



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

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)

Rafael Rosado Puccini

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Departamento de Ciencias para la

Producción Animal

Bogotá, Colombia

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)

Rafael Rosado Puccini

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Producción Animal

Director:

Zootecnista, Ph. D. Miguel Ángel Landines Parra

Línea de Investigación:

Fisiología

Grupo de Investigación:

Fisiología de peces

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Departamento de Ciencias para la

Producción Animal

Bogotá, Colombia

2011

DECLARATORIA DE ORIGINALIDAD

Yo certifico, como el autor de esta tesis y como primer autor de las publicaciones resultantes, que fui la persona principalmente involucrada en los procesos de diseño y aplicación del estudio e igualmente en la fase de análisis de resultados y preparación de manuscritos; así mismo expreso que la información derivada de los artículos publicados y no publicados de trabajo de los demás ha sido reconocida en el texto y las referencias aparecen en la bibliografía. Aseguro que la tesis no ha sido presentada a evaluación en otra institución.

RAFAEL ROSADO PUCCINI

Dedicatoria

*A la memoria de mi padre.
A la vida de mi madre.*

Agradecimientos

Al final, un trabajo de este tipo resulta ser producto de la actividad y ánimo de muchas personas que, en una medida u otra, pero siempre en los momentos precisos aportaron trabajo, conocimientos, opiniones y motivación. Así, un solo autor en la portada, resulta ser por lo menos impreciso y, de alguna manera, injusto. Se entiende únicamente porque alguien debe aparecer como responsable de los posibles errores, de los cuales, aclaro, sobre ellos no recae culpa alguna. Es entonces este el único espacio que queda para un reconocimiento de franca gratitud a todos y cada uno.

Desde el inicio mismo de las actividades académicas en la maestría, las directrices y apoyo del director del trabajo, Dr. Miguel Ángel Landines, fueron determinantes y fue evidente su disponibilidad e intención permanentes para dar solución efectiva y oportuna a los problemas que se presentaron. En lo personal y en lo profesional fue un tiempo enriquecedor y no debo menos que reconocer que este documento final es también una consecuencia de su esfuerzo personal.

Varios de mis compañeros de postgrado dispusieron generosamente de parte de su tiempo y su colaboración, tanto en campo como en laboratorio, facilitó la obtención de datos bajo condiciones de horario y clima que algunas veces fueron extremas. A Liliana Rodríguez, Soliris Corredor, Fallon Riaño y Jorge Zambrano, mil gracias. Además de lo anterior, Fredy Armando Aguilar tuvo que aportar paciencia y su participación en el análisis de los datos significa un reconocimiento especial.

En la formulación misma del proyecto, la opinión profesional del Dr. Gonzalo Díaz y, posteriormente, la habilidad práctica de Milena Cepeda permitieron introducir en la investigación el componente fundamental de contenido de ácidos grasos en el material experimental. La adaptación para huevos de peces de las técnicas disponibles en el Laboratorio de Toxicología de la universidad, es un resultado adicional que se les debe a ellos. También en la universidad, la compañía de

Amanda Reyes, tanto desde el Laboratorio de Ictiología como en campo, fue siempre agradable y constructiva.

En el programa de Zootecnia de la Universidad de La Salle, la autorización de los doctores Jos Leconte y Rafael Pareja para adelantar los análisis proximales en el laboratorio de Nutrición Animal fue un aspecto clave en la obtención de registros sobre composición de las ovas. Estando el laboratorio a su cargo, Nidia Rojas asumió como propia esta labor y fueron incondicionales el apoyo y la orientación técnica durante todo el proceso, lo que me genera un particular agradecimiento.

La disponibilidad del lote de reproductores, la libertad y confianza para el manejo en finca y el acceso a los lotes de ovas requeridos para el proyecto, se debe a Nelson Beltrán y Adriana Orduz en Lagos del Siecha, en Guasca. Es un hecho que su permanente interés por mejorar los procesos relacionados con el cultivo de truchas los ubican como un referente dentro de los productores de la región, lo que queda demostrado por su activa colaboración en este trabajo.

Finalmente, ya con todos los elementos a mano, resolver la demora en la materialización del documento definitivo solamente se alcanzó bajo una constante y firme presión motivadora. Esa labor fue asumida por Beatriz.

A todos, un sincero agradecimiento.

Resumen

Para determinar la existencia de relaciones entre parámetros asociados a reproductoras y huevos con la calidad, en términos de viabilidad, de las ovas en trucha arco iris, se adelantó un seguimiento individual sobre 58 puestas, desde la fertilización hasta que finalizó la etapa de reabsorción de vesícula. En cada grupo obtenido se relacionaron las variables de longitud y peso de la hembra, número de huevos, fecundidad relativa, tasa de fertilización, peso ova post hidratación, diámetro, volumen, densidad, mortalidad inicial y, en composición, el perfil de ácidos grasos y los contenidos proteicos y de energía de la ova, con las variables respuesta, en la forma de 5 índices de viabilidad parcial, calculados desde la fertilización hasta las etapas intermedias de embrionamiento, eclosión y alevinos comiendo. Las mejores posibilidades predictivas se obtienen a partir del índice de embrionamiento y no fue posible obtener modelos para la fase de ova verde; la composición de las ovas demostró ser homogénea entre los individuos y, en ese sentido, no constituyó un diferencial para explicar la calidad.

Palabras clave: trucha arco iris, *Oncorhynchus mykiss*, calidad ova

Abstract

To determine the relational existence between linked parameters to females and eggs with quality, in terms of feasibility, about ova in rainbow trout was done an individual tracking on 58 spawning, since fertilization until yolk reabsorption. Variables such as length and weight of the female, number of eggs, relative fecundity, fertilization rate, ova weight post hydration, diameter, volume, density, and initial mortality were related in each group obtained. And, in composition, the fatty acid profile and protein and energy content of the ova were related with those variables, in the form of 5 rates of partial viability, calculated from fertilization to the intermediate embryonic phases, hatching, and fingerlings. The best predictive possibilities were obtained from embryonic phase rate but it was not possible to obtain models for the green ova phase; the composition of the eggs proved to be homogeneous between fishes and, in that sense, there was not a differential to explain the quality.

Key words: rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, egg quality

Contenido

	Pág.
Resumen y Abstract	IX
Lista de figuras	XIII
Lista de tablas	XIV
1. Factores determinantes de la calidad de la ova en trucha arco iris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	1
Resumen	1
1.1 Introducción.....	2
1.2 El concepto de calidad del huevo	3
1.3 Factores intrínsecos	9
1.3.1 Talla de la ova	9
1.3.2 Volumen y densidad	16
1.3.3 Morfología inicial.....	16
1.3.4 Homogeneidad	18
1.3.5 Hidratación postfertilización	19
1.4 Factores asociados a la composición	21
1.4.1 Proteínas	22
1.4.2 Lípidos	23
1.4.3 Otros.....	25
1.5 Factores asociados al manejo	26
1.5.1 Fertilización	26
1.5.2 Sobremaduración	28
1.5.3 Fecundidad.....	32
1.6 Factores asociados a los reproductores	32
1.6.1 Edad y talla.....	32
1.6.2 Nutrición	33
1.7 Bibliografía	34
2. Relación entre parámetros dimensionales y la calidad de la ova en trucha arco iris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	45
Resumen	45
2.1 Introducción.....	46
2.2 Materiales y métodos	47
2.2.1 Localización.....	47
2.2.2 Desove y fertilización	48
2.2.3 Incubación y larvicultura	49
2.2.4 Datos experimentales	50

2.2.5	Análisis estadístico	53
2.3	Resultados.....	53
2.4	Discusión	63
2.5	Conclusiones	67
2.6	Bibliografía.....	67
3.	Caracterización de la composición en ácidos grasos, proteína y energía en ovas fertilizadas de trucha arco iris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) y su relación con indicadores de eficiencia en incubación y larvicultura	71
	Resumen.....	71
3.1	Introducción	72
3.2	Materiales y métodos.....	74
3.2.1	Localización	74
3.2.2	Material experimental	74
3.2.3	Determinación del perfil de ácidos grasos	75
3.2.4	Determinación de proteína y energía.....	76
3.2.5	Seguimiento en incubación y larvicultura.....	76
3.2.6	Análisis de datos	78
3.3	Resultados.....	78
3.4	Discusión	84
3.5	Conclusiones	89
3.6	Bibliografía.....	90
4.	Conclusiones generales y recomendaciones	97

Lista de figuras

Pág.

Figura 2-1: Grafica de dispersión, líneas de tendencia, modelos de regresión y valores de R^2 calculados entre la eficiencia en ova embrionada (IE OVEM) y los índices parciales y totales de desempeño hasta reabsorción de vesícula 63

Lista de tablas

Pág.

Tabla 2-1: Registros morfométricos y de producción general de ovas en cada uno de los ejemplares experimentales	54
Tabla 2-2: Variables de caracterización de las ovas para cada una de las hembras en seguimiento	56
Tabla 2-3: Índices de Eficiencia parciales y totales durante el proceso de incubación y larvicultura, estimados para cada una de las hembras bajo seguimiento	58
Tabla 2-4: Coeficientes de correlación entre índices de eficiencia reproductiva y parámetros dimensionales en ovas.....	61
Tabla 2-5: Estimados de los modelos de regresión calculados para la relación entre IE OVEM y W Ova, Mortalidad 1. En el segundo modelo la variable Mortalidad aparece transformada.....	62
Tabla 3-1: Resumen de los valores reproductivos medios y parámetros dimensionales de las ovas para el conjunto de los lotes en seguimiento.....	78
Tabla 3-2: Composición de Ácidos Grasos (%) en ovas fertilizadas antes de las 24 h (aproximadamente 10 grados día ⁻¹). Cada dato representa la media de 58 observaciones	79
Tabla 3-3: Composición en Proteína Bruta, Energía Bruta y Ácidos Grasos (%) desagregados para las ovas provenientes de cada hembra bajo seguimiento	80
Tabla 3-4: Valores de eficiencia de acuerdo a los índices calculados para las diferentes etapas del proceso de desarrollo embrionario y larval (n = 49)	82

1. Factores determinantes de la calidad de la ova en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*)

Resumen

La calidad del huevo es un determinante actual e integrador dentro de la actividad acuícola y es relativamente reciente, tanto en abordaje experimental como en resultados con aplicabilidad demostrada en especies sobre las que se manifiestan intereses productivos. Los problemas para establecer criterios comunes y de utilidad universal parecen estar asociados a respuestas de carácter especie-específico, lo que dificulta la formulación de factores individuales, conjuntos o aglutinados, que permitan determinar para una especie dada posibilidades reales de predicción temprana. Tales factores son de diversa índole y se refieren a las variables sobre las cuales puede darse una medición efectiva o generar algún tipo de control. El objetivo, de acuerdo a las definiciones actuales sobre el concepto de calidad, accede siempre a la posibilidad de asegurar que el material primario, huevo fertilizado, se traduzca en una larva o alevino viable, lo que configura un escenario de experimentación importante cuando se reconoce que, exactamente en este punto, es donde se tiene dependencia para cualquier opción productiva exitosa, independientemente de la especie de que se trate. Entendido desde una perspectiva integradora, el concepto de calidad conjuga varios elementos que, de ser entendidos y abordados sistemáticamente en términos experimentales, deberán ser parte de los esquemas productivos que significa la producción de semilla, de calidad suficiente y necesaria, en peces.

Palabras clave: peces, truchas, calidad del huevo, composición ova

1.1 Introducción

En piscicultura, la determinación de la calidad del huevo es actualmente reconocida y citada en términos de “factor problema”, particularmente en aquellos programas con objetivos de producción masiva de semilla; en consecuencia, los estudios dirigidos a mejorar la escala de predicción de eficiencia temprana pasan a ser más frecuentes en la literatura científica (Lahnsteiner, 2002), con claros avances en diferentes grupos de interés comercial (Morhead *et al.*, 2001); más recientemente, en especies marinas, se demuestran evidentes desarrollos, tanto en la valoración de diferentes tipos de indicadores de calidad que parecen ser prometedores, como en las metodologías utilizadas para su medición (Lahnsteiner *et al.*, 2008).

Los trabajos y la descripción sobre potenciales indicadores de calidad varían cualitativa y cuantitativamente entre especies, sin que se pueda definir un patrón común o de aplicabilidad universal, lo que restringe la extrapolación de los resultados en el nivel propiamente productivo. Desde los acercamientos que abordan el factor calidad con un cierto nivel de subjetividad (transparencia de la ova, aspecto del corion, distribución de gotas de lípidos, forma del huevo), hasta la valoración de parámetros que requiere alguna sofisticación en técnica y equipamientos (características de división inicial, actividad enzimática, composición química del vitelo), la generalidad hace evidente una utilidad especie-específica, con claros patrones multicausales (Aegerter y Jalabert, 2004); la posibilidad de que sobre ciertos factores sea factible adelantar interpretaciones de calidad a través de comparaciones de escala sobre parámetros semejantes, incluso entre grupos cercanos, parece ser limitada (Kjørsvik *et al.*, 1990; Lahnsteiner *et al.*, 2008).

Específicamente considerada, la literatura que aborda la evaluación de factores de calidad en ovas y larvas en trucha arco iris es abundante, pero se caracteriza por reportes de tipo individualizado, con pocas referencias en las que las variables se consideren de forma integral, como se observa en algunos modelos ya disponibles para otras especies (Lahnsteiner *et al.*, 2008; Heinimaa y Heinimaa, 2004; Tveiten *et al.*, 2004), en los que parece haberse alcanzado superiores niveles de precisión en términos predictivos de viabilidad embrionaria.

Dada la diversidad de estudios disponibles, abarcando diferentes especies, factores y metodologías, con la consecuente variedad de resultados e interpretaciones, se ha intentado concretar este documento en los avances y alcances logrados sobre trucha arco iris en específico. Sin embargo, en algunos casos, para estructurar la presentación se presentan equivalentes analíticos validados para otras especies de salmónidos.

1.2 El concepto de calidad del huevo

Las referencias productivas establecen que la viabilidad en lotes de huevos de trucha arco iris es un indicador que varía de forma impredecible (Craik y Harvey, 1984), dada la heterogeneidad que se presenta tanto entre individuos como entre poblaciones (Su *et al.*, 1997). Aún con el evidente nivel de conocimiento y desarrollo práctico que se tiene para la especie en el manejo de la reproducción y los procesos de incubación y larvicultura, evaluaciones de producción realizadas directamente sobre sistemas de cultivo a gran escala confirman esta condición; los registros medios indican que puede alcanzarse un 50% de pérdidas durante el proceso hasta la eclosión (Bromage *et al.*, 1992), con solo un 35% de las ovas obtenidas que se traducen finalmente en alevinos de tamaño comercial (Bromage y Cumaranatunga, 1988; Bromage *et al.*, 1990); estos valores promedio surgen de seguimientos sobre grupos de ovas cuya supervivencia se reporta entre 76 y 100% hasta la fase de embrionamiento (Blanc, 2002), o incluso casos entre 0 y 90% hasta la eclosión (Kato y Kamler, 1983). Son ejemplos representativos de una escala de variabilidad que refleja claramente el comportamiento poco consistente entre individuos o lotes, aun cuando los reproductores provengan de sistemas en los que se conservan las mismas condiciones de manejo y mantenimiento; esta circunstancia apoya lo que, de forma general y para diferentes especies, Kjørsvik *et al.* (1990) consideran como un factor de alto impacto y fuertemente limitante para la producción en masa de semilla de peces con fines de cultivo. Un argumento similar utilizan Brooks *et al.* (1997) y Lanhsteiner *et al.* (2008) para destacar entonces la importancia y necesidad que adquiere la definición de los parámetros que puedan tipificar la calidad en estadios tempranos sobre especies de interés piscícola. Desarrollos recientes, de tipo conceptual, basados en postulados hipotéticos que aún requieren de mayor soporte experimental, y que involucran aspectos biológicos, de comportamiento y evolutivos, aunque controversiales, son evidencia del interés que despierta en la actualidad el control temprano en la

definición de la calidad de la progenie como mecanismo de manejo en actividades de piscicultura intensiva (Nordeide, 2007).

En la definición más comúnmente utilizada, la calidad se formula como el potencial del huevo para producir una larva viable (Kjørsvik *et al.*, 1990; Brooks *et al.*, 1997), lo que en la práctica se resume en la lógica expectativa de que los lotes calificados como de mejor calidad sean aquellos que exhiben una alta supervivencia en las diferentes fases de producción que configuran la obtención de semilla para una especie dada (Bromage *et al.*, 1994). Bobe y Labbé (2010) circunscriben el concepto a un plano biológico, estableciendo que la calidad de un gameto se define con base en su capacidad para fertilizar o ser fertilizado y, de allí, surge una combinación efectiva que permite obtener un embrión normalmente desarrollado. El resultado final se traduce en términos de supervivencia, la cual puede ser determinada en varios momentos de desarrollo embrionario; para peces en general y particularmente en el caso de truchas, con fines de seguimiento experimental y productivo, las etapas que normalmente se consideran para ser evaluadas, como momentos de estimación de calidad tanto para el individuo como para el conjunto de lotes, incluyen los eventos de fertilización, ova embrionada, eclosión y alevinos en primera alimentación. En concreto, la calidad estaría entonces configurada por el colectivo de características que, asociadas al huevo, son determinantes para establecer su capacidad de sobrevivencia; esta última, e independientemente del periodo medido, se convierte entonces en la variable a través de la cual se califica cuantitativamente la primera.

Mientras no se disponga de modelos de predicción, este acercamiento conceptual, simple y conciso, tiene utilidad únicamente en abstracto, especialmente cuando se trata de escenarios de producción estricta. En no pocos casos el término se tiende a utilizar de una forma global, aglutinando variadas consideraciones sobre los estimados de éxito y relaciones de causalidad. Precizando sobre la noción, las siguientes limitaciones deben ser consideradas:

- Aun cuando la viabilidad durante los diferentes estadios tempranos es la variable medida para cuantificar la calidad, no identifica los factores últimos que la definen (Brooks *et al.*, 1997). Así, el efecto (mortalidad o supervivencia), no identifica la causa

(parámetros de calidad). La tasa de fertilización, utilizada en algunos casos como indicador de éxito (Bromage y Cumaranatunga, 1988), es de alguna manera un equivalente de la supervivencia, especialmente por el momento en el que es precisamente determinada durante el desarrollo embrionario de truchas.

- Como la medición de la supervivencia es obviamente posterior al proceso de incubación, este indicador no es, en consecuencia, predictivo, pues valora o cualifica un hecho ya sucedido. El acercamiento de la calidad a través de los resultados en viabilidad será entonces procedente en trabajos de carácter evaluativo, con manejos diferenciales provocados sobre factores con posible efecto en la eficiencia. En el caso de sistemas de producción continua, el control es posible sólo a través del desarrollo de índices que permitan algún grado de predicción razonable.
- El nivel de viabilidad en primeras etapas no necesariamente lleva implícito ni supone un resultado equivalente de desempeño posterior en cultivo (Bobe y Labbé, 2010); de hecho, en algunos casos se ha demostrado independencia entre la supervivencia temprana y otros rasgos de carácter productivo, por lo que la primera por sí sola es un indicativo insuficiente para determinar la competencia en el desarrollo de los oocitos ovulados (Rime *et al.*, 2004). Por tanto, las fases de producción de semilla y de peces de consumo se dividen en términos prácticos y de valoración, en cuanto se sujetan a indicadores diferentes y se ajustan a procesos de manejo basados en metas también diferentes.
- Los efectos reales que manifiestan la serie de factores pueden ser confusos dependiendo del esquema experimental planteado. En el seguimiento sobre grupos de ovas compuestas, es decir provenientes de varias hembras, los llamados “blancos” (mortalidades del 100%) influyen el desempeño medio de los lotes (Bromage *et al.*, 1994), por lo que en algunos casos se eliminan de los cálculos. Por el contrario, otros autores destacan que es sobre estos blancos donde se deben enfocar los análisis, en tanto se considera que son precisamente la expresión extrema de la acción de tales agentes.
- Como el objetivo último de la valoración de la calidad se dirige a la obtención masiva de semilla viable, es decir al finalizar los procesos de manejo temprano, es común que se pierda la demostración de cualquier factor y sus efectos en estadios parciales. Los seguimientos puntuales, a través de indicadores, permiten la definición de las

pérdidas en momentos específicos (Stoddard *et al.*, 2005), lo que es una ventaja para las evaluaciones.

Sobre los factores que podrían caracterizar la función calidad (en tanto operen como soporte real de predicción temprana) existe controversia por causa de los importantes vacíos de información (Kjørsvik *et al.*, 1990), sin que los datos existentes hasta el momento permitan configurar una base explicativa de las variaciones observadas (Bromage *et al.*, 1992); por tanto, para truchas (y en general para especies con huevos demersales) no se dispone aún de modelos que permitan trabajar con razonables grados de predictibilidad (Lanhsteiner *et al.*, 2008). Hasta el momento, en una visión amplia que abarca especies de ambientes marinos y continentales, los parciales disponibles evidencian la factible existencia de relaciones de carácter multifactorial e interdependiente y, lo que incrementa la complejidad, de tipo especie-específico en la incidencia de factores que permitan la determinación o predicción de la viabilidad de ovas y larvas; para incrementar la problemática vinculada a valoraciones de este tipo, Bobe y Labbé (2010) establecen limitantes de interpretación que se asocian y se enmascaran con esquemas de especie-experimento.

Entendida como un elemento problema con fuerte incidencia productiva, la calidad de la ova, valorada en términos cuantitativos, se toma entonces como un agente de operación técnica mediante el cual se busca adquirir elementos que mejoren la eficiencia y, en consecuencia, regulen la viabilidad práctica y económica de centros especializados en la producción de semilla de peces (Kjørsvik *et al.*, 1990; Lubzens *et al.*, 2009). Se concluye entonces que lograr estandarizar condiciones reproducibles para la obtención de juveniles con atributos de desempeño aceptables, se convierte en una condición necesaria y meta obligada para establecer producciones constantes con características de homogeneidad validada en cualquiera de los rasgos productivos buscados. La evaluación experimental de diferentes aspectos relacionados con parámetros de desempeño reproductivo a través de la interpretación de la calidad del huevo, tanto para peces en general como para la especie en particular, ha sido objeto de un análisis permanente (Zangh *et al.*, 1990), sistemáticamente abordado y con el reconocimiento de su relevancia materializado en compilaciones específicas que evalúan logros, avances y definen tendencias investigativas, siendo las más representativas las revisiones de

Bromage y Cumaranatunga (1988), Kjørsvik *et al.* (1990), Brooks *et al.* (1997) y Lahnsteiner *et al.* (2008). Una perspectiva más reciente, en la que la precisión de calidad se aborda involucrando elementos celulares y moleculares de los gametos que sugiere nuevas vías para la definición de marcadores de calidad, se presenta en la recopilación de Bobe y Labbé (2010).

A grandes rasgos, los factores de calidad se pueden agrupar como parámetros de carácter físico, químico y genético (Kjørsvik *et al.*, 2003), incluyendo además los relacionados con los procesos iniciales que ocurren en el momento de la fertilización, de acuerdo a la definición que amplían Bonnet *et al.* (2007). Lahnsteiner *et al.* (2008) los determinan como intrínsecos (v.g. edad de la reproductora, componentes genéticos, morfología, composición y talla del huevo, entre otros) o extrínsecos (v.g. estado de maduración, condiciones de manejo y manipulación, incubación, calidad del agua, entre otros). Kato y Kamler (1983) los clasifican en lineales (dimensionales, morfométricos o biométricos, según otros autores) y de composición. Cualquiera que sea el tipo de agrupamiento, se incluyen los factores que normalmente han sido objeto de análisis. Más recientemente, valoraciones de calidad asociadas con la aparición, en términos cualitativos y cuantitativos, de malformaciones en los embriones abren una nueva perspectiva de estimación (Bonnet *et al.*, 2007), pues, al menos bajo diferentes prácticas de reproducción, las evidencias sugieren impactos específicos que se reflejan en variables tipos de anomalías embrionarias, en una vía experimental que aún requiere desarrollo; los autores van más allá, postulando incluso que la determinación de la calidad puede requerir de diferentes indicadores dependiendo del tipo de manipulación aplicado sobre los componentes técnicos de producción de semilla.

Aún con los condicionantes y dificultades anotados, desde una perspectiva de producción hay consenso en que la calidad de la ova debe ser definida con base en la formulación de criterios y métodos sencillos, prácticos, rápidos, *ex ante* y localizados temporalmente en el periodo en el que el huevo es retirado de la hembra y el proceso de fertilización ha concluido (Kato y Kamler, 1983; Bromage *et al.*, 1994). En su desarrollo del concepto, Lahnsteiner *et al.* (2008) postulan que los factores de calidad (o marcadores, según su definición) son en esencia parámetros de tipo biológico que, sin tener la capacidad de diferenciación entre ovas viables o no viables pre fertilización, buscan ser válidos estimadores de la supervivencia en cualquiera de los estadios de desarrollo temprano; en

resumen, sea cual sea su naturaleza, un marcador debería cumplir las siguientes condiciones: a) alta y significativa correlación estadística en los estadios considerados, b) baja variabilidad intraespecífica, c) determinación objetiva, y d) ser medible bajo condiciones rutinarias, sin mayores esfuerzos en el tiempo o con sofisticados requerimientos analíticos y técnicos.

Un primer intento de integración entre marcadores morfométricos de las ovas, como explicativos de los resultados de supervivencia hasta eclosión y alevinos comiendo, surge de Kato y Kamler (1983), con el desarrollo de un índice de calidad (Quality Indicator: "QI Express", según los autores); con este, intentan conjugar la relación encontrada con el peso seco de la ova, en conjunto con el porcentaje de agua en ovas no hidratadas, en la supervivencia tanto hasta la eclosión como hasta el momento en que se da inicio a la alimentación. La utilidad de tal indicador no parece haber sido comprobada, en cuanto no aparece referenciado ni utilizado en estudios posteriores en los que el problema de calidad haya sido abordado en la especie.

Se tiene entonces que, hasta el momento y para el caso específico de trucha arco iris, los niveles de correlación definidos, al menos para marcadores de tipo morfológico, tienden a ser medianos o bajos, sin ofrecer por tanto determinaciones exactas de calidad para conjuntos de muestras. En general, Stoddard *et al.* (2005) lo reconocen así, cuando establecen que las correlaciones entre las variables de calidad de ova analizadas y la mortalidad embrionaria no ofrecen utilidad predictiva por su bajo valor numérico. Análisis técnicamente más complejos, que involucran factores de tipo intrínseco, son posibilidades que pueden llegar a ofrecer panoramas de mayor capacidad predictiva, como el que establecen Aegerter *et al.* (2005) utilizando mRNAs específicos para ciertos genes, con el fin de determinar cambios citoplasmáticos durante la sobremaduración y sus implicaciones en la calidad de la ova producida.

La definición y división conceptual de los factores que pueden ser determinantes de calidad, aunque semántica, es tan variada como los autores que las referencian. Para este caso, la agrupación establecida intenta conjugar diferentes perspectivas, aglutinando varios criterios que permitan su abordaje analítico. En una visión más precisa, es notorio que la división aplicada contiene elementos que son transversales, por lo que el problema de calidad debe ser entendido desde una perspectiva holística.

1.3 Factores intrínsecos

Como se anotó, este tipo de factores corresponden a aquellos que describen la ova a partir de sus atributos dimensionales o morfométricos; desde una perspectiva práctica tienen la ventaja de que constituyen un conjunto de variables cuya determinación en campo es directa y sencilla, lo que explica que su relación con la supervivencia haya direccionado o se considere en buena parte de los estudios de valoración cualitativa y cuantitativa de la calidad de las ovas. Cumplen entonces con parte de los postulados que fueron mencionados al respecto de las condiciones que deben cumplir los marcadores (Lahnsteiner *et al.*, 2008). Aunque se encuentran referencias diversas, aquellos caracteres más analizados se circunscriben principalmente a la talla (en diámetro y peso, con derivadas como volumen y densidad), a aspectos relacionados con la morfología de la ova y a la homogeneidad de la puesta, entre otros.

1.3.1 Talla de la ova

El crecimiento oocitario está sujeto a una serie de eventos de alta demanda metabólica y es en la denominada fase de vitelogénesis exógena donde se manifiesta el mayor desarrollo. En *O. mykiss*, en esta etapa se puede presentar hasta un 80% del crecimiento del huevo (Perazzolo *et al.*, 1999). Tyler *et al.* (1990) registran incrementos en diámetro que van desde los 0,5 mm (límite aproximado del inicio de la vitelogénesis) hasta más de 5 mm (tamaño en la ovulación). Consecuentemente, reportan que las variaciones del índice gonadosomático, desde el comienzo del desarrollo hasta la finalización de la vitelogénesis, van desde 0,4 hasta 20.

En buena parte de los trabajos evaluativos de la calidad, los factores que son agrupados bajo el genérico de talla se refieren principalmente al diámetro, al peso del huevo y, según Su *et al.* (2002), también al número de ovas mL⁻¹ (aunque en sentido estricto este factor, como se verá, es realmente la fecundidad). Tiende a ser constante que para las referencias sobre el diámetro, se asuma que la ova tiene forma esférica, por lo que es frecuente una única medición, bien individual o bien a través del promedio de una

muestra¹. No obstante, en realidad las ovas de trucha son ligeramente ovales, teniendo en media una relación entre las medidas mayor y menor de 1,05, con un rango que va, según Blanc (2002), del 100 al 120%. Al respecto, Kato y Kamler (1983) demuestran que el alejamiento de la forma esférica no incide sobre la supervivencia, por lo que tal aproximación resulta ser un adecuado acercamiento práctico. Las mediciones del diámetro generalmente se realizan sobre ovas fertilizadas, con posterioridad al proceso de hidratación, pues la flacidez de la ova antes de tal proceso puede comprometer, subestimando, la precisión del registro.

Desde un acercamiento biológico, la talla óptima del huevo sería aquella con la que se maximiza la supervivencia de la progenie y que, además, tiende a ser un determinante del tamaño posterior de la larva; en términos adaptativos hay un compromiso fisiológico, e inverso, entre el número (fecundidad) y el diámetro de las ovas; se trata de un continuo táctico y adaptativo, en un intercambio que está modulado por varios factores, con límites dentro de una misma especie, entre los que intervienen las características mismas de los reproductores (Duarte y Alcaraz, 1989), en cuyos extremos están una mayor cantidad de ovas de talla pequeña o viceversa. En varias especies de salmónidos hay una relación positiva entre la talla de la hembra y el tamaño del huevo, aunque la influencia de otro tipo de factores, bióticos y abióticos, puede alterar tal relación (Kristjansson y Vøllestad, 1996).

Sobre varios rasgos asociados a este factor se ha encontrado algún nivel de relación (v.g. peso del vitelo, peso del alevino recién eclosionado, duración del tiempo de reabsorción de vesícula, resistencia al ayuno); no obstante, como predictor estricto de la supervivencia, los datos son aún controversiales en truchas, con algunos registros que indican que con menores diámetros se obtienen deficientes resultados en incubación, mientras que otros trabajos sugieren la falta de relación entre las dos variables y que, por

¹ Este método, desarrollado por Von Bayer (1950) y descrito por varios autores (Leitritz y Lewis, 1980), facilita el conteo de puestas a través de la determinación del diámetro medio de una muestra, medida utilizando una regla en V de 12 pulgadas. Bromage y Cumaranatunga (1988) mencionan que la relación entre el diámetro medio y el número de ovas es fuerte y significativa ($r = 0,998$) con este método, lo que provee una aproximación consistente a la fecundidad cuando se compara con conteos directos.

tanto, permiten concluir que las dimensiones del huevo no son *per se* decisivas para definir la supervivencia (Kato y Kamler, 1983; Bromage y Cumaranatunga, 1988); en general, son las referencias más recientes las que tienden a confirmar esta última inferencia, lo que también tiene apoyo con resultados experimentales similares obtenidos en otras especies de salmónidos, como en *Salvelinus alpinus* (Jónsson y Svavarsson, 2000) y *Salmo trutta fario* (Vandeputte *et al.*, 2002). En particular para *Salvelinus*, Valdimarsson *et al.* (2002) establecen que los diferenciales intraespecíficos en talla de la ova son una estrategia adaptativa que se puede manifestar favorablemente en uno y otro sentido en términos de supervivencia, con base en diferentes factores, de forma que se asegure la supervivencia de alevinos, no importa su tamaño, pero en relación con la oferta ambiental que pueda existir al momento de la eclosión. Lo anterior supone que la variación en el tamaño del huevo trae como consecuencia una variación equivalente en la talla de la larva recién nacida (en longitud y en el tamaño del saco vitelino) y, a su vez, una diferencia en el tiempo de desarrollo; es decir, larvas provenientes de ovas más pequeñas presentan un desarrollo más rápido y viceversa.

Aunque Kristjansson y Vøllestad (1996) comprueban la relación diámetro ova/talla de la larva, al incluir un posible efecto asociado a la hembra, encuentran que ovas de la misma talla pero provenientes de reproductoras diferentes dan origen a larvas de longitud variable; concluyen entonces que los efectos maternos (posiblemente genéticos) son más importantes para la talla de la larva que el diámetro mismo de la ova. En general, postulan que el tamaño de la ova no es un buen indicador del desempeño de las larvas y no relacionan el peso del huevo en los resultados. Adicionalmente mencionan, bajo el genérico de factores maternos, la explicación sobre las variaciones que no se pueden demostrar a través de diámetro ova, de longitud larva y de tamaño del saco vitelino. Dentro de estos “efectos” asumen que la utilización de las reservas (lípidos, aminoácidos) es diferencial entre individuos, con base en la observación de diámetro del huevo igual/diferente talla de la larva producida.

Por otra parte, sobre el peso como variable dimensional, la medición es efectuada en húmedo, inmediatamente en el desove o, más comúnmente, después de la fertilización e hidratación. El peso seco, con material desecado a 60°C hasta estabilización (Ojanguren *et al.*, 1996; en *Salmo trutta*) o a 105°C por 24 h (Milla *et al.*, 2006), normalmente se

utiliza cuando proceden análisis posteriores, por lo general dirigidos a determinar contenidos de humedad o de composición específica; aunque referencias similares no se disponen para trucha arco iris, dada la fuerte relación entre el peso seco de la ova y la talla de la hembra (peso postdesove y longitud furcal), Ojanguren *et al.* (1996) postulan que este tratamiento de secado se convierte en la mejor expresión del tamaño del huevo para el caso particular de *S. trutta*.

Blanc (2002) determina que el peso de la ova no se relaciona con la supervivencia de los alevinos, pero es significativa para el peso de los alevinos hasta la semana 9 de desarrollo, aun cuando el efecto desaparece en la semana 15. Un resultado similar sobre la talla de los alevinos en *Salmo trutta* a los 52 días de la eclosión registran Ojanguren *et al.* (1996) aunque reconocen, dada la naturaleza de su diseño experimental, que esta ventaja podría estar relacionada con el hecho de que los huevos mayores provienen de hembras que con la misma edad muestran igualmente una superior tasa de desarrollo y, en ese sentido, aspectos hereditarios podrían estarse manifestando en un potencial de desempeño superior en los alevinos provenientes de ese tipo de ovas.

Es menos frecuente el análisis de la influencia de otro tipo de variables de carácter morfométrico, aun cuando en términos biológicos se admiten como descriptores fundamentales de la configuración del huevo (Bonisławska *et al.*, 2001). Entre estos se tiene el volumen, expresado en mm³ y calculado como $V = (4\pi r^3) / 3$, cuando se asume la forma esférica (Tyler *et al.*, 1996), o bien a través del desplazamiento de agua provocado por una cantidad conocida de huevos. La densidad (y en algunos casos, la gravedad específica), derivada de las medidas de peso y volumen, se encuentra relacionada en pocos estudios (Blanc, 2002). Aunque se referencia de forma hipotética para explicar diferencias observadas en el comportamiento de la mortalidad en estadios tempranos, no se dispone de registros numéricos que soporten cuantitativamente la relación superficie/volumen en la ova con la supervivencia (Bromage y Cumaranatunga, 1988); Bonisławska *et al.* (2001) presentan un desarrollo analítico de esta relación con las posibilidades de suministro efectivo de oxígeno durante el desarrollo embrionario y larvario para varias especies.

Aquí se debe retomar una precisión del concepto que fue anotado. La talla de la ova como un posible modulador de la calidad, entendida esta como generador de un diferencial en supervivencia, es el conductor argumental del análisis presentado. El efecto de esta variable sobre el tamaño de la progenie adquiere importancia en los escenarios productivos que supongan una ventaja asociada a tamaños superiores en el evento de la eclosión (el crecimiento absoluto está relacionado, pero no el relativo – tasa de crecimiento específico), lo que tiende a generar un cierto nivel de confusión con la calidad en términos estrictos. El análisis sobre las implicaciones de tipo biológico que involucran las relaciones del tamaño de la ova con el desempeño de la progenie es variado y controversial en los modelos desarrollados, en los que se introducen elementos de carácter ecológico; argumentación al respecto, basada en la biología del desarrollo, estrategias adaptativas a entornos específicos o tácticas reproductivas, se desarrollan con profundidad en Duarte y Alcaraz (1989), Einum y Fleming (2000), Bonisławska *et al.* (2001) y Kiflawi (2006).

En términos estrictamente productivos, se debe anotar que una posible causa de disminución en la talla de las ovas y, simultáneamente, una reducción en su viabilidad se puede caracterizar bajo condiciones de manejo deficientes (Campbell *et al.*, 1994), aun cuando se trata de situaciones poco comunes o de ocurrencia atípica bajo los estándares actuales de mantenimiento reproductivo en granja; existe relación también con el periodo de desarrollo gonadal en el que factores de estrés nutricional persistan sobre el plantel (Contreras-Sánchez *et al.*, 1998; Schreck *et al.*, 2001).

Según Kolm y Ahnesjö (2005), existe la percepción, aún no demostrada, de que se presentan mayor cantidad de problemas en ovas grandes cuando las condiciones de suministro de oxígeno llegan a ser deficitarias. Se asume que esta desventaja estaría asociada a una menor relación superficie/volumen en ovas de mayor talla respecto a sus contrapartes menores; en efecto, se razona que si los requerimientos respiratorios están en función del volumen de la ova y que la posibilidad de acceder a los niveles necesarios de oxígeno es función de la superficie de contacto, se concluye una menor capacidad ligada al incremento en tamaño. Sin embargo, es paradójico que argumentos similares de la relación superficie/volumen se postulen también para explicar algunas observaciones de mortalidades diferenciales superiores en ovas de menor talla (Bromage y

Cumaranatunga, 1988); evaluaciones recientes en otros salmónidos (*Salmo trutta* L.) reconsideran tales explicaciones con registros que pretenden demostrar la independencia de la talla de la ova con variaciones de eficiencia en incubación (Einum *et al.*, 2000). Se debe tener en cuenta que bajo las condiciones favorables que normalmente se tienen en sitios especializados, la talla de la ova puede no ser condicionante deletéreo de calidad, en la supervivencia larvaria o en el crecimiento temprano (Kjørsvik *et al.*, 1990). Bromage y Cumaranatunga (1988) registran datos que indican que en ovas pequeñas con elevados factores de fertilización, los resultados en incubación son de nivel similar al de aquellas con un mayor tamaño; estos resultados refuerzan el criterio de que un mayor tamaño de ova no necesariamente conduce a una mayor calidad de la larva obtenida, ni que esta circunstancia presente evidentes ventajas de desarrollo posterior (Brooks *et al.*, 1997).

De forma independiente a la calidad misma, entre los productores se presenta una preferencia comercial hacia ovas de elevado diámetro, bajo la comprobación de la relación directa que existe entre estas y la longitud de larvas recién nacidas y alevinos; se intuye entonces que en la práctica existe una ventaja asociada al mayor tamaño inicial, lo que parece ser evidente más en el medio mismo que bajo condiciones de cría controlada (Einum y Fleming, 1999), pues este se mantiene al menos durante los primeros meses de vida (Escaffre y Bergot, 1985). Por otra parte, son varios los trabajos que referencian que, aunque existen, las diferencias en la talla inicial de larvas provenientes de ovas mayores tienden a desaparecer en periodos de tiempo relativamente cortos (Ojanguren *et al.*, 1996; Blanc, 2002); aun así, en estos reportes no se describen procedimientos de manejo asociados a la selección por tamaños conforme avanza el crecimiento de los peces, por lo que son observaciones que deben sujetarse a validaciones posteriores. Al respecto, implicaciones de manejo estadístico de datos de crecimiento han sido descritas más recientemente para el caso de seguimientos de truchas en condiciones de cría intensiva, con una discusión importante sobre la validez comparativa de lotes supuestamente homogéneos bajo clasificación provocada (Gardeur *et al.*, 2001).

Caso diferente se tiene cuando la variable de talla a analizar es el peso de la ova. Se mencionó que el incremento relativo que se da después de la hidratación postfertilización

está significativamente correlacionado con la viabilidad larvaria (Lahnsteiner y Patzner, 2002), especialmente por la medición de la tasa de incorporación de agua durante los primeros 30 – 120 minutos del proceso. Se asume su validez como criterio de calidad en cuanto certifica que la reacción alvéolo cortical tiene expresión completa en ovas de buena calidad y, en conjunto con la tasa de fertilización, parecen ser ajustados indicadores tempranos de eficiencia. En salmón del Atlántico (*Salmo salar* L.), el incremento en peso de la ova llega hasta un 13% posthidratación (Heinimaa y Heinimaa, 2004). Existen, no obstante, datos controversiales en los que la relación peso ova/supervivencia para trucha arco iris no es significativa (Blanc, 2002), aunque según Kato y Kamler (1983) las propiedades gravimétricas de las ovas se muestran algo mejor correlacionadas con las supervivencias tardías (ova embrionada – eclosión) y total (fertilización hasta eclosión) que las lineales (diámetro, altura, relación diámetro/altura). Kristjansson y Vøllestad (1996) definen matemáticamente la obvia relación, positiva y fuerte, entre el diámetro y el peso de la ova en trucha arco iris.

Choubert *et al.* (1998) encuentran una relación directa entre el tamaño (peso) inicial de los peces y el peso de las ovas e incorporan una nueva perspectiva de análisis para discutir el resultado, en cuanto su evaluación considera grupos de hembras contemporáneas pero con diferentes tamaños. Así, con una relación hembra más grande/ovas de peso superior, los mayores desempeños iniciales de los alevinos podrían ser causa de factores genéticos heredados de individuos con superiores tasas de crecimiento, más que por un efecto causal derivado de una mayor ova. Las variaciones son también importantes tanto dentro como entre poblaciones de la misma especie, lo que parece ser una constante para los salmónidos en general; para *O. kisutch* (salmón coho) y en ejemplares de talla y peso comparables esta variación puede alcanzar hasta un 70% (Brooks *et al.*, 1997).

Estas variaciones con dificultad interpretativa tienden a ser explicadas por diferentes autores como causadas por condiciones experimentales diferenciales, con énfasis sobre aquellas referidas a los tiempos en los que la extrusión es realizada sobre las hembras, en tanto se incluyen efectos del factor sobremaduración, lo que será analizado posteriormente.

1.3.2 Volumen y densidad

En realidad se trata de dos factores que han tenido poco desarrollo experimental, por lo que su posible influencia está aún por determinar. La referencia más precisa al respecto se encuentra en Blanc (2002), quien comprueba una disminución en la gravedad específica conforme aumenta el diámetro de la ova. Sin presentar datos de soporte, asume que tales diferencias se relacionan con la cantidad del vitelo presente, en tanto su gravedad específica es menor que las otras partes del huevo, incluido el embrión. Aunque sujeta su valoración a estudios posteriores, reconoce la posible utilidad de este factor como indicador de calidad o de desarrollo.

1.3.3 Morfología inicial

Además de aquellas características externas que son reflejo de una evidente sobremaduración, Craik y Harvey (1984) reconocen que entre ovas viables y no viables no se visualizan claramente rasgos de tipo morfológico que permitan una diferenciación *a priori*. En una línea concordante, Bobe y Labbé (2010) indican que cambios en la apariencia de la ova por razón de casos específicos como la sobremaduración no necesariamente pueden vincular causalmente calidad-morfología, haciendo de esta última un marcador no útil o que debe ser manejado con precaución y no en todas las circunstancias.

En general, la distribución de gotas de lípidos en la superficie de los huevos se ha utilizado en la caracterización de la calidad, especialmente en aquellas que producen huevos translúcidos (Bromage *et al.*, 1994; Shields *et al.*, 1997). Aún con su opacidad, en los huevos de varias especies de salmónidos esta característica es relativamente conspicua y su distribución y tamaño han sido explorados como criterio clasificador de calidad dentro de un lote de huevos, antes de la fertilización (Barnes *et al.*, 2003). En esta línea particular para *Salmo trutta fario* (trucha marrón), Mansour *et al.* (2007) establecen y describen cuatro categorías de distribución basadas en el nivel de coalescencia y el diámetro de las vesículas lipídicas, lo que a su vez relacionan significativamente con los resultados de supervivencia hasta la fase de embrionamiento; en un patrón general registran que, conforme la coalescencia de las gotas aumenta, se disminuye la viabilidad embrionaria. En una evaluación similar sobre *Salvelinus alpinus*,

Mansour *et al.* (2008) reorganizan las categorías de su anterior trabajo y adaptan una clasificación basada en la distribución de las gotas y la homogeneidad en el diámetro de las ovas; encuentran igualmente una fuerte relación entre el tipo de distribución y los porcentajes de ovas en las que se desarrolla un embrión normal. No obstante, evidencian el hecho de una elevada variabilidad en las ratas de fertilización y desarrollo para la categoría definida como de huevos buenos, indicando que un patrón homogéneo de distribución de gotas lipídicas no constituye *per se* un marcador de calidad.

Los preliminares descritos para las dos especies motivan la aplicación equivalente del método de clasificación y seguimiento, directamente sobre trucha arco iris (Cierezko *et al.*, 2009), estableciendo tres categorías similares para la selección primaria de los huevos. Los resultados finales no son consistentes entre las dos pruebas experimentales adelantadas, pues únicamente encuentran una relación asociada a la categoría definida como la de menor calidad con la supervivencia registrada en los estadios finales de desarrollo (larvas eclosionadas y alevinos comiendo); no así para el registro de la viabilidad medida en el estadio de embrionamiento (tasa de fertilización, según los autores). En todos los casos la variabilidad entre hembras es alta y parte de las incluidas en alguna de las categorías ofrecen resultados no concordantes con otras en la misma clasificación. Aunque los resultados pueden ofrecer cierta utilidad, los autores sugieren un uso precavido del criterio y recomiendan mayores valoraciones del mismo. La variabilidad entre individuos limita de alguna manera el indicador, pero hay que tener en cuenta que se trata de una medición subjetiva y las categorías son, por tanto, también subjetivamente determinadas; puede incluir efecto del observador, especialmente en categorías adyacentes.

En complemento de lo anterior, una aproximación temprana a definir calidad, diseñada para ser aplicada directamente en condiciones de campo, es el test de turbidez desarrollado por Wojtczak *et al.* (2004). Se basa en la observación de la formación de ciertos niveles de turbidez en el agua que contiene huevos sin fertilizar y se asocia a una baja calidad del material cuando esta característica se presenta. Se ha asociado a la presencia de material proteico y lipídico proveniente de ovas deterioradas o en avanzado estado de sobremaduración, lo que ha sido descrito por Lahnsteiner (2000); explican que este material afecta al proceso mismo de fertilización, pero que se alcanzan niveles normales, aún en formación de la suspensión lechosa, cuando se utilizan soluciones

salinas como medio fertilizante. Aunque los autores logran demostrar una relación de la magnitud de la turbidez con un menoscabo de la fertilización, estipulan que no se trata de un indicador de la calidad del huevo mismo, sino de una evidencia de condiciones cuya presencia tendrá efectos que afectarán la fertilización; es más, presentan la hipótesis de que tal test es más que un indicador de la calidad del huevo, es una evidencia de la debilidad de la membrana del huevo, posiblemente por causas asociadas a sobremaduración; no obstante, tal debilidad no estaría asociada a una disminución del espesor del corión, el cual no difiere significativamente entre ovas recién ovuladas y ovas mantenidas en la cavidad celómica por 21 días, como lo demuestran los datos de Lahnsteiner (2000). En el trabajo anotado de Cierezko *et al.* (2009) se valora la relación de la distribución de las gotas de lípidos con las diferencias en la turbidez de las hembras; tal relación no es demostrada, por lo que las dos pruebas parecen ser independientes y su uso conjunto no es claro en los resultados que ofrece. Dejan abierta la posibilidad para desarrollos y evaluaciones posteriores.

Después de la fertilización, el patrón de las primeras divisiones celulares se ha reportado como indicador de viabilidad en algunas especies de teleósteos, en cuanto representan la expresión temprana de un desarrollo normal (Brooks *et al.*, 1997), en el que esta normalidad está representada en blastómeros de forma y talla regular para una parte de los huevos de teleósteos (Shields *et al.*, 1997) y por tanto, si esta no se da, es posible relacionarla con huevos de baja viabilidad ofreciendo entonces un posible indicador de calidad. Si bien no se encuentran referencias para el caso especial de truchas en estos primeros estadios, el origen de malformaciones como indicador de deficientes protocolos ha sido abordado por Bonnet *et al.* (2007).

1.3.4 Homogeneidad

No son frecuentes las referencias que presumen que la variabilidad en la talla dentro de los lotes de huevos pueda ser considerada un factor de calidad que se pueda relacionar con la supervivencia; Blanc (2002) sugiere que promover el incremento de la homogeneidad en lotes de ovas puede ser una práctica de manejo productivo con perspectivas interesantes. Basa esa premisa en resultados que evidencian que la

dispersión en ciertas variables productivas tempranas (supervivencia, crecimiento inicial) es superior dentro de los lotes que entre lotes.

Entre hembras de trucha arco iris, Su *et al.* (2002) reportan un coeficiente de variación (CV) del 16,6 % en lo que se refiere a la talla del huevo, medida está en términos de volumen de la ova. Esta situación se relacionaría con la presunción de que la talla inicial puede predisponer una selección por talla en estadios iniciales post eclosión; si el diámetro es más estable (en términos de uniformidad) que el peso, se concluye que el peso del huevo podría a su vez más determinante para explicar respuestas de alta variabilidad en supervivencia como las que se dan en truchas.

1.3.5 Hidratación postfertilización

Hasta evaluaciones recientes se confirma que en el proceso de maduración del huevo en el ovario, desde periodos previos a la fase de rompimiento de la vesícula germinal hasta la ovulación, hay una significativa incorporación de agua al oocito, la que puede llegar hasta un 24,7 % en trucha arco iris (Milla *et al.*, 2006), lo que revierte reportes previos en los que tal hidratación intraovárica no se demostraba para la especie (Craik y Harvey, 1984). Se plantea que el proceso es paso necesario para facilitar la ovulación, posiblemente facilitando el rompimiento folicular, aunque la magnitud de la hidratación es inferior y podría responder a mecanismos diferentes a la que caracteriza las especies marinas, en donde el fenómeno ha sido más ampliamente estudiado (Cerdá, 2002). En sentido estricto, la hidratación es en esencia el proceso mediante el cual el oocito en maduración meiótica incorpora agua y, dependiendo de la escala de esta incorporación, los huevos se clasifican en pelágicos o demersales (Cerdá, 2002); este proceso no corresponde a la definición que se desarrolla en el transcurso de este texto, el que se entiende como el que ocurre después de la fertilización, entendiendo que puede actuar como un eventual marcador de la calidad, en el contexto y métodos que al respecto han mencionado Lahnsteiner y Patzner (2002). Así, el término endurecimiento se puede considerar más preciso.

El desarrollo de la fertilización conlleva una serie de cambios iniciales entre los cuales la reacción alvéolo cortical, característica de los teleósteos cuando el huevo entra en contacto con el medio (Kjørsvik *et al.*, 1990), de ser adecuada, genera una escala de

absorción que puede ser cuantificable con la determinación de la diferencia en peso de las ovas antes y después de la activación. La medición de la hidratación postfertilización (= endurecimiento) puede configurarse entonces como un útil indicador de la intensidad de la reacción cortical, en tanto que se la ha logrado relacionar positivamente con la viabilidad hasta el estado de ova embrionaria, tanto en trucha arco iris (Lahnsteiner y Patzner, 2002) como en la trucha de lago, *Salmo trutta lacustris* (Lahnsteiner *et al.*, 1999) y en el Arctic char, *Salvelinus alpinus* (Mansour *et al.*, 2008); para la trucha de lago, un incremento mayor al 13% en el proceso se relaciona con lotes considerados como de alta viabilidad (> 80% de supervivencia hasta embrionamiento).

Observaciones de reducción en el tiempo en el que comienzan los clivajes iniciales en ovas sobremaduras se explican por causa del colapso retrasado de los alvéolos corticales, cuando se comparan con ovas que, al ser extruidas poco tiempo postovulación, presentan elevados porcentajes de fertilización y desarrollo (Azuma *et al.*, 2003). En truchas, Craik y Harvey (1984) indican que por efectos de sobremaduración hay un incremento en el peso húmedo del huevo antes de ser extruido y la reacción cortical se afecta durante el endurecimiento, lo que hace que se disminuya la captación de agua por el huevo reduciendo, en consecuencia, el diferencial de peso antes y después de la fertilización. No obstante, Lahnsteiner (2000) precisa la naturaleza de estas variaciones y observa que los cambios en el peso son significativos, con un incremento sobre los huevos retenidos, pero se compensan con un menor porcentaje de hidratación postfertilización, originando que el peso neto de la ova no cambie, aun cuando provocar un mayor tiempo de retención celómica indique sobremaduración; logra asociar el incremento en la cantidad de agua que el huevo absorbe después de ser fertilizado con la viabilidad, medida esta hasta la fase de embrionamiento (para lotes de alta supervivencia, > 51%, el incremento llega a ser en media de un 22%; en lotes con viabilidad inferior al 50% este valor disminuye hasta un 8,2%).

Específicamente para la trucha arco iris, el incremento en peso de las ovas obtenidas en periodos cercanos a la ovulación (= no sobremaduras) puede llegar a ser hasta de un 15%, en un proceso de incorporación de agua que finaliza entre 30 y 120 minutos postfertilización, existiendo una correlación positiva del nivel de hidratación con los resultados posteriores de eficiencia en incubación (Lahnsteiner y Patzner, 2002). La

reacción cortical no es en sí misma el objeto de observación, pero su valoración indirecta adquiere importancia como factor parcial dentro de las posibilidades predictivas de eficiencia en estadios tempranos, particularmente por la estimación indirecta de los efectos de la sobremaduración; los mecanismos fisiológicos implicados en el proceso de hidratación de huevos de peces en general son complejos, no completamente entendidos e involucran interacciones enzimáticas que al generar diferenciales osmóticos, promueven hasta el equilibrio, con suficiente tensión del corión, la incorporación de agua (Lahnsteiner y Patzner, 2002); se establece que el proceso es un indicador de un adecuado desarrollo oocitario posterior y presupone *a priori* viabilidad fertilizante (Cerdá, 2002), con lo que adquiere importancia práctica en términos de índice de calidad.

1.4 Factores asociados a la composición

El rápido crecimiento oocitario durante la evolución reproductiva en peces depende de la incorporación de vitelogenina (VTG), un complejo de lipofosfoproteínas precursoras de las proteínas del vitelo, producida en el hígado de la hembra por mediación del estradiol proveniente de las gónadas; se secreta al plasma y se incorpora selectivamente a los oocitos vitelogénicos (Billard, 1992; Shibata *et al.*, 1993). En su concepción más amplia, el término vitelogénesis debe considerar la deposición dentro del oocito de todo el material que operará posteriormente como fuente de nutrientes para el embrión en formación, en un proceso que, al finalizar, lo habilita para ser fertilizado (Lubzens *et al.*, 2009). En el crecimiento oocitario, la que se denomina como vitelogénesis endógena, indica la fase en la cual parte del vitelo es posiblemente sintetizado en el interior del huevo. Por otra parte, en la exógena, los precursores del vitelo (vitelogenina) provienen de la actividad hepática, se transportan por la sangre y se incorporan al interior del huevo. Las evidencias sugieren que en realidad no se trata de dos fases separadas en el tiempo, pues se ha demostrado la continuidad de la síntesis de triacilglicéridos (TAGs) durante los periodos de las intensas incorporaciones de VTG que caracterizan la fase exógena. Así, estos dos términos definen procesos más que etapas de desarrollo temporalmente diferenciadas.

Para el caso de trucha arco iris, Fremont y Riazi (1988) determinan que, en principales componentes, en la VTG están presentes proteínas (79 %) y lípidos (19 %); los carbohidratos aparecen con apenas un 0,3 %. Apoyan la hipótesis de que la VTG es

secretada como un complejo que se mantiene estable proporcionalmente en los componentes moleculares durante el proceso de vitelogénesis, cuando este se da en condiciones normales; se puede afectar bajo presiones externas, como las que se presentan en situaciones de deficiencias nutricionales.

Si bien las referencias sobre composición bioquímica de las ovas se utilizan como base para estudios de diferente naturaleza (Ridelman *et al.*, 1984; Knox *et al.*, 1988; Washburn *et al.*, 1990), estas no corresponden con evaluaciones específicas en términos de la variación en la composición conforme avanza el desarrollo embrionario, con miras a definir relaciones de dependencia metabólica, lo que resulta en bajas posibilidades predictivas de la calidad del huevo consistentemente fundamentadas con base en esta serie de factores.

Para la especie, los estudios sistemáticos son escasos y la primera evaluación que se puede considerar integral es la de Craik y Harvey (1984) quienes, en una serie de determinaciones, establecen como principal conclusión la elevada variabilidad en la respuesta incubatoria (eficiencia) que se presenta incluso entre individuos mantenidos bajo las mismas condiciones de cría. El carácter pionero de este primer trabajo limita, según los autores, sus alcances y asumen que su principal utilidad es la línea base que ofrece para posteriores trabajos complementarios.

1.4.1 Proteínas

La proteína precipitable se constituye en el mayor componente de la ova (Craik y Harvey, 1984). En el trabajo, los autores encuentran que las relaciones definidas entre viabilidad y los contenidos de proteína precipitable no fueron significativas, cuando los niveles encontrados fueron expresados en términos del peso seco de la ova, pero se constituyen en su mayor componente (63,6 a 74,5 %); en los casos de relación de esta con el peso seco de la ova, únicamente se pudo demostrar una relación significativa con el contenido de fosfoproteínas, relación que se mantiene cuando se expresa en términos de peso húmedo.

En el vitelo, las proteínas están representadas mayormente por lipoproteínas (lipovitelinas) y fosfoproteínas (fosvitinas) (Brooks *et al.*, 1997; Wiegand, 1996) y, en

tercer lugar, los β componentes (Riazi *et al.*, 1987), todas derivadas de la VTG. Se almacenan en forma de glóbulos en el caso de las truchas.

1.4.2 Lípidos

Los lípidos presentes en los animales en general pueden ser divididos en dos grupos: los polares (compuestos por fosfolípidos principalmente) y los neutrales (representados por los triacilgliceroles o triglicéridos); aunque pueden ser sólidos a temperatura ambiente (grasas), en peces siempre permanecen en estado líquido (aceites). Los lípidos en general, y sus ácidos grasos, tienen varias funciones de tipo biológico entre las que se tienen el actuar como componente estructural en las membranas celulares, como precursores de mensajeros químicos y como sustratos en procesos catabólicos (Izquierdo *et al.*, 2001).

Las lipoproteínas en la fracción lipídica del vitelo son principalmente lípidos polares. En varias especies del género *Oncorhynchus*, la fosfatidilcolina (PC) y la fosfatidiletanolamina (PE) son los más abundantes fosfolípidos; en el caso del salmón del Atlántico, con huevos cuyo contenido en lípidos es elevado (hasta 7 mg por huevo), un 48% son triglicéridos y un 41% es fosfatidilcolina (Cowey, 1992).

Particularmente, la cantidad de lípidos que se puede encontrar en huevos tiene relación con la proporción de los mismos en las dietas suministradas a los padrotes, considerándose que su estatus es fundamental en la viabilidad reproductiva y en la calidad de ovas de trucha (Vasallo–Agius *et al.*, 2001); estos autores refieren que los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 son esenciales para evitar deformidades. Entre estos, el ácido linolénico (18: 3n-3), en proporción del 1 % de la dieta, es suficiente para asegurar buen desarrollo embrionario y tiene influencia en la supervivencia larvaria. Provocar deficiencias dietarias, hasta tres meses antes del desove, reduce los resultados de producción y supervivencia en todas las fases de producción temprana de truchas; se demuestra su importancia cuando administrando ácido linoléico (18: 2n-6) en alimentos deficitarios se incrementan los indicadores de eficiencia temprana.

La incorporación de lípidos en las dietas ha sido utilizada en el contexto de trabajos sobre hembras vitelogénicas, dirigidos a determinar su influencia en la composición de los huevos o, en ocasiones, en la calidad de la progenie (Sargent, 1995). En general, en las

ovas de trucha se encuentran elevadas proporciones de DHA (ácido docosahexaenoico), lo que según Leger *et al.* (1981) se puede explicar en términos adaptativos, dados el ambiente y los niveles tróficos de la especie; en consecuencia, su adición vía alimento es necesaria para asegurar un adecuado desempeño reproductivo. Se relaciona de forma general que elevados contenidos de lípidos se encuentran en especies con también prolongados periodos de incubación.

En ovas de trucha arco iris, Craik y Harvey (1984) caracterizan el contenido de lípidos totales en un rango del 22,8% al 27,5% de peso seco; con los ejemplares trabajados no encuentran relación entre este contenido y los resultados parciales de supervivencia desde fertilización hasta eclosión y desde fertilización hasta la primera alimentación de las larvas. Se debe tener en cuenta que los reproductores fueron mantenidos bajo similares condiciones de manejo y alimentación. En ese sentido, los resultados de Leray *et al.* (1985) indican claramente los efectos que dietas deficientes en ácidos grasos de la serie n-3 ocasionan sobre la calidad de semilla; en efecto, picos de mortalidad, menor tiempo de reabsorción de vesícula y desordenes en el desarrollo temprano fueron evidentes en la semilla obtenida de los ejemplares sometidos durante un año a la dieta deficitaria. Sobre el particular, se tiene entonces que parece existir una presión de selección para mantener, incorporando selectivamente al o por el huevo durante la vitelogenénesis, las proporciones de los PUFA (ácidos grasos poliinsaturados, serie n -3), en rangos estrechos (Wiegand, 1996); lo anterior indicaría que la afectación en calidad de la ova en truchas por razón de contenidos de ácidos grasos se presentaría en condiciones nutricionales cuya deficiencia debería ser necesariamente provocada, considerando las condiciones actuales de los alimentos disponibles para mantenimiento y cultivo. En tal sentido, como marcador, el contenido de ácidos grasos podría perder utilidad práctica.

Sin embargo, respecto a los contenidos de grasa, aún es materia de discusión su relación con la eficiencia en incubación, con resultados no consistentes entre diferentes especies; Kjørsvik *et al.* (1990) mencionan que en truchas de mayor edad se encuentra un mayor contenido de lípidos en las ovas, reduciendo su viabilidad. Se considera que uno de los más importantes factores nutricionales que influyen la habilidad reproductiva en peces esta precisamente determinada por la composición de ácidos grasos esenciales en la dieta (Izquierdo *et al.*, 2001).

1.4.3 Otros

En los glóbulos de vitelo se tiene una representativa presencia de ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) y, casi en su totalidad, de lípidos neutrales; entre estos, el triacilglicerol (TAG) es el mayor en algunas especies del género *Oncorhynchus*. No hay diferencias entre familias en el contenido relativo de energía. Se ha demostrado una fuerte y positiva correlación entre el diámetro y el peso del huevo ($r = 0.985$) y entre el diámetro y el contenido energético ($r = 0.987$) (Kristjansson y Vøllestad, 1996); para el caso de *S. salar*, Heinimaa y Heinimaa (2004) determinan una relación directa del tamaño de la hembra con el contenido energético en las ovas producidas y consideran que representa un factor de calidad con respecto a la supervivencia encontrada. Para la especie determinan que, conforme avanza el periodo incubatorio, decrece el contenido energético, más no el peso de la ova. Atse *et al.* (2002), trabajando con Artico charr (*S. alpinus*), coinciden en la validez del factor energético como indicador, considerando que es un mejor acercamiento que el que se podría obtener con algún parámetro dimensional como, por ejemplo, el diámetro.

En lo que se refiere a otros factores que han sido evaluados, como los pigmentos, Choubert *et al.* (1998) no encuentran una influencia significativa de la cantidad de cantaxantina o astaxantina en diferentes dietas y etapas de reproducción con la supervivencia medida en fases de incubación y larvicultura; tampoco fue clara alguna influencia en el desarrollo de los peces provenientes de hembras con dietas diferenciales, con respecto a los controles, aunque se demostró la transferencia de la cantaxantina tanto a ovas como a larvas. Craik (1985) ya había establecido que no hay una relación lineal simple entre supervivencia y contenido de carotenoides, aunque afirma que parece existir un umbral o valor crítico en donde las diferencias en la supervivencia sí pueden verse afectadas por el contenido de los pigmentos en las ovas, componente que define como el de mayor variabilidad en la composición de las ovas. Al respecto, Kjørsvik *et al.* (1990) concluyen que bajo los estándares actuales de alimentación en condiciones de cautiverio, este valor crítico solamente podría ser inferior en los casos en los que la dieta de los reproductores fuese expresamente formulada como libre de pigmentos. Bajo estas circunstancias, la utilización del contenido de carotenoides en general, como un factor indicativo de calidad de ovas, pierde utilidad práctica, salvo en el contexto de trabajos especializados, no consecuentes con las normales condiciones de manejo en finca en lo

que se refiere a prácticas de alimentación (Choubert *et al.*, 1998). En resumen, con la información disponible hasta el momento, la real influencia de los pigmentos en los huevos de salmónidos sobre la supervivencia larvaria mantiene un carácter aún controversial, lo que posiblemente se explica por la diversidad de métodos experimentales utilizados por los diferentes autores (Izquierdo *et al.*, 2001).

1.5 Factores asociados al manejo

1.5.1 Fertilización

La tasa de fertilización es a menudo considerada como una medida de la calidad de los huevos (Bromage *et al.*, 1994) y tiene utilidad dada la relativa facilidad con la que se puede determinar. El nivel de fertilización es entonces considerado en la mayoría de las evaluaciones de calidad como uno de los criterios primarios para inferir y extrapolar los posibles resultados después de la fase incubatoria; en truchas se ha demostrado reiteradamente su utilidad como indicador de éxito o eficiencia (Azuma *et al.*, 2003). Si bien se trata de una evaluación posterior, es decir que requiere de un monitoreo a futuro para inferir condiciones de una puesta recibida previamente, en algunas especies puede ser útil, dados los tiempos relativamente rápidos en los que la evolución embrionaria ocurre. Para el caso de los salmónidos en general, en donde la incubación es una fase extensa (alrededor de 300 grados día⁻¹ en trucha arco iris: 30 días a 10°C), la primera puntuación de la fecundación se puede realizar aproximadamente entre las 12 y 24 horas postdesove (con primer o segundo clivaje finalizados) y requiere de equipos de observación que en campo no siempre están disponibles. Resultados más fácilmente tabulables se logran con el monitoreo entre el séptimo y décimo día (Gordon *et al.*, 1988), cuando se han acumulado al menos 70 grados día⁻¹.

Para trucha arco iris, durante la fase son varios los momentos parciales en los que la medición de supervivencia en truchas puede ser adelantada, así (a 10°C): fertilización (día 1), fertilización/desarrollo (70 – 100 grados día⁻¹), embrionamiento (180 – 200 grados día⁻¹), eclosión (300 – 320 grados día⁻¹), alevinos comiendo (180 – 200 grados día⁻¹). El porcentaje de fertilización es la forma más común de reportar el marcador, pero se le

interpreta como tal, sin importar la etapa a la que se refiere como, por ejemplo, embrionamiento, eclosión o primera alimentación (Coward, 2002). Billard (1992) considera que el porcentaje de alevinos comiendo es el mejor indicador de calidad; con base en esto, se debe reiterar lo anteriormente anotado sobre la percepción y variaciones que se presentan en la definición de los posibles indicadores y su real utilidad. Así, estas opciones de cuantificación se traducen en variables reportes de datos en los trabajos experimentales y, por ende, se puede generar alguna confusión respecto a la precisa definición del criterio de fertilización o se dificulta efectuar comparaciones entre diferentes autores (Lahnsteiner, 2000).

Para efectos prácticos, en tanto se le pueda considerar como un real cuantificador de calidad, la fertilización solo debe ser asumida como tal mientras más temprana sea su determinación, lo que para la especie estaría indicado en las primeras 24 horas o, como máximo, hasta los 100 grados día⁻¹ de desarrollo embrionario. Con mediciones posteriores se pierde uno de los postulados básicos que debe cumplir el marcador: predictibilidad temprana.

Aún con su facilidad de medición, se reconoce que la fertilización puede estar afectada por factores externos ligados al manejo mismo, además de aquellos que efectivamente podrían estar asociados a características definitorias de viabilidad, lo que complica una interpretación eficaz. Se ha registrado que una pobre fertilización se refleja generalmente en deficientes resultados de supervivencia en estadios siguientes de desarrollo embrionario (Springate *et al.*, 1984). Es un hecho que la baja fertilización genera al final una baja supervivencia, pero no parecería existir una relación lineal entre esta primera tasa y los resultados de viabilidad en estadios posteriores. En ese sentido, para la toma de decisiones sobre un lote dado, se sugiere que una baja fertilización puede justificar la eliminación, pero una fertilización aceptable no necesariamente es garantía de una elevada viabilidad al finalizar el proceso. Como indicador, entonces, su utilidad está limitada. Como más clara es la correlación existente entre la tasa de embrionamiento y el desarrollo posterior, en algunas producciones comerciales de trucha se utiliza esta como indicador de calidad (Bromage y Cumaranatunga, 1988). El problema con la medición en estadios avanzados es que se pierde la opción de disponer de un predictor temprano,

rompiendo los postulados que fueron anotados sobre las características que deben corresponder a un marcador.

Bromage *et al.* (1992) registran que con medias de fertilización en fincas especializadas de un 90 %, se da una supervivencia hasta embrionamiento de un 70%, lo que comprueba una relación clara entre uno y otro indicador de eficiencia. La relación entre tasas de fertilización, supervivencia en estadios posteriores y menor presencia de anomalías es directa (Aegerter y Jalabert, 2004), por lo que para efectos de manejo productivo el cálculo temprano del factor de fertilización es un aspecto de manejo del que se derivan criterios decisivos para sostener o eliminar lotes del proceso. Sin que al respecto exista un límite objetivo o estándar, en algunas evaluaciones que diferencian entre ovas de buena o mala calidad se considera que un 75% puede ser un límite utilizable (Lahnsteiner y Patzner, 2002). Aplicando este límite, los autores encuentran que con las fertilizaciones más altas, la supervivencia hasta embrionamiento puede ser del 90,9% y, en las más bajas, llega apenas a un 2,3%.

1.5.2 Sobremaduración

Desde el punto de vista del manejo es tal vez la variable con mayor incidencia en la escala de fertilización potencialmente alcanzable para una puesta determinada, por lo que determinar su efecto se convierte entonces en un aspecto fundamental para interpretar la viabilidad posterior. Es una función del tiempo que transcurre desde que ocurre la ovulación hasta que la actividad de desove es efectuada por o sobre la hembra. Superar por exceso la ventana temporal que es óptima para la extracción postovulación significa la activación de procesos y la modificación de parámetros que influyen clara y negativamente sobre la viabilidad del huevo, en una reducción progresiva conforme el tiempo de retención en la cavidad celómica de la hembra aumenta, lo que ha sido ampliamente documentado (Bry, 1981; Bromage *et al.*, 1994; Azuma *et al.*, 2003); alteraciones similares debidas al forzamiento temprano del desove (o submaduración) no se consideran en la práctica dada la dificultad de la extrusión manual cuando la hembra aún no ha ovulado; al respecto y no obstante, algunos datos estiman menores valores de fertilización y viabilidad sobre puestas obtenidas inmediatamente o en momentos

cercanos a la ovulación (Samarin *et al.*, 2008), indicando que en este momento podría existir, dentro de una misma puesta, una fracción que se encuentra aún en condiciones subóptimas de maduración.

En truchas, ha sido establecido que huevos con alto grado de sobremaduración son los únicos fácilmente distinguibles por su morfología externa (Ciereszko *et al.*, 2009), básicamente caracterizados por una severa coalescencia e incremento en el diámetro de las gotas lipídicas, condición observable en especies como *Salmo trutta fario* (Mansour *et al.*, 2007) y *Salvelinus alpinus* (Mansour *et al.*, 2008). En la realidad, las alteraciones derivadas de tal envejecimiento son profundas y se manifiestan en cambios en el huevo de tipo morfológico, fisiológico y bioquímico (Lahnsteiner, 2000) y en algunos componentes del fluido ovárico (Wojtczak *et al.*, 2004). La sobremaduración es en sí misma una condición desfavorable que se deriva de los pormenores de manejo establecidos rutinariamente sobre el plantel, y sus efectos deletéreos se tratan de minimizar con base en esquemas de revisión de mayor intensidad, dentro de los rangos en los que se da un equilibrio operativo entre el estrés originado a los reproductores y el tiempo en el que se supone (v.g. la temperatura en un sitio dado) que la viabilidad se vea comprometida.

En salmónidos, la ovulación ocurre en cautiverio y las ovas permanecen en la cavidad celómica, inmersos en el fluido ovárico o celómico (Hugunin *et al.*, 2008), o peritoneal (Lahnsteiner, 2002). Muy relacionado con la temperatura, el tiempo disponible para proceder con la extracción de los huevos es limitado antes de que los procesos que conlleva la sobremaduración se expresen negativamente, traduciéndose en una disminución gradual de la tasa de fertilización posible, lo que es consecuente tanto para las temperaturas en las que normalmente se mantiene el trabajo reproductivo para la especie (Azuma *et al.*, 2003), como en bajas temperaturas (Samarin *et al.*, 2008); en consecuencia, al menos para el rango de 2 a 8°C, estos autores establecen que el mejor tiempo para proceder con la extrusión de las hembras se tiene, después de la ovulación, entre los 30 y 40 grados día⁻¹ y que los efectos de la sobremaduración se expresan alrededor de 224 grados día⁻¹.

Para truchas mantenidas a 10°C, este tiempo se estima entre 4 y 6 días para los máximos (Bromage *et al.*, 1994) y de 7 a 10 días para obtener medias de fertilización aceptables (Rime *et al.*, 2004); en 13°C, la reducción en la fertilización ya es significativa a los 9 días post ovulación y a los 12 días la proporción de ovas embrionadas alcanza un 27,6% respecto al casi 90% que se registra en las ovas extraídas y fertilizadas en el tercer día post ovulación (Bry, 1981). En retenciones experimentales provocadas de hasta 21 días se observa una reducción en la fertilización desde un 86% (control - día de ovulación) hasta niveles del 25% (Lahnsteiner, 2000), promoviendo baches de pobre calidad en los que se presentan significativas pérdidas durante la etapa. Rime *et al.* (2004) concuerdan, reportando una disminución en la viabilidad entre los días 7 y 14 post ovulación, del 70% hasta el 30%. En general, la disminución de la viabilidad es superior conforme se incrementa la temperatura en la que se mantienen las hembras, al igual que la proporción de malformaciones y la aparición de triploides (Aegerter y Jalabert, 2004), factores últimos que definen la calidad, con lo que se afectan negativamente los rangos esperados de supervivencia en las diferentes fases de desarrollo embrionario.

De diferentes procedimientos de manejo de la ovulación valorados por Bonnet *et al.* (2007), los deletéreos efectos sobre la calidad estuvieron precisamente representados en aquellos casos en los que los huevos fueron retirados 16 días después de detectada la ovulación. Esta pérdida de calidad por causa de sobremaduración se manifestó en una evidente disminución en la supervivencia en embrionamiento (37% vs 93% en el control) y, consecuentemente, al finalizar la reabsorción de vesícula (14% vs 84% en el control); todas las caracterizaciones de deformidades identificadas y registradas fueron significativamente superiores en estas ovas, en comparación con las de otros grupos experimentales, entre los que se incluyeron variables protocolos de inducción y manejo de fotoperiodo. Además de la disminución en las proporciones de ovas viables en fertilización, embrionamiento y eclosión, Azuma *et al.* (2003) reportan un menor número de blastómeros en ovas retenidas por más de 6 días en la cavidad celómica, sugiriendo un retardo en el progreso de la embriogénesis por causa de la sobremaduración. Sobre el particular, no precisan información sobre la morfología de los blastómeros, pero no encuentran relación del menor número de blastómeros con la proporción de deformes registrados, por lo menos hasta el día de seguimiento experimental.

Entre otros parámetros, Lahnsteiner (2000) localiza los efectos de la retención en una disminución progresiva y significativa en el pH del fluido ovárico, lo que Aegerter y Jalabert (2004) logran relacionar con una disminución en la supervivencia cuando, en general, este presenta valores inferiores a 8. Los autores coinciden registrar que en el fluido ovárico son significativos también los incrementos en los niveles de proteínas y ácidos grasos (esterificados y no esterificados); las actividades de la aspartato aminotransferasa y la fosfatasa ácida se ven también significativamente incrementadas. Los efectos sobre características del huevo mismo se concentran sobre diferencias importantes en el peso (húmedo) y en el porcentaje de hidratación, lo que será analizado posteriormente. Según Rime *et al.* (2004), hay una relación del envejecimiento conforme avanza el tiempo postovulatorio con la aparición de proteínas o fragmentos proteicos en el fluido ovárico, por efecto de la pérdida de algunos componentes provenientes directamente de los oocitos, particularmente relacionados con lipoproteínas; asumen que esta concordancia entre el deterioro de la viabilidad y la confirmación de variaciones en la composición bioquímica del fluido, cuando se prolonga el tiempo entre la ovulación y la extrusión, podría validar su uso como referente de calidad en ovas y básicamente para inferir tempranamente sobre el potencial de fecundación de una puesta determinada. De aquí se infiere que el tiempo en el que se efectúa el desove es en la práctica un factor controlable siempre y cuando se dispongan rutinas de revisión constante sobre el plantel reproductivo; la tasa de fertilización (tabulada y presentada en la práctica como el Factor de Fertilización, con valores entre 0 y 1) debe, en consecuencia, asumirse como una variable respuesta y no estrictamente como un parámetro de calidad, dada la independencia práctica con características asociadas al huevo mismo y su relación directa con aspectos derivados del manejo operativo interno de los planteles. La definición de los efectos de la sobremaduración sobre la supervivencia en esencia determinan la afectación por causa de una práctica de manejo que permite la pérdida. Identifica entonces un mal estado de la ova, no identifica la calidad de la ova. Como marcador sólo permite calificar el grado de sobremaduración.

Finalmente, independientemente de los tiempos de retención, Bry (1981) y Lahnsteiner (2000) exponen una alta variabilidad en la respuesta individual de las hembras en la fertilización obtenida (según este último autor, la variabilidad llega a ser desde un 15% hasta un 100% de pérdidas entre las hembras experimentales). Esta observación es

corroborada por Aegerter y Jalabert (2004) quienes, en consecuencia, sugieren que la sensibilidad y respuesta individual a los efectos de la sobremaduración sobre la supervivencia embrionaria pueden ser consideradas factores de selección en un plantel de reproductores.

1.5.3 Fecundidad

Como no es posible maximizar simultáneamente todos los rasgos que permitan optimizar las condiciones para lograr el aseguramiento de la viabilidad de la progenie, se ha determinado la existencia de un intercambio práctico entre el número y la talla de las ovas que produce un individuo determinado en una época dada.

Desde esa perspectiva, calcular la escala de la fecundidad (fecundidad relativa: huevos por unidad de masa; fecundidad absoluta: huevos por individuo) en una actividad de desove podría ser considerado un factor de calidad. La dificultad práctica de esta posible consideración está en los valores de referencia que operarían como comparativos, en tanto otras variables particulares pueden intervenir, por ejemplo, en la retención de las ovas en la cavidad celómica de la hembra; además de una extrusión imperfecta (exclusivamente por manejo), la mayor parte de la fracción de la retención está dada por huevos no ovulados. Zangh *et al.* (1990) encuentran tanto influencias de tipo genético como de manejo (dietas) en la proporción de la retención y establecen que, con una alta variabilidad entre individuos, esta puede llegar a ser de casi un 15% del volumen medio de las ovas producidas. Con base en lo anterior, se puede considerar que, más que un indicador de la calidad en términos estrictos, la medición de la fecundidad (en ovas kg^{-1}) podría ser un elemento primario para la eliminación de una puesta en el caso en el que esta sea claramente inferior a la que se establece para la especie.

1.6 Factores asociados a los reproductores

1.6.1 Edad y talla

Aunque la talla del huevo tiende a ser mayor conforme es mayor la edad de la hembra, en grupos de 2 a 4 años Kato y Kamler (1983) no determinaron diferencias significativas en la supervivencia durante incubación, medida ésta tanto en fases parciales temprana (fertilización a embrionamiento), tardía (embrionamiento a eclosión) y total (conjunta para

toda la etapa). Según Kjørsvik *et al.* (1990), existe una disminución de la viabilidad conforme pasa el tiempo, lo que se asocia a que en las hembras de mayor edad ésta puede relacionarse con superiores contenidos de lípidos en las ovas. En producción, se tiende a mantener grupos de hembras que se utilizan en sus dos primeros periodos de maduración, en cuanto los porcentajes de fertilización que se logran superan a los de hembras con mayor edad (Bromage y Cumaranatunga, 1988). Evaluando planteles de varias localidades, Bromage *et al.* (1990) logran demostrar que conforme se incrementa la talla del parental la producción de ovas (fecundidad) se incrementa y que esta relación se explica positivamente con un $R^2 = 0,61$. Así, aunque desde una perspectiva productiva hay una relación favorable entre la talla (edad ?) y el número de ovas, los efectos sobre la calidad de la semilla no aparecen ser tan claros.

1.6.2 Nutrición

La calidad nutricional de las dietas utilizadas en los planteles de padrotes será el origen primario de los componentes presentes en los huevos. Entendiendo que el desarrollo embrionario en los peces está totalmente ligado a los nutrientes almacenados en el vitelo, particularmente en salmónidos se constituye en un factor relevante, dado el prolongado periodo de dependencia del embrión por causa de los también extensos tiempos de incubación que son característicos del grupo (Knox *et al.*, 1988). Problemas de supervivencia en los primeros estadios de desarrollo se asocian directamente con los regímenes alimenticios, niveles de nutrientes y frecuencias de suministro en las dietas utilizadas sobre los grupos de reproductores (Izquierdo *et al.*, 2001).

De aquí se concluye que los requerimientos para nutrición y crecimiento deben encontrarse en las cantidades y proporciones adecuadas en el huevo mismo y, por tanto, el acercamiento a estas mediciones antes de la fertilización podría ser empleado como factor definitorio de calidad (Kjørsvik *et al.*, 1990), aunque se establece que podría ser insuficiente indicador cuando se les considera como factores últimos de predicción, dado que la variabilidad observada sugiere respuestas de carácter especie-específicas (Izquierdo *et al.*, 2001).

Por ejemplo, en truchas sometidas a restricción alimenticia total hasta 40 días antes del desove no se registran efectos ni alteraciones en la viabilidad de las ovas durante

incubación (Ridelman *et al.*, 1984); sin embargo, cuando se ofrece la mitad de una ración normal durante un periodo de un año previo al desove, se presenta una disminución significativa en el tamaño de la ova producida (Knox *et al.*, 1988), pero estas restricciones no afectan los índices de supervivencia larvaria (Bromage *et al.*, 1992). Pereira *et al.* (1998) aportan elementos que confirman lo anotado, bajo la consideración de que la reducción en la calidad nutricional de la dieta tiene obvios efectos sobre los parámetros de desempeño que sobre las hembras fueron analizados; de cualquier forma, se trata de deficiencias que, sobre truchas en específico (dietas con fuente proteica vegetal), es de suponer la manifestación de efectos, más que naturales, provocados, sobre los índices reproductivos.

1.7 Bibliografía

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*, 231: 57–71.

Aegerter S, Jalabert B y Bobe J, 2005. Large Scale Real-Time PCR Analysis of mRNA Abundance in Rainbow Trout Eggs in relationship With Egg Quality and Post-Ovulatory Ageing. *Molecular reproduction and development*, 72: 377–385.

Atse C, Audet C y De la Noue J, 2002. Effect of temperature and salinity on the reproductive success of Artic charr, *Salvelinus alpinus* (L.): egg composition, milt characteristics and fry survival. *Aquaculture Research*, 33: 299–309.

Azuma T, Ohta H, Oda S, Muto K, Yada T y Unuma T, 2003. Changes in fertility of rainbow trout eggs retained on coelom. *Fisheries Science*, 69: 131–136.

Barnes M, Sayler W y Cordes R, 2003. Potential indicators of egg viability in landlocked fall chinook salmon spawn with or without the presence of overripe eggs. *North American Journal of Aquaculture*, 65: 49–55.

Billard R, 1992. Reproduction in rainbow trout: sex differentiation, dynamics of gametogenesis, biology and preservation of gametes. *Aquaculture*, 100: 263–298.

Blanc JM, 2002. Effects of egg size differences on juvenile weight between and with in lots in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 33 (3): 278–286.

Bobe J y Labbé C, 2010. Egg and sperm quality in fish. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 165 (3): 535–548.

Bonislawska M, Formicki K, Korzelecka-Orkisz A y Winnicki A, 2001. Fish egg size variability: biological significance. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities - EJPAU* 4(2). <http://www.ejpau.media.pl/volume4/issue2/fisheries/art-02.html>.

Bonnet E, Fostier A y Bobe J, 2007. Characterization of rainbow trout egg quality: A case study using four different breeding protocols, with emphasis on the incidence of embryonic malformations. *Theriogenology*, 67: 786–794.

Bromage N y Cumaranatunga R, 1988. Egg production in the rainbow trout. En: Muir J y Roberts R (Eds). *Recent Advances in Aquaculture* (Vol. 3). 63–138 p.

Bromage N, Hardiman P, Jones J, Springate J y Bye V, 1990. Fecundity, egg size and total egg volume differences in 12 stocks of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* Richardson. *Aquaculture Research*, 21 (3): 269–284.

Bromage N, Jones J, Randall C, Thrush M, Davies B, Springate J, Duston J y Barker G, 1992. Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 100: 141–166.

Bromage N, Bruce M, Basavaraja N, Rana K, Shields R, Young C, Dye J, Smith P, Gillespie M y Gamble J, 1994. Egg quality determinants in finfish: The role of overripening with special reference to the timing of striping in the Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 25 (1): 13–21.

Brooks S, Tyler CR y Sumpter J, 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg?. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 7: 387–416.

Bry C, 1981. Temporal aspects of macroscopic changes in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) oocytes before ovulation and the ova fertility during the post-ovulation period: effect of treatment with 17 α -hydroxy-20 β -dihydroprogesterone. *Aquaculture*, 24: 153–160.

Campbell PB, Pottinger TG y Sumpter JP, 1994. Preliminary evidence that chronic confinement stress reduces the quality of gametes produced by brown and rainbow trout. *Aquaculture*, 120: 151–169.

Cerdá J, 2002. Mecanismos fisiológicos durante la hidratación del huevo de teleósteos: hacia el desarrollo de nuevos métodos de criopreservación. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 18 (1 – 4): 145–152.

Choubert G, Blanc JM y Poisson H, 1998. Effects of dietary keto-carotenoids (canthaxanthin and astaxanthin) on the reproductive performance of female rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Nutrition*, 4: 249-254.

Ciereszko A, Wojtczak M, Dietrich G, Kuźmiński H y 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: 150–153.

Contreras-Sánchez WM, Schreck CB, Fitzpatrick CM y Pereira CB, 1998. Effects of stress of the reproductive performance of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Biology of Reproduction*, 58: 439–447.

Coward K, Bromage N, Hibbitt O y Parrington J, 2002. Gamete physiology, fertilization and egg activation in teleost fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 12: 33–58.

Cowey CB, 1992. Nutrition: estimating requirements of rainbow trout. *Aquaculture*, 100: 177–189.

Craik JC, 1985. Egg quality and egg pigment content in salmonid fishes. *Aquaculture*, 47: 61–88.

Craik JC y Harvey SM, 1984. Egg quality in rainbow trout: the relation between egg viability, selected aspects of egg composition, and time of stripping. *Aquaculture*, 40: 115–134.

Duarte CM y Alcaraz M, 1989. To produce many small or few large eggs: a size-independent reproductive tactic of fish. *Oecologia*, 80: 401–404.

Einum S y Fleming I, 1999. Maternal effects of egg size in brown trout (*Salmo trutta*): norms of reactions to environmental quality. *Proc. R. Soc. Lon.*, 266: 2095–2100.

Einum S, Hendry A y Fleming I, 2000. Egg size evolution in aquatic environments: does oxygen availability constrain size?. *Proc. R. Soc. Lon.*, 269: 2325–2330.

Einum S y Fleming I, 2000. Highly fecund mothers sacrifice offspring survival to maximise fitness. *Nature*, 405: 565–567.

Escaffre AM y Bergot P, 1985. Effet d'une alimentation précoce ou retardée sur la croissance d'alevins de truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*): issus d'ceufs de tailles différentes. *Bull. Fr. Pêche Piscic.*, 296: 17–28.

Fremont L y Riazi A, 1988. Biochemical analysis of vitellogenin from rainbow trout (*Salmo gairdneri*): fatty acid composition of phospholipids. *Reprod. Nutr. Develop.*, 28 (4 A): 939–952.

Gardeur JN, Paspatis M, Gélinau A y Boujard T, 2001. Biostatistical implications of individual variability in growth in rainbow trout and Atlantic salmon. *Aquaculture*, 195: 51–59.

Gordon M, Klotins KC, Campbell VM y Cooper M, 1988. Farmed Salmon Broodstock Management. Canada Research – Vancouver, B.C. 137 p.

Heinimaa S y Heinimaa P, 2004. Effect of the female size on egg quality and fecundity of the wild Atlantic salmon in the sub-arctic River Teno. *Boreal Environment Research*, 9: 55–62.

Hugunin H, Parsons J y Nagler J, 2008. The influence of coelomic fluid on in vitro fertilization success in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 281: 155–157.

Izquierdo MS, Fernández–Palacios H y Tacon AGJ, 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*, 197: 25-42.

Jónsson B y Svavarsson E, 2000. Connection between egg size and early mortality in arctic charr, *Salvelinus alpinus*. *Aquaculture*, 187: 315–317.

Kato T y Kamler E, 1983. Criteria for evaluation of fish egg quality, as exemplified for *Salmo gairdneri* (Rich.). *Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture*, 4: 61–78.

Kiflawi M, 2006. On optimal propagule size and developmental time. *Oikos*, 113: 168-173.

Kjørsvik E, Mangor-Jensen A y Holmefjord T, 1990. Egg quality in fishes. En: Blaxter JHS y Sothward AJ (Eds). *Advances in Marine Biology*, Academic Press. 26: 71–113.

Knox D, Bromage NR, Cowey CB y Springate JR, 1988. The effect of broodstock ration size on the composition of rainbow trout eggs (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 69: 93–104.

Kolm N y Ahnesjö I, 2005. Do egg size and parental care coevolve in fishes?. *Journal of fish biology*, 66: 1499–1515.

Kristjansson LT y Vøllestad LA, 1996. Individual variation in progeny size and quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 27: 335–343.

Lahnsteiner F, Weismann T y Patzner RA, 1999. Physiological and biochemical parameters for egg quality determination in lake trout, *Salmo trutta lacustris*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 20: 375–388.

Lahnsteiner F, 2000. Morphological and biochemical parameters characterizing the over-ripening of rainbow trout eggs. *Fish Physiol Biochem.*, 23:107–118.

Lahnsteiner F, 2002. The influence of ovarian fluid on the gamete physiology in the Salmonidae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 27: 49–59.

Lahnsteiner F y Patzner RA, 2002. Rainbow trout egg quality determination by the relative weight increase during hardening: a practical standardization. *Journal of Applied Ichthyology*, 18: 24–26.

Lahnsteiner S, Soares F, Ribeiro L y Dinis MT, 2008. Egg quality determination in teleost fishes. En: Cabrita E, Robles V y Herráez P (eds). *Methods in reproductive aquaculture – Marine and freshwater species*. CRC Press. 143–180 p.

Léger C, Fremont L, Marion D, Nassour I y Desfarges MF, 1981. Essential fatty acids in trout serum lipoproteins, vitellogenin and egg lipids. *Lipids*, 16 (8): 593–600.

Leray C, Nonnotte G, Roubaud P y Léger C, 1985. Incidence of (n-3) essential fatty acid deficiency on trout reproductive processes. *Reprod Nutr Dev.*, 25 (3): 567-581.

Leitritz E y Lewis RC, 1980. *Trout and Salmon Culture*. California Fish Bulletin 164. University of California, Berkeley, California. 197 p.

Lubzens E, Young G, Bobe J y Cerdà J, 2009. Oogenesis in teleosts: How fish eggs are formed. *Gen. Comp. Endocrinol.* doi:10.1016/j.ygcen.2009.05.022

Mansour N, Lahnsteiner F y Patzner R, 2007. Distribution of lipid droplets is an indicator for egg quality in brown trout, *Salmo trutta fario*. *Aquaculture*, 273: 744–747.

Mansour N, Lahnsteiner F, McNiven M y Richardson G, 2008. Morphological characterization of Arctic char, *Salvelinus alpinus*, eggs subjected to rapid post-ovulatory aging at 7 °C. *Aquaculture*, 279: 204–208.

Milla S, Jalabert B, Rime H, Prunet P y Bobe J, 2006. Hydration of rainbow trout oocyte during meiotic maturation and *in vitro* regulation by 17,20-dihydroxy-4-pregnen-3-one and cortisol. *The Journal of Experimental Biology*, 209: 1147–1156.

Morhead DT, Hart PR, Dunstan DA, Brown M y Pankhurst NW, 2001. Differences in egg quality between wild striped trumpeter (*Latris lineata*) y captive striped trumpeter that were fed different diets. *Aquaculture*, 192: 39–53.

Nordeide JT, 2007. Is there more in “gamete quality” than quality of the gametes? A review of effects of female mate choice and genetic compatibility on offspring quality. *Aquaculture Research*, 38: 1–16.

Ojanguren AF, Reyes-Gavilán FG y Braña F, 1996. Effects of egg size on offspring development and fitness in brown trout, *Salmo trutta* L. *Aquaculture*, 147: 9–20.

Perazzolo LM, Coward K, Davail B, Normand E, Tyler CR, Pakdel F, Schneider W y Le Menn F, 1999. Expression and localization of messenger ribonucleic acid for the vitellogenin receptor in ovarian follicles throughout oogenesis in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Biology of Reproduction*, 60: 1057–1068.

Pereira J, Reis-Henriques M, Sanchez J y Costa J, 1998. Effect of protein source on the reproductive performance of female rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 29 (10): 751–760.

Riazi A, Fremont L y Gozzelino M, 1987. Characterization of egg yolk proteins from rainbow trout *Salmo gairdneri* (Rich.). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 89 (2): 399–407.

Ridelman J, Hardy R y Brannon E, 1984. The effect of short-term starvation on ovarian development and egg viability in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 37: 133–140.

Rime H, Guitton N, Pineau Ch, Bonnet E, Bobe J y Jalabert B, 2004. Post-ovulatory ageing and egg quality: A proteomic analysis of rainbow trout coelomic fluid. *Reprod Biol Endocrinol.*, 2: 26-35.

Samarin A, Ahmadi M, Azuma T, Rafiee G, Amiri B y Naghavi M, 2008. Influence of the time to egg stripping on eyeing and hatching rates in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* under cold temperatures. *Aquaculture*, 278: 195–198.

Schreck CB, Contreras-Sánchez WM y Fitzpatrick CM, 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. *Aquaculture*, 197: 3-24.

Shibata N, Yoshikuni M y Yoshitaka N, 1993. Vitellogenin incorporation into oocytes of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, in vitro: effects of hormones on denuded oocytes. *Develop. Growth & Differ.*, 35 (1): 115–121.

Springate JRC, Bromage NR, Elliot JAK y Hudson DL, 1984. The timing of ovulation and stripping and their effects on the rates of fertilization and survival of eyeing, hatching and swim-up in the rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Aquaculture*, 43: 313–322.

Stoddard JW, Parsons JE y Nagler JJ, 2005. Early onset of embryonic mortality in sub-fertile families of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Reprod Fertil Dev.*, 17 (8): 785-790.

Shields RJ, Brown NP y Bromage NR, 1997. Blastomere morphology as a predictive measure of fish egg viability. *Aquaculture*, 155: 1-12.

Su G, Liljedahl L y Gall G, 1997. Genetic and environmental variation of female reproductive traits in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 154: 115-124.

Su G, Liljedahl L y Gall G, 2002. Genetic correlations between body weight at different ages and with reproductive traits in rainbow trout. *Aquaculture*, 213: 85–94.

Tyler CR, Sumpter JP y Witthames PR, 1990. The dynamics of oocyte growth during vitellogenesis in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biology of Reproduction*, 43: 202–209.

Tyler CR, Pottinger TG, Santos E, Sumpter JP, Price SA, Brooks S y Nagler JJ, 1996. Mechanisms Controlling Egg Size and Number in the Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Biology of reproduction*, 54: 8–15.

Tveiten H, Jobling M y Andreassen I, 2004. Influence of egg lipids and fatty acids on egg viability, and their utilization during embryonic development of spotted wolf-fish, *Anarhichas minor* Olafsen. *Aquaculture Research*, 35: 152–161.

Valdimarsson S, Skúlason S y 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.

Vandeputte M, Quillet E y Chevassus B, 2002. Early development and survival in brown trout (*Salmo trutta fario* L.): indirect effects of selection for growth rate and estimation of genetic parameters. *Aquaculture*, 204: 435–445.

Vasallo–Agius R, Watanabe T, Yoshizaki G, Satoh S y Takeuchi Y, 2001. Quality of eggs and spermatozoa of rainbow trout fed an n -3 essential fatty acid – deficient and its effects on the lipid and fatty acid components of eggs, sperm and livers. *Fisheries Science*, 67: 818–827.

Washburn B, Frye D, Hung S, Doroshov S y Conte F, 1990. Dietary effects on tissue composition, oogenesis and the reproductive performance of female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 90: 179–195.

Wiegand M, 1996. Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleost fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 6: 259-286.

Wojtczak M, Kowalskia R, Doboszb S, Goryczkob K, Kuz´minskib H, Glogowskia J y Ciereszko A, 2004. Assessment of water turbidity for evaluation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) egg quality. *Aquaculture*, 242: 617–624.

Zangh H, Gall GAE y Hung SS, 1990. Effect of sire, diet and week of spawning on volume of eggs retained by artificially spawned rainbow trout. *Aquaculture*, 87: 23–33.

2. Relación entre parámetros dimensionales y la calidad de la ova en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*)

Resumen

Con el objetivo de predecir el comportamiento en supervivencia de lotes de ovas de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), se seleccionaron por ovulación comprobada un total de 58 reproductoras, sobre las cuales se adelantó un seguimiento individual, desde el desove hasta finalizar las etapas de incubación y reabsorción de vesícula en las larvas. Las variables asociadas a las características tanto de las hembras (longitud total, peso, número de huevos, fecundidad absoluta y relativa), como de los huevos (diámetro, peso, volumen, densidad, mortalidad inicial, porcentaje de hidratación), se relacionaron con cinco índices de eficiencia, calculados para las etapas clave del proceso, así: IE OVEM (Índice de eficiencia en la etapa Ova Verde-Ova Embrionada), IE OEEC (Índice de Eficiencia en la etapa Ova Embrionada-Eclosión), IEI (Índice de Eficiencia en Incubación), IE LARV (Índice de Eficiencia en la etapa de reabsorción de vesícula), IEI TOT (Índice de Eficiencia Total). Se efectuaron análisis de correlaciones entre los pares de variables con el fin de proceder a un análisis de regresión que permitiera definir un modelo. Con el peso de la ova y la mortalidad inicial se determinaron dos modelos que, aunque significativos, sólo permiten un limitado nivel de predicción hasta la etapa de embrionamiento. Utilizando esta última etapa de desarrollo es posible establecer modelos lineales entre el embrionamiento y los índices de eficiencia en incubación y total, los que predicen con elevados coeficientes de determinación (94,9% 94,3% respectivamente) los resultados del proceso.

Palabras clave: calidad del huevo, reproducción, trucha arco iris, *Oncorhynchus mykiss*.

2.1 Introducción

El control de la calidad del huevo en peces es un primer acercamiento a la determinación de la posible calidad de los alevinos y tiene particular importancia en esquemas de producción; esto es especialmente válido cuando se trata de especies con alto valor o de difícil reproducción y mantenimiento. Además, en cuanto ciertas rutinas de manejo con esquemas de revisión constante pueden ocasionar efectos negativos por excesiva manipulación, la definición de marcadores de calidad de puede convertir en una importante herramienta de manejo (Lahnsteiner, 2000), pues una de las metas básicas en piscicultura es la producción de un número elevado de alevinos viables (Kjørsvik *et al.*, 1990), que adicionalmente expresen una elevada supervivencia en estadios posteriores (Lubzens *et al.*, 2009).

Los primeros estudios de calidad se basaron en mediciones de diámetro, morfología, flotabilidad, tasas de fertilización y de eclosión, todos insuficientes para valorar la puesta y explicar dentro de un mismo grupo la elevada variabilidad en la respuesta que es normalmente registrada; en el caso de las truchas esta es precisamente la situación, lo que ha sido ampliamente documentado a través de los años en una diversidad de trabajos (Craig y Harvey, 1984; Bromage *et al.*, 1992; Bromage *et al.*, 1994; Bonnet *et al.*, 2007; Bobe y Labbé, 2010). En los últimos años se han considerado factores como la simetría celular, composición del vitelo, enzimas para intermediarios de metabolismo y herramientas moleculares, todos más precisos posiblemente, pero sin duda más costosos. Parámetros morfológicos, morfométricos, fisiológicos, microbiológicos y bioquímicos resumen el universo de factores que podrían modular la calidad, incluso para que de una forma indirecta, pero efectiva, se disponga de herramientas para valorar el desempeño reproductivo de los planteles.

Hasta la fecha, sin embargo, no se dispone de una consolidación efectiva y práctica de factores determinantes (indicadores) que sean, o bien utilizables o bien con demostrada relación para el conjunto de especies que son de interés comercial. Parámetros que para un grupo se traducen en modelos matemáticos con algún grado de significancia, no representan validez para otros. En ese sentido, el presente trabajo se plantea con el objetivo de definir la existencia de posibles relaciones entre las variables que se

consideran definitorios en la calidad de la ova y los resultados que se obtienen en un ciclo de cría convencional de semilla de truchas. La determinación de estas relaciones de causa efecto entre las variables y algunos parámetros, específicamente de tipo dimensional o morfométrico, de la ova y los índices de eficiencia temprana de viabilidad para trucha arco iris, se enfocó hacia la posibilidad de establecer modelos de carácter predictivo.

2.2 Materiales y métodos

2.2.1 Localización

Para la obtención de los huevos y para adelantar los procedimientos de fertilización, los ejemplares trabajados provinieron de un plantel de reproductoras ubicado en una explotación de truchas dedicada a la producción de peces de consumo a partir de alevinos nacionales, es decir, sin que mediara la aplicación de procedimientos técnicos dirigidos a la obtención de semilla solo hembra. Se localiza en el municipio de Guasca (Cundinamarca, Colombia), a unos 2850 msnm y se surte de las aguas del río Chigüanos, con aproximadamente 11°C de temperatura media. Para efectos reproductivos, la rutina de revisión sobre el lote de ejemplares fue establecida en periodos de cada 10 días. En la alimentación se utilizó concentrado comercial formulado para la fase de finalización de truchas (43% PB), conteniendo pigmento y que se suministró *ad libitum* en dos raciones/día. Así, el régimen de trabajo sobre los reproductores fue similar en términos de densidades, mantenimiento y actividades de manejo general.

Por otra parte, una vez obtenidas las puestas, estas fueron trasladadas a las instalaciones de producción de una explotación diferente, especializada en el manejo de ovas y alevinos. Se ubica igualmente en el municipio de Guasca y a una altura equivalente. En este caso la fuente es el río Siecha (80 L s⁻¹) y la temperatura del agua en el sistema de incubación fue de 9,36 ± 1,04 °C durante el periodo de estudio.

2.2.2 Desove y fertilización

De forma semanal y durante 30 días, 58 ejemplares divididos en 4 grupos de hembras de trucha arco iris se seleccionaron por características de madurez, separadas del lote principal de reproductoras, manejadas y desovadas. Antes del desove, se registraron datos de longitud total (con aproximación al cm) y peso (con aproximación de 25 g). Para el manejo de los individuos se utilizó como anestésico Metasulfonato de Tricaina (MS 222®) en 75 ppm.

Las puestas fueron recibidas sobre coladores plásticos para drenar excesos de líquido ovárico y, posteriormente, se ubicaron en recipientes plásticos previamente pesados (con aproximación a 0,1 g). Se evaluaron visualmente para identificar evidencias de sobremaduración y definir rechazos. Solamente se utilizaron aquellas con características primarias aparentemente aptas para proceder con la fertilización (n = 58) y para cada una se empleó el esperma de al menos tres machos. Se registró el peso de cada puesta (con aproximación a 0,1 g) para determinar, por gravimetría, valores de fecundidad absoluta y relativa.

En la fertilización, el esperma fue extraído mediante masajes manuales y recibido directamente sobre los huevos, mezclando continuamente en medio seco. Después de 5 min, se continuó con la hidratación (60 min) y lavado completo del material antes de su traslado. Ya en la segunda localización y previamente al ingreso a incubación se tomaron medidas de diámetro (mm), peso (g) y volumen (mL) de cada puesta obtenida. Las ovas se ubicaron en incubadoras de flujo vertical, separadas individualmente por puesta/hembra. En estas se adelantó el seguimiento completo desde la fertilización hasta la eclosión y, desde aquí, hasta que finalizó la etapa de reabsorción de vesícula.

La mortalidad se retiró periódicamente y se calcularon índices parciales de eficiencia en el periodo de ova verde, embrionada, eclosión y alevinos comiendo. Una muestra de 15 - 20 g de las ovas de cada hembra fue retirada con el fin de adelantar análisis complementarios sobre composición.

2.2.3 Incubación y larvicultura

Durante el seguimiento del desarrollo embrionario, se utilizaron incubadoras verticales para salmónidos (Tipo Heath), modificadas para permitir el manejo simultáneo de 3 puestas independientes en cada una de las bandejas, sin superar el máximo recomendado de 1 L de ovas/bandeja (Gordon *et al.*, 1988). El transporte de las ovas desde el sitio de recolección hasta las instalaciones de incubación se realizó con cada puesta en un frasco plástico con tapa, ubicados en neveras térmicas para garantizar una temperatura estable. El tiempo de traslado no superó los 30 min, el que se considera seguro dadas las 24 h que, como máximo, las ovas soportan en transporte después de ser fertilizadas.

Desde su ingreso a incubación, la rutina básica de manejo consistió tanto en la limpieza diaria de las bandejas para evacuar sedimentos, como el retiro y registro constante de la mortalidad, incluyendo la medición diaria (8 am, 12 m y 5 pm) de la temperatura de agua. Salvo la revisión continua del estado de las ovas y el registro de la mortalidad inicial (24 h después del ingreso), la primera de las limpiezas se programó hasta el 7 – 9 día de desarrollo, momento en el cual también se obtuvo una muestra para evaluar el porcentaje de fertilización. Desde este día y hasta el embrionamiento (día 20 – 22) la actividad de limpieza se realizó cada dos días. Para efectos de registro y posteriores cálculos de eficiencia, los consolidados de mortalidad se agruparon en:

- Días 1 – 20: fase de ova verde (180 – 220 grados día⁻¹)
- Días 20 – eclosión: fase de embrionamiento (100 – 120 grados día¹)
- Eclosión – reabsorción: fase de larvicultura (180 – 200 grados día⁻¹)

La etapa de reabsorción de vesícula se adelantó directamente en las incubadoras y, al presentarse los primeros movimientos natatorios de las larvas, estas se retiraron y contaron para ajustar definitivamente los datos reales de ingreso y las pérdidas totales. El día de inicio de alimentación exógena marcó el final del seguimiento en mortalidad para cada lote de alevinos y los últimos registros tomados sobre los lotes correspondieron a mediciones en longitud total (cm) y peso (g) sobre una muestra de los alevinos de cada grupo.

2.2.4 Datos experimentales

Los datos tomados se ajustaron con base en el seguimiento individual de las puestas obtenidas, abarcando el proceso completo del desarrollo embrionario desde el momento de la fertilización hasta la finalización de la fase de reabsorción del saco vitelino, cuando para cada lote de larvas se confirmó la aceptación de alimentación exógena, lo que determinó la completa reabsorción de vesícula. Con la finalización de los desoves en la cantidad y metodología anotada, para cada una de las hembras seleccionadas se obtuvo un conjunto de 12 variables, determinadas así:

- **Peso hembra (Kg):** cada ejemplar fue pesado utilizando una balanza con aproximación a los 25 g.
- **Longitud total (cm):** se empleó un ictiometro y la aproximación se hizo al centímetro más cercano.
- **Peso ovas (g):** el producto individual fue recibido en un recipiente plástico previamente pesado (aproximación de 1 g); la diferencia entre el peso del recipiente y del recipiente + ovas representó el valor que corresponde al peso de los huevos obtenidos. Aunque estos datos en sí mismos no fueron utilizados en los análisis, permitieron calcular, como se anotará, el valor del porcentaje de hidratación.
- **Volumen ovas (mL):** el total de cada puesta fue medido en volumen, mediante probeta graduada de 500 mL y aproximación a 1 mL.
- **Número de ovas:** se estableció un número inicial que fue estimado por volumetría. De acuerdo a los resultados en la reglilla de Von Bayer (se explica a continuación) y el registro del volumen total de huevos/hembra se calculó el total de huevos producidos por cada ejemplar. Este primer registro actuó como referencia durante el tiempo de seguimiento. Al finalizar la etapa de reabsorción, los alevinos obtenidos fueron contados, cantidad a la cual se le adicionó el total de pérdidas durante el proceso, permitiendo calcular el número real de ovas que ingresó al proceso de incubación.
- **Fecundidad:** se calculó en términos relativos, es decir ovas/unidad de biomasa (Kg, en este caso). Para el efecto se utilizó la relación:

$$\text{Fecundidad} = (\text{N}^{\circ} \text{ ovas} * 1000) / \text{Peso de la hembra}$$

- **Hidratación (%):** se refiere a la diferencia entre el peso de las ovas obtenidas por cada hembra en el momento del desove y el peso que corresponde a la puesta una vez finalizó el procedimiento de hidratación. Se expresa en porcentaje (%) y se calculó utilizando la siguiente relación:

$$\% \text{ Hidratación} = ((\text{Peso ovas hidratadas} - \text{Peso desove}) * 100) / \text{Peso ovas hidratadas}$$

- **Diámetro (mm):** se estimó utilizando el método de Von Bayer. Para el efecto, en una reglilla en forma de V, de 12,5" (31,75 cm aproximadamente), graduada en mm, se localizan tantas ovas como sea necesario para completar la longitud, las cuales son finalmente contadas. Con este método se facilita el cálculo del total en la puesta a través de la determinación del diámetro medio de una muestra, en cuanto la relación entre este valor promedio y el número de ovas es fuerte y significativa ($r = 0,998$), lo que permite una aproximación consistente a la fecundidad cuando se compara con conteos directos (Bromage y Cumaranatunga, 1988). De cada una de las hembras se obtuvieron entre 3 y 5 registros, los que fueron promediados. La cantidad de las ovas en la reglilla se corresponde entonces, según la tabla de relaciones que establece el método, a un valor de ovas mL^{-1} , el que adicionalmente permite, con el volumen total, calcular la cantidad de ovas en la puesta.
- **Peso ova (mg):** para determinar el peso se utilizaron las ovas provenientes de las muestras sobre las cuales se calculó el diámetro. Se empleó una balanza con aproximación a 0,1 g, y sobre cada hembra se realizaron entre 3 y 5 mediciones.
- **Volumen ova (mm^3):** asumiendo la cercanía funcional a la forma esférica de la ova, se utilizó la siguiente fórmula para determinar el volumen medio en la puesta (en mm^3):

$$\text{Volumen ova} = (4\pi r^3) / 3$$

- **Densidad ova (mg/mm^3):** la relación matemática peso/volumen define la densidad media/ova
- **Factor de Fertilización (FF):** la determinación de este parámetro se efectuó al alcanzar un acumulado de 70 – 100 grados día⁻¹ (entre 7 y 9 d) de desarrollo; una muestra del lote se incluyó en solución aclaradora de ácido acético: agua: etanol (en

proporción de 1: 1: 1 v/v) durante 1 a 2 min (Gordon *et al.*, 1988). La observación clara del cordón neural, de unos 3 mm de longitud, fue el indicador de desarrollo normal del proceso de evolución embrionaria. La relación entre el número de ovas normales y la cantidad de huevos no fertilizados corresponde al valor que toma FF, con el que se estimó tanto la cantidad real de ovas/reproductora que ingresó al proceso como, posteriormente, el ajuste proporcional de las pérdidas por causa de la mortalidad en las fases parciales.

- **Mortalidad inicial (M_1):** correspondió a las pérdidas causadas en las primeras 24 horas post fertilización. Con base en la cantidad de ovas producidas, este valor se ajustó en términos de porcentaje. El número de ovas retirado no se consideró dentro de los cálculos por mortalidad al momento de determinar la supervivencia.

Como variable respuesta global se establece la supervivencia. Con base en los datos de las pérdidas en cada conjunto individual de ovas, se calcularon 5 índices de eficiencia (3 parciales y 2 totales), estimados en términos de proporción (con valores entre 0 y 1) para las etapas que configuran el proceso completo, así:

IE OVEM: corresponde al índice de eficiencia en la fase de ova verde a ova embrionada. Mide la supervivencia desde el momento de la fertilización (sin considerar la mortalidad inicial – M_1) 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 termina la eclosión hasta que los peces aceptan

alimentación exógena. Se estimó con la relación: Número de alevinos comiendo/Número de larvas eclosionadas.

IEI 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.

2.2.5 Análisis estadístico

La aproximación primaria a las posibles relaciones entre los datos se efectuó mediante análisis exploratorios a través de diagramas de dispersión, verificación de la normalidad de las variables mediante la prueba de Shapiro-Wilk ($\alpha=0,05$) y determinando los coeficientes de correlación de Pearson entre estas. Posteriormente se realizó un análisis de regresión lineal múltiple para establecer modelos de predicción de los índices de eficiencia reproductiva en función de las mediciones tomadas en las hembras, las ovas y los índices de eficiencia reproductiva en las primeras etapas del proceso. En la construcción se comprobó la significancia de los modelos ($\alpha=0,05$); así mismo, la significancia de los coeficientes de regresión de las variables incluidas en los modelos ($\alpha=0,05$) fue verificada, al igual que la no colinealidad entre las variables incluidas. Los valores del coeficiente de Determinación (R^2) y de Determinación ajustado (R^2 ajustado) se utilizaron como criterio para determinar la validez de los modelos. Estos se ajustaron indicando el subprocedimiento stepwise del procedimiento REG del programa estadístico SAS V.8.0. Los datos se presentan como el promedio \pm DE.

2.3 Resultados

La temperatura en incubación fue de $9,36 \pm 1,04^\circ\text{C}$ durante el periodo de seguimiento; entre la fertilización y la eclosión, la duración del proceso fue de 318 grados día⁻¹ en promedio, con un rango que entre los lotes se ubicó entre los 31 y los 36 días. Los registros individuales en las variables morfométricas y de producción que corresponden a cada una de las hembras se presentan en la tabla 2-1.

Tabla 2-1: Registros morfométricos y de producción general de ovas en cada uno de los ejemplares experimentales

Hembra	Peso (g)	LT ¹ (cm)	Vol ² (mL)	Número ovas	Fec ³ (ovas Kg ⁻¹)
1	2250	54	495	3319	1475,1
2	1625	51	270	1833	1128
3	1625	48	210	2096	1289,8
4	1500	49	325	3552	2368
5	2650	57	265	2840	1071,7
6	2375	56	450	3392	1428,2
7	2000	53	360	2981	1490,5
8	2250	51	375	3621	1609,3
9	1500	48	265	2010	1340
10	2350	54	293	2679	1140
11	2050	55	425	3551	1732,2
12	1800	47	365	3134	1741,1
13	1950	53	400	3319	1702,1
14	1600	47	385	3402	2126,3
15	2350	53	405	3682	1566,8
16	1950	51	385	3351	1718,5
17	1700	48	340	3180	1870,6
18	2175	53	560	4499	2068,5
19	1900	50	195	1491	784,7
20	1900	50	480	4379	2304,7
21	2825	63	360	2934	1038,6
22	1800	49	215	2289	1271,7
23	1850	50	238	2474	1337,3
24	1500	45	290	2825	1883,3
25	3275	60	606	5484	1674,5
26	1600	47	340	3072	1920
27	3700	67	745	5636	1523,2
28	1850	51	380	3193	1726,1
29	1900	50	495	5329	2804,6
30	1500	47	270	3402	2267,8
31	2350	53	390	3140	1336,3
32	1500	47	270	2986	1990,9
33	2125	50	430	3671	1727,4
34	2225	51	415	3077	1382,8

Tabla 2-1: (Continuación) Registros morfométricos y de producción general de ovas en cada uno de los ejemplares experimentales

Hembra	Peso (g)	LT (cm) ¹	Vol (mL) ²	Número ovas	Fec (ovas/Kg) ³
35	2100	51	360	3526	1679,2
36	2325	52	405	3720	1599,9
37	2250	55	365	3302	1467,4
38	1925	49	470	3788	1967,5
39	1700	47	325	2930	1723,7
40	2300	54	420	2971	1291,8
41	2225	51	340	2365	1063
42	2425	51	500	3915	1614,4
43	1925	49	405	2982	1549,1
44	2275	52	415	4314	1896,3
45	1800	49	255	1931	1072,7
46	2475	54	445	3557	1437,2
47	2475	55	445	4125	1666,5
48	2250	50	255	2931	1302,7
49	1750	51	405	3902	2229,7
50	2000	50	480	3639	1819,6
51	2275	53	370	2703	1188,1
52	1750	47	330	3913	2236
53	1850	49	320	3016	1630,5
54	1700	48	355	3062	1800,9
55	2125	51	330	2534	1192,5
56	1975	39	320	2678	1355,9
57	2150	55	455	3160	1469,8
58	3000	59	503	4891	1630,5

¹LT: longitud total; ²Vol: volumen de ovas producidas; ³Fec: fecundidad relativa

La longitud total promedio de las hembras trabajadas fue de $51,4 \pm 4,36$ cm, en un rango de 39 a 67 cm (CV = 8,5%). El peso medio fue de $2078 \pm 432,9$ g (rango de 1500 a 3700 g y CV = 20,8%). La tabla 2-2 resume los datos obtenidos para las variables dimensionales evaluadas.

Tabla 2-2: Variables de caracterización de las ovas para cada una de las hembras en seguimiento

Hembra	Hid (%) ¹	Diam (mm) ²	W ova (mg) ³	Vol (mm ³) ⁴	Den (mg/ml) ⁵	FF ⁶	M ₁ (%) ⁷
1	27,95	5,0522	79,85	0,079	1010,4	0,8493	10,21
2	14,04	4,8641	72,86	0,0708	1029,8	0,9625	49,31
3	8,48	4,9967	78,69	0,0787	1000	0,9265	23,19
4	17,95	4,8129	67,91	0,0637	1066,2	0,9577	8,61
5	14,13	4,943	71,34	0,0659	1081,8	0,7123	41,16
6	21,06	5,3166	93,02	0,0838	1110,5	0,8971	33,25
7	5,62	5,2255	86,28	0,084	1027,3	0,7975	12,55
8	25,21	4,9699	72,28	0,0674	1072,7	0,6753	14,33
9	26,39	5,2255	85,14	0,0794	1071,9	0,8	9,85
10	26,29	4,8905	71,93	0,0675	1065,1	0,7817	21,8
11	27,14	5,0245	77,47	0,0742	1044,4	0,8594	15,91
12	27,83	4,9161	71,77	0,0679	1057,4	0,8906	11,74
13	20,8	4,9833	74,11	0,0719	1030,2	0,8286	29,26
14	23,82	4,8905	68,99	0,0663	1040,2	0,9298	22,96
15	21,17	4,9296	73,85	0,0698	1057,8	0,9663	20,75
16	26,52	4,9967	75,14	0,0736	1020,4	0,9149	22,95
17	14,68	4,9031	73,73	0,0729	1011,1	0,5891	77,42
18	19,99	5,0944	78,83	0,0772	1021,7	0,8444	30,25
19	17,52	4,8641	71,8	0,068	1056,6	0,6494	62,31
20	17,4	4,9833	76,03	0,0741	1025,7	0,8915	55,49
21	27,15	5,0106	76,17	0,0749	1016,4	0,1905	22,7
22	16,5	4,5722	59	0,057	1035,1	0,1009	38,44
23	30,33	5,2736	88,24	0,0855	1032,3	0,8621	31,37
24	19,55	4,9166	72,62	0,0702	1034,5	0,4603	24,96
25	17,74	5,3951	95,29	0,0923	1031,9	0,5	29,3
26	12,01	4,6892	64,62	0,0615	1050	0,6087	19,56
27	25,21	5,4429	115,48	0,0762	1515,6	0,6618	
28	29,54	5,2552	98,85	0,0874	1131,6	0,7079	
29	25,37	4,8381	75,13	0,0734	1023,4	0,9573	
30	13,67	4,5906	67,84	0,066	1028,5		
31	31,05	5,08	95,56	0,0911	1048,8	0,9495	39,87
32	31,16	4,6182	74,24	0,0722	1028	0,9146	23,51
33	23,16	4,8771	79,14	0,0804	984,3	0,8571	41,08
34	25,36	5,0384	85,64	0,0839	1020,9	0,9438	52,65

Tabla 2-2: (Continuación) Variables de caracterización de las ovas para cada una de las hembras en seguimiento

Hembra	Hid (%) ¹	Diam (mm) ²	W ova (mg) ³	Vol (mm ³) ⁴	Den (mg/ml) ⁵	FF ⁶	M ₁ (%) ⁷
35	6,74	5,08	99,44	0,0938	1060,7	0,869	61,11
36	27,7	4,8966	85,57	0,0819	1044,4	0,9125	35,81
37	23,05	4,9564	90,21	0,087	1036,9	0,99	4,66
38	26,51	5,08	98,33	0,0958	1026,1	0,9865	6,28
39	26,87	4,9564	84,9	0,0821	1033,8	0,9322	11,09
40	23,88	5,2552	107,47	0,104	1033,1	0,913	4,14
41	24,26	5,3474	112,28	0,1094	1026,7	0,9692	31,25
42	27,86	5,1661	100,56	0,0977	1028,9	0,9221	18,31
43	25,26	5,2195	87,33	0,0887	985	0,8091	1,48
44	14,66	4,7259	66,67	0,0636	1048,8	0,5	19,54
45	18,13	5,2552	91,81	0,0953	963,8	0,6703	42,57
46	23,23	4,9005	73	0,0701	1041,2	0,8846	9,61
47	24,91	5,1317	81,82	0,0781	1047,3	0,8	1,09
48	4,71	4,7332	68,95	0,0665	1037,3		
49	21,51	4,8411	67,98	0,0664	1024	0,9072	11,38
50	25,26	5,3013	89,57	0,0857	1045,6	0,6164	4,18
51	21,65	5,2552	92,24	0,0897	1028,8	0,8791	5,4
52	23,08	4,4935	58,97	0,0555	1061,9	0,8851	11,6
53	24,84	4,8698	76,38	0,069	1106,5	0,8077	4,48
54	24,98	4,5607	58,61	0,0554	1058,5	0,9324	1,7
55	22,18	5,1238	87,41	0,0845	1035	0,2264	12
56	23,19	5,1667	80,68	0,0757	1066,5	0,5652	1,38
57	19,68	5,3474	94,3	0,0899	1048,8	0,8763	8,92
58	13,39	4,9166	74,53	0,0729	1022,7	0,8841	26,33

¹Hid: porcentaje de hidratación; ²Diam: diámetro de la ova; ³W ova: peso de la ova; ⁴Vol: volumen de la ova; ⁵Den: densidad de la ova; ⁶FF: factor de fertilización; ⁷M₁: mortalidad inicial (ver texto). Las celdas en blanco corresponden a registros no obtenidos.

En la tabla 2-3 se especifican los índices de eficiencia que fueron calculados para cada una de las hembras desde la fertilización hasta el estadio de alevinos comiendo.

Tabla 2-3: Índices de Eficiencia parciales y totales durante el proceso de incubación y larvicultura, estimados para cada una de las hembras bajo seguimiento

Hembra	IE OVEM ¹	IE OEEC ²	IEI ³	IE LARV ⁴	IEI TOT ⁵
1	0,4127	0,8841	0,3649	0,9618	0,3509
2	0,7176	0,9947	0,7138	0,9914	0,7912
3	0,6604	0,9675	0,6389	0,9741	0,6224
4	0,5791	0,9464	0,548	0,9607	0,5265
5	0,8486	0,8417	0,7143	0,9276	0,6625
6	0,7166	0,9781	0,7009	0,975	0,6833
7	0,4741	0,6564	0,3112	0,9501	0,2957
8	0,5932	0,7815	0,4636	0,9616	0,4458
9	0,7518	0,9525	0,7161	0,9564	0,6849
10	0,4156	0,7606	0,3161	0,9888	0,3126
11	0,4438	0,6346	0,2816	0,9839	0,2771
12	0,3225	0,6979	0,2251	0,9808	0,2208
13	0,6634	0,7436	0,4933	0,9853	0,486
14	0,3415	0,5023	0,1715	0,9932	0,1704
15	0,168	0,9051	0,1521	0,9978	0,1517
16	0,2022	0,9042	0,1828	0,9978	0,1824
17	0,9525	0,9758	0,9295	1	0,9295
18	0,4769	0,7088	0,338	0,9891	0,3344
19					
20	0,7808	0,9394	0,7335	0,9813	0,7198
21					
22					
23	0,8743	0,9384	0,8204	0,9915	0,8135
24	0,7202	0,8501	0,6123	0,9968	0,6103
25	0,7978	0,85	0,6781	0,9799	0,6645
26	0,8475	0,7631	0,6467	0,9841	0,6364
27					
28					
29					
30					
31	0,4485	0,7742	0,3472	0,9694	0,3366
32	0,505	0,7945	0,4012	0,9685	0,3886
33	0,1651	0,5376	0,0888	0,9301	0,0826
34	0,1868	0,8889	0,166	0,9632	0,1599

Tabla 2-3: (Continuación) Índices de Eficiencia parciales y totales durante el proceso de incubación y larvicultura, estimados para cada una de las hembras bajo seguimiento

Hembra	IE OVEM ¹	IE OEEC ²	IEI ³	IE LARV ⁴	IEI TOT ⁵
35	0,1805	0,5722	0,1033	0,8805	0,0909
36	0,7783	0,9701	0,755	0,9598	0,7246
37	0,9264	0,9176	0,85	0,9823	0,835
38	0,9034	0,9755	0,8812	0,9851	0,8681
39	0,7837	0,8499	0,6661	0,955	0,6361
40					
41	0,8628	0,9496	0,8193	0,9678	0,7929
42	0,8049	0,972	0,7823	0,9662	0,7559
43	0,5425	0,7405	0,4018	0,9929	0,3989
44	0,2089	0,8774	0,1833	0,957	0,1754
45	0,1604	0,814	0,1305	0,8429	0,11
46	0,5409	0,8022	0,4339	0,9861	0,4279
47	0,852	0,9611	0,8189	0,9987	0,8178
48					
49	0,7601	0,7282	0,5535	0,9993	0,5532
50	0,6391	0,8494	0,5428	1	0,5428
51	0,7442	0,8983	0,6685	0,9922	0,6633
52	0,4856	0,9258	0,4496	0,9974	0,4484
53	0,8446	0,9852	0,8321	0,985	0,8196
54	0,6989	0,7939	0,5548	0,9938	0,5514
55	0,4788	0,639	0,306	0,9924	0,3036
56	0,261	0,9587	0,2503	0,9913	0,4682
57	0,8854	0,9703	0,8591	0,9989	0,8582
58	0,3726	0,5199	0,1937	0,9496	0,1839

¹IE OVEM: Índice de eficiencia en la etapa ova verde-ova embrionada; ²IE OEEC: Índice de Eficiencia en la etapa ova embrionada-eclosión; ³IEI: Índice de Eficiencia en Incubación; ⁴IE LARV: Índice de Eficiencia en la etapa de reabsorción de vesícula; ⁵IEI TOT: Índice de Eficiencia Total (ver texto). Las celdas en blanco corresponden a registros no obtenidos.

Finalmente, de los 58 lotes de ovas que fueron obtenidos inicialmente, en 49 se obtuvieron alevinos. En estos últimos, en el momento de la primera alimentación, el promedio en longitud total de los peces fue de $2,26 \pm 0,1$ cm, con una elevada homogeneidad, representada por un CV = 4,33%, en un rango de 2 a 2,39 cm. El peso

promedio, más variable, fue de $0,127 \pm 0,024$ g (rango de 0,075 a 0,202 g y CV = 18,95%).

La evaluación de la normalidad indicó que con excepción del FF (factor de fertilización), el porcentaje de hidratación, M_1 (mortalidad inicial), IE OVEM (Índice de eficiencia en la etapa ova verde-ova embrionada), IE OEEC (Índice de Eficiencia en la etapa ova embrionada-eclosión), IEI (Índice de Eficiencia en Incubación), IE LARV (Índice de Eficiencia en la etapa de reabsorción de vesícula), IEI TOT (Índice de Eficiencia Total) no siguieron una distribución normal. Por el contrario, las variables diámetro, volumen, peso y densidad de la ova se distribuyeron normalmente.

Con base en lo anterior y para mejorar las correlaciones se realizó una depuración de los datos obtenidos en el primer indicador de viabilidad que se utiliza en sistemas de producción de semilla de truchas (FF). Así, se adelantaron los análisis eliminando los valores de $FF \leq 0,75$, como una restricción que es utilizada por productores y que puede definir la decisión de mantenimiento de un lote dado en un proceso de incubación y, por lo tanto, válido en términos de un primer acercamiento. El resultado final de esta aplicación generó un total de 38 individuos con seguimiento y respuesta total durante la fase. Las correlaciones entre los índices de eficiencia reproductiva y las mediciones realizadas en la ova se presentan en la tabla 2-4.

El índice de eficiencia total (IEI TOT) se correlacionó fuertemente con el índice de eficiencia en incubación (IEI; $r = 0.998$), con el índice de eficiencia de ova embrionada (IE OVEM; $r = 0.971$) y, en menor grado, con el índice en ova eclosionada (IE OEEC; $r = 0.761$). A su vez, el IEI se asoció más con el IE OVEM ($r = 0.974$) que con el IE OEEC ($r = 0.758$). El coeficiente de correlación entre IE OVEM y IE OEEC fue también relevante, con $r = 0.620$. Estos antecedentes sugieren que el principal determinante para predecir la eficiencia global del proceso se focaliza en la eficiencia en incubación y no en la eficiencia en larvicultura, la cual se caracteriza por ser alta (≥ 0.950 ; promedio 0.980) y parece no ser limitante dentro del proceso. Por el contrario, la eficiencia en incubación presentó una mayor variación, oscilando entre 0.172 y 0.881 la cual, atendiendo a los coeficientes de correlación expuestos, parece depender más de la eficiencia en ova embrionada que de la que se da hasta la eclosión. En este sentido, se evidencia que la

eficiencia en ova embrionada es un parámetro de gran asociación con las eficiencias parciales y la eficiencia global del proceso.

Tabla 2-4: Coeficientes de correlación entre índices de eficiencia reproductiva y parámetros dimensionales en ovas

	M_1	IEOVEM	IEOEEC	IEI	IELARV	IEITOT
IEOVEM	-0,344	1				
IEOEEC	-0,158	0,62	1			
IEI	-0,285	0,974	0,758	1		
IELARV	-0,464	0,329	0,358	0,306	1	
IEITOT	-0,273	0,971	0,761	0,998	0,332	1
FF	0,171	0,078	0,254	0,129	0,05	0,135
HID	-0,261	0,127	0,203	0,137	0,362	0,125
Diámetro	0,061	0,262	0,181	0,284	-0,09	0,271
W ova	0,189	0,307	0,23	0,353	-0,35	0,332
Volumenova	0,196	0,273	0,183	0,31	-0,344	0,29
Densidadova	-0,121	0,162	0,256	0,206	0,052	0,2

Con base en estos resultados, al tratar de explicar su comportamiento en función de parámetros dimensionales, además de otros indicadores como la mortalidad inicial y el porcentaje de hidratación, se obtienen los modelos que se presentan en la tabla 2-5. En el modelo 1 se predice la IE OVEM en función del peso de la ova y la mortalidad inicial (M_1); los coeficientes de regresión sugieren que el incremento en el peso de la ova tiene un efecto equivalente sobre IE OVEM y, por el contrario, los incrementos en la mortalidad inicial generan una disminución en tal eficiencia (por cada unidad porcentual de incremento en M_1 , el IE OVEM se disminuye en 0.006). Este modelo explica el 26,2% de la variación el IE OVEM, valor que se considera reducido en términos prácticos. Con el modelo 2 se mejora el coeficiente de determinación del primer modelo, lo cual se alcanza mediante la transformación $\arcsen \sqrt{M_1}$ y de la variable respuesta (IE OVEM) las que, tal como fue expuesto, carecían de normalidad. Quinn y Keough (2002) sugieren que la transformación de variables puede mejorar la linealidad de las relaciones y mejorar los modelos de regresión. Con esta modificación se incrementa levemente el coeficiente de determinación, alcanzando con este modelo un valor de 0.297.

Tabla 2-5: Estimados de los modelos de regresión calculados para la relación entre IE OVEM y W Ova, Mortalidad 1. En el segundo modelo la variable Mortalidad aparece transformada.

Modelo 1

Variable	Coefficiente	Error estándar del coeficiente	R ² parcial
Intercepto	0,083	0,241	
W OVA	0,0078	0,003	0,1436
M ₁	-0,006	0,0022	0,1184
		R ² total	0,262
		R ² ajustado	0,2199

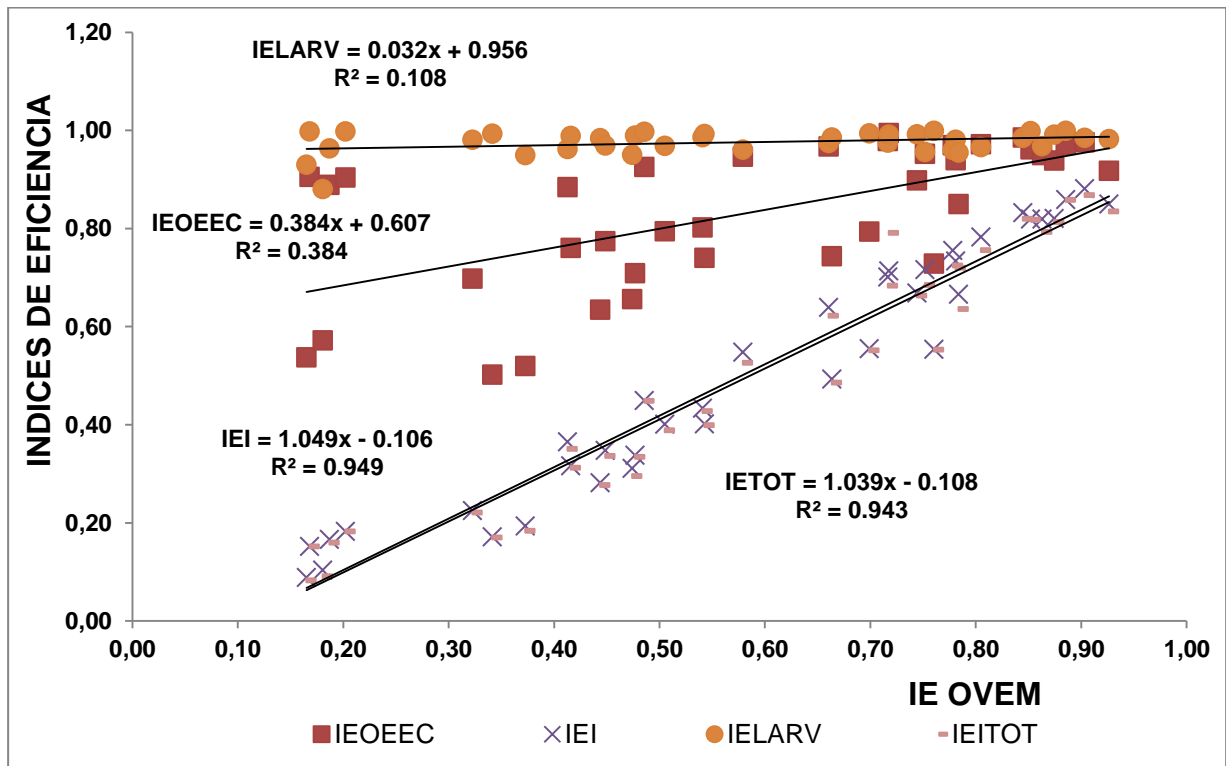
Modelo 2

Variable	Coefficiente	Error estándar del coeficiente	R ² parcial
Intercepto	24,07	14,99	
W OVA	0,504	0,183	0,1526
Arcsen M ₁	-0,561	0,183	0,1401
		R ² total	0,2927
		R ² ajustado	0,2523

Teniendo en cuenta las correlaciones observadas entre la eficiencia entre el IE OVEM, las eficiencias posteriores y la eficiencia global del proceso, se procedió a establecer los modelos de regresión lineal simple entre esta eficiencia y el IE OVEM. Los modelos calculados y su correspondiente coeficiente de determinación (R²) se presentan en la figura 2-1.

Se evidencia el efecto de la eficiencia hasta la ova embrionada sobre la eficiencia total del proceso; así, por cada centésima de incremento en la IE OVEM, se tiene un incremento de 1.039 centésimas en IE TOTAL y de 1.049 centésimas en el IEI. En contraposición, los efectos sobre IE OEEC fueron menos marcados y sobre IE LARV fueron casi nulos.

Figura 2-1: Grafica de dispersión, líneas de tendencia, modelos de regresión y valores de R² calculados entre la eficiencia en ova embrionada (IE OVEM) y los índices parciales y totales de desempeño hasta reabsorción de vesícula



2.4 Discusión

Aunque se presentó un rango amplio de variabilidad (mínimo de 10,1% y máximo de 99,0%), la fertilización media que se logró en los grupos alcanzó un valor de 78,9%, el que se puede considerar aceptable en términos de producción. De hecho, en el 71,4% de las hembras se presentó una fertilización igual o superior al 75%. El valor del CV que se calculó para el factor (25,4%) indica que la revisión y obtención de ovas en el periodo de cada 8 días que fue planeado experimentalmente para la actividad de desove, permite deducir que los aspectos deletéreos que se asocian a la condición de sobremaduración ovárica no se presentaron en los grupos trabajados; se validan así los datos obtenidos, en cuanto se supone que este factor modulador de calidad no tuvo incidencia en los resultados registrados durante incubación. La restricción impuesta a los datos en este caso ($FF \leq 0,75$) tiene sustento en evaluaciones similares, aunque los valores límite

pueden variar. Stoddard *et al.* (2005), por ejemplo, determina como subfértiles ovas con registros de fertilización inferiores al 80%.

Los elevados valores del coeficiente de variación (CV) determinados para el número de ovas obtenidas por hembra y la fecundidad relativa se podrían explicar por el amplio rango de peso en los ejemplares trabajados, aunque la media corresponde a la esperada por unidad de peso en las reproductoras; la variable dimensional más estable en ovas fue el diámetro y el valor se ajusta a los indicadores que las definen como de talla comercial (Bromage y Cumaranatunga, 1988). La extrema variabilidad en los registros de eficiencia al finalizar la incubación es equivalente a las valoraciones que presentan Bromage *et al.* (1992) y es una evidencia de las circunstancias productivas, con un comportamiento no consistente entre puestas individuales, que justifican los esfuerzos sobre la precisión en parámetros de calidad temprana en especies de interés piscícola (Kjørsvik *et al.*, 1990; Brooks *et al.*, 1997). Por otro lado, los valores de eficiencia obtenidos en las fases parciales de ova embrionada-eclosión (IE OEEC), de eclosión-alevinos comiendo (IE LARV) y los índices que aglutinan la primera y segunda etapas (IEI y IEI TOT), muestran una mayor estabilidad de las etapas de embrionamiento y de reabsorción de vesícula en términos de supervivencia; este comportamiento sugiere que los factores que intervienen en la calidad tendrían mayor influencia y se estarían expresando fuertemente durante la fase de ova verde (período de desarrollo que va desde la fertilización hasta el embrionamiento), la que constituye aproximadamente el 65% del total del tiempo de incubación. Los resultados encontrados se ajustan a esta interpretación, lo que se demuestra con las relaciones lineales definidas, en las que la variación en el IEI se explica en un 94,9% por la variación que se tiene en el IE OVEM; consecuentemente, la variación en el IEI TOT, como índice que refleja el resultado total del proceso, se explica también por la variación en el IE OVEM en un 94,3%. Con un $r = 0,985$ ($R^2 = 0,97$), concordando con lo anteriormente expuesto, Craik y Harvey (1984) relacionan el porcentaje de alevinos que alcanzan la primera alimentación con el porcentaje de huevos que eclosionan; se debe anotar que, en un manejo de datos equivalente, estos autores conservan únicamente para los cálculos aquellos lotes que presentaron huevos viables.

Así y aunque existe la percepción de que los indicadores de eficiencia deberían estar estrechamente relacionados con los registros de fertilización inicial, al menos con los

datos obtenidos bajo las condiciones experimentales que fueron establecidas, no es posible determinar la existencia de una relación de este tipo. Ni tratándose de la fertilización, ni con la mayoría de las otras variables que sobre cada ejemplar fueron medidas, se podría establecer un modelo predictivo con utilidad productiva.

Como se observa en los índices parciales de eficiencia, es notorio que la fase de producción en la que se presentan las mayores pérdidas es la de ova verde, es decir, la que contempla el tiempo que transcurre desde la fertilización hasta que ocurre el embrionamiento. En esta línea, la predicción temprana no parece ser factible y las mejores opciones de valoración de la calidad se estarían dando, para el caso de la trucha arco iris, como se anotó, solamente hasta que se alcanza el estadio de ova embrionada.

En este análisis, pero de una forma más global, Lahnsteiner et al. (2008) agrupan los peces de agua dulce con huevos demersales bajo la consideración de que la determinación de viabilidad podría relacionarse en el porcentaje de incremento en peso por hidratación, pH del fluido ovárico y los niveles de proteína; en este caso, definitivamente, no se demostró relación significativa de la variable hidratación con alguno de los índices de eficiencia calculados. Kato y Kamler (1983) reportan una relación negativa y significativa con la supervivencia parcial y total, pero sus datos se refieren al contenido de agua en la ova no hidratada y no al incremento en peso que se obtiene postfertilización; Lahnsteiner y Patzner (2002), trabajando con el porcentaje de hidratación, calculan un modelo con el que alcanza un $R^2 = 0,625$. Se debe tener en cuenta que con algunos reportes se dificulta establecer parámetros comparativos, pues se mezclan términos como los aquí descritos (las mediciones efectuadas en el día 1 o en el intervalo entre los días 7 y 10 de desarrollo) y la supervivencia que se establece en estadios avanzados, las que en ciertos casos es denominada como rata de fertilización (correspondería en equivalencia a lo que fue definido en este trabajo como el conjunto de índices parciales y totales).

Se mencionó anteriormente que la variación en el pH del fluido ovárico, más que un indicador mismo de la calidad del huevo, es un elemento que puede expresar una condición de deterioro por efectos de sobremaduración (Schreck *et al.*, 2001; Lahnsteiner, 2002); así, se trata de un factor asociado a condiciones de manejo y no una

característica inherente a la cualificación de una reproductora dada. Respecto a los niveles de proteína, también fue anotado que bajo regímenes de alimentación y nutrición en los que no se ha provocado una deficiencia especial, tanto para perfiles de ácidos grasos como para contenidos proteicos en los huevos, parece darse una condición conservativa que genera una estabilidad en composición con la que no se puede explicar la variabilidad en los resultados de viabilidad que fueron registrados.

En resumen, en términos biológicos es evidente la estabilidad formativa que se da en las etapas que corresponden al final del periodo incubatorio y a la fase de reabsorción de vesícula. En efecto, esto se demuestra por los elevados valores que toman los índices y los reducidos coeficientes de variación que entre los individuos muestran las dos etapas. En esencia, la afectación real que toman los índices aglutinantes (IEI y IEI TOT) está dada por el comportamiento de los grupos que, en términos de supervivencia, ocurre durante la etapa de ova verde; es decir, la sensibilidad del material y la posibilidad de sostener la viabilidad tienen un punto crítico en este estadio en particular. La posibilidad de predecir, entonces, radicaría en la opción de ajustar un modelo para este primer tiempo de desarrollo.

Finalmente, las únicas posibilidades de establecer viabilidad temprana (exactamente en el momento de la fertilización y a las 24 horas de desarrollo) con algún grado de precisión se tiene con los dos modelos que fueron establecidos. En el primero, la ventaja que se tiene es que las variables involucradas son medidas inmediatamente (el peso de la ova, la mortalidad inicial) y no requieren de transformación. Aun así, como se anotó, la variación en la variable respuesta (IE OVEM) solamente se explica en un 21,99 % por la variación en las otras dos. Al respecto, Lahnsteiner *et al.* (1999) y Lahnsteiner (2000) presentan ecuaciones que relacionan la viabilidad del huevo con el peso del huevo ($R^2 = 0,338$), cuando aquí llegó al 14,36%.

Con el segundo modelo, si bien se mejora levemente la posibilidad de predicción hasta la ova embrionada (25,23%), se requiere proceder con la transformación de la variable M_1 (mortalidad inicial), lo que podría limitar su aplicación en condiciones normales de producción y de registro de datos en una explotación determinada. Sobre esta variable

en particular y su relación con la eficiencia hasta el embrionamiento no se encontraron referencias aplicadas a la especie.

2.5 Conclusiones

Para la especie, la posibilidad de predecir la viabilidad de las ovas desde estadios tempranos no es factible con un elevado grado de ajuste, al menos bajo las condiciones experimentales planteadas y la serie de variables que fueron medidas sobre los sujetos objeto de estudio.

Los modelos estadísticos que presentaron un mejor ajuste ofrecen una aproximación débil hasta el estadio de embrionamiento, que es precisamente en el cual se presenta la mayor variabilidad productiva. El peso de la ova, cuando es medido con posterioridad a la hidratación y la mortalidad inicial, entendida como la que ocurre dentro de las primeras 24 h de desarrollo, fueron las variables dimensionales con las que se demostró un mejor ajuste en los modelos calculados.

En los índices que definen la supervivencia en los estadios de desarrollo avanzado se encuentra significancia y posibilidad predictiva, en cuanto muestran elevados porcentajes de explicación de la variabilidad, tanto entre el que determina la relación del embrionamiento con el índice que aglutina la fase incubatoria como el que conjuga toda la fase de producción, desde que la ova es fertilizada hasta que inicia la etapa de alimentación exógena, es decir cuando finaliza la reabsorción del saco vitelino.

La variabilidad en la respuesta individual, en términos de supervivencia, de las hembras de trucha es una constante que limita las posibilidades de establecer modelos de asociación entre factores medidos sobre las ovas y la estimación *a priori* de los resultados finales.

2.6 Bibliografía

Bobé J y Labbé C, 2010. Egg and sperm quality in fish. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 165 (3): 535–548.

Bonnet E, Fostier A y Bobe J, 2007. Characterization of rainbow trout egg quality: A case study using four different breeding protocols, with emphasis on the incidence of embryonic malformations. *Theriogenology*, 67: 786–794.

Bromage N y Cumaranatunga R, 1988. Egg production in the rainbow trout. En: Muir J. y Roberts R. (Eds). *Recent Advances in Aquaculture* (Vol. 3). 63–138 p.

Bromage N, Jones J, Randall C, Thrush M, Davies B, Springate J, Duston J y Barker G, 1992. Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 100: 141–166.

Bromage N, Bruce M, Basavaraja N, Rana K, Shields R, Young C, Dye J, Smith P, Gillespie M y Gamble J, 1994. Egg quality determinants in finfish: The role of overripening with special reference to the timing of striping in the Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 25 (1): 13–21.

Brooks S, Tyler CR y Sumpter J, 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg?. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 7: 387–416.

Craik JC y Harvey SM, 1984. Egg quality in rainbow trout: the relation between egg viability, selected aspects of egg composition, and time of stripping. *Aquaculture*, 40: 115–134.

Gordon M, Klotins KC, Campbell VM y Cooper M, 1988. *Farmed Salmon Broodstock Management*. Canada Research – Vancouver, B.C. 137 p.

Kjørsvik E, Mangor-Jensen A y Holmefjord T, 1990. Egg quality in fishes. En: Blaxter JHS y Sothward AJ (Eds). *Advances in Marine Biology*, Academic Press. 26: 71–113.

Lahnsteiner F, Weismann T y Patzner RA, 1999. Physiological and biochemical parameters for egg quality determination in lake trout, *Salmo trutta lacustris*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 20: 375–388.

Lahnsteiner F, 2000. Morphological and biochemical parameters characterizing the over-ripening of rainbow trout eggs. *Fish Physiol Biochem.*, 23: 107–118.

Lahnsteiner F, 2002. The influence of ovarian fluid on the gamete physiology in the Salmonidae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 27: 49–59.

Lahnsteiner F y Patzner RA, 2002. Rainbow trout egg quality determination by the relative weight increase during hardening: a practical standardization. *Journal of Applied Ichthyology*, 18: 24–26.

Lahnsteiner S, Soares F, Ribeiro L y Dinis MT, 2008. Egg quality determination in teleost fishes. En: Cabrita E, Robles V y Herráez P (Eds). *Methods in reproductive aquaculture – Marine and freshwater species*. CRC Press. 143–180 p.

Lubzens E, Young G, Bobe J y Cerdà J, 2009. Oogenesis in teleosts: How fish eggs are formed. *Gen. Comp. Endocrinol.* doi:10.1016/j.ygcen.2009.05.022

Quinn GP y Keough MJ, 2002. *Experimental designs and data analysis for biologist*. Cambridge University Press. 537 p.

Schreck CB, Contreras-Sánchez WM y Fitzpatrick CM, 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. *Aquaculture*, 197: 3-24.

Stoddard JW, Parsons JE y Nagler JJ, 2005. Early onset of embryonic mortality in sub-fertile families of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Reprod Fertil Dev.*, 17(8): 785-790.

3. Caracterización de la composición en ácidos grasos, proteína y energía en ovas fertilizadas de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) y su relación con indicadores de eficiencia en incubación y larvicultura

Resumen

Sobre 58 puestas de trucha arco iris obtenidas, manejadas y monitoreadas individualmente en desempeño desde fertilización hasta finalizar la etapa de reabsorción de vesícula, se efectuó un análisis de composición en ácidos grasos, proteína bruta y energía. Además de los valores reproductivos, el contenido de ácidos grasos en las ovas se determinó en fresco, mediante cromatografía de gases, la proteína por Kjeldahl y la energía en bomba calorimétrica. En el perfil medio se destacan los ácidos palmítico (C16:0), oleico (C18:1n-9) y el docosahexaenoico (C22:6n-3) como los más representativos, con casi el 60% del total y, en general, en concentraciones estables entre las hembras. Tanto para cada ácido determinado como para el conjunto de contenidos integrados de las series n-3 y n-6 y los colectivos de saturados (SAFs), monoinsaturados (MUFAs) y poliinsaturados (PUFAs), se define un patrón de composición similar al reportado para la especie en otros esquemas de manejo y bajo regímenes nutricionales variables. Los valores de proteína y energía coinciden dentro de los rangos referenciados. Se analiza la condición conservativa en la incorporación de ácidos grasos al huevo, la homogeneidad en el contenido proteico del vitelo y el valor de energía determinado. Se discute su utilidad como posibles defensorios de calidad, teniendo como referente la alta variabilidad registrada en la supervivencia tanto en las fases parciales como al final del proceso de incubación.

Palabras clave: *calidad del huevo, ácidos grasos, proteína, energía, trucha arco iris, Oncorhynchus mykiss*

3.1 Introducción

La viabilidad larvaria es el referente que define la calidad de la ova en la producción de peces (Kjørsvik *et al.*, 1990). Esta capacidad, inherente al huevo, es finalmente el potencial resultado de la interacción de componentes multifactoriales especie-específicos, integrados en la arquitectura y relacionados con las propiedades que el oocito adquiere durante su proceso formativo; en particular, es altamente dependiente de la información materna y del conjunto molecular que esta le es capaz de transmitir (Bromage *et al.*, 1992).

En el estatus nutricional de los reproductores se fundamenta la provisión energética necesaria para el desarrollo embrionario (Brooks *et al.*, 1997; Tocher *et al.*, 2008), y en esquemas piscícolas que involucran la utilización de dietas deficientes se demuestra la producción de semilla con una baja supervivencia (Bromage, 1995). Los mayores componentes presentes en el vitelo del huevo son lipoproteínas, fosfoproteínas y, frecuentemente, inclusiones lipídicas, que van desde pequeñas gotas dispersas hasta glóbulos de gran tamaño (Wiegand, 1996), compuestos casi exclusivamente por triglicéridos en varias especies de *Oncorhynchus* (Leger *et al.*, 1981). El complejo precursor del vitelo es la vitelogenina (una glicolipofosfoproteína con 300 – 600 kilodaltons), que actúa como vehículo a través del cual los lípidos son transportados al interior del huevo (Patiño y Sullivan, 2002); bajo modulación de estrógenos es sintetizada en el hígado y posteriormente, de forma selectiva, por endocitosis se incorpora a los oocitos (Tocher, 2003). Cuando la vitelogenina es integrada, se divide en un complejo lipoproteína-fosfoproteína (Perazzolo *et al.*, 1999), fuente de aminoácidos, lípidos, fosfatos inorgánicos y calcio requeridos en estadios tempranos.

El pez obtiene lípidos a través de los ácidos grasos provenientes de la dieta, de sus propias reservas y, posiblemente, de algunos que son sintetizados *de novo* (tanto en el ovario como en el hígado). Desde una perspectiva general, en los huevos de peces se considera que hay una relación positiva entre la cantidad de lípidos con el tiempo que

transcurre desde la fertilización hasta que finaliza el desarrollo embrionario (Rainuzzo *et al.*, 1997); los salmónidos en particular, caracterizados por elevados periodos de formación temprana, se incluyen dentro del grupo de peces cuyos huevos mantienen altos contenidos de lípidos (Sargent *et al.*, 1999). Los fosfolípidos actúan como fuente de energía en circunstancias asociadas a eventos de desarrollo temprano en peces y los triglicéridos constituyen la clase principal para almacenamiento y provisión energética (Tyler *et al.*, 1990; Tocher *et al.*, 2008).

Al igual que en otros animales, la acción principal de los ácidos grasos se focaliza en el mantenimiento de la estructura e integridad funcional de las membranas, además de actuar como precursor de eicosanoides (Sargent *et al.*, 1999). Si bien todos tienen función energética en el desarrollo, son los monoinsaturados (MUFAs) los preferencialmente utilizados como sustrato para el catabolismo por parte de los embriones y sirven, además, de reserva de ácidos grasos estructurales. El complejo lipoproteico incluye tanto fosfolípidos como lípidos neutrales (principalmente triacilglicerol), siendo estos los que se reconocen como la fuente primaria de energía (Wiegand, 1996). Las lipoproteínas son esencialmente ricas en ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) de la serie n-3, particularmente el ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6n-3). En el periodo de desarrollo gonadal, los ácidos grasos se movilizan desde las reservas lipídicas y se incorporan al huevo (Tyler *et al.*, 1990; Wirth *et al.*, 1997). Como fue mencionado, la predicción temprana de la viabilidad se justifica en la producción de semilla de peces especialmente en aquellas especies con largos periodos o altos costos de incubación (Kamler, 2005); los factores de composición de la ova proveen en esta línea un útil, aunque no único, acercamiento (Bromage y Cumaranatunga, 1988; Sargent, 1995), pues se supone que son una aproximación de la configuración nutricional que se requiere en estadios tempranos (Izquierdo *et al.*, 2001).

En referencia al contexto local, se tiene que en el país la producción de truchas de consumo tiene una total dependencia de ovas que son importadas regularmente, en tanto hay elementos de exigencias de calidad no superados en las condiciones nacionales. Así, la obtención de semilla se encuentra en una situación no competitiva y, por tanto, cualquier posibilidad de potenciar esta fase de la actividad truchícola significa la superación de los factores negativos que la califican como inferior; direccionar este

desarrollo requiere del avance técnico en varios aspectos, entre los que la calidad ocupa lugar fundamental tanto como función como elemento básico de monitoreo. Como en el momento no se dispone de estudios de tipo evaluativo que en esta dirección involucren los primeros estadios de desarrollo, el objetivo del trabajo se dirige a caracterizar la composición de ovas de trucha obtenidas bajo esquemas propios de producción y manejo y se exploran posibles relaciones con los estimados de supervivencia en diferentes fases de desarrollo embrionario. Constituye un primer acercamiento a la valoración de elementos asociados a la ova misma que puedan constituir una base para posteriores análisis, en los que se considere la calidad como complemento para soportar un eventual avance en la producción nacional de semilla de la especie.

3.2 Materiales y métodos

3.2.1 Localización

El material fue obtenido en las instalaciones productivas de una explotación comercial ubicada en el municipio de Guasca (Cundinamarca, Colombia). La granja se localiza a 2850 msnm y se alimenta de las aguas del Río Chigüanos que mantiene aproximadamente 11°C de temperatura media; en general, las condiciones climáticas y de agua en el área son particularmente aptas para la producción de semilla de la especie. Se mantiene un esquema de manejo reproductivo regulado, con un plantel compuesto aproximadamente por 1500 reproductores, con una proporción similar entre sexos. En la explotación, los ejemplares son mantenidos en estanques construidos en ladrillo y cemento; el manejo general implica la limpieza rutinaria de las unidades, mediante barrido y evacuación del sedimento presente. Para la alimentación se utilizó concentrado comercial formulado para la fase de finalización de truchas (43% PB), que contiene pigmento y se suministró *ad libitum* en dos raciones/día.

3.2.2 Material experimental

Un total de 58 puestas completas, en 4 grupos, uno cada 8 días, fueron obtenidas de hembras seleccionadas por certificación de ovulación. Antes de cada desove, se registraron datos de longitud total (con aproximación a 1 cm) y peso (con aproximación a

25 g). Para los procedimientos de extrusión y fertilización los peces fueron tranquilizados con Metasulfonato de Tricaina (MS 222®) en 75 ppm. El desove se realizó de forma convencional y la fertilización, con al menos 3 machos por hembra, se efectuó en seco.

Cada grupo de huevos fue recibido en recipientes plásticos pesados (1 g de aproximación) y la mezcla huevos/esperma se dejó en reposo por 5 min antes de proceder con los lavados. Una vez el material fertilizado se encontró completamente limpio, se adicionó agua suficiente hasta cubrir las ovas, en donde permanecieron 1 h, tiempo suficiente para promover la hidratación completa. De cada grupo se retiró una muestra de 1 – 2 g para adelantar los análisis de perfiles de ácidos grasos, los que fueron realizados en el laboratorio de Toxicología de la Universidad Nacional de Colombia. Alrededor de 15 g de ovas también fueron separados y trasladados al laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad de La Salle (Bogotá), en donde se realizaron los análisis de contenido de proteína y energía. Las muestras fueron colocadas en frascos de vidrio y refrigeradas a 4°C, lo que permitió mantenerlas viables hasta su traslado a los correspondientes laboratorios. En ningún caso se superó las 24 h desde la fertilización hasta el proceso del material.

Las ovas restantes se ubicaron en incubadoras de flujo vertical, en donde permanecieron durante las fases de incubación y larvicultura. En el proceso la mortalidad fue retirada regularmente y, al final, se calcularon índices parciales de eficiencia en los periodos de ova verde, embrionada, eclosión y alevinos comiendo.

3.2.3 Determinación del perfil de ácidos grasos

Los análisis se adelantaron sobre material vivo, mantenido, desde su obtención y hasta análisis (< 24 h), en refrigeración (\pm 4°C). La extracción de los lípidos de las ovas se realizó de acuerdo con la metodología de Folch *et al.* (1957) y la determinación cromatográfica de los ácidos grasos según lo descrito por Betancourt *et al.* (2005). Para el efecto, se homogenizó una muestra de ovas de 1 g (peso húmedo) a 4°C, con una solución de cloroformo y metanol (2:1), utilizando un homogenizador de tejidos de vidrio esmerilado. Una vez homogenizada, la muestra se filtró, se midió el volumen y el solvente filtrado se centrifugó a 2000 rpm por 15 min. Luego de la centrifugación el

extracto se observó separado en dos fases: una fase acuosa superior y una fase orgánica inferior. La fase acuosa se eliminó con la ayuda de una pipeta y la fase orgánica se llevó a sequedad mediante vacío a temperatura ambiente. El extracto lipídico seco se disolvió con una solución de cloroformo:metanol (1:1), y a una alícuota de 20 µl se le adicionó el reactivo de metilesterificación MethPrep II (Alltech Associates Inc., Deerfield, IL, USA) para obtener los metilésteres de los ácidos grasos, cuya determinación se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases Shimadzu® GC-14A equipado con un detector de ionización de llama (260°C). La separación se realizó 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⁻¹ hasta 190°C, 20 min a 190°C, 2°C min⁻¹ hasta 220°C y 10 min a 220°C). Se utilizó helio como gas transportador. Los metil-ésteres 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, Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA).

3.2.4 Determinación de proteína y energía

Las muestras de las ovas se secaron en estufa (Memmert), a una temperatura de 105°C durante 24 horas (AOAC, 1995); el producto se almacenó en bolsas de cierre hermético hasta la realización de los diferentes análisis. Para determinar la materia seca, las muestras se pesaron antes y después de secar. Para definir la proteína presente se utilizó el método Kjeldahl (AOAC, 1995). La energía bruta fue medida en bomba calorimétrica.

3.2.5 Seguimiento en incubación y larvicultura

Las ovas restantes, después del retiro de las muestras destinadas a determinación de la composición, fueron localizadas en un sistema de incubación vertical, con cada lote separado en canastillas individuales. El flujo de agua fue constante y equivalente para todos los grupos durante el proceso de formación embrionaria. Las ovas fueron revisadas diariamente y la temperatura fue monitoreada, también cada día, durante todo el seguimiento (8 am, 12 m y 5 pm), para establecer en grados día⁻¹ la duración de cada etapa. Además de las limpiezas de rutina que se destinan para evacuar sedimentos

acumulados en las incubadoras, en el retiro y registro de la mortalidad se fundamentó la valoración de la eficiencia en términos de supervivencia.

El primer control de mortalidad se realizó dentro de las 24 h siguientes al ingreso a incubación (M_1 , %); el segundo se programó hasta el día 7 – 9 de desarrollo, cuando la fertilización fue estimada, y de allí en adelante cada dos días hasta finalizar eclosión y reabsorción. Los datos de mortalidad fueron agrupados de acuerdo a las etapas parciales definidas; el número inicial de ovas se ajustó mediante el conteo de los alevinos que finalmente resultaron del proceso más la mortalidad registrada. Con base en lo anterior se calcularon los siguientes índices:

- **IE OVEM (Índice de Eficiencia Ova Verde-Ova Embrionada):** calculado con la relación Cantidad de ovas embrionadas/Cantidad ovas fertilizadas, este índice contempla la supervivencia en la fase inicial de desarrollo; este periodo tiene una duración aproximada de 180 – 220 grados día⁻¹, desde la fertilización (sin considerar la mortalidad inicial – M_1) hasta que ocurre el embrionamiento (cuando a través del corión son visibles las retinas pigmentadas del embrión en formación).
- **IE OEEC (Índice de Eficiencia Ova Embrionada-Eclosión):** relaciona la supervivencia en la última etapa de incubación, finalizando con la eclosión larvaria (unos 100 – 120 grados día⁻¹). Se calculó con la relación Número larvas eclosionadas/Cantidad ovas embrionadas.
- **IEI (Índice de Eficiencia en Incubación):** es un estimativo de la supervivencia en la fase que va desde la fertilización inicial hasta la eclosión; aglutina, en consecuencia los dos índices anteriores, con base en la proporción Número larvas eclosionadas/Cantidad ovas fertilizadas.
- **IE LARV (Índice de Eficiencia en Larvicultura):** contempla la supervivencia durante la fase en la que ocurre la reabsorción del saco vitelino, como la tercera etapa parcial del proceso (tiene una duración aproximada de 180 – 200 grados día⁻¹). Se estimó con la relación Número de alevinos comiendo/Número de larvas eclosionadas.
- **IEI TOT (Índice de Eficiencia Total):** mide el resultado final de toda la etapa de producción desde la fertilización hasta que los peces aceptan alimentación exógena, indicando la reabsorción completa de la vesícula vitelina; corresponde a la relación Número de alevinos comiendo/Cantidad de ovas fertilizadas.

Así estimados, los valores que toman los índices varían entre 0 y 1.

3.2.6 Análisis de datos

Los datos se agruparon de manera descriptiva y los resultados de composición de cada ácido graso identificado se expresaron en porcentaje. La proteína se presenta como porcentaje de materia seca y la energía en cal g⁻¹. Para efectos de análisis se hizo referencia a registros provenientes de trabajos similares, con metodologías y forma de presentación de resultados comparables; cuando fue necesario y posible, se calcularon relaciones no reportadas a partir de datos originales, lo cual se indica en el texto.

3.3 Resultados

Las reproductoras seleccionadas presentaron una longitud total entre 39 y 67 cm con una media de 51,4 ± 4,36 cm. En peso, la variación fue de 1500 a 3700 g, con media 2078 ± 432,9 g. Los valores reproductivos del lote de hembras (Tabla 3-1) se encontraron dentro de los que se consideran normales para la especie, de acuerdo a los estándares que se mencionan en Bromage y Cumaranatunga (1988) y Gordon *et al.* (1988).

Tabla 3-1: Resumen de los valores reproductivos medios y parámetros dimensionales de las ovas para el conjunto de los lotes en seguimiento

Parámetro	Unidad	n	Promedio	DE ¹	CV ²
Número ovas	unidad	58	3304,8	835,5	25,3
Fecundidad	Ovas kg ⁻¹	58	1616	387	23,9
Hidratación	%	58	21,54	6,32	29,36
Diámetro ova	mm	58	5,001	0,223	4,5
Peso ova	mg	58	81	12,81	15,8
Volumen ova	mm ³	58	0,077	0,012	15,2
Densidad ova	mg/mm ³	58	1048,19	68,57	6,5
Fertilización	%	56	78,89	20,05	25,42
Mortalidad inicial	%	53	23,23	17,76	76,47

¹ Desviación Estándar

² Coeficiente de Variación

La fase de incubación tuvo una duración de 31 a 36 días, con un promedio de 318 grados día⁻¹ entre fertilización y eclosión. La fertilización media en los 58 grupos fue del 78,89 ±

20,05% y fue medida entre los 70 y 100 grados día⁻¹ de desarrollo; se hizo mediante aclaramiento de una muestra por inmersión en una solución 1:1:1 de metanol: ácido acético: agua, y el conteo de las ovas en las que se presentó embrión con desarrollo normal. La supervivencia en incubación registró una alta variabilidad (entre 0 y 92,9%) y la viabilidad media de todo el proceso, medida al finalizar la reabsorción de la vesícula vitelina, fue del 47,2 ± 26,7%. La composición promedio de ácidos grasos determinados como metil-éteres en las ovas se resume en la tabla 3-2.

Tabla 3-2: Composición de Ácidos Grasos (%) en ovas fertilizadas antes de las 24 h (aproximadamente 10 grados día⁻¹). Cada dato representa la media de 58 observaciones

Ácido Graso	Promedio	DE ¹	CV ²	Mínimo	Máximo
C14:0	2,32	0,319	13,73	1,65	3,41
C14:1	0,05	0,014	30,7	0,02	0,08
C15:0	0,29	0,032	11,14	0,21	0,36
C16:0	20,96	1,347	6,43	18,37	24
C16:1	5,9	0,67	11,36	4,47	7,2
C18:0	6,39	0,661	10,34	4,96	8,01
C18:1n-9 c/t	18,79	1,414	7,53	15,68	21,93
C18:2n-6 c/t	9,43	1,066	11,31	7,51	12,01
C18:3n-6	0,31	0,088	28,52	0,19	0,58
C18:3n-3	0,8	0,134	16,76	0,35	1,06
C20:1n-9	0,94	0,269	28,68	0,4	1,67
C20:2	1,25	0,251	20,14	0,75	1,87
C20:3n-6	1,4	0,211	15,05	0,91	2,02
C20:3n-3	2,48	0,312	12,6	1,85	3,35
C20:5n-3	5,66	0,581	10,27	4,29	6,95
C22:5n-3	2,01	0,267	13,31	1,38	2,78
C22:6n-3	21,1	2,278	10,8	16,17	25,92

¹ Desviación Estándar

² Coeficiente de Variación

Las determinaciones de contenido proteico y energía, al igual que los contenidos, discriminados por individuo, en ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), monoinsaturados (MUFAs), saturados (SFAs), de las series n-3 y n-6, la relación n-3/n-6 y la relación ácido eicosapentaenoico – ácido docosahexaenoico (EPA/DHA), se resumen en la tabla 3-3. El promedio de contenido en proteína bruta para el total de grupos fue de 69,71 ±

1,09% (CV = 1,56%); en energía, la media fue de $5716,97 \pm 217,56 \text{ cal g}^{-1}$ (CV = 3,81%). Todos los resultados se expresan con base en materia seca.

Tabla 3-3: Composición en Proteína Bruta, Energía Bruta y Ácidos Grasos (%) desagregados para las ovas provenientes de cada hembra bajo seguimiento

Hembra	Proteína (%)	E. B. (cal g ⁻¹)	PUFAs	MUFAs	SFAs	n-3	n-6	n-3/n-6	EPA/DHA
1	68,59	6073,5	45,06	27,13	27,81	30,7	13,27	2,31	0,29
2	68,42	6086,9	44,91	23,54	31,55	32,18	11,5	2,8	0,25
3	69,68	6016,38	41,97	26,96	31,07	29,4	11,3	2,6	0,25
4	66,92	5957,72	41,2	27,67	31,06	28,89	11,38	2,54	0,29
5	69,39	5703,73	42,67	27,64	29,69	30,12	11,12	2,71	0,28
6	68,85	5834,07	46,62	26,25	27,12	34,23	10,84	3,16	0,26
7	70,7	5577,84	49,91	22,71	27,38	36,25	12,42	2,92	0,23
8	69,89	5580,51	42,67	25,98	31,35	30,39	10,62	2,86	0,25
9	68,71	5702,9	43,5	27,78	28,72	28,91	13,11	2,21	0,28
10	67,73	5947,43	47,27	23,45	29,05	36,33	9,58	3,79	0,19
11	67,27	5828,75	43,29	22,97	33,74	31,97	10,48	3,05	0,28
12	67,35	5439,68	38,07	28,47	33,47	25,68	10,97	2,34	0,26
13	70,12	5571,89	43,38	27,5	29,12	28,72	13,66	2,1	0,33
14	69,26	5578,16	44,09	26,54	29,37	30,8	12,06	2,55	0,29
15	68,05	5453,96	43,81	28,14	28,05	31,32	11,07	2,83	0,19
16	70,49	5322,69	44,83	25,97	29,2	32,91	10,46	3,15	0,26
17	69,77	5454,01	42,06	28,41	29,52	29,92	10,36	2,89	0,29
18	71,4	5450,5	45,93	25,37	27,86	33,48	11,59	2,89	0,27
19	69,38	5699,11	47,52	21,47	31,01	36,26	9,87	3,68	0,23
20	69,03	5704,93	45,25	27,25	27,5	30,41	13,25	2,29	0,27
21	69,05	5452,86	45,38	25,42	28,57	32,35	12,26	2,64	0,25
22	69,35	5318,14	41,16	28,79	30,05	29,32	10,56	2,78	0,36
23	69,48	5569,97	44,86	23,68	31,47	34,7	9,01	3,85	0,24
24	69,31	5568,46	47,1	24,73	28,17	34,19	11,74	2,91	0,24
25	69,87	5193,18	41,13	29,42	29,44	28,91	10,7	2,7	0,22
26	70,1	5458,22	44,74	23,74	30,75	30,65	13,22	2,32	0,31
27	69,61	5582,55	45,85	27,37	26,77	33,42	11,6	2,88	0,27
28	69,98	5707,06	41,53	23,17	27,21	28,95	11,37	2,55	0,26
29	69,5	5714,59	40,66	26,59	32,74	29,33	10,32	2,84	0,31
30	70,42	5832,63	45,86	25,5	28,64	33,06	11,37	2,91	0,25

31	70,35	5837,63	44,36	24,39	30,61	31,75	11,85	2,68	0,28
32	69,65	5589,38	43,42	24,79	31,79	31,15	10,72	2,91	0,23
33	70,2	5666,94	45,88	24,13	30	33,57	10,67	3,15	0,22

Tabla 3-3: (Continuación) Composición en Proteína Bruta, Energía Bruta y Ácidos Grasos (%) desagregados para las ovas provenientes de cada hembra en seguimiento

Hembra	Proteína (%)	E. B. (cal g ⁻¹)	PUFAs	MUFAs	SFAs	n-3	n-6	n-3/n-6	EPA/DHA
34	69,72	6089,62	45,57	26,59	27,84	32,57	11,13	2,92	0,27
35	70,22	5826,46	39,91	28,43	31,66	28,81	9,94	2,9	0,26
36	68	5832,93	40,91	26,94	32,16	28,59	11,23	2,55	0,27
37	70,53	5453,4	43	26,04	30,95	30,46	11,48	2,65	0,29
38	70,2	5580,51	44,44	25,79	29,78	32,61	10,52	3,1	0,23
39	70,55	5833,92	44,62	25,46	29,92	33,31	10,07	3,31	0,33
40	71,2	5578,52	48,71	23,33	27,96	36,99	10,47	3,53	0,26
41	70,36	5832,95	47,55	23,81	28,65	35,13	10,99	3,2	0,26
42	71,92	5712,02	48,74	22,67	28,59	36,73	10,86	3,38	0,24
43	69,35	5582,56	46,17	24,74	29,09	33,25	11,76	2,83	0,26
44	70,58	5579,49	47,89	23,23	28,89	36,15	10,36	3,49	0,21
45	70,79	5833,08	43,55	24,49	31,96	31,82	11,39	2,79	0,27
46	69,51	6088,97	44	29,93	32,21	31,1	11,59	2,68	0,28
47	71,25	5963,48	46,64	24,62	28,74	34,42	11,02	3,12	0,23
48	70,82	5708,21	41,95	26,36	31,69	29,75	10,69	2,78	0,29
49	71,05	5578,96	46,11	28,29	31,08	31,35	13,68	2,29	0,37
50	71,31	5839,28	43,49	25,38	31,13	30,77	11,77	2,62	0,31
51	70,74	5838,68	44,62	25,49	29,89	33,9	9,18	3,69	0,28
52	70,67	5834,88	43,47	24,39	32,14	33	9,49	3,48	0,34
53	70,87	5963,83	45,23	25,67	29,1	34,56	9,42	3,67	0,28
54	68,79	5960,87	46,66	23,13	30,21	36,15	9	4,02	0,24
55	69,72	5706,99	43,18	23,95	32,87	31,6	10,38	3,05	0,27
56	68,1	6214	46,11	24	29,89	34,19	10,98	3,11	0,31
57	69,5	5833,99	46,57	22,29	30,87	33,56	11,9	2,82	0,3
58	69,26	5840,39	39,36	30,34	30,29	26,61	11,41	2,33	0,34

Para n = 49, los valores promedio de los diferentes índices fueron: IE OVEM = 0,587 ± 0,243 (CV = 41,31%), IE OEEC = 0,834 ± 0,135 (CV = 16,18%), IEI = 0,506 ± 0,25 (CV =

49,51%), IE LARV = 0,974 ± 0,03 (CV = 3,06%) y IEI TOT = 0,501 ± 0,246 (CV = 49,16%). Los resultados discriminados por puesta individual, en términos de los Índices de eficiencia para las diferentes fases, se encuentran en la tabla 3-4.

Tabla 3-4: Valores de eficiencia de acuerdo a los índices calculados para las diferentes etapas del proceso de desarrollo embrionario y larval (n = 49)

Hembra	IE OVEM ¹	IE OEEC ²	IEI ³	IE LARV ⁴	IEI TOT ⁵
1	0,4127	0,8841	0,3649	0,9618	0,3509
2	0,7176	0,9947	0,7138	0,9914	0,7912
3	0,6604	0,9675	0,6389	0,9741	0,6224
4	0,5791	0,9464	0,548	0,9607	0,5265
5	0,8486	0,8417	0,7143	0,9276	0,6625
6	0,7166	0,9781	0,7009	0,975	0,6833
7	0,4741	0,6564	0,3112	0,9501	0,2957
8	0,5932	0,7815	0,4636	0,9616	0,4458
9	0,7518	0,9525	0,7161	0,9564	0,6849
10	0,4156	0,7606	0,3161	0,9888	0,3126
11	0,4438	0,6346	0,2816	0,9839	0,2771
12	0,3225	0,6979	0,2251	0,9808	0,2208
13	0,6634	0,7436	0,4933	0,9853	0,486
14	0,3415	0,5023	0,1715	0,9932	0,1704
15	0,168	0,9051	0,1521	0,9978	0,1517
16	0,2022	0,9042	0,1828	0,9978	0,1824
17	0,9525	0,9758	0,9295	1	0,9295
18	0,4769	0,7088	0,338	0,9891	0,3344
19					
20	0,7808	0,9394	0,7335	0,9813	0,7198
21					
22					
23	0,8743	0,9384	0,8204	0,9915	0,8135
24	0,7202	0,8501	0,6123	0,9968	0,6103
25	0,7978	0,85	0,6781	0,9799	0,6645
26	0,8475	0,7631	0,6467	0,9841	0,6364
27					
28					
29					
30					

31	0,4485	0,7742	0,3472	0,9694	0,3366
32	0,505	0,7945	0,4012	0,9685	0,3886
33	0,1651	0,5376	0,0888	0,9301	0,0826
34	0,1868	0,8889	0,166	0,9632	0,1599

Tabla 3-4: (Continuación) Valores de eficiencia de acuerdo a los índices calculados para las diferentes etapas del proceso de desarrollo embrionario y larval (n = 49)

Hembra	IE OVEM ¹	IE OEEC ²	IEI ³	IE LARV ⁴	IEI TOT ⁵
35	0,1805	0,5722	0,1033	0,8805	0,0909
36	0,7783	0,9701	0,755	0,9598	0,7246
37	0,9264	0,9176	0,85	0,9823	0,835
38	0,9034	0,9755	0,8812	0,9851	0,8681
39	0,7837	0,8499	0,6661	0,955	0,6361
40					
41	0,8628	0,9496	0,8193	0,9678	0,7929
42	0,8049	0,972	0,7823	0,9662	0,7559
43	0,5425	0,7405	0,4018	0,9929	0,3989
44	0,2089	0,8774	0,1833	0,957	0,1754
45	0,1604	0,814	0,1305	0,8429	0,11
46	0,5409	0,8022	0,4339	0,9861	0,4279
47	0,852	0,9611	0,8189	0,9987	0,8178
48					
49	0,7601	0,7282	0,5535	0,9993	0,5532
50	0,6391	0,8494	0,5428	1	0,5428
51	0,7442	0,8983	0,6685	0,9922	0,6633
52	0,4856	0,9258	0,4496	0,9974	0,4484
53	0,8446	0,9852	0,8321	0,985	0,8196
54	0,6989	0,7939	0,5548	0,9938	0,5514
55	0,4788	0,639	0,306	0,9924	0,3036
56	0,261	0,9587	0,2503	0,9913	0,4682
57	0,8854	0,9703	0,8591	0,9989	0,8582
58	0,3726	0,5199	0,1937	0,9496	0,1839

¹IE OVEM: Índice de eficiencia en la etapa ova verde-ova embrionada; ²IE OEEC: Índice de Eficiencia en la etapa ova embrionada-eclosión; ³IEI: Índice de Eficiencia en Incubación; ⁴IE LARV: Índice de Eficiencia en la etapa de reabsorción de vesícula; ⁵IEI TOT: Índice de Eficiencia Total (explicación en el texto). Las celdas en blanco corresponden a registros no obtenidos.

Finalmente, los análisis de correlación realizados entre los factores de composición en proteína, energía y ácidos grasos (considerando la relación ácidos n-3/n-6 y la relación EPA/DHA) y los cinco índices que calificaron la eficiencia del proceso no mostraron significancia, evidenciando que linealmente no hay relación entre los pares de variables.

3.4 Discusión

Como se anotó, la medición de ácidos grasos fue efectuada sobre ovas vivas antes de las 24 h, mantenidas en refrigeración desde la fertilización hasta el análisis. Se supone que la composición determinada corresponde a la existente en huevos recién fertilizados, sin variaciones debidas a transformaciones metabólicas asociadas al desarrollo embrionario, lo que tiene fundamento práctico en los resultados de Halüloúlu *et al.* (2003), al comprobar que las diferencias en la composición de ácidos grasos entre huevos sin fertilizar y con 24 horas de desarrollo no son significativas. Bajo las condiciones experimentales, en las que el acumulado térmico fue inferior a los 10 grados día⁻¹, la evolución embrionaria alcanza únicamente las primeras segmentaciones (Estay *et al.*, 1994), de lo que se infiere una mínima actividad metabólica.

La comparación con otras referencias sobre contenidos de ácidos grasos en huevos puede ser de difícil interpretación, tanto por los condicionamientos prácticos (métodos analíticos, proceso de las muestras, modos de expresión de resultados) que para este tipo de análisis estipula Wiegand (1996), como por la influencia de variables asociadas a las características de los reproductores utilizados en las diferentes evaluaciones (Leray *et al.*, 1985); aún con lo anterior, en los perfiles obtenidos se manifiesta un patrón general de configuración que conserva correspondencia entre las cantidades relativas de los diferentes ácidos, lo que finalmente tiene expresión en una estabilidad entre las proporciones que fue similar a otros reportes (Watanabe *et al.*, 1984). Según Wiegand (1996), esta situación se presenta en varias especies y puede indicar una forma de regulación dirigida a mantener equilibrada la composición de ácidos grasos en el vitelo; la aparente movilización de ácidos grasos específicos durante el desarrollo gonadal es también considerada por Sargent *et al.* (1999).

Por un lado, los menores contenidos (< 2,5% del total) se determinaron para los saturados C14 y C15; entre los monoinsaturados, también bajos valores se presentaron en C14:1 (el más bajo) y C20:1n-9 (< 1% del total). Para estos ácidos en particular, o bien no se registran cambios significativos en cantidad a través del desarrollo hasta la etapa de alevinos comiendo (Halüloúlu *et al.*, 2003), o tienden a permanecer en cantidades relativamente estables durante el mismo periodo (Zengin y Akpinar, 2006). Los PUFAs de contenido bajo (< 2,5%) fueron C18:3n-6, C18:3n-3, C20:2, C20:3n-6, C20:3n-3 y C22:5n-3. Niveles que se pueden considerar como medios (entre el 5 y el 10% del total) se registran para C16:1, C18:0, C18:2n-6 y C20:5n-3.

En el extremo superior, la mayor representación en contenido está en el palmítico (C16:0), el oleico (C18:1n-9) y el docosahexaenoico (DHA; C22:6n-3), en niveles que se confirman en valoraciones similares y que, por lo tanto, parecen caracterizar en tal sentido la composición general de las ovas de trucha (constituyen un 60% del total de ácidos grasos). Según Tocher (2003), los dos primeros son utilizados y consumidos como fuente energética en el proceso embrionario hasta el estadio de alevinos comiendo. Halüloúlu *et al.* (2003) coinciden en la interpretación, aun cuando la variación que detectan particularmente para el C16:0, significativamente creciente a través del tiempo, no es consecuente con la afirmación; una tendencia similar, pero no significativa, registran Zengin y Akpinar (2006). Por el contrario, la disminución en el contenido del ácido oleico conforme avanza el desarrollo embrionario es evidente, lo que confirma su importante consumo en estas etapas (Halüloúlu *et al.*, 2003).

Con el 21,1% del total de ácidos grasos medidos, un 67% del total de los n-3 y el 47,3% de los PUFAs, el DHA es el ácido graso más abundante en las ovas, lo que tiene total correspondencia con las mediciones de Leger *et al.* (1981), Wirth *et al.* (1997), Vasallo-Agius *et al.* (2001), Ballestrazzi *et al.* (2003) y Al-Sayed Mahmoud *et al.* (2008). Wiegand (1996), quien reporta el mismo porcentaje en ovas de truchas, sostiene que la incorporación de ácidos grasos es selectiva y obedece a una estrategia adaptativa, en la que la movilización hacia el huevo se traduce en perfiles que se ajustan dentro de rangos estrechos; esta condición conservativa en la incorporación de DHA en la ova es también corroborada por Ballestrazzi *et al.* (2003). La variabilidad que para el contenido de este ácido fue observada entre las hembras es baja (CV: 10,8%), lo que apoya la

interpretación y puede indicar que en este caso en particular la formulación de la dieta utilizada para el plantel no limitó los requerimientos básicos del ácido en las ovas, traduciéndose en perfiles de composición relativamente uniformes.

Se reconoce que la demanda particular de DHA y DPA es alta en el desarrollo temprano, especialmente por el papel que tienen en la formación de tejidos neurales de cerebro y retina (Bell *et al.*, 2001). Como en el ambiente de aguas continentales se presenta una baja disponibilidad de estos ácidos en las presas naturales de las truchas, su contenido final debería ser asegurado a través de la adición del precursor alfa-linolénico (ALA, 18:3n-3) que los genera a través del proceso desaturación-elongación, vía metabólica que ha sido confirmada en salmónidos (Bell *et al.*, 2001; Tocher, 2003), lo que lo ubica como esencial para los procesos reproductivos en la especie (Leger *et al.*, 1981). Siendo el aceite de pescado particularmente rico en DHA, se emplea como componente fundamental de los balanceados para peces y, en tales condiciones, Buzzi *et al.* (1996) y Sargent *et al.* (1999) anotan que la vía de transformación de EPA y DHA a partir del ALA parece ser que se limita. En este caso, el contenido de ALA fue del 0,8%, dentro del rango del 0,6% que registran Vasallo-Agius *et al.* (2001) y Ballestrazzi *et al.* (2003) y el 1,02% de Leger *et al.* (1981).

Dada su importancia, estos ácidos se determinan en la mayoría de las evaluaciones sobre composición o metabolismo en general (Leray *et al.*, 1985; Wirth *et al.*, 1997); la relación derivada DPA/DHA se convierte entonces en un factor de registro común y con utilidad comparativa entre diferentes trabajos. También tiende a ubicarse dentro de un rango relativamente estrecho, independiente de las condiciones experimentales y de determinación en laboratorio con, por ejemplo, valores de 0,16 en Yu *et al.* (1979), 0,29 en Halüloúlu *et al.* (2003), 0,32 en Ballestrazzi *et al.* (2003), 0,28 en Leger *et al.* (1981), 0,24 en Vasallo-Agius *et al.* (2001), 0,29 en Wirth *et al.* (1997) y 0,23 en Al-Sayed Mahmoud *et al.* (2008)². En este caso la relación fue similar con un valor promedio de $0,27 \pm 0,038$. Durante el desarrollo, para el DHA se detecta un incremento significativo en el contenido en las larvas posteclosión (Halüloúlu *et al.*, 2003), mientras que el EPA

² Algunas de estas relaciones se calcularon a partir de los datos originales.

permanece en cantidades estables durante el mismo periodo, lo que hace que la proporción EPA/DHA muestre una tendencia decreciente hasta la fase de alevinos en primera alimentación.

Considerados en combinación, la mayor representación la tiene la serie n-3 (superior al conjunto de los n-6), con una relación n-3/n-6 = $2,92 \pm 0,44$. En una generalización, Brooks *et al.* (1997) postulan que los huevos de peces que se pueden considerar de mayor calidad, tienen altos contenidos de ácidos grasos de la serie n-3, lo que principalmente se define por los niveles de DHA y EPA.

Al igual de lo que sucede para los lípidos en peces en general, en los huevos en maduración se depositan elevadas cantidades de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs); se ajusta al 44,39% del contenido total que se determinó para los PUFAs, lo que es comparable con los resultados que registran para la especie Al-Sayed Mahmoud *et al.* (2008) con un 41,8% y Ballestrazzi *et al.* (2003) con un 47,36%. De las composiciones conjuntas entre los grupos de ácidos grasos, el contenido de PUFAs resultó ser el más estable entre las hembras trabajadas (CV: 5,53%). Los ácidos grasos saturados (SFAs) y monoinsaturados (MUFAs) son catabolizados para proveer energía en la síntesis de lipoproteínas en el huevo (Patiño y Sullivan, 2002; Kamler, 2005), lo que Halüloúlu *et al.* (2003) demuestran a través del análisis de los cambios en los contenidos que se dan durante el desarrollo embrionario, en particular por la disminución progresiva y significativa en MUFAs conforme se avanza en los diferentes estadios, desde el huevo recién fertilizado hasta la etapa de alevino.

Está definido que la formulación nutricional utilizada en reproductores tiene influencia en la composición final de los ácidos grasos en los huevos, por lo que dietas deficientes pueden generar variaciones sustanciales en el contenido de ácidos específicos (Watanabe *et al.*, 1984). Esta situación se hace evidente en condiciones experimentales en las que se promueven deficiencias de tipo extremo (Leray *et al.*, 1985; Vasallo-Agius *et al.*, 2001; Ballestrazzi *et al.*, 2003), dirigidas a identificar necesidades de ciertos ácidos grasos. Aun así, Tocher (2003) establece que la composición general, específicamente en los huevos, es más resistente a los cambios dietarios que aquella que se puede ocasionar sobre otro tipo de tejidos, en una regularidad de incorporación que

particularmente sobre el DHA identifican Izquierdo (1996) y Wiegand (1996), explicándola como producto de una presión de selección y una selectividad en la retención durante la embriogénesis, de forma que se logra mantener dentro de rangos reducidos. La demostración de Watanabe *et al.* (1984) al respecto de la sensibilidad que sobre la fecundación y eclosión generan aún pequeñas disminuciones del contenido de DHA en los huevos apoya la existencia de mecanismos de esta naturaleza. En tal sentido, es interesante anotar que Leger *et al.* (1981) encuentran que dietas deficientes en n-3 utilizadas en la alimentación de reproductores tienen una fuerte influencia sobre los contenidos de EPA en el huevo, pero se modera en la incorporación de DHA, demostrando, según Izquierdo *et al.* (2001), la importancia en el mantenimiento de niveles mínimos de este ácido en el vitelo.

La evaluación comparativa entre los conjuntos de las series n-3 y n-6 no es procedente por las variables condiciones experimentales que la definen, especialmente por las características de método y los ácidos que son finalmente determinados. De forma general, se registran valores para los n-3 que van desde un 24,04% (Halüloúlu *et al.*, 2003), hasta un 40,35% (Ballestrazzi *et al.*, 2003). La media registrada para este trabajo ($32,03 \pm 2,6\%$) cae dentro del rango. Con la serie de n-6 determinados, la situación es similar; la media definida de $11,12 \pm 1,09\%$ está también dentro del rango del 6,55% de Ballestrazzi *et al.* (2003) al 15% de Al-Sayed Mahmoud *et al.* (2008).

En lo que se refiere a proteína, aun cuando se trata del componente con mayor representación en el vitelo (Wiegand, 1996), son limitadas las referencias que asocian este contenido con datos de calidad. Los resultados obtenidos muestran un elevado grado de uniformidad entre los lotes que, como se mencionó, está representado con un CV = 1,56%, con un contenido promedio del $69,71 \pm 1,09\%$ de PB en materia seca. El registro es comparable al que reportan Craik y Harvey (1984), quienes determinan para la especie un contenido que varía entre 63,6 y 74,5 % de proteína precipitable³, el que no fue significativo cuando se le relacionó con los resultados en porcentaje de eclosión, tanto en términos del contenido por ova como por el porcentaje en peso seco de la ova.

3 Porcentajes calculados a partir de los datos originales.

Knox *et al.* (1988) también referencian un contenido similar, con un 71,8% en promedio, medido en ovas embrionadas⁴; aunque no relacionan este valor con resultados en incubación, establecen una diferencia significativa en el peso de las ovas, cuando las reproductoras son mantenidas en un régimen alimenticio inferior a la tasa de suministro normalmente recomendada. Aun así, soportan el postulado de la independencia de la talla de la ova con su potencial, es decir que no relacionan la composición química con la calidad, al menos en las condiciones experimentales aplicadas. El trabajo de Shibata *et al.* (1993) indica contenidos promedio del 64,5% en ovas recién fertilizadas.

Es una constante, corroborada también con los datos obtenidos en el presente trabajo que, de forma equivalente a la composición en ácidos grasos, en los contenidos de PB y energía ($5716,97 \pm 217,56 \text{ cal g}^{-1}$; CV = 3,81%) es evidente una elevada uniformidad entre los diferentes lotes. Así, no parece que, al menos con estos, se pueda explicar la alta variabilidad de los resultados de supervivencia que fueron registrados en incubación; es decir que, bajo el actual régimen de manejo nutricional, su utilidad como predictores individuales de calidad en la ova debe ser evaluada.

3.5 Conclusiones

El perfil promedio de ácidos grasos, el contenido proteico y la energía que fueron determinados para el conjunto de puestas es equivalente en proporciones al que se referencia en valoraciones similares para la especie y bajo diferentes condiciones de manejo productivo.

En términos de composición, los ácidos palmítico, oleico y docosahexaenoico conforman alrededor del 60% del contenido total determinado para las ovas y su homogeneidad entre las hembras supone una incorporación selectiva. Así, parece que bajo esquemas de nutrición estandarizados (v.g. que cumplan los mínimos exigidos por la especie), la

⁴ Porcentaje calculado a partir de los datos originales.

estabilidad en las proporciones de elementos constitutivos puede obedecer a patrones de regulación de la hembra en maduración.

Este esquema de composición y la baja variabilidad determinada entre las puestas sugieren que, al menos en los que son considerados como elementos mayores de contenido, la influencia de los parámetros de composición que fueron medidos como determinantes de calidad no es evidente y requiere de valoración posterior.

Es posible que, como factor determinante de calidad en lo que respecta a la composición de ácidos grasos, estos tengan mayor influencia en la primera fase del proceso de incubación (ova verde), en donde los indicadores parciales de eficiencia productiva presentan la mayor variabilidad entre los individuos.

Los ácidos grasos con menor representación en contenido tienden a presentar una mayor variabilidad entre las hembras. Lo contrario se observa en aquellos con mayor contenido. Bajo esta premisa y para estos ácidos, la relación calidad: contenido individual queda sujeta a comprobación experimental.

El ajuste de los perfiles obtenidos a valoraciones similares indica la pertinencia del método de manejo de ovas y la precisión en la extracción de los ácidos grasos en laboratorio.

3.6 Bibliografía

Al-Sayed Mahmoud K, Linder M, Fanni J y Parmentier M, 2008. Characterisation of the lipid fractions obtained by proteolytic and chemical extractions from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) roe. *Process Biochemistry*, 43: 376–383.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists, 1995. Official Methods of Analysis 16th ed. AOAC 0066-961X, Arlington, Va.

Ballestrazzi R, Rainis S, Tulli F y Bracelli A, 2003. The effect of dietary coconut oil on reproductive traits and egg fatty acid composition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture International*, 11: 289–299.

Bell MV, Dick JR y Porter AEA, 2001. Biosynthesis and tissue deposition of docosahexaenoic acid (22:6n-3) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Lipids*, 36 (10): 1153–1159.

Betancourt L, Díaz GJ, Aguilar X y 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): Article 106 (online only at <http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd17/9/beta17106.htm>).

Bromage NR, 1995. Broodstock management and seed quality – General considerations. En: Bromage NR y Roberts RJ (Eds). *Broodstock management and egg and larval quality*. Oxford: Blackwell; p. 1–24.

Bromage NR y Cumaranatunga R, 1988. Egg production in the rainbow trout. En: Muir JF y Roberts R (Eds). *Recent advances in aquaculture*. London and Sydney: Croom Helm; p. 63–138.

Bromage NR, Jones J, Randall C, Thrush M, Davies B, Springate J, Duston J y Barker G, 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 y Sumpter J, 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg?. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 7: 387–416.

Buzzi M, Henderson RJ y Sargent JR, 1999. The desaturation and elongation of linolenic acid and eicosapentaenoic acid by hepatocytes and liver microsomes from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing fish oil or olive oil. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1299: 235–244.

Craik JC y Harvey SM, 1984. Egg quality in rainbow trout: the relation between egg viability, selected aspects of egg composition, and time of stripping. *Aquaculture*, 40: 115–134.

Estay F, Cerisola H y Tellez V, 1994. Biología del desarrollo y reproducción artificial en la trucha arco iris. Chile: CONICYT-FONDEF, 30 p.

Folch J, Lees M y Stanley G, 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226: 497-509.

Gordon M, Klotins KC, Campbell VM y Cooper M, 1988. Farmed salmon broodstock management. Victoria (BC), Canadá, 137 p.

Halüloúlu H, Aras N, Yanik T, Atamanalp M y Kocaman E, 2003. Investigation of changes in fatty acid composition at early development stages of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turk J Vet Anim Sci*, 27: 1105-1109.

Izquierdo M, 1996. Essential fatty acid requirements of cultured marine fish larvae. *Aquacult Nutr*, 2: 183–191.

Izquierdo M, Fernández-Palacios H y Tacon A, 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*, 197: 25–42.

Kamler E, 2005. Parent–egg–progeny relationships in teleost fishes: an energetics perspective. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 15: 399–421.

Kjørsvik E, Mangor-Jensen A y Holmefjord T, 1990. Egg quality in fishes. En: Blaxter JHS y Sothward AJ (Eds). *Advances in marine biology*. London: Academic Press; 26: p. 71–113.

Knox D, Bromage NR, Cowey CB y Springate JR, 1988. The effect of broodstock ration size on the composition of rainbow trout eggs (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 69: 93–104.

Leger C, Fremont L, Marion D, Nassour I y Desfarges MF, 1981. Essential fatty acids in trout serum lipoproteins, vitellogenin and egg lipids. *Lipids*, 16 (8): 593–600.

Leray C, Nonnotte G, Roubaud P y Léger C, 1985. Incidence of (n-3) essential fatty acid deficiency on trout reproductive processes. *Reprod Nutr Dev.*, 25 (3): 567-581.

Patiño R y Sullivan CV, 2002. Ovarian follicle growth, maturation, and ovulation in teleost fish. *Fish Physiology and Biochemistry*, 26: 57–70.

Perazzolo LM, Coward K, Davail B, Normand E, Tyler CR, Pakdel F, Schneider W y Le Menn F, 1999. Expression and localization of messenger ribonucleic acid for the vitellogenin receptor in ovarian follicles throughout oogenesis in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Biology of Reproduction*, 60: 1057–1068.

Rainuzzo J, Reitan K y Olsen Y, 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. *Aquaculture*, 155: 103-115.

Sargent J, Bell G, McEvoy L, Tocher D y Estevez A, 1999. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture*, 177: 191–199.

Sargent J, 1995. Origins and functions of egg lipids: Nutritional implications. En: Bromage NR y Roberts RJ (Eds). *Broodstock management and egg and larval quality*. Oxford: Blackwell; p. 353–372.

Shibata N, Yoshikuni M y Yoshitaka N, 1993. Vitellogenin incorporation into oocytes of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, in vitro: effects of hormones on denuded oocytes. *Develop. Growth & Differ.*, 35 (1): 115–121.

Tocher D, 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science*, 11 (2): 107–184.

Tocher D, Bendiksen E, Campbell P y Bell JG, 2008. The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish. *Aquaculture*, 280: 21–34.

Tyler CR, Sumpter JP y Witthames PR, 1990. The dynamics of oocyte growth during vitellogenesis in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biology of Reproduction*, 43: 202–209.

Vasallo-Agius R, Watanabe T, Yoshizaki G, Satoh S y Takeuchi 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: 818–827.

Watanabe T, Takeuchi T, Saito M y Nishimura K, 1984. Effect of low protein–high calorie or essential fatty acid deficiency diet on reproduction of rainbow trout. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 50 (7): 1207–1215.

Wiegand M, 1996. Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleost fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 6: 259-286.

Wirth M, Steffens W, Meinelt T y Steinberg C., 1997. Significance of docosahexaenoic acid for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. *Fett/Lipid*, 99 (7): 251-253.

Yu TC, Sinnhuber RO y Hendricks JD, 1979. Reproduction and survival of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed linolenic acid as the only source of essential fatty acids. *Lipids*, 14: 572–575.

Zengin H y Akpınar MA, 2006. Fatty acid composition of *Oncorhynchus mykiss* during embryogenesis and other developmental stages. *Biologia Bratislava*, 61 (3): 305–311.

4. Conclusiones generales y recomendaciones

La posibilidad de establecer el potencial de viabilidad de un lote dado de ovas de trucha arco iris es limitada, en tanto las posibilidades de predicción temprana a través de modelos que consideran tanto variables de tipo dimensional como de composición no presentaron correlaciones que puedan considerarse de utilidad práctica, específicamente cuando se deben involucrar los estadios iniciales de desarrollo embrionario. Así, tal restricción se focaliza en particular para la etapa de ova verde, es decir, aquella que abarca desde el momento de la fertilización hasta que ocurre el embrionamiento. En esta fase, la interacción de las variables de peso y mortalidad inicial (previa transformación) ofrecieron el mejor acercamiento a un modelo práctico, sin que el nivel de explicación de la variación (reducidos coeficientes de determinación) pueda entenderse como relevante y constituya una herramienta válida para la toma de decisiones de manejo desde una perspectiva productiva.

Entonces, la opción operativa de continuar manteniendo un lote determinado en el proceso solamente adquiere cierto fundamento desde el momento en el que el desarrollo alcanza el estadio de ova embrionada; a partir de aquí, los modelos determinados presentan una significativa y fuerte correlación positiva. En consecuencia, tomando como punto de partida la eficiencia obtenida en el embrionamiento (IE OVEM), los elevados coeficientes de determinación permiten disponer de indicativos seguros sobre los resultados de un lote, en términos de la eficiencia hasta eclosión (IEI) y la eficiencia total del proceso, en la que está incluida la etapa de larvicultura o reabsorción de vesícula (IE TOT).

La homogeneidad en parámetros de composición (proteína bruta, energía bruta y perfiles de ácidos grasos) se puede interpretar como un reflejo de las similares condiciones de manejo nutricional y alimenticio de los peces experimentales. Indica igualmente que, por lo menos en componentes básicos, los balanceados utilizados en el país ofrecerían los

mínimos necesarios para que los procesos de formación, transporte e incorporación del vitelo al huevo sean suficientes para atender los requerimientos del embrión en formación, lo que no estaría, en principio, condicionando las posibilidades nacionales de producción de semilla de truchas en lo que se refiere a este aspecto. La movilización selectiva por parte de la hembra se sugiere como el mecanismo que permite tal condición.

Es concluyente que, bajo las consideraciones y lineamientos experimentales de la presente investigación, no fue posible establecer un modelo con suficiente capacidad explicativa sobre las variaciones en la respuesta que se presenta en la viabilidad individual de grupos de ovas para la especie. La determinación precisa de otros factores que pudiesen estar interactuando en los primeros estadios de desarrollo embrionario en truchas queda entonces sujeta a planteamientos investigativos futuros.

No obstante lo anterior y en una visión más global, la calidad del huevo se puede entender como una herramienta en la que el reproductor es analizado a partir de las características de la semilla que es capaz de producir. El carácter especie-específico del universo de variables que pueden tipificar tal calidad genera una línea investigativa que puede cimentar esquemas de producción establecidos para las especies que constituyen actualmente la base de la producción piscícola nacional y ofrecer mecanismos de valoración para aquellas que han sido identificadas como promisorias y sobre las que se cuenta con algún nivel de avance en la generación de paquetes tecnológicos. Los postulados prácticos que fueron mencionados para cuantificar la calidad deben considerarse como criterios directrices para que, finalmente, cualquier eventual resultado se traduzca en incrementos productivos reales.