

IMPORTANCIA DE LA NUTRICIÓN EN LA REPRODUCCIÓN DE PECES

M. Izquierdo, H. Fernández-Palacios

Grupo de Investigación en Acuicultura. IUSA & ICCM. P.O.
Box 56, 35200, Telde, Las Palmas de Gran Canaria
mizquierdo@dbio.ulpgc.es

La acuicultura: un recurso alimentario en continuo crecimiento

Según los datos de la Organización Mundial para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la población mundial actual está a punto de superar los seis mil quinientos millones de personas, presentando un crecimiento exponencial, a pesar de que los recursos naturales de La Tierra son limitados. Si bien es cierto que en la actualidad la agricultura es capaz de producir suficiente alimento para sostener toda la población mundial, el reparto desigual en los recursos financieros necesarios para acceder a ese alimento impide que se alcance ese objetivo. Además, aunque una distribución más equitativa de los recursos mejoraría en gran medida la inseguridad alimentaria, no podría llegar a eliminarla completamente.

Al mismo tiempo, la demanda mundial de pescado se ha incrementado notablemente, y no sólo porque la población mundial está en continuo crecimiento, sino porque el consumo per cápita de pescado también se incrementa, concretamente a un ritmo de medio kilo más al año por persona. Así en la actualidad, el consumo medio de pescado está entre 14-16 Kg. de pescado anual per cápita (de 28 a 44 kg en España, según las estadísticas). Sin embargo, a pesar de este incremento en la demanda de pescado, las pesquerías mundiales se han mantenido

estables durante los últimos 15 años. Más aún, los científicos pesqueros aseguran que serán completamente insostenibles después del año 2040. En efecto, el mar no es una fuente inagotable de alimento y la pesca ha tocado el fondo del saco, amenazando con romperlo en menos de 35 años.

Frente a esta situación abocada al desplome a medio-largo plazo de las pesquerías, se presenta la acuicultura, producción controlada de organismos acuáticos como la única alternativa para complementar la producción pesquera y permitir el abastecimiento de pescado a la población mundial. El término Acuicultura engloba todas las actividades que tienen por objeto la producción, engorde y comercialización de organismos acuáticos, animales o vegetales, de aguas dulces, salobres o marinas. La distinción entre cultivo y cría no establece, como ocurre en el medio terrestre, una separación entre los reinos vegetal y animal, sino un nivel diferente de problemas y exigencias engendradas por la especificidad de los sujetos de cría, si bien es cierto que el engorde de peces a elevada densidad reviste todas las características de una cría, no lo es menos que la producción de mejillones o de ostras se parece más a un cultivo, por el ritmo y la naturaleza de las labores que conlleva.

En la actualidad, la producción mundial de acuicultura ya ha superado los 50 millones de toneladas métricas, siendo el sector de pro-

ducción de alimento que presenta el mayor crecimiento anual, superior al 10% durante los últimos 15 años frente al 2,8 % de la producción de carne. Así, se han superado ampliamente todas las expectativas de producción y la acuicultura ha demostrado su potencial real para cubrir los retos de seguridad alimentaria y generación de empleo y beneficios económicos y convertirse en una verdadera "Revolución azul". No podemos olvidar que más del 70 % de la superficie del llamado Planeta azul está cubierta de agua con un gran potencial de producción de alimento para aliviar la inseguridad alimentaria que azota a la humanidad.

Importancia de la correcta alimentación de reproductores

Uno de los principales cuellos de botella para el desarrollo de la producción comercial de especies acuáticas es la obtención de un número suficiente de alevines de buena calidad. Y es que cuando los peces son mantenidos en cautividad aparecen numerosos problemas relacionados con la reproducción tales como la ausencia de ovulación y puesta, la espermatogénesis debilitada, las puestas estacionales en épocas inadecuadas para la producción, las puestas asincrónicas, la reducción del crecimiento somático durante la reproducción, las puestas excesivas o indeseables, etc. En la mayoría de las especies cultivables estos problemas son controlados mediante inducciones hormonales o regulación de ciertos parámetros ambientales como fotoperiodo, temperatura o salinidad.

La correcta alimentación y nutrición de los reproductores permite mejorar considerablemente no sólo la calidad del esperma y el huevo, sino también la producción de semilla. Pero, a pesar del considerable avance en

nutrición de peces de cultivos durante las dos últimas décadas, en muchas ocasiones los conocimientos actuales sobre los requerimientos nutricionales de los reproductores son insuficientes para asegurar la calidad de las puestas, debido al elevado coste y la complejidad de manejo de este tipo de estudios. Sin embargo, como en nutrición del ser humano y del ganado (LEBOULANGER, 1977) está claro que los requerimientos nutritivos de los reproductores serán diferentes de los animales juveniles que están en rápido crecimiento. Es más, como en otros animales, también es claro que muchas de las deficiencias y de los problemas encontrados durante las fases tempranas de la cría larvaria están relacionados directamente con el régimen de alimentación, incluyendo nivel y duración de nutrientes, de los reproductores. El objetivo de esta revisión es tratar efectos principales de la nutrición de reproductores sobre la reproducción de los peces en cultivo.

Fecundidad

Varios métodos se han desarrollado para determinar la calidad del huevo de los peces (KJORSVIK *et al.*, 1990; FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 1995). Uno de los parámetros, la fecundidad, se ha utilizado para determinar la calidad del huevo, por ser sensible a deficiencias nutricionales en dietas de los reproductores. La fecundidad es el número total de huevos producidos por cada pez expresado en términos de huevos/puesta o de huevos/peso corporal. La fecundidad reducida, que ha sido documentada en varias especies de peces marinos, podría ser causada entre otras por la influencia de un desequilibrio nutricional sobre el sistema endocrino hipotálamo-hipófiso-gonadal de o por la restric-

ción en la disponibilidad de un componente bioquímico para la formación del huevo.

Uno de los principales factores nutricionales que ha sido descrito que afecta a los rendimientos reproductivos en peces es el contenido en ácidos grasos esenciales en la dieta. En dorada *Sparus aurata* fue encontrado que la fecundidad aumenta significativamente con el incremento del nivel de n-3HUFA en la dieta (ácidos grasos poliinsaturados con 20 ó más átomos de carbono, especialmente en peces marinos) hasta el 1,6% (FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 1995). En espáridos, la composición en ácidos grasos esenciales de la gónada de la hembra es afectada de manera importante por el contenido de ácidos grasos en la dieta, la cual influencia significativamente la calidad del huevo a corto plazo (HAREL *et al.*, 1992). Así, en dorada, la composición en ácidos grasos de los huevos está directamente afectada por el contenido en n-3 HUFA de la dieta de los reproductores (FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 1995). Una correlación positiva fue observada entre los niveles de n-3 HUFA en la dieta y los huevos, con la concentración de EPA que era afectada más fácilmente por n-3 HUFA en la dieta que el DHA. La retención selectiva de DHA también ha sido encontrada durante la embriogénesis y durante el ayuno (IZQUIERDO, 1996), denotando la importancia de éste ácido graso en el desarrollo del embrión y la larva. Los ácidos grasos poliinsaturados también pueden regular la producción de eicosanoides, particularmente prostaglandinas, las cuales están implicadas en varios procesos reproductivos, incluyendo la producción de hormonas esteroides y el desarrollo gonadal como la ovulación (MOORE, 1995). Los ovarios de los peces tienen una alta capacidad para generar eicosanoides, entre ellas la prostaglandina E (PGE) derivada de la acción cicloxigenasa y leucotrienos LTB y 4. LTB procede de la

actividad lipoxigenasa (KNIGHT *et al.*, 1995). Los inhibidores de esta enzima redujeron la maduración inducida por gonadotropina de oocitos en lubina (ASTURIANO, 1999; IZQUIERDO *et al.*, 2001) sugiriendo que los productos derivados de la acción de la lipoxigenasa podrían también estar implicados en la maduración del oocito.

Además de que las dietas deficientes en EFA causan efectos perjudiciales en los peces, también han sido descritos los efectos negativos de sus excesos sobre los rendimientos reproductivos de los peces. Por ejemplo, los altos niveles de n-3 HUFA en la dieta redujeron la cantidad total de huevos producidos en reproductores de dorada a pesar del incremento de la concentración de n-3 HUFA en el huevo (FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 1995). Puesto que la fecundidad reducida estuvo asociada con el alto contenido de n-3 HUFA en el huevo, sólo contenidos elevados de EFA no deberían ser utilizados como criterio para determinar la calidad del huevo de reproductores de dorada. Altos niveles de n-3 HUFA en la dieta podrían afectar al eje endocrino hipotálamo-hipófiso-gonadal habiendo sido encontrado que ambos EPA y DHA reducen *in vitro* la acción esteroidogénica de la gonadotropina en el ovario de los peces teleósteos (MERCURE y VAN DER KRAAK, 1995).

Otros nutrientes que han sido mostrados que afectan a la fecundidad son la vitamina E (IZQUIERDO y FERNÁNDEZ-PALACIOS, 1997; FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 1998) y el ácido ascórbico (BLUM y DABROWSKI, 1995). Un incremento en la dieta de los niveles de a-tocoferol de hasta 125 mg/kg resultó en una mejora en la fecundidad de dorada, expresada como el número total de huevos producido por hembra y viabilidad del huevo. Sin embargo, la fecundidad reducida observada en reproductores alimentados con una dieta deficiente en a-tocoferol no estuvo asociada

con el contenido reducido en vitamina E de los huevos, y sólo muy altos niveles de vitamina E 2020 mg/kg fueron encontrados que incrementan el contenido de tocoferol del huevo. Los requerimientos antioxidantes de la dieta incrementan durante la reproducción (IZQUIERDO y FERNÁNDEZ-PALACIOS, 1997; FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 1998). Esto puede estar relacionado con la formación de radicales de oxígeno durante la biosíntesis de hormonas esteroides como ha sido observado en vertebrados superiores. Por ejemplo, los niveles de compuestos antioxidantes estuvieron correlacionados con los niveles de progesterona en cuerpo lúteo en bovino sugiriendo la activación de mecanismos antioxidativos para poder con la formación de oxiradicales dependiente de la esteroidogénesis (RAPOPORT *et al.*, 1998).

Ciertos nutrientes de la dieta también ejercen un efecto marcado sobre la fertilización. Los niveles de EPA y AA en la dieta muestran una correlación con las tasas de fertilización en reproductores de dorada (FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 1995, 1997). Así, la composición de ácidos grasos del esperma depende del contenido en ácidos grasos esenciales en la dieta de los reproductores de especies como la trucha arco iris (WATANABE *et al.*, 1984d; LABBE *et al.*, 1993) y la lubina (ASTURIANO, 1999), lo que es posible que afecte a la movilidad del esperma y consecuentemente a la fertilidad. Particularmente en salmónidos, donde la criopreservación de esperma es utilizada habitualmente, la composición de ácidos grasos del esperma podría ser un factor que determina la integridad de membrana después la congelación-descongelación. Otra hipótesis puede explicar el efecto beneficioso del EPA y AA sobre las tasas de fertilización, ambos ácidos grasos están envueltos en funciones celulares y son precursores de eicosanoides. El EPA es conocido por ser

un precursor de prostaglandinas de series III, mientras que el AA es un precursor de prostaglandinas de series II (STACEY y GOTEES, 1982). *In vitro* AA, pero no EPA o DHA, estimulan testosterona testicular en testículo de goldfish a través de su conversión a prostaglandina PGE2 (WADE *et al.*, 1994). Por el contrario, EPA o DHA bloquearon la acción esteroidogénica de ambos ácido araquidónico y PGE. Ambos AA y EPA modulan la esteroidogénesis en testículos de goldfish (WADE *et al.*, 1994). De hecho, la formación del esperma puede ser retrasada y consecuentemente las tasas de fertilización reducidas mediante depresión de la esteroidogénesis causada por una deficiencia o desequilibrio de EFA en los reproductores. Más aún, las prostaglandinas son reconocidas también como feromonas importantes en algunos peces teleósteos. Algunas PGs producidas por hembras de goldfish, tales como PGFs, ha sido mostrado que estimulan el comportamiento sexual del macho y sincroniza las puestas de machos y hembras, afectando así directamente la éxito de la fertilización (SORENSEN *et al.*, 1988).

Otros nutrientes conocidos que son importantes para la fertilización son la vitamina E (IZQUIERDO y FERNÁNDEZ-PALACIOS, 1997; FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 1998), los carotenoides (CRAIK, 1985) y la vitamina C. El ácido ascórbico ha sido mostrado que juega un papel importante en la reproducción de salmónidos (BLUM y DABROWSKI, 1995), en la esteroidogénesis y la vitelogénesis. La función antioxidante de las vitamina C y E pueden jugar un papel importante para las células espermáticas durante la espermatogénesis y hasta la fertilización mediante la reducción del riesgo de la peroxidación de lípido, lo cual es perjudicial para la movilidad del esperma.

Desarrollo embrionario

Varios nutrientes son esenciales para el desarrollo normal del embrión y sus niveles en las dietas de reproductores mejoran la morfología del huevo y la tasa de eclosión. El porcentaje de huevos morfológicamente normales, como un parámetro para determinar la viabilidad de los huevos, ha sido encontrado que incrementa con el aumento en los niveles de n-3 HUFA en las dietas de reproductores y una incorporación de estos ácidos grasos dentro de los huevos (FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 1995), indicando así la importancia de los EFAs para el normal desarrollo de huevos y embriones de dorada. Doradas alimentadas con dietas deficientes en EFA han mostrado un incremento del número de gotas de lípidos en el huevo (FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 1997), como también ha sido demostrado en dorada japonesa (WATANABE *et al.*, 1984a). Estos ácidos grasos juegan un papel estructural importante como componentes de los fosfolípidos en membranas de peces y están asociados con la fluidez de membrana y el correcto funcionamiento fisiológico de enzimas asociadas a membrana y la función celular en peces marinos.

Los radicales libres deterioran las membranas del huevo y la integridad de membrana. Para la vitamina E, la vitamina C y los carotenoides, como la astaxantina, ha sido puesto de manifiesto que tiene un papel protector contra la acción de radicales libres. Aunque los efectos negativos de la deficiencia en vitamina E sobre los rendimientos reproductivos de los vertebrados superiores han sido demostrados desde principios de 1920, la importancia de la vitamina E como nutriente en la reproducción de los peces sólo ha sido demostrada en 1990, donde su deficiencia produce gónadas inmaduras en Carpa y Ayu y reduce las tasas de eclosión y super-

vivencia en Ayu (WATANABE, 1990). Un incremento en el nivel de a-tocoferol en la dieta de 22 a 125 mg/kg también reduce significativamente el porcentaje de huevos anormales en dorada (FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 1997) y produce una mejora en el porcentaje de huevos normales (IZQUIERDO *et al.*, 2001). Por otro lado, es bien conocida la función de la vitamina E como un antioxidante inter e intracelular para mantener la homeostasis de metabolitos hábiles en la célula y plasma. En ratas diabéticas, la suplementación de vitamina E en dietas maternas también reduce las malformaciones congénitas, incrementan las concentraciones de tocoferol en los tejidos maternos, de embriones y fetos.

También ha sido demostrado que la supervivencia de embriones es afectada por el contenido de vitamina C de la dieta de los reproductores. Esta vitamina es necesaria para la síntesis del colágeno durante el desarrollo embrionario. En reproductores de trucha arco iris *O. mykiss*, los requerimientos de vitamina C fue hasta ocho veces más alta que la de juveniles (BLOM y DABROWSKI, 1995). Otras investigaciones con dorada japonesa han demostrado que los fosfolípidos en la dieta mejoran la calidad del huevo (WATANABE *et al.*, 1991a, b). Aunque los efectos beneficiosos de los fosfolípidos han sido atribuidos a su capacidad de captación de radicales libres (WATANABE y KIRON, 1995), en algunas especies de peces son importantes durante el desarrollo larvario siendo preferentemente catabolizado después de la eclosión y antes de la primera alimentación (RAINUZZO *et al.*, 1997).

Calidad larvaria

Pocos han sido los estudios realizados para demostrar la mejora de la calidad de

la semilla a través de la implementación de nutrición de los reproductores. Incrementando los niveles de lípidos del 12% al 18% en reproductores de *Siganus guttatus* produjeron larvas grandes eclosionadas y un incremento en la supervivencia a los 14 días después de la eclosión (DURAY *et al.*, 1994). El incremento de los niveles de n-3 HUFA particularmente DHA in dietas de reproductores pusieron de manifiesto que estimulan significativamente el peso de las larvas de los peces y su resistencia al choque osmótico (ABY-AYAD *et al.*, 1997).

Conclusión

En resumen, la información de los requerimientos nutritivos de reproductores de peces está limitado a unas pocas especies y nutrientes. Para ciertos nutrientes tales como los ácidos grasos esenciales y nutrientes antioxidantes ha sido demostrado que juegan particularmente un papel importante en la nutrición de los reproductores. Sus requerimientos durante la reproducción son más altos que aquellos de los juveniles,

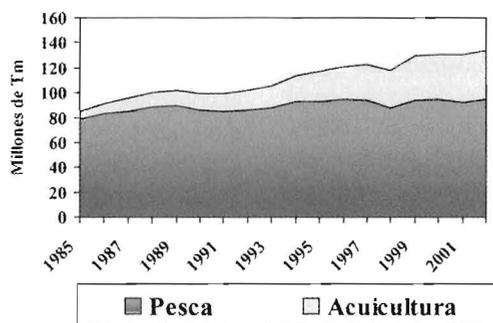


Figura 1. Evolución de la producción en acuicultura con respecto a la pesca.

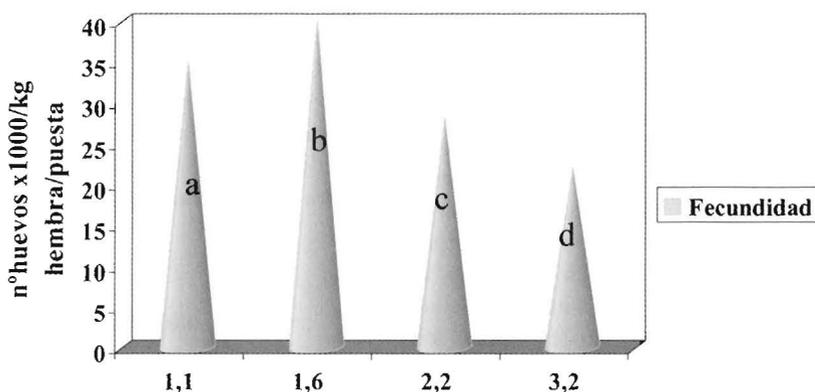


Figura 2. Efecto del exceso de n-3 HUFA dietético en la fecundidad de dorada.

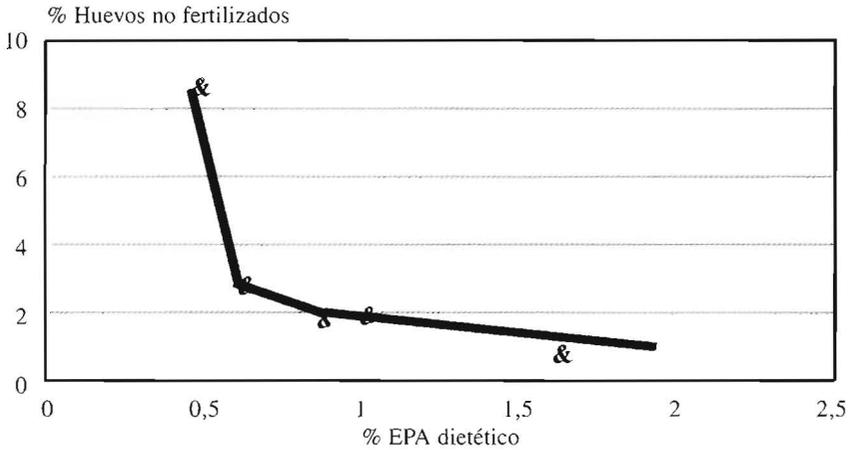


Figura 3. Efecto del EPA dietético en la fertilización.

pero cantidades excesivas de nutrientes o un desequilibrio puede ser perjudicial para la reproducción. También es conocida la importancia que juegan en la reproducción de los peces algunos minerales, tales como el fósforo, y otros aspectos nutricionales, tales como la calidad de las proteínas. La importancia de otros nutrientes tales como la vitamina A, la vitamina B6 y el ácido fólico aún no ha sido establecida dentro de la alimentación de reproductores y depara un futuro en la investigación. Futuros estudios *in vitro* pueden suministrar claves para funcionar y explicar ciertos mecanismos bioquímicos de ciertos micronutrientes en reproducción de peces, sin embargo, estos estudios serían un complemento a los estudios *in vivo* más que para reemplazarlos.

Bibliografía

- ABY-AYAD S.-M.E.-A., MELARD C., KESTEMONT P., 1997. Effects of fatty acids in Eurasian perch broodstock diet on egg fatty acid composition and larvae stress resistance. *Aquacult. Int.* 5, 161-168.
- ASTURIANO J.F., 1999. El proceso reproductivo de la lubina europea *Dicentrarchus labrax* L. . Efectos de los ácidos grasos de la dieta: estudios *in vivo* e *in vitro*. PhD Thesis, Valencia University, Spain, 251 pp.
- BLOM J.H., DABROWSKI K., 1995. Reproductive success of female rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in response to graded dietary ascorbyl monophosphate levels. *Biol. Reprod.* 52, 1073-1080.
- CRAIK J.C.A., 1985. Egg quality and egg pigment content in salmonid fishes. *Aquaculture* 47, 61-88.
- DURAY M., KOHNO H., PASCUAL F., 1994. The effect of lipid enriched broodstock diets on spawning and on egg and larval quality of hatchery-bred rabbitfish *Siganus guttatus*. *Philipp. Sci.* 31, 42-57.
- FERNÁNDEZ-PALACIOS H., IZQUIERDO M.S., ROBAINA L., VALENCIA A., SALHI M., VERGARA J., 1995. Effect of *n*-3 HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead seabream *Sparus aurata* L. *Aquaculture* 132, 325-337.
- FERNÁNDEZ-PALACIOS H., IZQUIERDO M., ROBAINA L., VALENCIA A., SALHI M., MONTERO D., 1997. The effect of dietary protein and lipid from squid and fish meals on egg quality of broodstock for Gilthead seabream *Sparus aurata*. *Aquaculture* 148, 233-246.
- FERNÁNDEZ-PALACIOS H., IZQUIERDO M.S., GONZALEZ M., ROBAINA L., VALENCIA A., 1998. Combined effect of dietary α -tocopherol and *n*-3 HUFA on

- egg quality of gilthead seabream broodstock *Sparus aurata*. *Aquaculture* 161, 475-476.
- HAREL M., TANDLER A., KISSIL G.W.M., APPLEBAUM S., 1994. The kinetics of nutrient incorporation into body tissues of gilthead sea bream *S. aurata* females and subsequent effects on egg composition and egg quality. *Br. J. Nutr.* 72, 45-58.
- IZQUIERDO M., 1996. Essential fatty acid requirements of cultured marine fish larvae. *Aquacult. Nutr.* 2, 183-191.
- IZQUIERDO M., FERNÁNDEZ-PALACIOS H., 1997. Nutritional requirements of marine fish larvae and broodstock. *Cah. Options Mediterr.* 22, 243-264.
- IZQUIERDO M.S., FERNÁNDEZ-PALACIOS H., TACON A.G.J., 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197: 25-42.
- KJORSVIK E., MANGOR-JESEN A., HOLMEFJORD I., 1990. Egg quality in fishes. *Advances in Marine Biology*, vol. 26, Academic Press, London, pp. 71-113.
- KNIGHT J., HOLLAND J.W., BOWDEN L.A., HALLIDAY K., ROWLEY A.F., 1995. Eicosanoid generating capacities of different tissues from the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Lipids* 30 5, 451-458.
- LABBE C., LOIR M., KAUSHIK S., MAISSE G., 1993. The influence of both rearing and dietary lipid origin on fatty acid composition of spermatozoan polar lipids in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Effect on sperm cryopreservation tolerance. *Fish Nutrition in Practice*, Biarritz France, June 24-27, 1991. Ed. INRA, Paris 1993 Les Colloques, no. 61, pp. 49-59.
- LEBOULANGER J., 1977. Les vitamines. *Biochemie-Mode d'action-Interet thérapeutique*. Ed. Roche, Neuilly-sur-Seine, France, 194 pp.
- MERCURE F., VAN DER KRAAK G., 1995. Inhibition of gonadotropin-stimulated ovarian steroid production by polyunsaturated fatty acids in teleost fish. *Lipids* 30, 547-554.
- MOORE P.K., 1995. Prostanoids: Pharmacological, Physiological and Clinical Relevance. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- RAINUZZO J.R., REITAN K.I., OLSEN Y., 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. *Aquaculture* 155, 105-118.
- RAPOPORT R., SKLAN D., WOLFENSON D., SHAHAM-ALBALANCY A., HANUKOGLU I., 1998. Antioxidant capacity is correlated with steroidogenic status of the corpus luteum during bovine estrous cycle. *Biochem. Biophys. Acta* 1380, 133-140.
- SORENSEN P.W., HARA T.J., STACEY N.E., GOETZ F.W., 1988. F prostaglandins function as potent stimulants that comprise the post-ovulatory female sex pheromone in goldfish. *Biol. Reprod.* 39, 1039-1050.
- STACEY N.E., GOETZ F.W., 1982. Role of prostaglandins in fish reproduction. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 39, 92-98.
- WADE M.G., VAN DER KRAAK G., GERRITS M.F., BALLANTYNE J.S., 1994. Release and steroidogenic actions of polyunsaturated fatty acids in the goldfish testis. *Biol. Reprod.* 51, 131-139.
- WATANABE T., 1990. Effect of broodstock diets on reproduction of fish. *Actes Colloq. - IFREMER* 9, 542-543.
- WATANABE T., KIRON V., 1995. Broodstock management and nutritional approaches for quality offsprings in the Red Sea Bream. In: Bromage, N.R., Roberts, R.J. Eds., *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Cambridge Univ. Press, Cambridge, 424 pp.
- WATANABE T., ARAKAWA T., KITAJIMA C., FUJITA S., 1984a. Effect of nutritional quality of broodstock diets on reproduction of red sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi* 50 3, 495-501.
- WATANABE T., TAKEUCHI T., SAITO M., NISHIMURA K., 1984d. Effect of low protein-high calorie or essential fatty acid deficiency diet on reproduction of rainbow trout. *Nippon Suisan Gakkaishi* 50 7, 1207-1215.
- WATANABE T., LEE M., MIZUTANI J., YAMADA T., SATOH S., TAKEUCHI T., YOSHIDA N., KITADA T., ARAKAWA T., 1991a. Effective components in cuttlefish meal and raw krill for improvement of quality of red sea bream *Pagrus major* eggs. *Nippon Suisan Gakkaishi* 57 4, 681-694.
- WATANABE T., FUJIMURA T., LEE M.J., FUKUSHO K., SATOH S., TAKEUCHI T., 1991b. Effect of polar and nonpolar lipids from krill on quality of eggs of red seabream *Pagrus major*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 57 4, 695-698.