenido nutricional y los ácidos grasos.

### **3.6. Referencias**

- Aegerter S. y Jalabert B. (2004). Effects of post-ovulatory oocyte ageing and temperature on egg quality and on the occurrence of triploid fry in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 23, 59–71.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists (1990). Official Methods of Analysis 15th ed, AOAC ISSN, 0066-961 X, Arlington, Virginia. Recuperado de <https://law.resource.org/pub/us/cfr/ibr/002/aoac.methods.1.1990.pdf>.
- Beltran P. A. y Guerrero A. Y. (2018). *Elaboración de Manual y Procedimientos de la Bomba Calorimétrica Parr 6300 de la Universidad de La Salle para la Determinación del Poder Calorífico de Muestras Sólidas de Interés Ambiental* (Tesis de pregrado). Universidad de La Salle, Bogotá

Parr Instrument Company. (s.f.) PARR PELLET PRESS. Illinois 61265. Bulletin 2811 500 0715.

Recuperado del 2018.

Universidad de La Salle. (2018).

Betancourt L., Aguilar X., & Ríos J. (2005). Effect of ensiled trout (*Oncorhynchus mykiss*) intestines on productive traits of broiler chickens and the content of omega-3 fatty acids in liver, thighs and breast. *Livestock Research for Rural Development*; 17(9):106.

Recuperado de <http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd17/9/beta17106.htm>.

Blanco, MC. (1995). *La Trucha Cría Industrial (Segunda edición)*, Ediciones Mundi—Prensa, España.

Cowey C.B., Bell J.G., Knox D., Fraser A. & Youngson A. (1985). Lipids and Lipid Antioxidant Systems in Developing Eggs of Salmon (*Salmo salar*). *Lipids*. 20, 9.

Craik J.C.A. y Harvey S.M. (1984). Egg quality in rainbow trout: the relation between egg viability, selected aspects of egg composition, and time of stripping. *Aquaculture*, 40, 115-134.

Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero (2014). *Manual de Crianza de trucha en ambientes convencionales*, Lima, Perú, Recuperado de

[https://www.fondepes.gob.pe/src/manuales/MANUAL\\_TRUCHA.pdf](https://www.fondepes.gob.pe/src/manuales/MANUAL_TRUCHA.pdf).

Gabillard J., Rescan P., Fauconneau B., Weil C. & Le Bail P. (2003). Effect of Temperature on Gene Expression of the Gh/Igf System During Embryonic Development in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal Of Experimental Zoology*. Vol. 298A, 134–142.

Halüloúlu H., Aras N., Yanik T., Atamanalp M. & Kocaman E. (2003). Investigation of Changes in Fatty Acid Compositions at Early Development Stages of rainbow trout

- (*Oncorhynchus mykiss*). Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences, 27(5), 1105-1109.
- Hayes F. R. (1949). The Growth, General Chemistry, and Temperature Relations of Salmonid Eggs. The Quarterly Review of Biology, 24, 281-308.
- Henderson R. y Tocher D. (1987). The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Progress in Lipid Research*, 26(4), 281-347.
- İbrahim Haliloğlu, H., Bayır, A., Necdet Sirkecioğlu, A., Mevlüt Aras & Atamanalp, M. (2004). Comparison of fatty acid composition in some tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) living in seawater and freshwater. *Food Chemistry*, 86(1), 55-59.
- Kjörsvik E., Mangor-Jensen A. & Homefjord I. (1990). Egg quality in fishes. *Advances in Marine Biology*, 26, 71–113.
- Lahnsteiner F., Weismann T. & Patzner R. (1999). Physiological and biochemical parameters for egg quality determination in lake trout, *Salmo trutta lacustris*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 20, 375–388.
- Li Y., Chen W., Sun Z., Chen J. & Wu K. (2005). Effects of n-3 HUFA content in broodstock diet on spawning performance and fatty acid composition of eggs and larvae in (*Plectorhynchus cinctus*). *Aquaculture*, 245(1), 263-272.
- Lund I., Steinfeldt S.J., Suhr K.I. & Hansen B.W. (2008). A comparison of fatty acid composition and quality aspects of eggs and larvae from cultured and wild broodstock of common sole (*Solea solea L.*). *Aquaculture Nutrition*, 14(6), 544-555.
- Mazorra C., Bruce M., Bell J. G., Davie A., Alorend E., Jordan N. & Bromage N. (2003). Dietary lipid enhancement of broodstock reproductive performance and egg and larval quality in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture*, 227(1), 21-33.

- Morehead D.T., Hart P.R., Dunstan G.A., Brown M. & Pankhurst N.W. (2001). Differences in egg quality between wild striped trumpeter *Latris lineata*, and captive striped trumpeter that were fed different diets. *Aquaculture*, 192, 39 – 53.
- Patiño R. y Sullivan C. (2002). Ovarian follicle growth, maturation, and ovulation in teleost fish. *Fish Physiology and Biochemistry*, 26, 57–70.
- Ronnestad I. y Fyhn H. (1993). Metabolic aspects of free amino acids in developing marine fish eggs and larvae. *Reviews in Fisheries Science*, 1(3), 239-259.
- Rosado R. (2011). Relación entre parámetros físicos y de composición de la ova con la eficiencia en fases de incubación y larvicultura en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). Tesis de Maestría en Producción Animal. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 16-105.
- Saito S. (1950). The Embryological Study of Fishes I. General observation on the early development of the dog-salmon, *Oncorhynchus keta* WALBAUM. *Hokkaido University*, 1-33.
- Salze G., Tocher D., Roy W. & Robertson D. (2005). Egg quality determinants in cod (*Gadus morhua* L.): egg performance and lipids in eggs from farmed and wild broodstock. *Aquaculture Research*, 36(15), 1488-1499.
- Srivastava R. y Brown J. (1992). Assessment of egg quality in atlantic salmon, *Salmo salar*, treated with testosterone-ii. Amino acids. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A- Physiology*, 103 (2), 397-402.
- Valotaire C., y Borel, F. (2017). Table du développement embryonnaire de la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) à 10°C en potos, Le Cahier des Techniques de l'INRA. 90, 1-6.

- Vassallo A., Watanabe T., Yoshizaki G., Satoh S. & Taekeuchi Y. (2001). Quality of eggs and spermatozoa of rainbow trout fed an n-3 essential fatty acid-deficient diet and its effects on the lipid and fatty acid components of eggs, semen and livers. *Fisheries Science*. 67(5), 818-827.
- Vetter R., Hodson R. & Arnold C. (1983). Energy metabolism in a rapidly developing marine fish egg, the red drum (*Sciaenops ocellata*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 40(5), 627-634.
- Wiegand M. (1996). Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleost fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 6, 259-286.
- Yanes R., Rhody N., Nystrom M. & Main K. (2009). Effects of fatty acid composition and spawning season patterns on egg quality and larval survival in common snook (*Centropomus undecimalis*). *Aquaculture*, 287(3), 335-340.
- Zengin H. y Akpınar M.A. (2006). Fatty acid composition of *Oncorhynchus mykiss* during embryogenesis and other developmental stages. *Journal of Biologia Bratislava*, 61(3), 305-312.

#### 4. Anexos

##### Anexo 1. Índices de eficiencia

IE OVEM: Corresponde al índice de eficiencia en la fase de ova verde a ova embrionada y mide la supervivencia desde el momento de la fertilización (sin considerar la mortalidad inicial – M1) hasta que ocurre el embrionamiento. Se calculó como: Cantidad de ovas embrionadas/Cantidad ovas fertilizadas.

IE OEEC: Se refiere al índice de eficiencia desde el momento del embrionamiento hasta la eclosión larvaria. Se estimó como: Número larvas eclosionadas/Cantidad ovas embrionadas.

IEI: Se define como el índice de eficiencia en incubación y, básicamente, conjuga los dos anteriores para disponer de un estimativo de la supervivencia en todo el proceso de incubación. Corresponde por tanto a la proporción: Número larvas eclosionadas/Cantidad ovas fertilizadas.

IE LARV: mide el resultado parcial que se da durante la etapa de reabsorción de vesícula, es decir, desde que finaliza la eclosión hasta que las larvas aceptan alimentación exógena. Se estimó con la relación: Número de larvas comiendo/Número de larvas eclosionadas.

IE TOT: se trata del indicador de eficiencia que considera la totalidad del proceso de producción, contemplando la etapa completa desde la fertilización hasta que se tiene finalizada la reabsorción de vesícula; se calculó como: Número de alevinos comiendo/Cantidad de ovas fertilizadas.

##### Anexo 2. Metodología para determinar el contenido de Proteína cruda por el Método de Kjeldahl (AOAC, 1990).

Se introdujo 1 g de muestra a un tubo de mineralización y se colocaron 3 g de catalizador que suele estar constituido por una mezcla de sales de cobre, óxido de titanio o/y óxido de selenio. De forma habitual se utiliza como catalizador una mezcla de  $K_2SO_4$ : $CuSO_4$ . Se (10:1:0,1 en peso). Después se adicionan 10 ml de  $H_2SO_4$  concentrado y 5 ml de  $H_2O_2$ . Posteriormente se

dirigió a 420 °C durante un tiempo que depende de la cantidad y tipo de muestra. Se sabe que la digestión ha terminado porque la disolución adquiere un color verde esmeralda característico. Se continuó con la digestión donde se enfrió y se adicionó al tubo de digestión 50 ml de agua destilada, se puso en el soporte del destilador y se adicionó una cantidad suficiente de hidróxido sódico 10 N, en cantidad suficiente (50 ml aprox.) para alcalinizar fuertemente el medio y así desplazar el amoniaco de las sales amónicas. El amoniaco liberado es arrastrado por el vapor de agua inyectado en el contenido del tubo durante la destilación, y se recogió sobre una disolución de ácido bórico (al 4 % p/v). La cuantificación del nitrógeno amoniacal se realizó por medio de una volumetría acido-base del ion borato formato, empleando ácido clorhídrico y como indicador una disolución alcohólica de una mezcla de rojo de metilo y azul de metileno, se finalizó realizando los cálculos.

Anexo 3. Metodología para determinar el contenido de Lípidos por el método de Goldfish (AOAC, 1990).

Se pesó el vaso vacío de precipitado, luego se colocó 2 g de muestra en un papel filtro y dejó en un vaso Goldfish a peso constante. Este recipiente se insertó en una pinza de resorte que lo sostuvo en el condensador y lo alineó para un mejor flujo del condensado. Se colocó el solvente 40 ml de éter etílico en el vaso de precipitado. El vaso de precipitado tenía una tapadera con bordes redondeados y rectificadas que lo engranó en el condensador con un anillo de cierre y un empaque, luego procedimos a aplicar calor por 2 horas, cuando la extracción se completó, el recipiente de la muestra se retiró y se reemplazó con un tubo de recuperación dejando aceite en el vaso de precipitado, con un sostén especial de soporte sostuvo el vaso de precipitado a un ligero ángulo sobre el calentador para secar el extracto. Cuando solo quedaban pocos milímetros

del solvente, el vaso de precipitado se colocó en una estufa. El vaso precipitado se pesó y se comparó con el peso del vaso vacío de precipitado, se procedieron a realizar cálculos.

Anexo 4. Metodología para determinar la densidad calórica utilizando Bomba Calorimétrica el equipo Parr 6300 (Beltran P. A. y Guerrero A. Y., 2018).

Utilizando el equipo Parr 6300, se encendió el tanque de recirculación de agua y se adicionaron 2 L de agua destilada caliente, Se pesaron muestras de 1 g. La muestra en forma de harina se colocó en un crisol y se utilizó el algodón que toque el alambre de ignición y la muestra, introdujimos el cabezal a la bomba calorimétrica, se tapó y se programó el equipo, que inició la etapa de análisis, la cual demoró 15 minutos. Al finalizar se procedió a leer los datos que el equipo imprimió.

Anexo 5. Metodología para el Análisis de Ácidos Grasos.

Se utiliza cromatografía de gases acoplada a detector de masas empleando un patrón grado USP de FAMES, la metodología realizada para obtener como resultado los ácidos grasos donde: Se tomaron 4 g de tejido liofilizado, se homogenizaron con 40 ml de una solución cloroformo:metanol 2:1 (Folch et al. 1957). El homogenizado se filtró y se colectaron 20 ml de filtrado a los cuales se agregó 5ml de agua destilada. Esta mezcla se centrifugó a 3000 rpm durante 20 minutos. Se eliminó el sobrenadante, se tomó 1ml de la fase inferior orgánica en un tubo de ensayo previamente pesado y se evaporó el solvente bajo una corriente suave de nitrógeno. Los lípidos secos se resolubilizaron con una solución de cloroformo:metanol 1:1 (1ml por cada 100 mg de lípidos). Una alícuota de 50 $\mu$ l de solución de lípidos fue derivatizada con el reactivo de metil esterificación Meth-Prep II (Alltech Associates Inc., Deerfield, IL, USA) para producir los metil-ésteres de los ácidos grasos.

Los metil-ésteres de los ácidos grasos se analizaron en un cromatógrafo de gases Shimadzu GC-14A equipado con un detector de ionización de llama (260°C). La separación se llevó a cabo con una columna Supelco® Omegawax 320, de 30 m x 0.32 mm x 0.25 µm de grosor de película. La separación se realizó mediante una rampa de temperatura (temperatura inicial de 80°C, 10°C/min hasta 190°C, 20 min a 190°C, 2°C/min hasta 220°C y 10 min 220°C). Se utilizó Helio como gas transportador y la inyección se hizo en modo "split" (relación 1:50). Los metil-esteres de los ácidos grasos se identificaron por comparación con los tiempos de retención de una mezcla estándar de ácidos grasos (Supelco 37 component FAME Mix, Inc., Bellefonte, PA, USA). (Betancourt et al. 2005).

Anexo 6. Descriptivos para proteína, lípidos y energía de las ovas en toda la etapa de incubación y larvicultura.

<i>Proteína</i>		<i>Lípidos</i>		<i>Energía</i>	
Media	7.27	Media	1.22	Media	5.6079235
Error típico	0.17	Error típico	0.02	Error típico	0.14903574
Mediana	7.31	Mediana	1.19	Mediana	5.75947235
Moda	#N/A	Moda	#N/A	Moda	#N/A
Desviación estándar	0.44	Desviación estándar	0.05	Desviación estándar	0.33325406
Varianza de la muestra	0.20	Varianza de la muestra	0.00	Varianza de la muestra	0.11105827
Curtosis	2.76	Curtosis	-0.87	Curtosis	0.94822824
Coefficiente de asimetría	-1.02	Coefficiente de asimetría	1.02	Coefficiente de asimetría	-1.27685224
Rango	1.47	Rango	0.12	Rango	0.8202052
Mínimo	6.41	Mínimo	1.18	Mínimo	5.078368
Máximo	7.88	Máximo	1.30	Máximo	5.8985732
Suma	50.88	Suma	8.55	Suma	28.0396175
Cuenta	7.00	Cuenta	7.00	Cuenta	5
Mayor (1)	7.88	Mayor (1)	1.30	Mayor (1)	5.8985732
Nivel de confianza(95.0%)	0.41	Nivel de confianza(95.0%)	0.04	Nivel de confianza(95.0%)	0.41378956

Anexo 7. Pruebas de Normalidad utilizando el programa SPSS para proteína para las ovas embrionadas y larvicultura.

	Pruebas de normalidad					
	Kolmogorov-Smirnova			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	Gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Proteína	.178	21	.082	.932	21	.148

a. Corrección de significación de Lilliefors

Anexo 8. Pruebas de Normalidad utilizando el programa SPSS para lípidos para las ovas embrionadas y larvicultura.

Pruebas de normalidad						
	Kolmogorov-Smirnova			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	Gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Lípidos	.147	21	.200*	.929	21	.134

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.  
a. Corrección de significación de Lilliefors

Anexo 9. Histograma para proteína y lípidos en la incubación de las ovas y larvicultura de trucha arco iris.

