

**Centro de Investigación Científica y de Educación  
Superior de Ensenada, Baja California**



---

**Doctorado en Ciencias en  
Ciencias de la Vida  
con orientación en Biotecnología Marina**

---

**Caracterización fisiológica y metabólica de la tilapia  
tetra híbrida Pargo UNAM a diferentes temperaturas y  
salinidades de aclimatación**

Tesis

para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de  
Doctor en Ciencias

Presenta:

**Evnika Zarina Medina Romo**

Ensenada, Baja California, México

2018

Tesis defendida por

**Evnika Zarina Medina Romo**

y aprobada por el siguiente Comité

---

**Dra. Ana Denise Re Araujo**

Director de tesis

**Dr. Fernando Díaz Herrera**

**Dra. Rufina Hernández Martínez**

**Dr. Leonardo Ibarra Castro**



---

**Dr. Clara Elizabeth Galindo Sánchez**

Coordinador del Posgrado en Ciencias en Ciencias de la vida

---

**Dr. Rufina Hernández Martínez**

Director de Estudios de Posgrado

*Evnika Zarina Medina Romo © 2018*

*Queda prohibida la reproducción parcial o total de esta obra sin el permiso formal y explícito del autor*

**Resumen** de la tesis de **Evnika Zarina Medina Romo** presentada como requisito parcial para la obtención del grado de Doctor en Ciencias en el posgrado de Ciencias de la Vida con orientación en Biotecnología Marina.

### **Caracterización fisiológica y metabólica de la tilapia tetra híbrida Pargo UNAM a diferentes temperaturas y salinidades de aclimatación**

Resumen aprobado por:

---

**Dra. Ana Denise Re Araujo**

Directora de Tesis

La tilapia Pargo UNAM es un pez tetra-híbrido mejorado genéticamente con fines acuícolas desarrollada en México. El conocer las respuestas fisiológicas y metabólicas ante distintos escenarios de temperaturas y salinidades, nos permiten conocer las ventanas óptimas en la cual los organismos canalizan de manera óptima la energía con lo cual se obtienen los mayores rendimientos. En el presente trabajo; se presentan los efectos de 5 temperaturas de aclimatación sobre el comportamiento térmico y la respuesta metabólica de juveniles de Pargo UNAM, y se analiza el efecto de la salinidad sobre el comportamiento osmorregulador en 7 salinidades a una temperatura constante. Primero, se determinó la temperatura preferida (TP) mediante los métodos gravitacional y agudo, cuyos valores de TP fueron  $29.53 \pm 1.54$  °C y  $29.5 \pm 0.2$  °C, respectivamente. La TP fue independiente del ciclo diurno, al no encontrarse diferencias significativas en las temperaturas seleccionadas en el día y en la noche, y los juveniles de Pargo UNAM mostraron una respuesta positiva al incrementarse las temperaturas seleccionadas de forma directamente proporcional a los incrementos de la temperatura de aclimatación (TA), resultando la ecuación:  $TP = 0.29 TA + 21.42$ . La temperatura crítica máxima (TCMax) y la temperatura crítica mínima (TCMin) se encontraron dentro de los intervalos de 39.1 a 43.5 °C y de 8 a 14.9 °C respectivamente, con los que se construyó la ventana de tolerancia térmica cuya área fue 355.2 °C<sup>2</sup>. Los intervalos de la razón de respuesta a la aclimatación (RRA) determinados mediante los resultados de TCMin y TCMax fueron de 0.52 a 0.85 y 0.34 a 0.38 respectivamente, los cuales coincidieron con valores de RRA de otras especies tropicales. La tasa de consumo de oxígeno aumentó con el incremento de TA en el intervalo de 20 a 26 °C (de 88.2 a 141.4 mg O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) con una notable disminución en las temperatura de 32 °C ( $108.23 \pm 18.3$  mg O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), la TCO de los organismos aclimatados a 29 °C no fue significativamente diferente a la calculada para los organismos aclimatados a 26 y 32 °C. Los organismos aclimatados a 29 °C mostraron una menor tasa de excreción de amonio ( $2.2 \pm 0.76$  mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) y los mayores valores de O:N ( $14.64 \pm 8.70$ ) que aquellos aclimatados a las otras temperaturas experimentales. Se obtuvieron las tasas metabólicas de máxima actividad (MMR) y de escape (ESMR) para la determinación del campo de actividad metabólico mediante inducción a la tasa metabólica por medio de la temperatura utilizando el método TIRM y mediante el método de Persecución. El campo metabólico obtenido por ambos métodos mostraron valores máximos en los organismos aclimatados a 29 °C. Las concentraciones de lactato sanguíneo fueron similares en los organismos en TIRM y Persecución con valores altos en 20 °C, los cuales disminuyeron con el aumento de la temperatura de aclimatación, siendo ligeramente menores los obtenidos mediante el método TIRM. Al finalizar los tres meses de cultivo a las diferentes temperaturas experimentales, los organismos cultivados en 29 y 32 °C mostraron la mayor ganancia de peso ( $76.47 \pm 16.5$  g y  $73.98 \pm 20.38$  g respectivamente) y la mayor tasa de crecimiento específica (TCE) de 2.16 y 2.15 % día<sup>-1</sup> respectivamente. La segunda sección de este trabajo consistió en determinar la TCO, TEA, O:N, y las

tasas de crecimiento absoluto, específico y relativo, así como el punto isosmótico y la capacidad osmorreguladora de los juveniles de Pargo UNAM aclimatados a las salinidades de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L<sup>-1</sup>. La TCO de los organismos aclimatados a 5 g L<sup>-1</sup> fue significativamente menor ( $P < 0.05$ ) que a las encontradas en el resto de las salinidades experimentales, las cuales fueron similares entre ellas por lo que se consideró una respuesta tipo I de acuerdo a Kinne (1977). La máxima TEA se presentó en los organismos aclimatados a 25 g L<sup>-1</sup> y la menor en 0 g L<sup>-1</sup>. Los valores de O:N fueron bajos tanto en los experimentos de termorregulación como en los de osmorregulación, indicando que los organismos emplearon proteína como fuente de energía. Los juveniles de tilapia mostraron un comportamiento altamente osmorregulador debido a que la osmolaridad sanguínea varió ligeramente con el incremento de la salinidad, mostrando una pendiente de 0.0396. El patrón de osmorregulación fue hiperosmótico en las salinidades de 0 y 5 g L<sup>-1</sup> e hiposmótico de 15 a 35 g L<sup>-1</sup>. El punto isosmótico calculado fue de 335 mmol kg<sup>-1</sup>. TCA, TCE y TCR fueron mayores en los organismos cultivados a 20 g L<sup>-1</sup>. Se concluyó que Pargo UNAM es un osmorregulador eficiente y que puede ser cultivado en un amplio intervalo de salinidades en combinación con su temperatura preferida.

**Palabras clave:** Termorregulación, campo metabólico, osmorregulación, TIMR, Persecución.

**Abstract** of the thesis presented by **Evnika Zarina Medina Romo** a partial requirement to obtain Doctoral of Science degree in Life Science with orientation in Biotechnology, Ensenada Baja California April 2016.

**Physiologic and metabolic characterization of the tetra-hybrid tilapia Pargo UNAM to different acclimation temperatures and salinities**

Abstract approved by:

---

**Dr. Ana Denise Re Araujo**  
Thesis Director

Developed in México, tilapia Pargo UNAM is a tetra-hybrid fish genetically improved for aquaculture purposes. The knowledge of physiological and metabolic responses in different of temperature and salinities scenarios, allow to knowing the optimal windows in which the organisms channel optimally the energy with they have the best performance. This work shows in a section the acclimation temperature effect to 5 temperatures on temperature behavior and the metabolic response of Pargo UNAM juveniles and in other section the salinity effects on osmoregulation behavior to 7 salinities and a constant temperature. The methodology in the first part wa to determine the preferred temperature (PT) was by acute and gravitational methods, which values were  $29.53 \pm 1.54$  °C and  $29.5 \pm 0.20$  °C, respectively. PT showed to be independent of a diurnal cycle where not were found significantly differences between the selected temperatures during the day and night cicles, and Pargo UNAM juveniles showed a positive response when increased the values of temperatures selected proportionally to the increased of acclimation temperature (AT), resulting an equation:  $PT = 0.29 AT + 21.42$ . Critical thermal maximum (CTMax) and critical thermal minimum (CTMin) where between the range 39.1 to 43.5 °C and 8 to 14.9 °C respectively, which were used to build the thermal window which area was 355.2 °C<sup>2</sup>. Acclimation response ratios (ARR) determined by CTMin and CTMax values were 0.52 to 0.85 in CTMin and 0.34 to 0.38 in CTMin, similar to other tropical species. Oxygen consumption rate (OCR) increased with temperature in the range from 20 to 26 °C (from 88.2 to 141.4 mg O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) and diminished in 32 °C ( $108.23 \pm 18.3$  mg O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), while OCR of those acclimated to 29 °C was not significantly different to the fish acclimated to 26 and 32 °C. Organisms acclimated to 29 °C showed the lowest ammonia excretion rate ( $2.2 \pm 0.76$  mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) and maximum O:N ( $14.64 \pm 8.70$ ) than those acclimated to other experimental temperatures. Maximum metabolic rate (MMR) y escape metabolic rate (ESMR) were obtained to determine tne aerobic scope with two methods, by temperature induced (TIRM) and Chasing method. The aerobic scope obtained by TIRM and Chasing methods were highest by the organisms acclimated to 29 °C. Blood lactate concentrations were similar in both methods, with highest values at 20 °C which diminished as the temperature of acclimation increased. Blood lactated were slightly lower in TIRM method. After three rearing months at the 5 experimental temperatures, the organisms cultivated in 29 and 32 °C gained more weight ( $76.47 \pm 16.5$  and  $73.98 \pm 20.38$  g) and highest specific growth rate (SGR) of 2.16 and 2.15 % day<sup>-1</sup> respectively. The secnd section of this work consisted in determine OCR, ammonia excretion, growth rates, isosmotic point and osmoregulation capacity of Pargo UNAM juveniles acclimated to salinities of 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L<sup>-1</sup>. Oxygen consumption and ammonia excretion showed high values in all the salinities due to organism's weight. The OCR of the organisms acclimated to 5 g L<sup>-1</sup> was significantly lower ( $P < 0.05$ ) to the rest of the salinities, which were similar between them it, it was considered a reponse type I according to Kinne (1977). The highest ammonia excretion rate was in organisms acclimated in 25 g L<sup>-1</sup> and the lowest in 0 g L<sup>-1</sup>. O:N values were low in all the temperatures and all salinities tested indicating that they used protein as principal energy resource. Pargo UNAM juveniles showed a high osmoregulation

behavior due to blood osmolality varied slightly with salinity increments, showed a slope of the equation of 0.0396. The osmoregulation pattern was hyperosmotic in salinities 0 and 5 g L<sup>-1</sup> and hyposmotic in salinities from 15 to 35 g L<sup>-1</sup>. The isosmotic point was 335 mmol kg<sup>-1</sup>. TCA, TCE and TCR were higher in organism's growth to 20 g L<sup>-1</sup>. It was concluded that Pargo UNAM juveniles is an efficient osmoregulation fish y can be cultivated to a wide salinity interval combined with its preferred temperature.

**Keywords:** Thermal behavior, aerobic scope, osmoregulation, TIRM, Chasing.

## **Dedicatorias**

---

**Gracias por su amor, paciencia y comprensión mis amores, por estar ahí conmigo acompañándome en las buenas y en las malas, por todas las sonrisas y los ánimos, por todo aquello que me hacen sentir y por llenar mi vida**

**Para Graciela Romo, mi madre, una gran mujer y mi fuente de inspiración**

**Para mis hijos Joshua y Elijah gracias por esperar y comprender**

**For Jerry my soul mate, thank you for motivating my days**

## Agradecimientos

---

*Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por el apoyo económico otorgado para cursar mis estudios de doctorado. No. De becario 331798.*

*Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE) y al Posgrado en Ciencias de la Vida por haberme aceptado y darme la oportunidad de estudiar en ésta reconocida institución y por facilitarme las instalaciones para la realización de ésta tesis.*

*A mi directora de tesis Dra. Ana Denisse Re Araujo, MUCHAS GRACIAS por todo este tiempo en el que no ha perdido la confianza en mí, desde la licenciatura, la maestría y ahora el doctorado. Por todo su apoyo, por guiarme, por su comprensión y motivación, por abrirme incluso las puertas de su casa para trabajar fuera del instituto.*

*A mis sinodales: Dra. Rufina Hernández Martínez, Dr. Leonardo Ibarra Castro y muy especialmente al Dr. Fernando Díaz Herrera quienes me brindaron confianza, apoyo y conocimiento para la realización de este trabajo.*

*Al Dr. Mario Garduño Lugo y a Emmanuel Garduño por facilitar el envío de los peces empleados en el presente trabajo, por la asesoría en el manejo inicial de los organismos.*

*A mi familia: A mi madre por apoyarme y motivarme, por hacerme sentir amada e importante. A mis hermanitas, que siempre estuvieron al pendiente esperando las noticias y motivándome. Gracias al padre de mis hijos por su apoyo para que yo pudiera realizar mi trabajo y por su amistad, te lo agradezco mucho Miguel.*

*A mis compañeritas y casi hermanas M.en C. Marla Macías Contreras, M.en C. Rocío Latorre Pozos, M.en C. Ruth García V. y M.en C. Yulizet Sánchez por apoyarme en mis experimentos y brindarme su amistad, las quiero mucho. Y a mis compañeros Dr. Pedro Hernández Sandoval, M. en C. Ernesto Larios Soriano por su apoyo en la obtención de datos en la etapa experimental.*

*Gracias a todos los estudiantes foráneos que en el transcurso de los años aportaron su granito de arena en el desarrollo de este trabajo, desde el mantenimiento de sistemas, toma de datos, alimentación de los peces, etc. A Filiberto Bojorquez Leal, Cristina González Escobar, Efraín Cortez, Priscilla Álvarez, Marcia Vega, Jorge Valdez, Maria José Novelo y Mariana Arámburo, gracias por su apoyo.*



*Al Ing. Ernesto Lerma Vargas y a Martín Hernández Dueñas “el pollo” por ayudarme en la instalación y mantenimiento de los sistemas y el invernadero, además de hacerme reír y enojar tanto. Muchísimas gracias a los dos.*

*Al Dr. Manuel Segovia (Q.E.P.D.) por aceptarme en su clase de sistemas de recirculación y brindarme conocimiento y asesoría, además de facilitarme reactivos para la determinación de amonio.*

*Muchísimas gracias al Lic. Asael Arroyo Re, por haber brindado su tiempo y por su paciencia para tratar de ordenar el rompecabezas de ideas y ayudar a darle sentido al artículo de termorregulación.*

*A la Dra. Elizabeth Ponce y al Dr. Leonardo Lizárraga del departamento de biotecnología por permitirme el uso del equipo de laboratorio bajo su resguardo y a la Dra. Edna Sánchez por su asesoría en el laboratorio.*

*A la Dra. Clara Elizabeth Galindo Sánchez, coordinadora del posgrado en Ciencias de la Vida por estar al pendiente de mis avances.*

*Al CPP por otorgarme las prórrogas necesarias para que pudiera concluir mi trabajo.*

*Gracias a todas y cada una de las personas que me apoyaron de forma directa o indirectamente durante este proyecto.*

# Tabla de Contenido

	Página
<b>Resumen en español</b> .....	i
<b>Resumen en inglés</b> .....	iii
<b>Dedicatorias</b> .....	v
<b>Agradecimientos</b> .....	vi
<b>Lista de figuras</b> .....	xi
<b>Lista de tablas</b> .....	xv
<b>Capítulo 1. Introducción general</b> .....	1
1.1. Aspectos biológicos de la tilapia Pargo UNAM.....	3
1.2 Efectos fisiológicos y metabólicos de la temperatura sobre los ectotermos acuáticos.....	5
1.3 Efectos fisiológicos de la salinidad sobre los organismos acuáticos.....	8
1.4 Antecedentes.....	11
1.5 Justificación.....	17
1.6 Hipótesis.....	18
1.7 Objetivos.....	18
1.7.1 Objetivo general.....	18
1.7.2 Objetivos específicos.....	18
<b>Capítulo 2. Respuestas fisiológicas y metabólicas de la tilapia Pargo UNAM a diferentes temperaturas de aclimatación</b> .....	19
2.1 Introducción.....	19
2.2 Materiales y Métodos.....	22
2.2.1 Obtención y mantenimiento de los organismos.....	22
2.2.2 Diseño experimental.....	22
2.2.3 Aclimatación a las diferentes temperaturas experimentales.....	22
2.2.4 Análisis de las variables generales.....	24
2.2.4.1 Temperatura preferida por el método gravitacional y el método agudo.....	24
2.2.4.2 Temperatura óptima de crecimiento teórica.....	27
2.2.4.3 Velocidad de desplazamiento.....	27
2.2.4.4 Tasa de consumo de oxígeno (TCO) y $Q_{10}$ .....	28
2.2.4.5 Tasa de excreción de amonio (TEA).....	30

2.2.4.6 Razón atómica O:N.....	30
2.2.4.7 Temperaturas críticas y ventana térmica.....	31
2.2.4.8 Campo de actividad metabólica por los métodos TIRM y persecución.....	33
2.2.4.9 Lactato sanguíneo.....	35
2.2.4.10 Crecimiento de los juveniles de Pargo UNAM cultivados a las temperaturas experimentales durante tres meses.....	36
2.3 Resultados.....	36
2.3.1 Temperatura preferida por el método gravitacional y el método agudo .....	36
2.3.2 Temperatura óptima de crecimiento teórica.....	37
2.3.3 Velocidad de desplazamiento .....	38
2.3.4. Tasa de consumo de oxígeno de rutina (TCO)y $Q_{10}$ .....	39
2.3.5 Tasa de excreción de amonio (TEA).....	41
2.3.6 Razón atómica O:N.....	42
2.3.7 Temperaturas críticas y ventana térmica.....	44
2.3.8 Campo de actividad metabólico y $Q_{10}$ de los juveniles de Pargo UNAM en TIRM y Persecucion.....	46
2.3.9 Lactato sanguíneo.....	50
2.3.10 Crecimiento de los juveniles de Pargo UNAM a las temperaturas experimentales durante tres meses.....	51
2.4 Discusión .....	51

### **Capítulo 3. Efecto de la salinidad sobre el consumo de oxígeno, excreción de amonio, osmorregulación y crecimiento en juveniles de Pargo UNAM**

3.1 Introducción.....	62
3.2 Materiales y Métodos.....	63
3.2.1 Obtención y mantenimiento de los organismos.....	63
3.2.2 Diseño experimental.....	64
3.2.3 Aclimatación a las salinidades experimentales.....	64
3.2.4 Análisis de las variables generales.....	65
3.2.4.1 Tasa de consumo de oxígeno de rutina (TCO) .....	65
3.2.4.2 Tasa de excreción de amonio (TEA).....	65
3.2.4.3 Razón atómica O:N.....	66
3.2.4.4 Osmorregulación.....	66
3.2.4.5 Crecimiento de juveniles de tilapias cultivados a temperatura de 29°C y salinidades constantes de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L <sup>-1</sup> .....	67
3.3 Resultados.....	68
3.3.1 Tasa de consumo de oxígeno de rutina (TCO) .....	68

	x
3.3.2 Tasa de excreción de amonio (TEA).....	70
3.3.3 Razón atómica O:N.....	72
3.3.4 Osmorregulación.....	73
3.3.5 Crecimiento de juveniles de tilapia Pargo UNAM cultivadas a 29 °C y siete salinidades constantes .....	76
3.4 Discusión .....	80
<b>Capítulo 4. Conclusiones generales.....</b>	<b>86</b>
4.1. Recomendaciones.....	87
<b>Literatura citada .....</b>	<b>88</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>103</b>

## Lista de figuras

Figura	Pagina
1 Composición genética de la tilapia Pargo UNAM creada por Muñoz-Córdova y Garduño-Lugo (2003), Veracruz, México.....	3
2 Morfología externa de la tilapia Pargo UNAM .....	4
3 Diagrama del gradiente horizontal de temperatura usado para la determinación de la temperatura preferida en Pargo UNAM. (Tomado de Padilla-Ramírez et al., 2015). (A) enfriador digital de recirculación de agua, (B) piedra de aireación, (C) controlador de la resistencia, (D) intercambiador de calor de titanio, (E) regulador de intensidad de la luz, (F) gradiente de 400 cm de longitud y 20 cm de diámetro, (G) termómetros digitales (los cuales no fueron utilizados en este estudio), (H) sensor de temperatura, (I) piedras de aireación, (J) espejo, (K) lámparas fluorescentes, (M) lámparas incandescentes, (N) líneas de aire, (O) calentador de titanio de 1000 W, (P) segmentos del gradiente, (Q) nivel del agua, (R) tubería de drenaje, (S) agua de drenaje, (T) tubería de relleno.....	24
4 Temperatura preferida determinada mediante el método gravitacional. A) gradiente térmico horizontal, B) luz roja durante mediciones nocturnas ( $0.03 \times 10^{17}$ quanta $\text{seg}^{-1} \text{cm}^{-2}$ ), C) Luz fluorescente e incandescente durante las mediciones diurnas ( $0.32 \times 10^{15}$ quanta $\text{seg}^{-1} \text{cm}^{-2}$ ).....	26
5 Determinación del consumo de oxígeno en juveniles de Pargo UNAM expuestos a diferentes temperaturas de aclimatación. A) fotografía de la parte interna del respirómetro: 1) válvulas que controlan el flujo del agua al interior de la CR, 2) válvula de entrada, 3) sensor óptico de oxígeno, 4) válvula de salida de agua y lugar de toma de muestra para amonio, 5) cámara respirométrica control, 6) tubo de nivel y drenaje de la tina de 100 L, 7) entrada de agua para liberación de parte del agua en la recirculación, 8) piedra de aireación para mantener la temperatura de agua homogénea y concentración de oxígeno, 9) baño de agua con temperatura controlada. B) fotografía externa del respirómetro: 10) tina rectangular de fibra de vidrio de 100 L, 11) controlador de temperatura, 12) reservorio de 200 L, 13) bomba periférica, 14) interruptor de corriente de la bomba.....	29
6 Tilapias Pargo UNAM durante los experimentos de TCM <sub>ax</sub> . Se utilizaron acuarios de 50 L con un nivel reducido de agua, aireación constante y un calentador de titanio de 1000 W, incrementos de temperatura a la razón de $1^\circ \text{C min}^{-1}$ hasta alcanzar el punto final.....	32
7 Utilización del gradiente de temperaturas en la determinación de TCM <sub>in</sub> . Se utilizaron canastillas perforadas para permitir el libre intercambio de agua entre el interior de la canastilla y el gradiente, disminución de la temperatura a razón de $1^\circ \text{C min}^{-1}$ hasta alcanzar el punto final.....	33

8	Temperatura preferida de los juveniles de Pargo UNAM en un ciclo diurno. Valores obtenidos mediante el método gravitacional, la zona sombreada y delimitada por triángulos representa el 95% de los intervalos de confianza de la mediana. Las barras incluyen el 50% de la distribución de los organismos, y las líneas verticales representan los cuartiles.....	37
9	Temperatura preferida de juveniles de tilapia Pargo UNAM aclimatadas a cinco temperaturas (20, 23, 26, 29 y 32 °C). La zona sombreada delimitada por triángulos representa el 95% de los intervalos de confianza de la mediana. Las barras incluyen al 50% de la distribución de los organismos y las líneas verticales los cuartiles inferior y superior. La línea de 45° representa los puntos en los que la temperatura preferida es igual a la temperatura de aclimatación.....	38
10	Velocidad de desplazamiento de la tilapia Pargo UNAM, durante el método gravitacional. Los valores de la media se presentan en puntos las líneas verticales el error estándar de la media.....	39
11	Tasa de consumo de oxígeno de juveniles de Pargo UNAM aclimatados a cinco temperaturas (20, 23, 26, 29 y 32 °C). Las cajas representan el 50% de los datos de la distribución y las líneas verticales representan los cuartiles. El área sombreada delimitada por los triángulos representan los intervalos de confianza de la mediana....	40
12	Tasa de excreción de amonio en juveniles de Pargo UNAM aclimatados a 20, 23, 26, 29 y 32 °C. Las cajas representan el 50% de los datos de la distribución y las líneas verticales representan los cuartiles. El área sombreada delimitada por los triángulos representa los intervalos de confianza de la mediana.....	41
13	Razón atómica O:N en los juveniles de Pargo UNAM aclimatados a 20, 23, 26, 29 y 32 °C. Las cajas representan el 50% de los datos de la distribución y las líneas verticales representan los cuartiles. El área sombreada delimitada por los puntos negros representan los intervalos de confianza de la mediana.....	42
14	Temperaturas críticas máximas (TCMax) de la tilapia Pargo UNAM aclimatadas a 20, 23, 26, 29 y 32 °C. Los juveniles se expusieron a un incremento gradual de temperatura (1 °C min <sup>-1</sup> ) hasta alcanzar su pérdida de horizontalidad y equilibrio.....	43
15	Temperaturas críticas mínimas (TCMin) de los juveniles de tilapia Pargo UNAM aclimatadas a 20, 23, 26, 29 y 32 °C. Los juveniles de Pargo UNAM se expusieron a una disminución gradual de temperatura (1 °C min <sup>-1</sup> ) hasta alcanzar su pérdida de horizontalidad y equilibrio.....	45
16	Ventana térmica de Pargo UNAM. La zona sombreada representa temperatura preferida (media ± DE). La línea de 45° representa el punto donde la temperatura preferida y la temperatura de aclimatación son iguales. Los triángulos representan TCMax y TCMin, y el área delimitada por estos puntos y la zona óptima representan las zonas del Pejus superior e inferior considerando que la temperatura crítica representa el umbral donde el campo aeróbico es cercano o igual a cero de acuerdo a Sokolova <i>et al.</i> , 2012.....	45

17	Metabolismo de la tilapia Pargo UNAM aclimatada a 20, 23, 26, 29 y 32 °C expuestas a distintas condiciones experimentales. A) tasas metabólicas de escape ESMR (representada con círculos negros), y reposo REMR (representada con círculos blancos) obtenidas con el método TIMR. B) tasas metabólicas máxima MMR (representada con círculos negros) y estándar SMR (representada con círculos blancos) obtenidas mediante el método de persecución. Los círculos representan los valores de la media y las colas el valor del error estándar).....	46
18	Campo de actividad metabólico de juveniles de tilapia Pargo UNAM aclimatados a 20, 23, 26, 29 y 32 °C. A) campo de actividad metabólico de los juveniles de Pargo UNAM obtenida mediante TIMR. B) campo de actividad metabólico obtenido mediante el método de persecución.....	47
19	Campo de actividad metabólico factorial de juveniles de tilapia Pargo UNAM aclimatados a 20, 23, 26, 29 y 32 °C. La línea con círculos claros representa la razón MMR/SMR, las cuales fueron obtenidas mediante el método de persecución. Los círculos negros representan la razón ESMR/REMR obtenidas mediante el método TIMR.....	48
20	Valores de Q10 en juveniles de tilapia Pargo UNAM aclimatados a 20, 23, 26, 29 y 32 °C y expuestos a las condiciones de los métodos TIMR y persecución. A) Q10 promedio en los organismos expuestos al método TIMR, B) valores de Q10 obtenidos por persecución, C) Q10 obtenidos a partir de los valores del campo de actividad metabólico y D) Q10 obtenido con las tasas metabólicas y temperaturas empleadas en TIMRmin y TIMRmax.....	49
21	Concentración del lactato sanguíneo de juveniles de tilapia Pargo UNAM aclimatados a 20, 23, 26, 29 y 32 °C y expuestos a las condiciones de los métodos TIMR y persecución. Los círculos claros representan las concentraciones promedio de lactato en organismos expuestos a TIRMmax, y los círculos negros representan los valores de la media de los organismos que fueron sometidos a persecución. Las colas representan el error estándar de la media.....	50
22	Crecimiento a las temperaturas 20, 23, 26, 29 y 32 °C tras 3 meses de cultivo. A) crecimiento promedio de los organismos cultivados a las diferentes temperaturas en muestreos realizados mensualmente, los símbolos representan el peso húmedo promedio de los organismos. B) Curva de crecimiento en la que se muestra la influencia de la temperatura sobre el crecimiento diario TCE (% Día-1).....	51
23	Experimentos de osmorregulación en tilapia Pargo UNAM. A) Toma de muestra de sangre, B) Osmómetro Vapro® Marca Wescor® .....	67
24	Mediciones de longitud y peso. A) la medición de la longitud del pez se hizo de la punta de la boca hasta la punta de la cola, también se midió perpendicularmente para obtener el ancho del organismo en el espacio con mayor amplitud entre el lomo y el vientre. B) los organismos fueron secados con una toalla y colocados directamente en la báscula.....	68

25	Tasa de consumo de oxígeno de rutina de los juveniles de Pargo UNAM expuestos a las salinidades experimentales de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L <sup>-1</sup> y temperatura constante de 29 °C. Las cajas paralelas incluyen el 50% de la distribución de los datos y las colas los cuartiles 25% y 75%, el área sombreada representan los intervalos de confianza al 95%.....	70
26	Tasa de excreción de amonio de los juveniles de Pargo UNAM aclimatados a las salinidades experimentales de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L <sup>-1</sup> y temperatura constante de 29 °C. Las cajas paralelas incluyen el 50% de la distribución de los datos de amonio y las colas los cuartiles 25% y 75%, el área sombreada representan los intervalos de confianza al 95%.....	71
27	Razón atómica O:N de los juveniles de Pargo UNAM aclimatados a salinidades distintas (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L <sup>-1</sup> ) y temperatura constante de 29 °C. Las cajas paralelas incluyen el 50% de la distribución de los datos de O:N y las colas los cuartiles 25% y 75%, el área sombreada representan los intervalos de confianza de la mediana.....	73
28	Relación entre la osmolaridad promedio del medio interno (concentración en sangre) y la osmolaridad del medio externo en juveniles de tilapia Pargo UNAM aclimatados a las salinidades de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L <sup>-1</sup> y a una temperatura de 29°C. El punto isosmótico se señala con una flecha en 335 mmol kg <sup>-1</sup> (11.73 g L <sup>-1</sup> ). La línea de 45° representa la isosmolaridad.....	74
29	Capacidad osmorreguladora de los juveniles de tilapia Pargo UNAM aclimatados a 0,5,10,15,20,25,30 y 35 g L <sup>-1</sup> . Los puntos que se unen con la línea recta representan la capacidad osmorreguladora y donde la línea punteada intersecta al eje x representa el punto isosmótico.....	75
30	Resultados de las biometrías realizadas a los juveniles de tilapia Pargo UNAM cultivadas en las salinidades 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L <sup>-1</sup> . Los símbolos representan los valores promedio del peso húmedo a las salinidades distintas.....	77
31	Porcentaje de sobrevivencia de los juveniles de Pargo UNAM cultivados por 77 días a las salinidades 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L <sup>-1</sup> .....	79
32	Daño en piel en peces cultivados a 30 y 35 g L <sup>-1</sup> . Los peces presentaron escoriaciones en cola y aletas así como enrojecimiento en la piel y branquias.....	79
33	Tasa de crecimiento absoluto calculada a partir de los pesos inicial y final de los juveniles de tilapia Pargo UNAM cultivadas en las salinidades 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L <sup>-1</sup> y la temperatura constante de 29 °C.....	80
34	Relación de la concentración en sangre y la osmolaridad del medio externo en tilapia Pargo UNAM de un peso promedio de 139.6 ± 23.3 g, aclimatadas a 26°C y a salinidades de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L <sup>-1</sup> .....	104
35	Capacidad osmorreguladora de la tilapia Pargo UNAM de un peso promedio de 139.6 ± 23.3 g, aclimatadas a 26°C y a salinidades de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L <sup>-1</sup> .....	104



36	Tasa de consumo de oxígeno de la tilapia Pargo UNAM de un peso promedio de $139.6 \pm 23.3$ g, aclimatadas a $26^{\circ}\text{C}$ y a salinidades de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y $35 \text{ g L}^{-1}$ ..	105
37	Tasa de excreción de amonio de la tilapia Pargo UNAM de un peso promedio de $139.6 \pm 23.3$ g, aclimatadas a $26^{\circ}\text{C}$ y a salinidades de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y $35 \text{ g L}^{-1}$ .	105
38	Razón atómica O:N de la tilapia Pargo UNAM de un peso promedio de $139.6 \pm 23.3$ g, aclimatadas a $26^{\circ}\text{C}$ y a salinidades de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y $35 \text{ g L}^{-1}$ .....	106
39	Tasa de crecimiento específica de la tilapia cultivada durante 28 días a una temperatura de $26^{\circ}\text{C}$ y salinidades de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y $35 \text{ g L}^{-1}$ .....	106

## Lista de tablas

<b>Tabla</b>	<b>Página</b>
1 Distribución natural y artificial de las especies de tilapia que forman el pool genético de los híbridos de Pargo UNAM (Modificada de Wolfarth y Hulata, 1983).....	11
2 Valores de $Q_{10}$ obtenidos a partir de la tasa de consumo de oxígeno de la tilapia Pargo UNAM. Los valores de consumo de oxígeno corresponden a las medianas.....	40
3 Razón de respuesta a la aclimatación térmica RRA de juveniles de Pargo UNAM. Los valores de RRA fueron obtenidos a partir de los valores de la temperatura crítica máxima y la temperatura crítica mínima de cada una de las temperaturas de aclimatación.....	44
4 Campo de tolerancia térmica de la tilapia Pargo UNAM a diferentes temperaturas de aclimatación. Valores de CTT obtenidos de la diferencia entre temperaturas crítica máxima y mínima de cada temperatura de aclimatación.....	45
5 Valores de la tasa de consumo de oxígeno de rutina (TCO) de juveniles de Pargo UNAM aclimatados a las salinidades constantes 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L-1.....	69
6 Resultados de la prueba de análisis de varianza para la tasa de consumo de oxígeno (TCO). GL; grados de libertad, SC, suma de cuadrados; MC; media de cuadrados, P; probabilidad mínima de rechazo y F; estadístico.....	69
7 Valores de la tasa de excreción de amonio (TEA) de juveniles de Pargo UNAM aclimatados a las salinidades constantes 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L-1. N; número de datos.....	71
8 Resultados obtenidos de la relación atómica oxígeno:nitrógeno (O:N) de juveniles de Pargo UNAM aclimatados a las salinidades constantes 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L-1. N; número de datos.....	72
9 Osmolaridad de la sangre de juveniles de Pargo UNAM aclimatados a las salinidades constantes 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L-1. N; número de datos.....	75
10 Peso húmedo inicial de los juveniles de Pargo UNAM que fueron aclimatados a las salinidades constantes 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L-1. N; número de datos.	76
11 Peso húmedo final de los juveniles de Pargo UNAM que fueron cultivados a las salinidades constantes 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L-1. N; número de datos, DE; Desviación estándar, EEM; error estándar de la media.....	77

12	Resultados de la prueba de análisis de varianza para el peso húmedo final de los juveniles de tilapia Pargo UNAM cultivados a diferentes salinidades experimentales durante 75 días. GL; grados de libertad, SC, suma de cuadrados; MC; media de cuadrados, P; probabilidad mínima de rechazo y F; estadístico.....	78
13	Valor promedio inicial y final del peso húmedo (g) $\pm$ Desviación estándar (DE), y ganancia de peso de los organismos cultivados a diferentes salinidades.....	78

## Capítulo 1. Introducción general

---

Tilapia es el nombre común que se le da a un grupo de cíclidos de origen africano, de importancia acuícola (Costa-Pierce, 1997), los cuales antiguamente se producían principalmente en África y Asia, y cuyo cultivo se empezó a extender a todo el mundo a partir de la década de 1950 (Morales, 1991). La producción mundial de estos peces se ha incrementado en los 20 últimos años, cuyas cifras van en 830,000 toneladas en 1990 a 2.5 millones de toneladas en 2005 de (Josupeit, 2007), hasta 4.85 millones de toneladas en el 2014 (Fitzsimmons, 2015). En América Latina, México es uno de los mayores productores de tilapia; en el año 2014 este país produjo 122,399.58 toneladas métricas de acuerdo a la base de datos de CONAPESCA (2016).

En México, las tilapias fueron introducidas por primera vez en 1964 (Arredondo y Lozano, 2003), y gradualmente con el paso de los años se han importado a éste país *Oreochromis niloticus*, *Oreochromis mossambicus*, *Oreochromis urolepis hornorum*, *Oreochromis aureus*, y algunos híbridos como la tilapia roja de Florida y la tilapia blanca Rocky Mountain procedentes de EUA, Escocia y Centro América (Rubio-Mejía, 2009). En México el cultivo de la tilapia se ha extendido a las diferentes regiones y sistemas de producción acuícola y de acuerdo al Anuario Estadístico de la Pesca correspondiente a 2011 presentado por SAGARPA, la producción de la tilapia representó 47.28% del volumen total de la producción acuícola nacional (SAGARPA, 2011).

Las características biológicas y su buena aceptación en el mercado la han convertido en uno de los organismos favoritos en la acuicultura, cubriendo la demanda creciente de alimento de origen acuático (Costa-Pierce y Doyle, 1997). Dentro de las características que presenta la tilapia esta la aceptación del alimento formulado, tasas de conversión alimenticias eficientes (Jauncey, 2000), tolerancia al manejo (Little, 2000), cultivo a mayores densidades por volumen de agua (Popma y Masser, 1999), y a calidades de agua sub-óptimas (Fitzsimmons, 2000), rápido crecimiento y resistencia a enfermedades (Olvera, 2005), y reproducción durante todo el año (Harvey, 2005); además su carne es blanca y firme, cuyo olor y sabor a pescado es ligero (Balarin y Hatton, 1979).

Se han descrito aproximadamente 70 especies de tilapia, de las cuales, ocho se cultivan comercialmente, además de la introducción de sus híbridos para la acuicultura de regiones tropicales y subtropicales del mundo (Armas-Rosales, 2006). Actualmente la variedad que se cultiva mayormente alrededor del mundo es la tilapia del Nilo tipo silvestre, *O. niloticus* (Josupeit, 2007). Una de las especies mayormente distribuidas es la tilapia de Mozambique (*O. mossambicus*), la cual ha impactado

negativamente muchos ecosistemas acuáticos debido a su agresividad, a sus hábitos alimenticios omnívoros y la precocidad para reproducirse (Costa-Pierce y Doyle, 1997). Como resultado de este impacto negativo, la tilapia de Mozambique ha sido sustituida por la tilapia del Nilo (*O. niloticus*) en la gran mayoría de los países productores.

Las variedades rojas de *O. niloticus*, *O. mossambicus* e híbridos de color rojo se han hecho muy importantes comercialmente, por lo cual existe mayor interés en su cultivo (Behrends *et al.*, 1982; Wohlfarth *et al.*, 1990; Hulata *et al.*, 1995, Garduño *et al.*, 2003). Sin embargo, la producción global de las tilapias rojas se ha mantenido sin incrementos significativos desde 1995 (Jousupeit, 2007), debido probablemente a que las tilapias de color rojo presentan una menor tasa de crecimiento comparada con la tipo silvestre (Matricia *et al.*, 1989; Macaranas *et al.*, 1997; Peña-Delgadillo *et al.*, 2008), lo cual implica que el productor realice una inversión de 2 a 4 meses adicionales para obtener una tilapia con un peso de 400 gr (Calixto-Escobar, 2010).

En el 2003, investigadores del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT) perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, que se ubica en el municipio de Martínez de la Torre, en Veracruz, México, desarrollaron una tilapia roja la cuál presenta un crecimiento similar a la tilapia del Nilo tipo silvestre y puede alcanzar un peso del 40 al 60% mayor que otras tilapias rojas (Morales, 2005; Morales-Alaman *et al.*, 2006) a la cual se le nombró Pargo UNAM.

La tilapia Pargo UNAM es una tilapia híbrida sintética cuya composición genética (Fig.1) es 50% tilapia roja Florida híbrido compuesto de *O. hornorum* x *O. mossambicus* (Behrends *et al.*, 1982; Watanabe *et al.*, 1990), 25% de tilapia Rocky Mountain híbrido compuesto de *O. aureus* x *O. niloticus* (Muñoz *et al.*, 2014) y 25% de una variedad roja de *O. niloticus* L. (Muñoz-Cordova y Garduño-Lugo, 2003). La tilapia Pargo UNAM tiene una ventaja adicional al ser un grupo genético sintético que consiste en que es suficiente cruzarla entre sí para obtener generaciones subsecuentes en cada ciclo de engorda, sin la necesidad de cruzamientos entre sus ancestros (Riego, 2005).

Se han realizado estudios en Pargo UNAM sobre el rendimiento del filete (Morales-Alaman *et al.*, 2008; Ramírez-Paredes, Garduño-Lugo y Muñoz-Córdova, 2012; Escobar-Sarabia, 2009), sobrevivencia y crecimiento (Ramírez-Paredes, Garduño-Lugo y Muñoz-Córdova, 2012) en cultivos en agua dulce y agua salada (Escobar-Sarabia, 2009) y el efecto de la inclusión de proteína en la dieta (Rubio-Mejía, 2009). Sin embargo aún no se han realizado estudios sobre otras respuestas fisiológicas de estos organismos a factores ambientales tales como cambios en la temperatura y salinidad.

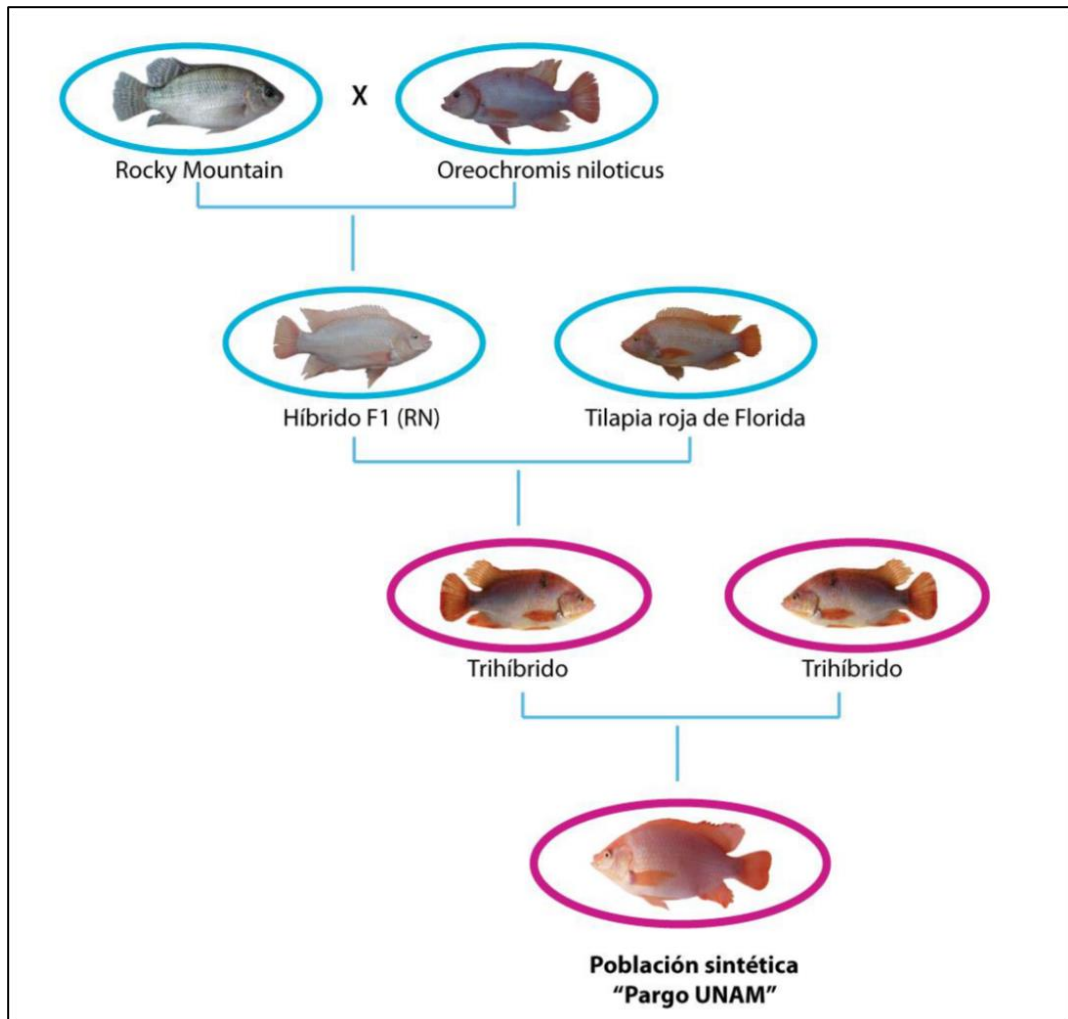


Figura 1. Composición genética de la tilapia Pargo UNAM. Modificada de Muñoz-Córdova y Garduño-Lugo (2003).

### 1.1 Aspectos biológicos de la tilapia Pargo UNAM

Las tilapias se dividen taxonómicamente en tres géneros de acuerdo con su comportamiento de crianza: 1) Género *Tilapia*: incluye organismos que desovan en sustrato, 2) Género *Sarotherodon*: incluye especies que realizan una incubación bucal biparental, y 3) Género *Oreochromis*: incluye especies donde únicamente las hembras incuban en la boca (Trewavas, 1983). Tomando en cuenta su comportamiento de crianza, la tilapia Pargo UNAM se ubica en el género *Oreochromis*, debido a que son las hembras quienes recogen los huevos fertilizados e incubados de 3 a 5 días en en su boca. Durante el periodo de incubación y el cuidado de las larvas la hembra no se alimenta.

El cuerpo de la tilapia Pargo UNAM es por lo general comprimido y discoidal. Como el resto de las tilapias de su genero su boca es protáctil, ancha y con labios gruesos, y sus mandíbulas son dentadas. Presentan un solo orificio nasal a cada lado de la cabeza. Posee para su locomoción aletas pares (pectorales

y ventrales) e impares (dorsal, caudal y anal). La parte anterior de la aleta dorsal y la anal es corta y consta de varias espinas. La aleta dorsal se encresta a manera de defensa. La aleta caudal es redondeada o trunca.



**Figura 2. Morfología externa de la tilapia Pargo UNAM.** Disposición de las aletas, opérculo y ojo.

La diferenciación externa de los sexos de la tilapia Pargo UNAM como otras especies de su género radica en que la hembra posee tres orificios bajo el vientre (el ano, el poro genital y el orificio urinario), mientras que el macho solo tiene dos (ano y orificio urogenital).

La tilapia Pargo UNAM es omnívora, por lo que se alimenta de algunos insectos, vegetales y algas. Tienen la capacidad de filtrar el agua a través de branqui-espinas con las cuales se puede alimentar de microalgas y organismos microscópicos, los cuales son ingeridos y desintegrados por dientes faríngeos. Aceptan alimento suministrado artificialmente. En la fase de crianza los niveles de proteína adecuados para Pargo UNAM son de 34 al 37% y para un crecimiento óptimo de 43.8 % (Rubio-Mejía, 2009).

Los parámetros ambientales de forma general para las tilapias se han recomendado entre 20 a 30 °C, niveles de oxígeno superiores a 3 mg/L, y pH entre 7 y 8 (Saavedra-Martínez, 2006).

## 1.2 Efectos fisiológicos y metabólicos de la temperatura sobre los ectotermos acuáticos

La temperatura es probablemente el factor ambiental más importante debido al efecto que tiene sobre las respuestas fisiológicas de los animales acuáticos (Fry, 1971). La relación entre la temperatura del agua y la temperatura del cuerpo ha sido objeto de estudio por más 150 años (Beitinger *et al.*, 2000).

Fry (1947) describió 5 efectos principales de la temperatura sobre los organismos comportándose como: 1) factor controlador cuando establece el ritmo de desarrollo y metabolismo, 2) factor enmascarador cuando afecta la expresión de otro factor ambiental, 3) factor limitante cuando influye en la actividad locomotora y por lo tanto sobre su distribución, 4) factor directriz cuando estimula u orienta una determinada respuesta de los organismos y como un 5) factor letal, cuando la intensidad de la temperatura a los dos extremos afecta la integridad del pez causando la muerte.

Por lo tanto, la temperatura en los organismos ectotermos está relacionada con su tasa metabólica, crecimiento, y su condición (Tepler *et al.*, 2011; Noyola *et al.*, 2012). Así mismo puede afectar su sobrevivencia y su distribución (Reynolds y Casterlin, 1979). En equilibrio la temperatura del cuerpo de un pez es de 0.1 a 1 °C mayor que la temperatura del agua (Stevens y Fry, 1970), y se debe a la inercia térmica (Neill y Stevens, 1974), que es la capacidad del cuerpo del pez de conservar el calor y la rapidez con lo que lo cede o absorbe, lo cual depende de su tamaño (Steven y Fry, 1970; Beitinger *et al.*, 1977).

Los organismos acuáticos han desarrollado un comportamiento termorregulador que les permite activamente seleccionar un adecuado ambiente térmico donde su desempeño es óptimo (González *et al.*, 2010; Golanov, 2012) y poder evitar aquellas temperaturas no favorables. Las respuestas de preferencia y evitación son aspectos inseparables del comportamiento termorregulador de los organismos en la naturaleza (Giatinna y Garton, 1982; Nichelman, 1983). El proceso de termorregulación les permite a los organismos mantener sus funciones fisiológicas estables e independientes de los cambios de la temperatura (Largerspetz, 1974). Los peces pueden detectar las variaciones de la temperatura por medio del órgano pre-óptico situado en el hipotálamo (Nelson y Prosser, 1978) y de esta forma se dirigen a las temperaturas que le son favorables para mantener una tasa metabólica óptima (Tsai y Wang, 1997). El comportamiento termorregulador es activado inmediatamente cuando se presenta un estrés térmico (Crawshaw, 1980), y es afectado por la intensidad termica y el tiempo de aclimatación (Brett, 1970; Claussen, 1977).



Por otra parte la tolerancia térmica está delimitada por las temperaturas críticas máximas (TCMax) y mínimas (TCMin) que representan los límites inferior y superior que corresponden al umbral crítico de temperatura, donde el campo metabólico puede ser cercano o igual a cero (Pörtner, 2010; Sokolova *et al.*, 2012), lo cual explica porque los organismos expuestos a estos límites pueden sobrevivir por un corto periodo de tiempo. La tolerancia térmica o termotolerancia se puede observar gráficamente mediante un polígono que se construye a partir de las temperaturas críticas máximas y mínimas obtenidas por cada temperatura de aclimatación, el cuál es específico (Elliott, 1991; Bennet y Beitinger, 1997) y aporta información importante sobre los intervalos de temperatura donde los organismos pueden existir (Bennet y Beitinger, 1997), además de información sobre la ecología y distribución de los organismos (Eme y Bennet, 2009), que pudiera ser útil para conocer los intervalos de temperatura donde se pudieran distribuir especies exóticas (Bennet *et al.*, 1997) y cuyos límites son determinados por la combinación de las características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas (Somero, 2004).

La ventana térmica es la integración de la la información de termotolerancia y preferencia térmica, la cual permite definir los intervalos óptimos para el crecimiento de las especies (Eme *et al.*, 2009; Noyola *et al.*, 2013). Además que ha demostrado ser una herramienta útil para la eliminación de especies invasoras no deseadas en cuerpos de agua (Stauffer *et al.*, 1988, Armas-Rosales, 2006).

El efecto de la temperatura de aclimatación sobre el metabolismo de los ectotermos acuáticos se puede obtener indirectamente con respirometría (Brett, 1971; Brett, 1972; Beamish y Trippel, 1990; Debnath *et al.*, 2006, Díaz *et al.*, 2007). El consumo de oxígeno es una medida indirecta de la tasa metabólica de los organismos ante cualquier factor ambiental que la modifique (Fry, 1957), éste se relaciona íntimamente con el trabajo metabólico y el flujo de energía empleado por los organismos para los mecanismos de control homeostático (Das *et al.*, 2004). A partir de la medición del consumo de oxígeno se pueden identificar los diferentes niveles del metabolismo (Mamum *et al.*, 2007) los cuales se categorizan en peces en metabolismo estándar, metabolismo de rutina, metabolismo activo (máxima tasa metabólica) y metabolismo anaeróbico (Brett y Groves, 1979; Díaz *et al.*, 2007).

La relación entre la máxima tasa metabólica, la tasa metabólica estándar y la temperatura de aclimatación usualmente se representa por dos curvas (Fry, 1947) y definen el campo de actividad metabólico. Cuando la temperatura es extrema la diferencia entre las tasas metabólicas máxima y estándar es cero (Ferreira *et al.*, 2014), y cuando la temperatura es óptima la diferencia entre ellas es máxima y por lo tanto el CAM es máximo (Fry, 1947; Pörtner, 2010, Sokolova *et al.*, 2012) y en este punto los niveles de lactato deberían ser reducidos (Rodríguez-Fuentes *et al.*, 2017)

La tasa de consumo de oxígeno generalmente incrementa con la temperatura hasta que se alcanza el umbral térmico (Zielinski y Pörtner 1996). Por lo tanto cuando los organismos son expuestos a una temperatura máxima (TCMax) su metabolismo aeróbico se detiene al llegar al umbral debido a una falla en la ventilación o a las funciones de circulación a nivel mitocondrial, aun y cuando la concentración de oxígeno esté disponible en el ambiente. Entonces se presenta una transición a un metabolismo anaerobio (Zielinski y Pörtner, 1996; Jost *et al.*, 2012); pero la supervivencia a una temperatura mayor que TCMax solo es por un tiempo limitado debido al bajo aporte de ATP que aporta el metabolismo anaerobio, insuficiente para cubrir la demanda requerida para resistir las temperaturas extremas.

En 1931, Shelford estableció la “ley de tolerancia”, la cual establece que cualquier animal o planta se desempeña bien en un intervalo óptimo bajo el efecto de cualquier variable ambiental, fuera del intervalo óptimo “Optimum”, el desempeño disminuye gradualmente llegando a ser muy pobre en los intervalos “Pessimum” en ambos extremos (Jost *et al.*, 2012). Posteriormente, Frederich y Pörtner (2000) adicionaron los conceptos de los intervalos Pejus y la temperatura Pejus (del latín volviéndose peor). El intervalo Pejus se encuentra entre los intervalos Optimum y Pessimum, en éste los organismos pueden sobrevivir pero con un CAM reducido (Jost, 2012).

El conocimiento de la temperatura óptima para el campo metabólico (CAM) tiene importancia ecológica, tanto para especies que se encuentran libres en su hábitat natural como para aquellas que son cultivadas en sistemas acuícolas sin temperatura controlada. La determinación del CAM es una forma de predecir cuál sería el desempeño de los organismos con el aumento de la temperatura global debido a los gases invernadero en la atmosfera ya que la temperatura podría aumentar de 1.5 a 4.5 °C en los próximos 50 años (Beitinger *et al.*, 2000). Por ejemplo, Farrell *et al.* (2008), con la determinación del campo metabólico en salmón explicaron que la alta mortalidad durante la migración de una población de *Oncorhynchus nerka* por el Rio Frasse en el año 2004, cuando las temperaturas altas anormales posiblemente causaron el colapso de su campo metabólico.

Por lo general las tilapias tienen una limitada tolerancia a temperaturas de agua frías y son altamente tolerantes a temperaturas cálidas (El-Sayed, 2006), la temperatura por tanto afecta su crecimiento (Watanabe *et al.*, 1993; Baras *et al.*, 2001; Azaza *et al.*, 2008; Muzuka *et al.*, 2009; Qiang *et al.*, 2012; Santos *et al.*, 2013; Abdel-Tawwab y Wafeek, 2014), y las fluctuaciones termales pueden causar tamaño heterogéneo (Azaza *et al.*, 2010). Por lo tanto, es muy importante el diseño de las evaluaciones para definir la biología termal de estos organismos, incluyendo técnicas de evaluación novedosas y compararlas con

técnicas ya establecidas, con el fin de aplicar estos conocimientos para mejorar y extender la acuicultura de la tilapia Pargo UNAM.

### 1.3 Efectos fisiológicos de la salinidad sobre los organismos acuáticos

Los organismos acuáticos incluyendo los peces pueden llegar a vivir en ambientes con concentraciones de iones diferente a la de su medio interno, de manera que para controlar la osmolaridad interna requieren de mecanismos de osmorregulación y de regulación iónica. La función de osmorregulación permite a los organismos a adaptarse a los cambios de salinidad, con lo cual regulan la presión osmótica que se ejerce a través de una membrana con el fin de mantener la homeostasis, es decir, el equilibrio de electrolitos y fluidos (Greenwell *et al.*, 2003). Existen tres estrategias que los peces tienen para mantener la composición de sus fluidos extracelulares con respecto a la salinidad del medio externo; 1) *Osmoconformidad*, por medio de cual la osmolaridad del plasma de los peces es igual al medio externo; 2) *Hiperosmorregulación*, que consiste en la regulación de los fluidos internos manteniéndolos a niveles mayores que el medio externo, y 3) *Hiposmorregulación* en la cual regulan sus fluidos corporales a un nivel osmótico menor al del medio externo (Evans y Clairborne, 2006).

Los fluidos internos de los peces de agua dulce presentan una mayor concentración osmótica con respecto al medio, en cambio los peces de origen marino presentan un medio interno más diluido con respecto al agua de mar. Los problemas por intercambio osmótico en los peces de agua dulce son el hinchamiento por entrada de agua y pérdida de sal hacia el medio; por lo tanto para mantener su concentración interna requieren producir orina diluida para la eliminación del exceso de agua y la incorporación de iones monovalentes contra gradiente desde el medio externo diluido a través de las branquias (Perry, 1997; Flores, 2009). Por otro lado, los organismos marinos presentan una osmolaridad en la sangre menor que la del agua de mar, la cual va de 370 a 480 mOsm kg<sup>-1</sup> por lo que experimentan una pérdida pasiva de agua del interior al medio externo y una ganancia de iones de sodio y cloro, para ello poseen mecanismos osmorreguladores especializados en la incorporación de agua y en la excreción activa de sales (Jobling, 1995; Flores, 2009).

La regulación de la concentración osmótica en peces se lleva a cabo en el riñón, las branquias, el tubo digestivo y la piel (Bond, 1996). Entre las funciones que tienen las branquias, la osmorregulación es de vital importancia (Altinok *et al.*, 1998), en donde se localizan las células del cloro entre otros seis tipos celulares,

las cuales por estar asociadas al estrato mas superficial del epitelio branquial se derivan del ectodermo (Flores, 2009). Las células del cloro tienen la función de regular la osmolaridad del plasma, mediante el uso de un gradiente de  $\text{Na}^+$  el cual se establece por la enzima  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPasa (Kammerer *et al.*, 2010). En peces marinos las células del cloro son numerosas y secretan iones en tanto que en peces de agua dulce son escasas y absorben iones, sin embargo, en situaciones de estrés osmótico pueden proliferar y ocupar el epitelio branquial laminar (Perry, 1997). Lo que permite que ciertas especies sean capaces de tolerar cambios en la salinidad.

La tolerancia a la salinidad se define como la capacidad de los organismos para adaptarse en un tiempo relativamente corto a los cambios de salinidad del medio ambiente. La salinidad puede actuar como un factor letal y un factor enmascarador sobre los organismos. De acuerdo a Fry (1947) una identidad del ambiente puede actuar como un factor letal cuando destruye la integridad de un organismo. Mientras que un factor enmascarador es una identidad del medio ambiente que puede modificar la operación de una segunda identidad sobre el organismo.

Las tilapias son peces de agua dulce, generalmente se ha asumido que son descendientes de un ancestro marino (Kirk, 1972). Muchas de las especies de tilapia son eurihalinas. Tilapias como *O. mossambicus* (Popper y Lichatowitch, 1979) y *Tilapia Zillii* (Chervinski y Hering, 1973), pueden sobrevivir, crecer y reproducirse en el océano. *Sarotherodon melanotheron* puede tolerar salinidades de 0 hasta 72 g  $\text{L}^{-1}$  (Pauly, 1976). *O. aureus* también de agua dulce, puede ser aclimatizadas a salinidades de 36 a 45 g  $\text{L}^{-1}$  (Chervinski y Yashouv, 1971), o hasta 53.5 g  $\text{L}^{-1}$  (Lotan, 1960). Se ha demostrado que bajo condiciones experimentales la tilapia puede tolerar salinidades de 170 a 180% la salinidad del agua de mar, con significativos incrementos en la osmolaridad del plasma y concentraciones iónicas como la actividad de la enzima  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPasa en las branquias (Kültz *et al.*, 1992; Uchida *et al.*, 2000).

En la acuicultura un aspecto importante para eficientizar el cultivo de las especies hacia un crecimiento en menor tiempo y aumento de la productividad, es conocer las salinidades en la cual los organismos invierten menor energía en los procesos de osmorregulación para que ésta pueda ser canalizada a otras actividades como el crecimiento. La medición del consumo de oxígeno en organismos que se mantienen a diferentes salinidades es un método útil para inferir el efecto de la salinidad sobre la energía requerida por el mecanismo de osmorregulación. De acuerdo a la clasificación de Kinne (1967) se presentan cuatro patrones de consumo de oxígeno ante cambios en la salinidad: I) El consumo de oxígeno se mantiene constante, II) El consumo de oxígeno aumenta en salinidades subnormales y disminuye en salinidades

supranormales, II) El consumo de oxígeno aumenta en condiciones subnormales y supranormales y IV) El consumo de oxígeno disminuye en salinidades subnormales y supranormales.

Debido a que los peces teleósteos utilizan mecanismos para mantener la osmolaridad de sus fluidos corporales a una concentración relativamente constante (Morgan *et al.*, 1997), algunos estudios sugieren que un incremento de la salinidad sobre su punto isosmótico se asocia con la reducción en el crecimiento del pez y con la utilización de alimento, al parecer debido a un incremento en la demanda energética requerida para la osmorregulación (Sardella y Brauner, 2008).

En peces, el uso relativo de la proteína, lípidos y carbohidratos como fuente de energía puede verse influenciado por los factores externos (De Boeck *et al.*, 1995). Debido al catabolismo de los aminoácidos que están involucrados en la osmorregulación la excreción de amonio puede disminuir o aumentar dependiendo de las combinaciones de temperatura y salinidad a la que se exponen los organismos (Bishop *et al.*, 1980). El amonio es el producto final del metabolismo de las proteínas (De Boeck *et al.*, 1995), la cual es la forma más eficiente para excretar el nitrógeno desde el punto de vista energético en los organismos acuáticos (Armsmtrong, 1979), además de ser un ion de intercambio en la regulación de  $\text{Na}^+$  en la sangre al tener carga positiva.

Para la determinación del sustrato metabólico que está siendo utilizado por los organismos acuáticos como fuente de energía ante las variaciones de temperatura o salinidad se utiliza la relación atómica O:N (Mayzaud y Conover, 1988). Este índice cualitativo se obtiene a partir de la tasa metabólica y tasa de excreción amoniacal.

Se han realizado numerosos estudios para evaluar el crecimiento y respuestas fisiológicas de la tilapia a distintas condiciones de salinidad, pero la gran mayoría de estos estudios se basan en la tilapia mosámbica y nilótica. En esta tesis se aborda el efecto de siete salinidades sobre el consumo de oxígeno, la excreción de amonio, la razón atómica O:N, además de mostrar el patrón de osmorregulación y el crecimiento a las diferentes salinidades en combinación con la temperatura preferida, con la finalidad de conocer su desempeño ante esos escenarios, y su aplicación en las practicas acuícolas de estos organismos.

## 1.4 Antecedentes

Las tilapias son principalmente originarias de África, con excepción de su ocurrencia natural en el Medio Este, hasta el norte de Siria. En el mundo la distribución de la tilapia se ha extendido por el hombre para su cultivo. La distribución cubre la isoterma de invierno de 20 °C y se extiende al sureste de Estados Unidos, Europa y el lejano Oeste (Ballarin y Hatton, 1979). La distribución natural y la atribuida al hombre, de las variedades que comprenden la composición genética de Pargo UNAM se presentan en la tabla 1.

**Tabla 1. Distribución natural y artificial de las especies de tilapia que forman el pool genético de los híbridos de Pargo UNAM** (Modificada de Wolfarth y Hulata, 1983).

Especie	Distribución natural	Distribución por introducción	Fuente
<i>O. aureus</i>	Oeste de África, en los sistemas de Ríos de Nigeria y Senegal, el Río Nilo y el Este Medio (Valle de Jordania y Siria)	Uganda, Estados Unidos de Norteamérica, Puerto Rico y Taiwán	Balarin y Hatton, 1979; Trewavas, 1965
<i>O. mossambicus</i>	Este y Sur de África hasta Natal	Sureste de África, Sureste de Asia, Pakistan, India, Sri Lanka, Estados Unidos de Norteamérica, México, Guatemala, Brasil, India y Hawái	Balarin y Hatton, 1979; Chimits, 1955; Jubb, 1967; Sterba, 1962; Devedas <i>et al.</i> , 1953; Neil, 1966.
<i>O. urolepis hornorum</i>	África Este (Zanzibar, Tasmania)	Uganda, Costa de Marfil, Latinoamérica (Brasil, México, Panamá), Estados Unidos de Norteamérica (Alabama, Florida), Malasia	Balarin y Hatton, 1979; Lovshin y Da Silva, 1975; Trewavas, 1967.
<i>O. niloticus</i>	Este de África (Sistema del Río Nilo), Congo y África Oeste (Sistema de Ríos de Senegal y Nigeria)	Israel, Sudeste de Asia (Indonesia, Filipinas, Taiwán, Tailandia), Estados Unidos de Norteamérica (Alabama, Florida), Latinoamérica (Brasil, México y Panamá)	Balarin y Hatton, 1979; Sterba, 1962

La tilapia Pargo UNAM ha sido cultivada desde el año 2003 en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT) perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, que se ubica en el municipio de Martínez de la Torre, en Veracruz, México. El cultivo de los reproductores y alevines se lleva a cabo a temperatura ambiente. El clima es tropical con lluvias

significativas durante el año. La temperatura media anual es de 24.4 °C y la precipitación media es 1341 mm. Las menores temperaturas se presentan en los meses de diciembre, enero y febrero con temperaturas mínimas de 15.7 °C en promedio y las mayores temperaturas en los meses de julio y agosto llegando a ser superiores de los 33 °C.

Dentro de los estudios de este híbrido mexicano se encuentran el trabajo de Morales-Alaman *et al.* (2008) sobre el desempeño productivo de la tilapia Pargo UNAM y la tilapia nilótica silvestre estudio en el cual el rendimiento del filete fue similar para las dos variedades de tilapia (28.0 y 30.7 %). Rubio-Mejía (2009) sobre el efecto de la proteína dietética sobre la composición corporal de Pargo UNAM mediante la formulación de seis dietas isocalóricas con distintos niveles de proteína las cuales fueron suministradas en la fase de engorda por siete semanas con juveniles de 40.98 g cuyo requerimiento de proteína fue del 37%. Escobar-Sarabia (2009) evaluó el crecimiento, rendimiento de filete, sobrevivencia y carga parasitaria de Pargo UNAM y la tilapia Roja de Florida en sistemas de recirculación acuícola, donde ambas variedades mostraron un mayor crecimiento en agua de mar que aquellas que fueron cultivadas en agua dulce.

En el año de 2010, Calixto-Escobar con apoyo de la Fundación Produce Veracruz A.C., publica Pargo UNAM: Una alternativa en el mundo de la acuicultura tropical, un donde explica los aspectos generales e históricos de la creación de este híbrido y una descripción de las instalaciones donde se produce, así como variables generales fisicoquímicas a modo general adecuadas para su desarrollo.

Ramirez-Paredes *et al.* (2012) en el cual se hizo un análisis comparativo de crecimiento y sobrevivencia entre Pargo UNAM y la tilapia nilótica silvestre (*O. niloticus*), donde tilapias Pargo UNAM del sexo masculino tuvieron un peso final similar al de los ejemplares silvestres de tilapia nilótica, mientras que las hembras de Pargo UNAM tuvieron un peso mayor que las otras hembras, con una sobrevivencia similar. Con esto se pudo observar una ventaja de Pargo UNAM en crecimiento que otras variedades rojas.

Para determinar la temperatura óptima de algunas especies de tilapia se ha utilizado la temperatura preferida o el preferendum final. Badenhuizen (1966) utilizó un gradiente horizontal para determinar el preferendum final en la tilapia *O. mossambicus* en el cual ésta seleccionó temperaturas entre 27 a 33.5 °C, siendo su preferendum final de 28.5 °C. Beamish (1970) determinó la influencia de la temperatura y la salinidad sobre la temperatura preferida de la tilapia *O. niloticus*, en sus experimentos observó que además de la temperatura, la salinidad también modificaba las temperaturas preferidas de los organismos. Este autor definió un intervalo óptimo de temperatura para esta especie de 28 a 30 °C.

Stauffer (1986) realizó un estudio sobre los efectos de la salinidad sobre la temperatura preferida y las temperaturas letales en la tilapia *O. mossambicus*, en el que reportó una temperatura preferida en la tilapia aclimatada a agua dulce de 32.2 °C, que fue significativamente menor a los peces aclimatados a las salinidades de 15 g L<sup>-1</sup> y 30 g L<sup>-1</sup>, demostrando que la salinidad tiene un efecto sobre la temperatura preferida de estos organismos. Sin embargo la zona de tolerancia fue de 15 a 37 °C y no se vio afectada por la salinidad.

Sayed y Kawanna (2008) obtuvieron la temperatura óptima para la tilapia *O. niloticus* cultivada en sistemas de recirculación a diferentes temperaturas experimentales (24, 26, 28, 30 y 32 °C), en dicho estudio las tilapias que se cultivaron a 28 °C tuvieron un mayor crecimiento que las cultivadas a las otras temperaturas experimentales.

La tolerancia de la tilapia a las temperaturas altas puede estar relacionada con la profundidad en la que habitan (Allason y Noble, 1964) ya que por ejemplo la tilapia mosambica habita aguas someras donde la temperatura del agua puede aumentar hasta 35 °C. Spass (1959) determinó la temperatura letal superior y las tasas de aclimatación a la temperatura para tres cíclidos, *Tilapia melanopleura*, *tilapia macrochir* y *Haplochromis mellandi*. Mientras que el límite letal superior de *O. mossambicus* fue reportado por Allason y Noble (1964) entre 38.2 y 38.25 °C.

Lutterschmidt y Hutchinson (1997) hicieron un estudio donde obtuvieron datos de la temperatura crítica máxima de 610 organismos vertebrados. En peces, los autores incrementaron la temperatura del agua a 1°C min<sup>-1</sup> hasta alcanzar las respuestas de pérdida de horizontalidad y la aparición de espasmos musculares. *O. niloticus* fue la especie elegida como representante de la familia de los cíclidos, la cual presentó pérdida de horizontalidad a 27.3 °C y la aparición de los espasmos a 33.6 °C. La diferencia entre los puntos finales fue de 6.3 °C.

Jennings (1991) obtuvo la temperatura mínima (TCMin) de la *Tilapia melanotheron* aclimatada a 21 °C y salinidades de 5 a 35 g L<sup>-1</sup> con valores de TCMin de 9.4 a 9.7 °C y disminución lenta de temperatura de 0.017 °C min<sup>-1</sup>, los resultados parecen demostrar que la salinidad tiene un efecto significativo sobre tolerancia mínima de estos organismos.

Bennet y Beitinger (1997) determinaron la termotolerancia de *Cyprinodon variegatus*, el pez más euritérmico de todos los conocidos, ya que aclimatados a 5°C presentaron un TCMin de 0.6 °C y un TCMax de 34.6 °C y aclimatados a 30 °C presentaron un TCMin de 11.3 °C y un TCMax de 44.2 °C. Mientras que el



polígono de tolerancia que obtuvieron tuvo un área de 1470 °C en los experimentos dinámicos. Los autores hicieron una comparación del área de los polígonos del Goldfish *Carassius auratus* cuyo polígono era el de área superior que se conocía anteriormente (1220 °C<sup>2</sup>) y el de un pez del antártico *Trematomus sp.*, cuya área del polígono de termotolerancia es el más pequeño conocido entre los peces ( 100 °C<sup>2</sup>).

Beitinger *et al.* (2000) hicieron una revisión de las termotolerancias de los peces de agua dulce de Norte América expuestos a cambios dinámicos de temperatura. La revisión incluye datos de termotolerancias de 116 especies, 7 subespecies y 7 híbridos de peces de 19 especies de agua dulce. Los autores incluyeron además un listado de peces con magnitudes de TCM<sub>Max</sub> mayores o iguales a 40°C. Esta lista incluye a peces como *Cyprinodon artifrons* con TCM<sub>Max</sub> de 45.4 °C (Heth *et al.*, 1983), *Cyprinodon variegatus* con TCM<sub>Max</sub> de 45.1 °C (Bennet y Beitinger, 1997) y a *Ictalurus punctatus* con 40.9°C (Fields *et al.*, 1987), entre otras 18 especies.

Se ha comprobado en algunas especies de tilapia que reducen su respiración, ingesta de alimento, crecimiento y reproducción cuando se cultivan a temperaturas menores de 20°C (Ross, 2000; Baras *et al.*, 2001), la mayoría muestran síntomas de estrés cuando se exponen a temperaturas menores a 15°C, estos síntomas incluyen la falta de alimentación, movimientos bruscos, desorientación y obscurecimiento de la piel (Al Amoudi *et al.*, 1996). La mortalidad se presenta entre 10 y 15°C, razón por la cual se ve limitado su cultivo en muchas partes del mundo (Armas-Rosales, 2006). Otros efectos causados por temperaturas extremas en tilapia es un desajuste de su balance iónico y a temperaturas bajas se imposibilita la osmorregulación debido a que se disminuyen las concentraciones del Na<sup>+</sup> serico y el cloro (Allason *et al.*, 1971). Esto ocasiona que las tilapias expuestas a bajas temperaturas caigan en un estado de coma debido a la falla osmorregulatoria.

Fry (1947) definió el campo de actividad metabólico (CAM) como la diferencia entre la máxima tasa metabólica (MMR) y la tasa metabólica estándar (SMR). La determinación de MMR ha sido relevante para entender los mecanismos fisiológicos que determinan la distribución y abundancia de los peces marinos y depende de factores intrínsecos relacionados con la forma como los organismos reaccionan a la máxima actividad, así como también la forma en la que los factores ambientales afectan el metabolismo del animal (Paschke, 2017).

Existen dos métodos mayormente usados para la determinación de la máxima tasa metabólica en peces, el primero se basa en la velocidad de nado crítica ( $U_{crit}$ ) para lo cual se utilizan los respirómetros de túnel en los cuales los peces son obligados a nadar contra corriente y (Bläška *et al.*, 1960; Brett, 1964; Tolley

y Torres, 2002; Tierney, 2011; Eliason y Farrell, 2016), el segundo es un método de persecución manual, en el cual se obliga a los peces a nadar y soportar un alto y exhaustivo nivel de rendimiento (Brett, 1964; Claireaux, *et al.*, 2000; Norin *et al.*, 2014).

En un encuentro de fisiólogos de América Central y Sudamérica, llamado TEMPOXMAR (julio 21 a 25, 2014), se discutió sobre la importancia de los efectos de la temperatura y el oxígeno disuelto de los organismos marinos de importancia en la acuicultura, ecología y pesquerías. En este evento el Dr. Kurt Paschke Lamana de la Universidad Austral de Chile propuso una nueva metodología para la determinación de la máxima tasa metabólica (MMR) y la tasa metabólica estándar (SMR), la cual propone que éstas pueden ser inducidas por la temperatura (UMDI, 2014). Posteriormente, Halsey *et al.* (2015), discutió la fuerte relación entre la actividad y la temperatura en ectotermos, donde la exposición a la temperatura induce a ciertos niveles de actividad, ya que gobierna la tasa metabólica en reposo e indirectamente induce a la máxima tasa metabólica para la actividad (Halsey *et al.*, 2015), por el incremento de las velocidades promedio de las reacciones bioquímicas que da como resultado el incremento de la proporción de enzimas que han alcanzado sus niveles de energía de activación. Así, Halsey *et al.* (2015), consideraron que la tasa metabólica total ( $TM_{Total}$ ) de un organismo es la suma de los costos de energía de sus metabolismos de reposo ( $TM_R$ ) (demanda metabólica de los órganos) y de actividad ( $TM_A$ ) (costos incrementados por la actividad de los órganos y la energía gastada en la contracción muscular),  $TM_{Total} = TM_R + TM_A$  (Donde  $TM_R$ ,  $TM_{Total}$  y  $TM_A$  son valores aproximados a MMR, SMR y CAM respectivamente).

Rodríguez-Fuentes *et al.* (2017) retoman la propuesta de Paschke (2014) y los conceptos de Halsey *et al.* (2015) y apoyados en que en las evaluaciones de las temperaturas críticas se puede observar actividad en los organismos para escapar (Paschke *et al.*, 2013), publicaron un método en el cual la máxima tasa metabólica para la actividad fue inducida por la temperatura en la langosta del Caribe (*Panulirus argus*). El cual Paschke *et al.* (2017) nombra Temperature Induce Metabolic Rate (TIMR). El método se basa en la medición del consumo de oxígeno debido a la estimulación de la actividad del organismo que provocan altas tasas metabólicas durante las reacciones de escape al exponer al 90% de  $TC_{Max}$  (definido como la temperatura que induce la tasa metabólica de escape o ESMR cuyo valor podría ser aproximado a MMR) y similarmente, una tasa metabólica mínima debida a la supresión de la actividad por la exposición a los organismos a 110%  $TC_{Min}$  en la cual se induce a la tasa metabólica de reposo (REMR, el cual podría ser una aproximación a SMR). De esa forma, considerando que la actividad de escape puede ser un buen indicador del desempeño metabólico de los ectotermos, asumieron que la tasa metabólica para la actividad inducida por la temperatura (AMR) se puede obtener como la diferencia de ESMR y REMR, donde AMR representa el campo de actividad metabólico en condiciones extremas.

La mayoría de las tilapias tienen tolerancia limitada a la salinidad. Las salinidades elevadas pueden resultar en fallas osmorregulatorias y pueden causar la muerte en tilapia (Ross, 2000), por lo tanto los niveles de tolerancia pueden variar entre las especies. Lo que ocurre es que al exponer a peces de agua dulce a medios salinos se desencadena la síntesis de prolactina para prevenir la difusión de  $\text{Na}^+$  y se disminuye la permeabilidad de la membrana (Avella et al., 1993). Por ejemplo, mientras que la tilapia mosámbica (*O. mossambicus*) y sus híbridos pueden adaptarse a salinidades de  $20 \text{ g L}^{-1}$  a salinidades 200 % mayores (Hwang et al., 1989; Sardella y Brauner, 2008), la tilapia nilótica (*O. niloticus*) es intolerante a medios salinos mayores de  $18 \text{ g L}^{-1}$  independientemente de su etapa de crecimiento (Watanabe et al., 1985). Suresh y Lin (1992) por otra parte notaron que la tilapia nilótica y la tilapia aurea (*O. aureus*) solo pueden crecer en ambientes de baja salinidad.

Son varios los factores que afectan la tolerancia a la salinidad en la tilapia como: la historia natural de la especie (Trewavas, 1982, la cepa, el tamaño, la edad (Watanabe et al. 1985), el tiempo de exposición a la salinidad, la tasa de incremento (Watanabe et al., 1984; Suresh and Lin, 1992, Lemaire et al., 2004; Paz, 2004), a temperatura (Linkonwe et al., 1986) y la genética (Lutz, 2006). Dado que la salinidad y la temperatura tienen un efecto sobre la osmorregulación, estos dos factores se deben de considerar unidos para la determinación de las condiciones óptimas de tolerancia y desempeño (Fielder et al., 2005). Qiang et al. (2013) por tanto evaluaron el efecto de la temperatura ( $18$  a  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ) y salinidad ( $0$ - $28 \text{ g L}^{-1}$ ) y su interacción sobre la tasa de crecimiento específico, la eficiencia en la alimentación, osmolaridad del plasma y la actividad enzimática de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPasa en juveniles de tilapia híbrida GIFT en la cual encontraron una combinación óptima de temperatura/salinidad de  $28.9/7.8 \text{ g L}^{-1}$  a la cual el TCE fue de  $2.26 \text{ d}^{-1}$  y con la menor osmolaridad del plasma  $348.38 \text{ mOsm kg}^{-1}$  donde hubo como resultado un efecto de ahorro energético de la osmorregulación y donde se promovió el crecimiento.

De las especies cultivadas de tilapia la que tiene una mayor tolerancia a la salinidad es *O. mossambicus* de  $36$  a  $68 \text{ g L}^{-1}$  (Popper & Lichatowich, 1975); incluso en agua de mar los niveles de prolactina en la pituitaria son menores que en agua dulce. En *O. niloticus* y *O. aureus* se presenta un incremento en las células del cloro en los filamentos de las branquias al incrementar la salinidad como sucede en teleósteos marinos (Avella et al., 1993). La tasa de aclimatación a la salinidad también juega un rol importante para la transferencia de organismos a salinidades mayores, para evitar mortalidad, la cual se puede atribuir al incremento en la osmolaridad de la sangre. Wang et al. (2001) sugieren que para evitar la mortalidad el incremento en la sangre de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Na-K-ATPasa}$  debe ser suficiente para compensar los intercambios iónicos a altas salinidades.

La salinidad puede tener un efecto sobre la tasa de consumo de oxígeno en los organismos acuáticos. Iwama *et al.* (1997) midieron la tasa de consumo de oxígeno en la tilapia mosámbica en agua dulce, agua de mar y agua hipersalina, encontrando que la menor tasa de consumo de oxígeno de esta tilapia fue en agua de mar ( $78.6 \text{ mg O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) en comparación con las otras dos concentraciones. Lo cual lo relacionaron con una respuesta adaptativa, debido a que los organismos de ese estudio fueron capturados en un estuario ubicado al norte de Okinawa donde las variaciones de salinidad y temperatura son de gran magnitud.

Algunos estudios sugieren que el incremento de la salinidad sobre el punto isosmótico se asocia a una reducción en el crecimiento del pez y la utilización del alimento debido a un incremento en la energía requerida para la osmorregulación (Sardella y Braune, 2008).

## 1.5 Justificación

Una limitante para la acuicultura de organismos en agua dulce en México, sobre todo en las zonas Centro-Norte y Norte de climas áridos y semiáridos, es la limitación de los recursos hídricos, por lo cual los sistemas acuícolas que se establecen en estas zonas deberían de ser mas eficientes, así como las especies que se cultivan deberían de tener las características fisiológicas para adaptarse a los ambientes que se les ofrece en el cultivo para obtener buenos rendimientos y que los costos relativos a la operación (alimento balanceado, tratamientos, energía eléctrica, etc.) sean reducidos.

La tilapia Pargo UNAM ha mostrado adaptarse a cultivos con temperaturas variables, en agua dulce y agua de mar, sin embargo los resultados de rendimientos varían dependiendo de las condiciones a las que fueron cultivadas. Por lo tanto, la información que se obtuvo en la presente tesis sobre las respuestas fisiológicas y metabólicas de la tilapia Pargo UNAM a diferentes condiciones de temperatura y salinidad podría ser útil para predecir los resultados en el rendimiento de su cultivo en distintos escenarios de temperatura y salinidad, aunado a que nos permite tener un mejor entendimiento de las causas de estos resultados. Con este trabajo también se pretenden establecer las condiciones óptimas de temperatura y salinidad para el cultivo de la tilapia Pargo-UNAM, la cual tiene un alto potencial acuícola.

## **1.6 Hipótesis**

Si se modifican los parámetros ambientales tales como la temperatura y la salinidad en el cultivo de los juveniles de tilapia Pargo UNAM; siendo que es un organismo tropical, que se ha cultivado en medios con cambios estacionales y diurnos de temperatura y en medios que van desde agua dulce a marina, entonces, ante los cambios de estos factores modificaran sus respuestas fisiológicas y metabólicas permitiendo que se determinen los intervalos en los cuales la temperatura y la salinidad son óptimas.

## **1.7 Objetivos**

### **1.7.1 Objetivo general**

Evaluar las respuestas fisiológicas y metabólicas de la tilapia roja tetra hibrida Pargo UNAM aclimatada a diferentes temperaturas y salinidades.

### **1.7.2 Objetivos específicos**

- 1.- Determinar la temperatura preferida de Pargo UNAM, la temperatura óptima de crecimiento, el área de las zonas en la ventana de tolerancia térmica mediante la determinación de las temperaturas críticas mínimas y críticas máximas y calcular la relación de la respuesta de aclimatación (RRA) así como el campo de actividad metabólico y concentración de lactato en sangre.
- 2.- Determinar el consumo de oxígeno, excreción de amonio y la relación O:N en los organismos aclimatados a las diferentes temperaturas y salinidades.
- 3.- Evaluar la presión osmótica y la capacidad osmorreguladora a diferentes salinidades de aclimatación y temperatura constante para definir el patrón osmorregulatorio.

## Capítulo 2. Respuestas fisiológicas y metabólicas de juveniles de Pargo UNAM a diferentes temperaturas de aclimatación

---

### 2.1 Introducción

Por definición la preferencia termica es el intervalo de temperatura donde los organismos se congregan o pasan la mayor parte del tiempo cuando se encuentran dentro de un gradiente térmico (Fry, 1947; Reynolds y Casterlin, 1979). La preferencia térmica representa un intervalo de temperatura en el cual los procesos que controlan el desempeño de los organismos son óptimos (Norris, 1963; Prosser & Nelson, 1981; Kelsh & Neill, 1990). La preferencia térmica es genéticamente inherente y específica y puede variar de acuerdo a la influencia de factores no ambientales como la edad, peso, disponibilidad de alimento, estación del año, calidad del agua, intensidad de la luz y densidad de patógenos (Wedemeyer et al., 1999). La temperatura preferida por un organismo comúnmente coincide con la temperatura óptima de crecimiento (Kelsh, 1996), por lo tanto su medición es una herramienta útil para estimar la temperatura óptima sin la necesidad de cultivar a los organismos por periodos largos.

Para determinar la preferencia térmica se han propuesto dos métodos a partir de la definición de Fry (1947), el método agudo y el método gravitacional. El primero es un método gráfico con el que se obtiene el preferendum final, y para ello se requiere que grupos de organismos sean aclimatados a diferentes temperaturas por un periodo de 21 a 30 días (Díaz *et al.*, 2002; Díaz *et al.*, 2007). Se realiza mediante experimentos cortos, generalmente 2 horas, en los que se registran las temperaturas elegidas y la posición de los organismos en el gradiente. La gráfica obtenida por este método concentra las temperaturas elegidas por los organismos con respecto a la temperatura de aclimatación. Mientras que en el método gravitacional se les permite a los organismos gravitar libremente el tiempo suficiente para que se ubiquen en el intervalo estrecho de temperatura, usualmente 24 h, y nos permite observar además el comportamiento de actividad en el ciclo diurno, además de su desplazamiento. La temperatura preferida de los organismos mediante el método gravitacional es independiente de la temperatura de aclimatación, por lo tanto no influye la historia térmica previa del organismo (Jobling, 1981; Reynolds y Casterlin, 1979).

La termotolerancia de los organismos acuáticos delimitada por las temperaturas críticas máximas y mínimas (TCMax y TCMIn) puede cuantificarse en laboratorio mediante el uso de metodologías dinámicas o estáticas, pero como las técnicas y puntos finales difieren los resultados tampoco son similares (Becker y Genoway, 1979). Las ventajas que tienen los experimentos dinámicos es que son de corta duración, que

los incrementos o decrementos de temperatura son a una tasa constante hasta alcanzar un punto final no letal, requieren de solo una pequeña cantidad de peces y no se confunde el estrés por manipulación con estrés térmico (Bennet y Beitinger, 1997). Cuando los organismos alcanzan el punto final no letal, experimentan una pérdida de equilibrio, pérdida de la capacidad de mantenerse en horizontalidad o bien pueden mostrar espasmos musculares (Bennet y Beitinger, 1997; Beitinger *et al.*, 2000). La pérdida de equilibrio y la aparición de los espasmos representan una desorganización sistémica que impide que los peces escapen de las condiciones que con prontitud producen la muerte (Hutchinson, 1976; Becker y Genoway, 1979). Mientras que para cada especie, las temperaturas críticas pueden ocurrir a diferente temperatura, las respuestas al estrés causado por el calentamiento o enfriamiento del agua son las mismas, lo que ayuda a la identificar el punto final (Lutterschmidt y Hutchinson, 1997).

La temperatura como factor controlador tiene una influencia directa sobre el metabolismo de los organismos acuáticos (Fry, 1947). Lo cual se puede medir indirectamente por respirometría mediante el consumo de oxígeno (Brett, 1971; Brett, 1972; Beamish y Trippel, 1990; Debnath *et al.*, 2006, Díaz *et al.*, 2007). La medición del consumo de oxígeno puede ayudar a identificar las tasas metabólicas de los diferentes niveles del metabolismo los cuales se categorizan en peces en metabolismo estándar, metabolismo de rutina, metabolismo activo (máxima tasa metabólica) y metabolismo anaeróbico (Brett y Groves, 1979; Díaz *et al.*, 2007).

La tasa metabólica estándar se aquella en la que el organismo utiliza una energía mínima requerida para poder llevar a cabo los procesos fisiológicos vitales necesarios para la sobrevivencia, tales como la respiración y la circulación sanguínea (Winberg, 1961; Brett 1962). Es la menor tasa de consumo de oxígeno sostenida por un pez en reposo, al cual no se le molesta, y que se encuentra en un ayuno mínimo de 24 horas por lo menos tras un tiempo de 1.5 horas (Fry, 1957). El metabolismo de rutina de la tilapia se puede medir como el promedio del consumo de oxígeno durante un periodo experimental (Mamun, 2007) y esta tasa incluye los movimientos espontáneos (Fry, 1971). La máxima tasa metabólica es el consumo de oxígeno de los organismos después de ser forzados a actividad.

La diferencia entre la máxima tasa metabólica y la tasa metabólica estándar se define como campo de actividad metabólico (CAM) (Fry, 1971; Farrell, 2008; Clark *et al.*, 2013; Chabot *et al.*, 2016; Farrell, 2016).

El campo de actividad metabólico (CAM) en el presente trabajo, fue determinado mediante inducción al metabolismo respiratorio de los organismos por medio de la temperatura, utilizando el protocolo

metodológico llamado TIMR (Temperature Induces Metabolic Rate) propuesto por Paschke (2014) y Paschke *et al.*, 2017. El cual consiste en provocar a la respuesta de escape de los organismos para alcanzar su tasa metabólica de escape (ESMR) e inducir a la tasa metabólica de reposo (REMR) mediante la exposición de los organismos a 90% TCMax y 110% TCMIn, respectivamente. La máxima tasa metabólica para actividad (AMR) obtenida de ESMR – REMR, es considerado el campo metabólico inducido por la temperatura y fue considerado como el CAM.

El conocimiento de la temperatura óptima para el campo metabólico tiene importancia ecológica, tanto para especies que se encuentran libres en su hábitat natural y aquellas que son cultivadas en sistemas acuícolas sin temperatura controlada, y permite predecir su desempeño con los cambios de temperatura debidos al calentamiento global (Eliasom y Farrel, 2016), además de que brindar el conocimiento para mejorar y extender la acuicultura de la tilapia Pargo UNAM.

## **2.2 Materiales y Métodos**

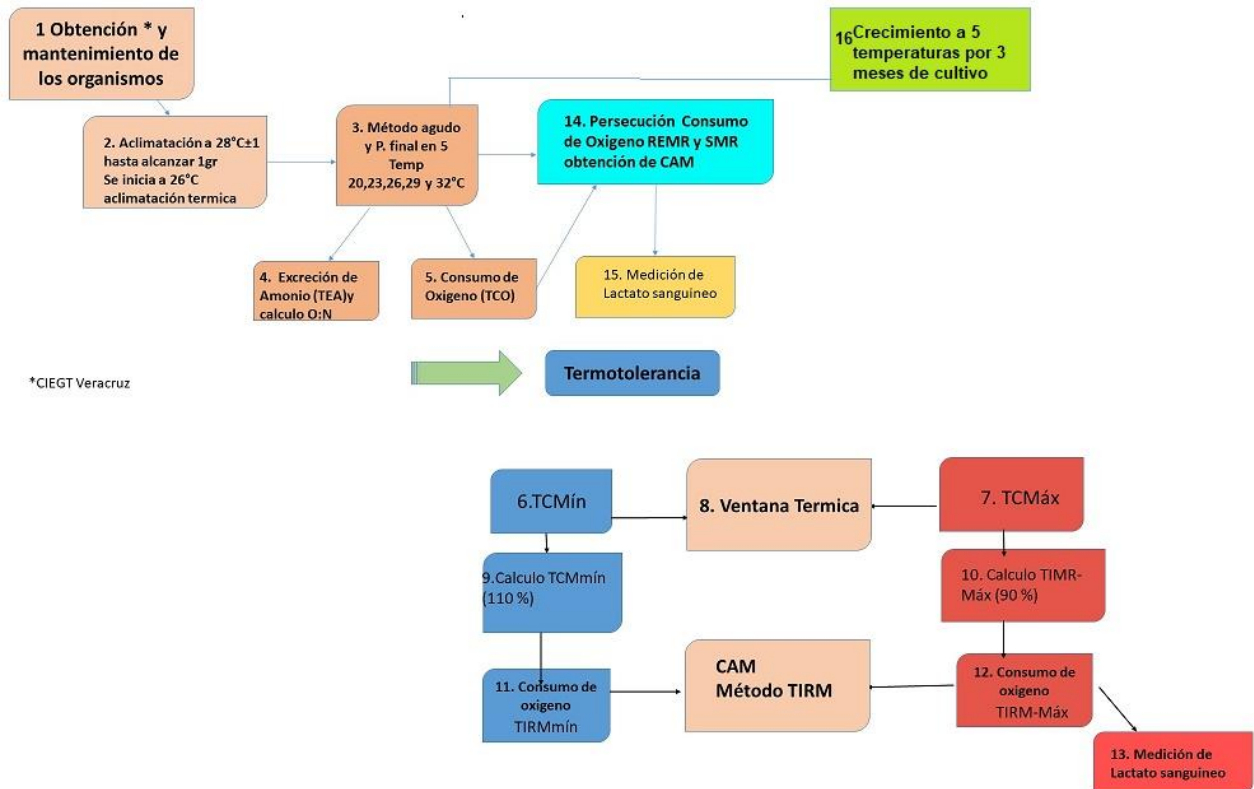
### **2.2.1 Obtención y mantenimiento de los organismos**

Los estudios realizados sobre el efecto de la temperatura fueron realizados en tres fases, debido a la disponibilidad de los estanques, y a la amplitud de los experimentos, sin embargo cada uno de los grupos de organismos recibidos recibió el mismo tratamiento hasta el momento de la aclimatación a las distintas condiciones experimentales. Los alevines de Pargo UNAM fueron obtenidos de la instalación de Acuicultura del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión de Ganadería Tropical (CEIEGT) perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, ubicada en Tlapacoyan, Veracruz y fueron enviados en tres lotes vía aérea hasta la ciudad de Tijuana, Baja California y transportados vía terrestre hasta las instalaciones de acuicultura del departamento de Biotecnología Marina, de la División de Biología Experimental Aplicada perteneciente a CICESE, en Ensenada, B.C. Fueron colocados en estanques de 2000 L con flujo continuo de agua dulce a una temperatura de  $28 \pm 1^\circ\text{C}$  y aireación constante. El peso inicial de los alevines a su llegada fue menor a 1 g, por lo cual los organismos fueron mantenidos bajo estas condiciones y alimentados a saciedad con Nutripec inicial (alimento en polvo) hasta llegar a un peso promedio de un 1 g. A partir de ese momento, la temperatura se redujo a  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ , y se alimentaron a saciedad aparente con una dieta enriquecida preparada con Nutripec inicial como fuente principal de proteína (Anexo 1), posteriormente se les cambió el alimento a Nutripec pellets



(32% Proteína, 6% grasa) a partir de que los peces alcanzaron un peso mayor a 5 g. La calidad del agua se mantuvo con un pH  $8 \pm 0.1$ , la concentración de oxígeno  $6.6 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ , y la alcalinidad  $115.5 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ .

## 2.2.2 Diseño experimental



## 2.2.3 Aclimatación a las diferentes temperaturas experimentales

Para la aclimatación a las temperaturas experimentales para la determinación del preferendum final, consumo de oxígeno, temperaturas críticas, campo metabólico y crecimiento fueron necesarios tres sistemas distintos, debido a la disponibilidad de los estanques y duración de los periodos experimentales. Los sistemas se describen a continuación:

### a) Sistema de recirculación con flujo semi-abierto (Sistema A)

De los estanques de 2000 L se seleccionaron aleatoriamente grupos de 40 organismos para ser aclimatados a las temperaturas de 20, 23, 26, 29 y  $32^{\circ}\text{C}$ . Para ello se utilizó para cada temperatura un sistema de recirculación con flujo semi-abierto con una trampa de sólidos. Cada uno consistente en ocho

acuarios de fibra de vidrio de 40 L conectados uno con otro con una tubería de drenaje hacia un reservorio de 200 L, de donde fue bombeada el agua a una tubería de distribución para abastecer de agua a cada acuario. La temperatura fue regulada mediante un controlador conectado a un calentador de titanio de 1000 W el cual se encontraba dentro del reservorio. Se le suministro aire a cada acuario y al reservorio manteniendo el oxígeno estable. Los peces fueron alimentados a saciedad tres veces al día, se removieron las heces con un sifón, y el volumen de agua perdido por esta operación fue reemplazado. La aclimatación duro 30 días como lo sugerido por Díaz *et al.* (2006).

#### **b) Sistema de acuarios de vidrio con flujo semi-abierto (Sistema B)**

De los estanques de 2000 L se seleccionaron aleatoriamente grupos de 20 organismos de un peso de  $13.2 \pm 2.0$  g para ser aclimatados a las temperaturas de 20, 23, 26, 29 y 32 °C, para lo que se utilizaron acuarios de 50 L con flujo semi-abierto con una tasa de recambio de 100% de agua para recuperar el agua perdida por la remoción de heces por sifonéo y para el mantenimiento de una buena calidad. Los organismos fueron alimentados a saciedad aparente 3 veces al día, durante un periodo de 30 días como fue sugerido por Díaz *et al.* (2006).

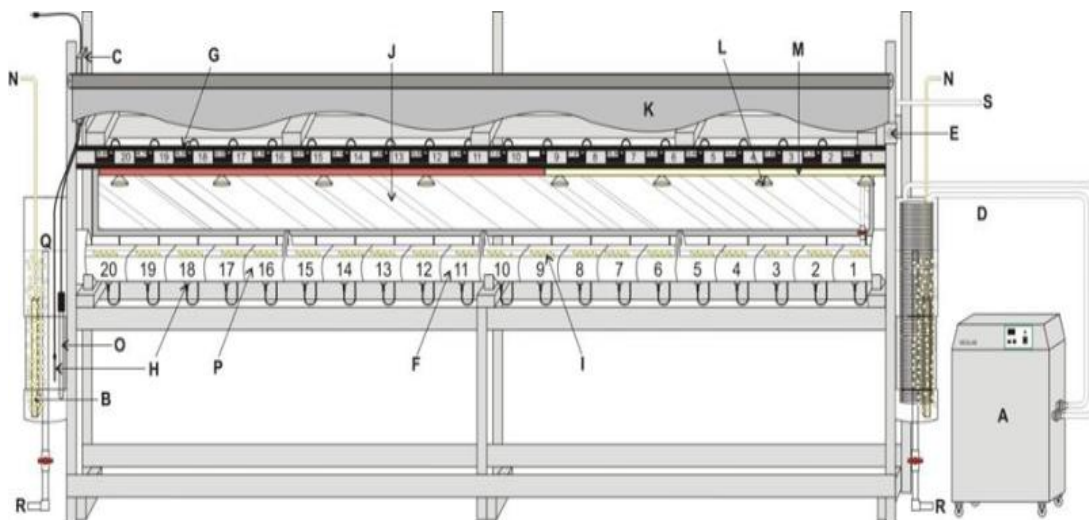
#### **c) Sistema de tanques de 250 L con flujo abierto y filtro para remoción de sólidos, en casa sombra (Sistema C)**

De los estanques de 2000 L se seleccionaron aleatoriamente grupos de 40 organismos (20 por repetición), mismos que fueron colocados en estanques circulares de 250 L para cada temperatura de aclimatación (20, 23, 26, 29 y 32 °C) dentro de un invernadero cubierto con material plástico opaco. Cada estanque con un pequeño filtro biológico de cuentas plásticas. Diariamente se removieron heces y restos de alimento mediante sifonéo, el volumen de agua perdido fue reemplazado y el filtro biológico lavado. Los organismos fueron alimentados a saciedad y el alimento previamente pesado. El tiempo de aclimatación fue de 30 días como lo sugerido por Díaz *et al.* (2006).

## 2.2.4 Analisis de las variables generales.

### 2.2.4.1 Temperatura preferida por el método gravitacional y método agudo

Los experimentos de temperatura preferida (TP) fueron llevados a cabo utilizando un gradiente horizontal térmico (Figura 3), el cual consistió en un canal de PVC, de 400 cm de longitud, 20 cm de diámetro y 20 segmentos virtuales como el descrito por Díaz (2000), Díaz et al. (2006) y Díaz et al. (2007). El dispositivo contó con un termorregulador Neslab (modelo HX 150, Neslab instruments, Portsmouth, NGH, USA) para enfriamiento del agua y un calentador de titanio de 1000 watts en el extremo opuesto, de tal forma que se formó un gradiente de temperaturas. En el fondo del canal, se dispuso una manguera de aireación porosa para evitar el efecto de estratificación de la columna de agua que ayudó a mantener la concentración de oxígeno disuelto.



**Figura 3. Diagrama del gradiente horizontal de temperatura usado para la determinación de la temperatura preferida en Pargo UNAM.** (Tomado de Padilla-Ramírez et al., 2015). (A) enfriador digital de recirculación de agua, (B) piedra de aireación, (C) controlador de la resistencia, (D) intercambiador de calor de titanio, (E) regulador de intensidad de la luz, (F) gradiente de 400 cm de longitud y 20 cm de diámetro, (G) termómetros digitales (los cuales no fueron utilizados en este estudio), (H) sensor de temperatura, (I) piedras de aireación, (J) espejo, (K) lámparas fluorescentes, (M) lámparas incandescentes, (N) líneas de aire, (O) calentador de titanio de 1000 W, (P) segmentos del gradiente, (Q) nivel del agua, (R) tubería de drenaje, (S) agua de drenaje, (T) tubería de relleno.

En la determinación de la temperatura preferida por el método gravitacional, se seleccionaron tres grupos de 11 organismos de una talla de 11 a 23 g directamente de los estanques de 2000 L, que se mantenían a una temperatura de 26 °C. Los organismos se mantuvieron en ayuno 24 h previas a los experimentos. Fueron anestesiados con una solución con fenoxietanol ( $1\text{ml L}^{-1}$ ) y etiquetados con una

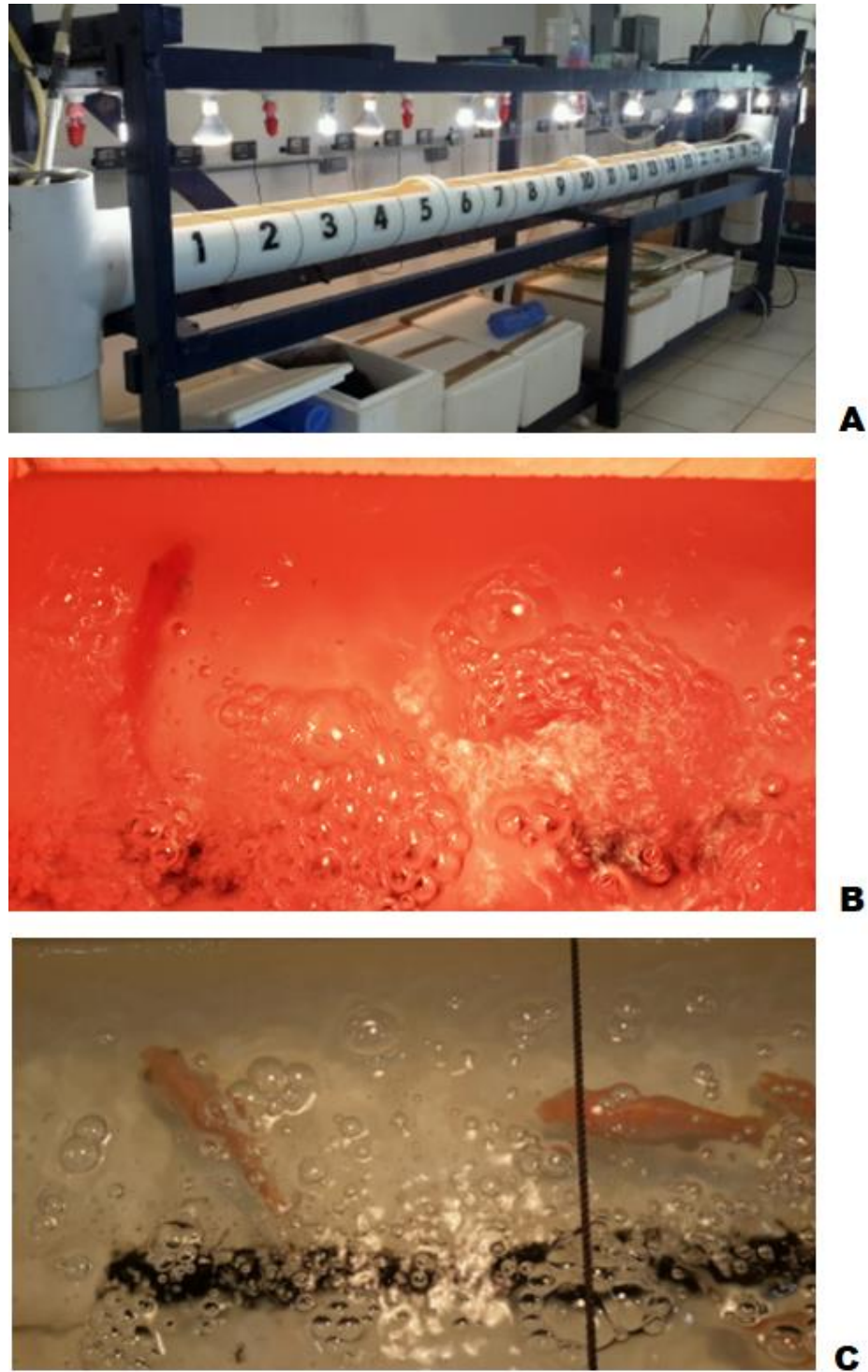
lentejuela plástica previamente enumerada. Cada grupo por separado fue colocado en el segmento del gradiente térmico horizontal (Figura 4 A) con la temperatura cercana a 26 °C y se les puso una barrera de malla en los segmentos continuos para evitar que huyeran a los extremos, después transcurridos los primeros 30 min se removieron las barreras para permitir la libre gravitación por el canal. Durante las siguientes 24 h se registró la posición de los organismos y las temperaturas de cada uno de los segmentos cada 60 min. Se simuló un ciclo diurno y nocturno de 12 h de luz y 12 de oscuridad. Para la luz de día, el gradiente contó con cinco focos de luz incandescente distribuidas a lo largo y luz fluorescente (Figura 4 C), conforme iba obscureciendo la luz fue reducida paulatinamente con un controlador de luz y a la par unos focos de luz roja fueron encendidos (Figura 4 B), ya que ésta calidad de luz no es captada por los organismos. La intensidad luminosa fue de  $0.32 \times 10^{15}$  quanta  $\text{seg}^{-1} \text{cm}^{-2}$  en el día y  $0.03 \times 10^{17}$  quanta  $\text{seg}^{-1} \text{cm}^{-2}$ .

Se hizo una regresión lineal con las temperaturas registradas en cada segmento del gradiente con el programa SigmaPlot V11, con la finalidad de comprobar la linealidad del gradiente de temperaturas.

Se utilizó el programa SigmaPlot V.11 con el cuál se realizó un ANOVA de Kruskal-Wallis (ANOVA on Ranks) para determinar las diferencias entre las temperaturas preferidas por los organismos con respecto al tiempo. Las temperaturas seleccionadas por los organismos fueron graficadas en cajas en paralelo (Tukey, 1977) así como los intervalos de confianza de las medianas, mediante la fórmula:

$$I. C. = \frac{M \pm (1.58\Delta H)}{\sqrt{n}} \quad (1)$$

Dónde: I.C. son los intervalos de confianza, M es la mediana, 1.58 es una constante,  $\Delta H$  es la amplitud de la caja (cuartil 75% - cuartil 25%) y n es el número de organismos.



**Figura 4. Temperatura preferida determinada mediante el método gravitacional.** A) gradiente térmico horizontal, B) luz roja durante mediciones nocturnas ( $0.03 \times 10^{17}$  quanta  $\text{seg}^{-1} \text{cm}^{-2}$ ), C) Luz fluorescente e incandescente durante las mediciones diurnas ( $0.32 \times 10^{15}$  quanta  $\text{seg}^{-1} \text{cm}^{-2}$ ).

Para la determinación de la temperatura preferida mediante la utilización del método agudo se utilizaron en 100 organismos (8.5-53.9 g) provenientes del sistema B. Para cada temperatura de

aclimatación se utilizaron 20 organismos de peso similar, mismos que fueron divididos en grupos de 5 y se realizaron 4 repeticiones (N=20 por TA); al igual que los organismos utilizados en el método gravitacional, estos fueron anestesiados con una solución con fenoxietanol (1ml L<sup>-1</sup>) y etiquetados con una lentejuela plástica previamente enumerada. Cada grupo por separado fue colocado en el segmento con la temperatura cercana a su temperatura de aclimatación (20, 23, 26, 29 o 32 °C) y se les puso una barrera de malla en los segmentos continuos para evitar que huyeran a los extremos, después transcurridos los primeros 30 min se removieron las barreras para permitir la libre gravitación por el canal. Se utilizó el método agudo descrito por Reynolds y Casterlin (1979) el cual consiste en la observación de la posición de los organismos cada 10 min durante 2 horas con la finalidad de determinar el preferendum final.

Se utilizó el programa SigmaPlot V.11 con el cuál se realizó un ANOVA de Kruskal-Wallis (ANOVA on Ranks) para determinar las diferencias entre las temperaturas preferidas por los organismos con respecto a la temperatura de aclimatación. Las temperaturas seleccionadas por los organismos fueron graficadas en cajas en paralelo (Tukey, 1977) así como los intervalos de confianza de sus medianas.

#### **2.2.4.2 Temperatura óptima de crecimiento teórica**

La temperatura óptima predicha se calculó mediante la ecuación de Jobling 1981 siguiente

$$Crecimiento\ optimo = \frac{TP+0.53}{1.05} \quad (2)$$

#### **2.2.4.3 Velocidad de desplazamiento**

La determinación de la velocidad de desplazamiento se hizo mediante la diferencia por hora de la longitud de cada segmento en el cual se encontraban los organismos en cada hora durante el transcurso del experimento de temperatura preferida por el método gravitacional. Se graficó la velocidad de desplazamiento promedio y error estándar de la media con respecto al tiempo. Se hizo una prueba de normalidad y una ANOVA de una vía por rangos de Kruskal-Wallis. Posteriormente los desplazamientos de día y de noche se concentraron en dos grupos (Día y Noche) para hacer una prueba t y observar diferencias entre estos.

#### 2.2.4.4 Tasa de consumo de oxígeno (TCO) y $Q_{10}$

El consumo de oxígeno se midió un sistema respirométrico semi-abierto, como el descrito por Díaz *et al.* (2007), el cual consistió en 6 cámaras respirométricas (CR) de 1 L (Figura 5). Cada una provista con un sensor de oxígeno de fibra óptica (precisión  $\pm 0.005\% O_2$ , límite de detección  $0.03\% O_2$ ), introducido por la parte superior de la tapa hermética de la CR, los cuales fueron conectados a un oxímetro modelo Oxy-10 mini-amplifier (PreSens GmbH, PreSens®, Alemania). Con un programa de computo de la misma compañía, se guardaron las lecturas de las concentraciones de oxígeno en el interior de cada CR. El flujo de agua al interior de las CR fue controlado por una válvula. Se hicieron 2 grupos de 5 organismos por temperatura de aclimatación ( $n=10$  por TA), los cuales fueron introducidos dentro de las CR individualmente dos horas previas a las mediciones. Se midió la concentración de oxígeno inicial y se tomó una muestra de agua con una pipeta de cada una de las CR para la determinación de la concentración de amonio. Inmediatamente se interrumpió el flujo de agua al interior de la cámara durante 30 min, en los cuales cada 5 min con el oxímetro se hizo una lectura de las concentraciones de oxígeno, y al finalizar la última medición se tomó una muestra final de agua y las válvulas fueron abiertas para reanudar el flujo de agua al interior de la cámara. Se utilizó una CR a la cual no se le introdujo pez para usarla de control y corregir los resultados con el consumo de oxígeno y amonio producidos por los microorganismos (Díaz *et al.*, 2007). Se hicieron 2 repeticiones por grupo de organismos. Los resultados de consumo de oxígeno fueron dados en  $mgO_2 h^{-1} kg^{-1} p.h.$  obtenidos al transformar las concentraciones con la ecuación 3:

$$Tasa\ de\ Consumo\ de\ Oxígeno\ (TCO) = \frac{CO_f - CO_i}{W * T} * V \quad (3)$$

Donde  $CO_f$  es la concentración de oxígeno final,  $CO_i$  es la concentración de oxígeno inicial,  $W$  es el peso húmedo de los organismos en kilogramos,  $T$  es el tiempo en horas, y  $V$  es el volumen de agua dentro de la cámara respirométrica al restarle el volumen de agua desplazado por el pez (Zheng *et al.*, 2008).

Se calcularon los cocientes de temperatura  $Q_{10}$  para evaluar el efecto de la TA sobre TCO usando la ecuación de Schmidt-Nielsen 1997 siguiente:

$$Q_{10} = \left( \frac{TCO\ 1}{TCO\ 2} \right)^{\frac{10}{Temp2 - Temp1}} \quad (4)$$

Donde TCO1 y TCO2 son las tasas de consumo de oxígeno a las temperaturas de aclimatación 1 y 2, Temp2 y Temp1 son las temperaturas de aclimatación 2 y 1 respectivamente.



**Figura 5. Determinación del consumo de oxígeno en juveniles de Pargo UNAM expuestos a diferentes temperaturas de aclimatación.** A) fotografía de la parte interna del respirómetro: 1) válvulas que controlan el flujo del agua al interior de la CR, 2) válvula de entrada, 3) sensor óptico de oxígeno, 4) válvula de salida de agua y lugar de toma de muestra para amonio, 5) cámara respirométrica control, 6) tubo de nivel y drenaje de la tina de 100 L, 7) entrada de agua para liberación de parte del agua en la recirculación, 8) piedra de aireación para mantener la temperatura de agua homogénea y concentración de oxígeno, 9) baño de agua con temperatura controlada. B) fotografía externa del respirómetro: 10) tina rectangular de fibra de vidrio de 100 L, 11) controlador de temperatura, 12) reservorio de 200 L, 13) bomba periférica, 14) interruptor de corriente de la bomba.

#### 2.2.4.5 Tasa de excreción de amonio (TEA)

Para la determinación de la concentración de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) se tomaron muestras iniciales y finales de 1 ml de agua del interior de las CR, y se utilizó el método de azul de indofenol (Rodier, 1981) adaptado al uso de microplaca. La técnica consiste en la conversión total del amonio en amoniaco al adicionar fenol y nitroprusiato con un medio alcalino de citrato con hipoclorito de sodio y se utiliza



nitroprusiato de sodio como catalizador. Al reaccionar se obtiene una coloración azul. Las muestras ya tratadas se pusieron una hora en oscuridad y posteriormente fueron leídas con un espectrofotómetro Thermo Scientific™ Multiskan™ GO a 640 nm. Para la determinación de la tasa de excreción de amonio se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Tasa de excreción de amonio (TEA)} = \frac{CAf - CAi}{W * T} * V \quad (5)$$

Donde  $CAf$  es la concentración de  $\text{NH}_4^+$  final,  $CAi$  es la concentración de  $\text{NH}_4^+$  inicial,  $W$  es el peso húmedo de los organismos en kilogramos,  $T$  es el tiempo en horas, y  $V$  es el volumen de agua dentro de la cámara respirométrica al restarle el volumen de agua desplazado por el pez. Las unidades de la tasa de excreción de amonio son  $\text{mg NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-1} \text{ p.h.}$

Los datos obtenidos de consumo de oxígeno y excreción de amonio fueron tratados con el paquete estadístico SigmaPlot V.11 para realizar un análisis descriptivo de los datos (Tukey, 1977), se aplicó una prueba estadística de Kruskal - Wallis para observar diferencias entre los resultados de las repeticiones y entre los resultados a las distintas temperaturas de aclimatación. Los resultados de consumo de oxígeno y excreción de amonio fueron graficados por separado en cajas paralelas en las cuales el 50% de los datos alrededor de las medianas se encuentran en la caja y cada una de las barras a los extremos de las cajas representa el 25%.

#### 2.2.4.6 Razón atómica O:N

Se obtuvo la razón atómica O:N mediante la utilización de los valores de consumo de oxígeno y la excreción de amonio de los organismos expuestos a las diferentes temperaturas de aclimatación. Esta relación es un indicador del tipo de sustrato metabólico empleado por los organismos para cubrir con los requerimientos energéticos, además de ser un indicador de estrés. El cálculo se hizo mediante la ecuación 6 descrita por Flores *et al.* (2008):

$$O:N = \frac{\text{peso atómico NH}_4^+}{\text{peso atómico de O}_2} * \frac{CO}{EA} \quad (6)$$

Donde CO es el consumo de oxígeno y EA es el amonio total excretado por los juveniles de tilapia. Los datos de O:N a las diferentes temperaturas de aclimatación fueron analizados con el programa SigmaPlot

V11, con el cual se realizó una ANOVA de una vía de Kruskal-Wallis para determinar las diferencias entre los valores de O:N de las diferentes temperaturas experimentales. Los datos fueron graficados en cajas en paralelo con sus intervalos de confianza.

#### 2.2.4.7 Temperaturas críticas y ventana térmica

Se obtuvieron las temperaturas críticas máximas de los juveniles de PU aclimatados a las diferentes temperaturas de aclimatación (20, 23, 26, 29 y 32 °C) los cuales fueron aclimatados durante 30 días en los sistemas **A** descritos anteriormente. Fueron elegidos 10 organismos por condición experimental, los cuales en grupos de 5 fueron introducidos en un acuario de 50 L provisto con un calentador de inmersión de 1000 W y aireación constante para mantener una temperatura uniforme y oxígeno disponible (Figura 6). Los organismos fueron colocados dentro de los acuarios 30 min previos al experimento para reducir el estrés ocasionado por el manejo (Pérez, *et al* 2003). La tasa de aumento de temperatura fue de 1°C min<sup>-1</sup> (González *et al* 2010), hasta alcanzar el punto en el cual cesaron los esfuerzos del pez por escapar y había una pérdida de equilibrio o pérdida de horizontalidad, momento en el cual se extrajeron los organismos para colocarlos a su respectiva temperatura de aclimatación.

Se determinó la razón de respuesta a la aclimatación (RRA) el cual fue definido por Claussen (1977) como:

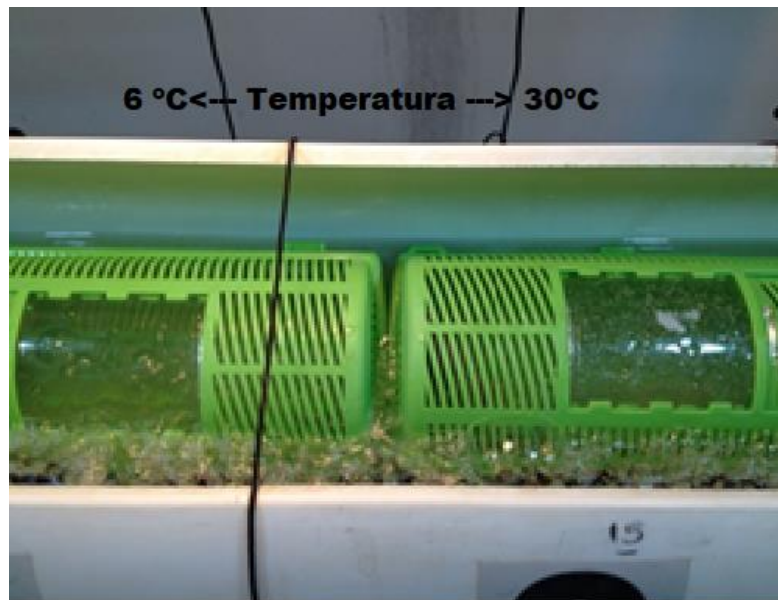
$$RRA = \frac{\Delta CTMax}{\Delta T} = \frac{TCMax2 - TCMax1}{TA2 - TA1} \quad (7)$$

Donde TCMax2-TCMax1 representan la diferencia entre los valores de las medianas de las temperaturas en la cual los organismos alcanzaron la desorientación total bajo cada temperatura de aclimatación, y TA2-TA1 es la diferencia en °C de las temperaturas de aclimatación en las cuales se están midiendo las respuestas.



**Figura 6. Tilapias Pargo UNAM durante los experimentos de TCM<sub>ax</sub>.** Se utilizaron acuarios de 50 L con un nivel reducido de agua, aireación constante y un calentón de titanio de 1000 W, incrementos de temperatura a la razón de  $1^{\circ}\text{C min}^{-1}$  hasta alcanzar el punto final.

Se obtuvieron las temperaturas críticas mínimas para los organismos aclimatados a las temperaturas de aclimatación, para ello se tomaron una muestra de 10 organismos de los sistemas A, los cuales fueron colocados individualmente dentro de canastillas plásticas las cuales permitían el paso de agua (Figura 7). Se utilizó el gradiente térmico horizontal descrito en la sección anterior cuyo intervalo de temperaturas se modificó para tener una temperatura mínima de  $6.8^{\circ}\text{C}$  y una temperatura máxima de  $35^{\circ}\text{C}$ . La canastilla plástica fue colocada en la posición dentro del gradiente que registraba la temperatura en la cual el organismo había sido aclimatado, los juveniles de Pargo UNAM hicieron un recorrido hacia temperaturas inferiores a una tasa de  $1^{\circ}\text{C}$  por minuto, hasta observar los signos pérdida de horizontalidad. Inmediatamente después, los organismos fueron extraídos y colocados a su respectiva temperatura de aclimatación para su recuperación.



**Figura 7. Utilización del gradiente de temperaturas en la determinación de TCM<sub>in</sub>.** Se utilizaron canastillas perforadas para permitir el libre intercambio de agua entre el interior de la canastilla y el gradiente, disminución de la temperatura a razón de de  $1^{\circ} \text{C min}^{-1}$  hasta alcanzar el punto final.

Los datos de TCM<sub>ax</sub> y TCM<sub>in</sub> fueron graficados en cajas paralelas con el programa SigmaPlot V11, mismo con el cual se realizó la descripción estadística, y un análisis de varianza de una vía de Kruskal-Wallis. También se graficó un polígono de tolerancia térmica, el cual se representó como una ventana térmica donde se integra la información de las preferencias y tolerancias térmicas.

#### **2.2.4.8 Campo de actividad metabólico (CAM) con los métodos TIRM y Persecusion.**

El campo de actividad metabólico fue obtenido mediante los métodos de inducción al metabolismo respiratorio por la temperatura (TIRM) y el método de persecución, cuyos resultados fueron comparados.

El método TIRM utiliza los valores de TCM<sub>ax</sub> y TCM<sub>in</sub> donde se alcanza la actividad de locomoción, debido a que las temperaturas extremas provocan las respuestas de escape en los organismos. Con base en esto bajo estimulación térmica se indujo a una alta tasa metabólica de escape (ESMR) en los organismos por su exposición a 90% TCM<sub>ax</sub> (TIRM<sub>max</sub>) y de manera similar se indujo a una tasa metabólica mínima al disminuir la actividad de los juveniles de tilapia al exponerlos a 110% TCM<sub>in</sub> (TIRM<sub>min</sub>) en la cual alcanzaron la tasa metabólica de reposo (REMR) (Paschke *et al.*, 2017). Se seleccionaron al azar 20 organismos de cada temperatura de aclimatación (20, 23, 26, 29 y 32 °C) del Sistema C, de los cuales 10

fueron utilizados para la determinación de ESMR y 10 para la determinación de REMR. Para la determinación de ESMR fueron introducidos en grupo de cinco organismos por temperatura de aclimatación (dos repeticiones,  $n=10$ ) dentro de un acuario con la misma temperatura de agua a la que fueron aclimatados durante 30 días. Se dejaron dentro del baño 30 min el cual se estuvo regulando para mantener la temperatura. Posteriormente siguiendo los pasos para la determinación de TCM<sub>max</sub>, la temperatura se incrementó a una tasa de 1 °C por minuto hasta alcanzar TIMR<sub>max</sub> e inmediatamente se trasladaron al respirómetro colocándolos individualmente dentro de una cámara respirométrica, las cuales se encontraban dentro de un baño de agua con la misma temperatura. Para la determinación de REMR fueron introducidos individualmente en canastillas de plástico perforadas (2 repeticiones,  $n=10$ ) las cuales fueron a la vez puestas dentro del gradiente horizontal siguiendo la metodología para la determinación de TCM<sub>min</sub> en grupos de cinco canastillas, las cuales se movieron gradualmente a una tasa de 1 °C por minuto a temperaturas inferiores hasta llegar a TIMR<sub>min</sub>, e inmediatamente los peces fueron colocados dentro de las cámaras respirométricas dentro del respirómetro con baño de agua dulce a TIMR<sub>min</sub>. Tanto en los experimentos para determinación de ESMR y REMR fueron utilizadas 6 cámaras respirométricas de 1 L provistas con un sensor óptico de oxígeno como se describió anteriormente, de las cuales una fue usada como control para medir el consumo de oxígeno de los microorganismos. Se midió la concentración de oxígeno inicial con el flujo abierto e inmediatamente se cerraron las válvulas durante un lapso de 5 min durante los cuales se registró y se vigiló la concentración de oxígeno dentro de la cámara cada 30 segundos. Transcurrido este tiempo las válvulas fueron abiertas para permitir el flujo del agua y se extrajeron los peces uno a uno para pesarlos y realizar la toma de sangre para la determinación de lactato. ESMR y REMR fueron obtenidos a través del consumo de oxígeno, el peso húmedo de los juveniles y el tiempo aplicando la fórmula 3 para cada temperatura de aclimatación. El CAM inducido por la temperatura se obtuvo mediante ESMR-REMR, donde el CAM reflejó la actividad de escape en condiciones extremas (Paschke *et al.*, 2017). También se obtuvo el CAM factorial a partir de ESMR/REMR el cual permitió validar los resultados de acuerdo a la capacidad de nado de estos organismos y el  $Q_{10}$  (fórmula 4), utilizando en éste último los valores de ESMR y REMR y las temperaturas TIMR<sub>max</sub> y TIMR<sub>min</sub>.

Para calcular el campo de actividad metabólico fue necesario obtener primero la máxima tasa metabólica MMR y la tasa metabólica estándar SMR. Para ello se seleccionaron aleatoriamente 10 juveniles de Pargo UNAM por temperatura de aclimatación del sistema C, los cuales fueron colocados individualmente en acuarios circulares de 47 cm de diámetro y 15 cm de profundidad con agua dulce a temperatura que habían sido aclimatados y se les dio 15 min para su recuperación de la manipulación. Pasado este tiempo con una red los organismos fueron perseguidos y tocados ligeramente si estos dejaban de nadar o si disminuían su velocidad de nado, por un tiempo de 5 min de acuerdo a Roche *et al.* (2013) y

Norin (2014). Inmediatamente los organismos fueron trasladados con la red a las cámaras respirométricas del respirómetro con agua a la temperatura de aclimatación correspondiente. Se utilizaron 6 cámaras respirométricas por grupo de 5 organismos, de las cuales una fue control para ajustar los resultados de consumo de oxígeno con respecto a aquel efectuado por los microorganismos. Una vez en la cámara respirométrica y con el flujo abierto se midió la concentración de oxígeno inicial e inmediatamente se interrumpió el flujo por un lapso de 5 min durante los cuales se registró y vigiló la concentración de oxígeno cada 30 segundos. Tras la última medición de concentración de oxígeno se abrieron las válvulas de las cámaras para permitir flujo de agua al interior de las cámaras y los peces fueron extraídos, pesados y de igual forma se obtuvo una muestra de sangre para la medición de lactato. Se utilizaron los valores menores del consumo de oxígeno de rutina como el consumo de oxígeno estándar. Las tasas de consumo de oxígeno fueron calculadas como  $\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-1}$ . El CAM se obtuvo mediante MMR-SMR, donde el CAM refleja la actividad del músculo de los juveniles de Pargo UNAM en persecución. De igual forma se obtuvo el CAM factorial mediante MMR/SMR y los valores de  $Q_{10}$ .

#### **2.2.4.9 Lactato sanguíneo**

Al finalizar los experimentos de TIMR (ESMR y REMR) y de persecución (MMR y SMR) se tomó con una jeringa pediátrica un pequeño volumen de sangre (aproximadamente 50 a 100  $\mu\text{L}$ ) para poner de forma inmediata una gota de sangre en una tira reactiva desechable para su medición en un dispositivo Accutrend® Plus (Roche Diagnostics GmbH) cuyos resultados fueron dados en  $\text{mmol L}^{-1}$ .

Todas las pruebas estadísticas de esta sección (ESMR, REMR, MMR, SMR y lactato) fueron llevadas a cabo utilizando el programa Sigma Plot V11. Mediante el cual se hizo un análisis exploratorio de los datos (Tukey, 1977) y una ANOVA de una vía de Kruskal-Wallis para determinar las diferencias entre las repeticiones. Posteriormente los datos se concentraron por temperatura de aclimatación y una ANOVA de Kruskal-Wallis por rangos se aplicó para observar las diferencias entre los resultados a diferentes temperaturas experimentales. El programa aplicó el método de Dunn para realizar la comparación por pares. Todas las tasas metabólicas y los resultados de lactato fueron graficados con las mismas escalas y se hizo una comparación de los resultados obtenidos por los dos métodos diferentes.

#### 2.2.4.10 Crecimiento de los juveniles Pargo UNAM cultivados a las temperaturas experimentales durante 3 meses

Fueron cultivados quince organismos por temperatura experimental durante 90 días en el Sistema C, con una tasa de recambio del 100% diario y flujo abierto. Durante este tiempo los organismos fueron alimentados a saciedad con la dieta comercial Nutripec. Los juveniles fueron pesados y medidos mensualmente. Los datos de los pesos fueron tratados con el programa Sigma Plot V.11 para comparar el peso ganado mensualmente a las diferentes temperaturas de aclimatación. Fueron graficados los pesos húmedos de los organismos y las tasa de crecimiento específica (Busaker y Cols, 1990) así como la tasa de crecimiento específica (Ricker, 1979) calculada a partir de la siguiente fórmula:

$$TCE = 100 \times \frac{LN Phf - LN Phi}{T} \quad (8)$$

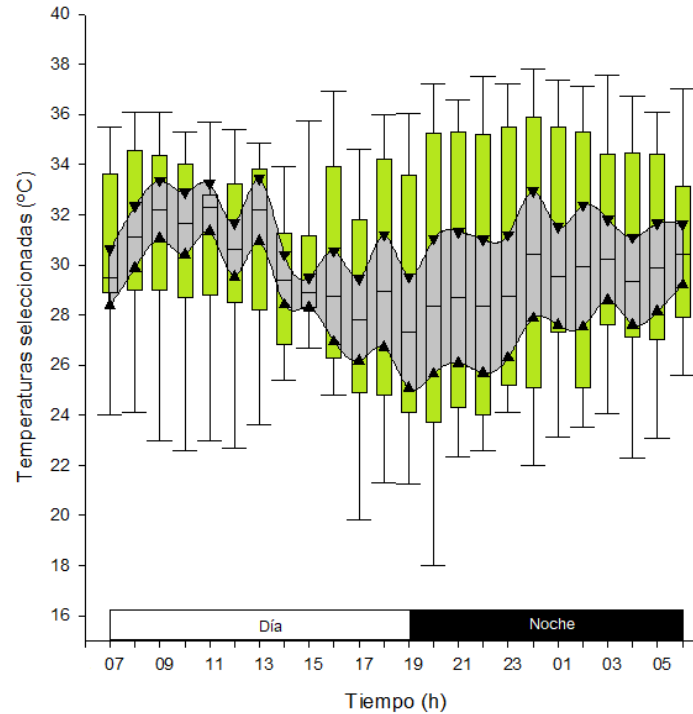
Donde TCE es la tasa de crecimiento específica, LN es el logaritmo natural, Phf es el peso húmedo final, Phi es el peso húmedo inicial y T es el tiempo en días.

## 2.3 Resultados

### 2.3.1 Temperatura preferida por el método gravitacional y el método agudo

Con las temperaturas de los segmentos del gradiente horizontal térmico se obtuvo la siguiente ecuación de regresión lineal  $y = 3.542 + 1.426 x$ ,  $r^2 = 0.91$  (donde  $y$  = temperatura del segmento y  $x$  = los segmentos del gradiente), demostrando que el gradiente fue estable y lineal dentro del intervalo de 8 a 40°C.

Las temperaturas preferidas de los juveniles obtenidos por el método gravitacional y agudo fueron similares,  $29.53 \pm 1.39$  °C y  $29.5 \pm 0.2$  °C respectivamente. No se encontraron diferencias significativas entre las temperaturas seleccionadas por las tilapias durante el ciclo diurno y nocturno ( $P > 0.05$ ) en el método gravitacional. En el día el promedio de las temperaturas seleccionadas fue de  $30.3 \pm 1.3$  °C y durante la noche fue  $29.3 \pm 2.2$  °C (Figura 8).



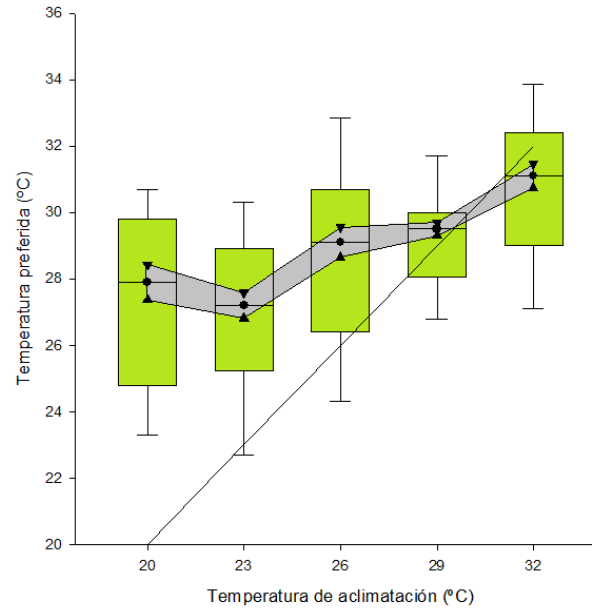
**Figura 8. Temperatura preferida de los juveniles de Pargo UNAM en un ciclo diurno.** Valores obtenidos mediante el método gravitacional, la zona sombreada y delimitada por triángulos representa el 95% de los intervalos de confianza de la mediana. Las barras incluyen el 50% de la distribución de los organismos, y las líneas verticales representan los cuartiles.

En la determinación de la temperatura preferida mediante el método agudo (figura 9), se obtuvo una regresión lineal utilizando el valor de las medianas de las temperaturas seleccionadas por los organismos de cada temperatura de aclimatación, cuya ecuación fue de  $TP = 21.42 + (0.29 \cdot TA)$ ,  $r^2 = 0.831$ , cuya pendiente fue ligeramente superior a 0.2 sugiriendo que la respuesta a la aclimatación fue positiva.

### 2.3.2 Temperatura óptima de crecimiento teórica

La temperatura óptima de crecimiento teórica calculada mediante la ecuación de Jobling (1981) fue de  $28.6 \pm 0.9$  °C .

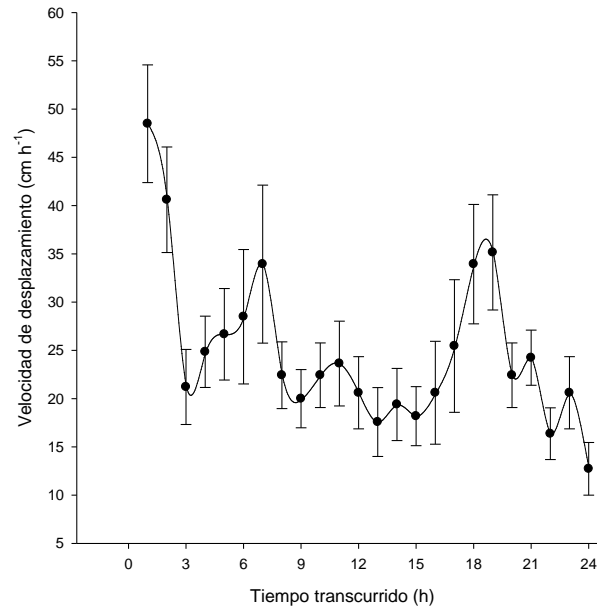




**Figura 9. Temperatura preferida de juveniles de tilapia Pargo UNAM acimatadas a cinco temperaturas (20, 23, 26, 29 y 32 °C).** La zona sombreada delimitada por triángulos representa el 95% de los intervalos de confianza de la mediana. Las barras incluyen al 50% de la distribución de los organismos y las líneas verticales los cuartiles inferior y superior. La línea de 45° representa los puntos en los que la temperatura preferida es igual a la temperatura de aclimatación.

### 2.3.3 Velocidad de desplazamiento

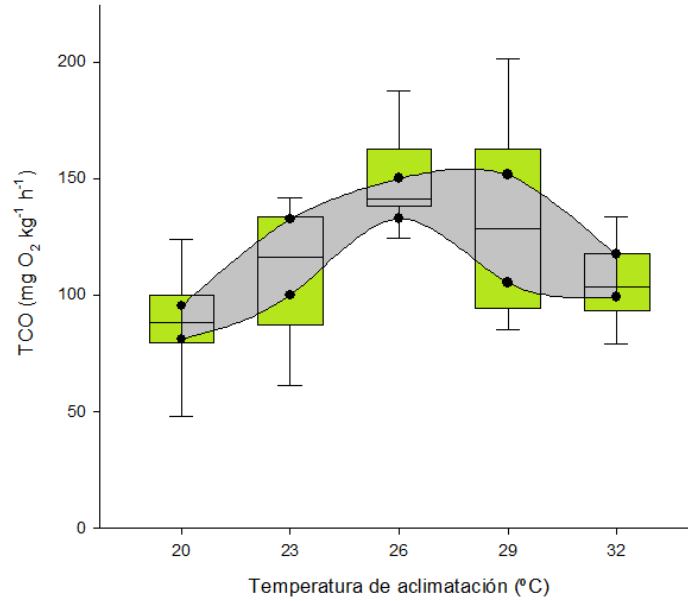
Se observó que las tilapias mostraron una reducción de su velocidad de desplazamiento (Figura 10) de  $48.5 \text{ cm h}^{-1}$  a  $12.7 \text{ cm h}^{-1}$  durante las primeras ocho horas, seguido de un incremento a  $34.1 \text{ cm h}^{-1}$  para alcanzar una velocidad final de  $25.4 \text{ cm h}^{-1}$  (Figura10). Los datos pasaron la prueba de normalidad ( $P=0.153$ ) y el análisis de igual varianza ( $P=0.071$ ). La velocidad media en el día fue de  $27.3 \pm 10.4$  (D.E.) y la nocturna fue  $22.7 \pm 4.7$  (D.E.), sin embargo no fueron significativamente diferentes ( $P=0.181$ ).



**Figura 10. Velocidad de desplazamiento de la tilapia Pargo UNAM, durante el método gravitacional.** Los valores de la media se presentan en puntos las líneas verticales el error estándar de la media.

### 2.3.4 Tasa de consumo de oxígeno (TCO) y $Q_{10}$

La tasa de consumo de oxígeno de rutina aumentó significativamente ( $P < 0.05$ ) de  $88.2 \pm 14.27$  a  $141.4 \pm 17.08$   $\text{mg O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$  (Figura 11) en el intervalo de temperatura de aclimatación de 20 a 26 °C. En la temperatura de 29 °C, próxima a la temperatura preferida, la TCO fue  $128.28 \pm 46.38$   $\text{mg O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , ligeramente menor que en 26 °C, y disminuyó significativamente en la temperatura de 32 °C a  $108.2 \pm 18.3$   $\text{mg O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ . Las TCO de los organismos aclimatados a 26 y 29 °C no fueron significativamente diferentes, comportándose de forma independiente a la temperatura de aclimatación entre estas temperaturas. La máxima TCO se presentó en la temperatura de aclimatación de 26 °C y la mínima en 32 °C.



**Figura 11.** Tasa de consumo de oxígeno de juveniles de Pargo UNAM aclimatados a cinco temperaturas (20, 23, 26, 29 y 32 °C). Las cajas representan el 50% de los datos de la distribución y las líneas verticales representan los cuartiles. El área sombreada delimitada por los triángulos representan los intervalos de confianza de la mediana.

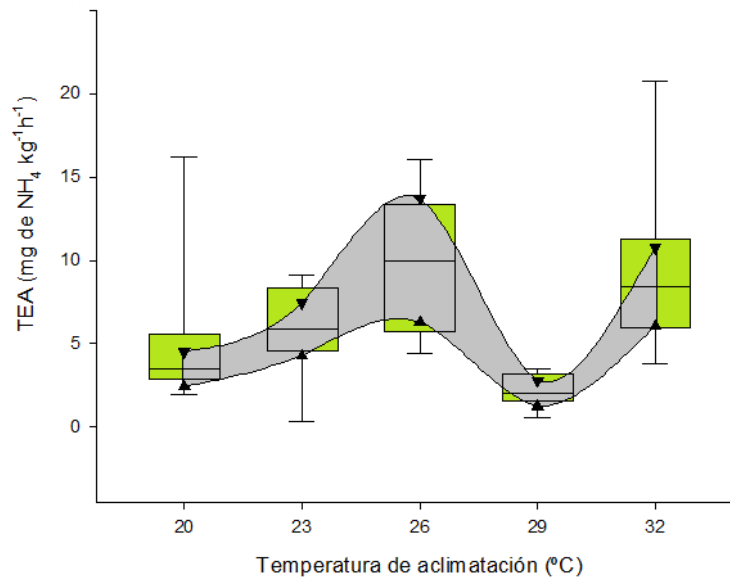
El máximo valor de  $Q_{10}$  (Tabla 2) fue de 2.50 para el intervalo de temperaturas de aclimatación de 20 a 23 °C, y el mínimo fue de 0.57 para intervalo 29 a 32 °C debido a la disminución de la TCO en la temperatura de 32 °C. En los intervalos de 23 a 29 °C y de 26 a 29 °C los valores de  $Q_{10}$  demostraron una mayor plasticidad en dos últimos intervalos de temperatura

**Tabla 2.** Valores de  $Q_{10}$  obtenidos a partir de la tasa de consumo de oxígeno de la tilapia Pargo UNAM. Los valores de consumo de oxígeno corresponden a las medianas.

Intervalo TA ° C	$Q_{10}$		$Q_{10}$
	$TCO_1$ mg O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>	$TCO_2$ mg O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>	
20-23	88.23	116.21	2.50
23-26	116.21	141.40	1.92
26-29	141.40	128.28	0.72
29-32	128.28	108.23	0.57
20-26	88.23	141.40	2.19
23-29	116.21	128.28	1.18
26-32	141.40	108.23	0.64

### 2.3.5 Tasa de excreción de amonio (TEA)

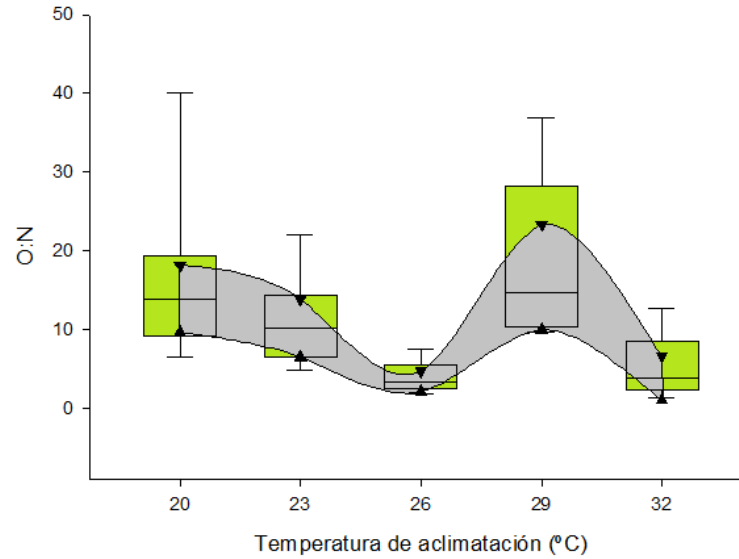
La tasa de excreción de amonio (Figura 12) aumentó significativamente con la temperatura ( $P > 0.05$ ) en el intervalo de 20 a 26 °C desde  $3.48 \pm 1.05$  a  $9.99 \pm 3.7$   $\text{mg NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-1}$ . Los organismos aclimatados a 29 °C, cuya temperatura fue cercana a la temperatura óptima presentaron la mínima excreción de  $2.02 \pm 0.76$   $\text{mg NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-1}$ . Los organismos aclimatados a 32 °C excretaron  $8.39 \pm 2.34$   $\text{mg NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-1}$ , lo que significó un aumento que pudiera relacionarse con el estrés, mostrando que esta temperatura no es la temperatura óptima.



**Figura 12.** Tasa de excreción de amonio en juveniles de Pargo UNAM aclimatados a 20, 23, 26, 29 y 32 °C. Las cajas representan el 50% de los datos de la distribución y las líneas verticales representan los cuartiles. El área sombreada delimitada por los triángulos representa los intervalos de confianza de la mediana.

### 2.3.6 Razón atómica O:N

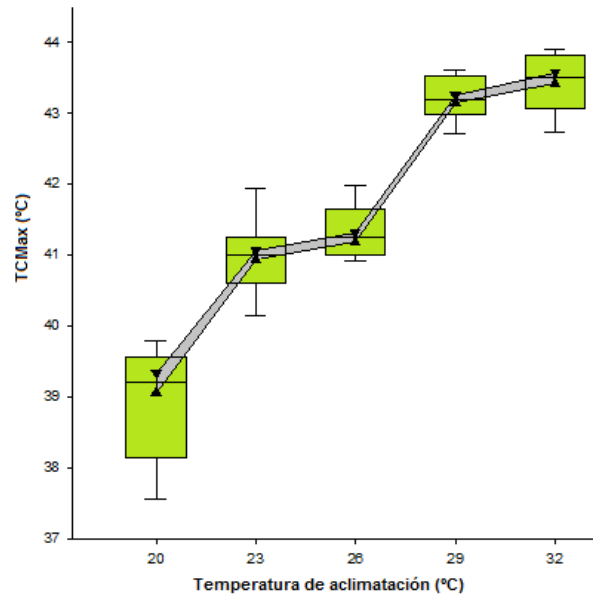
Los resultados de la relación atómica O:N en los juveniles de tilapia Pargo UNAM aclimatadas a diferentes temperaturas se muestran en la figura 13, donde se observa que a la temperatura de 29 °C existe un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) donde alcanza valores máximos de 37.8 y mínimos de 9.7 ( $14.64 \pm 8.70$ , mediana  $\pm$  I.C.). Los valores mínimos de O:N se encontraron en las temperaturas de 26 y 32 °C ( $3.41 \pm 1.31$  y  $3.85 \pm 2.82$  respectivamente). Los valores de O:N en todas las temperaturas de aclimatación fueron bajos sugiriendo que las proteínas fueron principal fuente de energía de acuerdo a la clasificación de Mayzaud y Conover (1988).



**Figura 13. Razón atómica O:N en los juveniles de Pargo UNAM aclimatados a 20, 23, 26, 29 y 32 °C.** Las cajas representan el 50% de los datos de la distribución y las líneas verticales representan los cuartiles. El área sombreada delimitada por los puntos negros representan los intervalos de confianza de la mediana.

### 2.3.7 Temperaturas críticas y ventana térmica

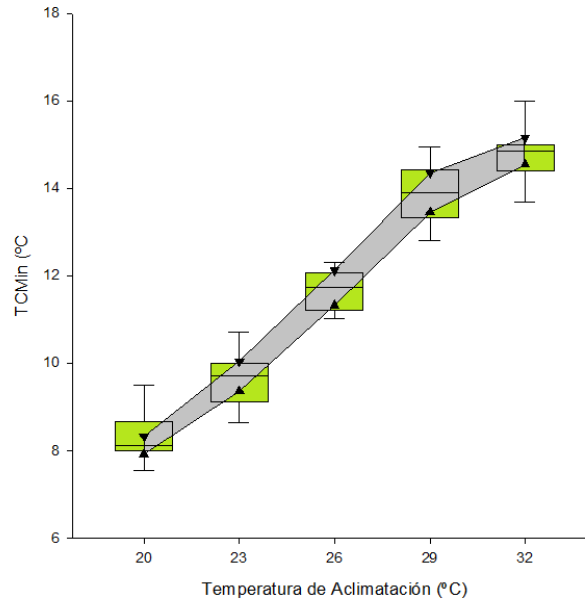
TCMax y TCMIn se vieron directamente afectadas por la temperatura de aclimatación significativamente ( $P < 0.05$ ). En la figura 14 se observa que los organismos que fueron aclimatados a temperaturas ascendentes aumentaron su tolerancia a temperaturas superiores alcanzando una temperatura crítica máxima superior. El intervalo de TCMax fue de 39.2 a 43.5 °C y la ecuación de regresión lineal obtenida fue de  $TCMax = 32.27 + 0.360TA$ ,  $r^2 = 0.94$ .



**Figura 14. Temperaturas críticas máximas (TCMax) de la tilapia Pargo UNAM aclimatadas a 20, 23, 26, 29 y 32 °C.** Los juveniles se expusieron a un incremento gradual de temperatura ( $1\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ) hasta alcanzar su pérdida de horizontalidad y equilibrio.

De la misma forma, la temperatura de aclimatación tuvo un efecto significativo sobre las temperaturas críticas mínimas, a medida que la primera aumentó, la temperatura crítica mínima se incrementó (Figura 15), es decir su tolerancia a temperaturas inferiores disminuye. El intervalo de temperaturas mínimas en TCMin fue de 8 a 14.9 °C. La ecuación de regresión lineal obtenida fue  $\text{TCmin} = -3.687 + 0.593\text{TA}$ ,  $r^2 = 0.940$  (TA = Temperatura de aclimatación).

Los intervalos de la razón de respuesta a la aclimatación térmica (RRA) fueron de 0.34-0.38 en TCMax y de 0.52-0.85 en TCMin (Tabla 3). Lo que se puede traducir que esta variedad de tilapia pierde mayormente la tolerancia a ambientes con aguas frías que aquellos con aguas cálidas por su carácter tropical.



**Figura 15. Temperaturas críticas mínimas (TCMin) de los juveniles de tilapia Pargo UNAM aclimatadas a 20, 23, 26, 29 y 32 °C.** Los juveniles de Pargo UNAM se expusieron a una disminución gradual de temperatura ( $1\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ) hasta alcanzar su pérdida de horizontalidad y equilibrio.

**Tabla 3. Razón de respuesta a la aclimatación térmica RRA de juveniles de Pargo UNAM.** Los valores de RRA fueron obtenidos a partir de los valores de la temperatura crítica máxima y la temperatura crítica mínima de cada una de las temperaturas de aclimatación.

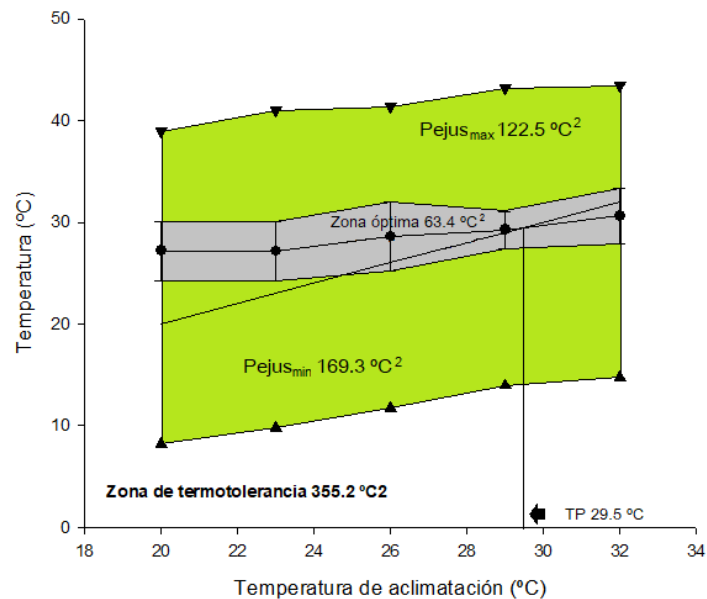
Razón de respuesta al cambio a la aclimatación térmica			
(RRA)			
Intervalo de TA (°C)	20-26	23-29	26-32
RRA TCMin	0.63	0.85	0.52
RRA TCMax	0.34	0.36	0.38

Los campos de termotolerancia fueron amplios, característicos de especies euritérmicas con valores entre 28.3 y 31.2 °C. La amplitud del campo de tolerancia térmica disminuyó con el aumento de la temperatura de aclimatación (Tabla 4).

**Tabla 4. Campo de tolerancia térmica de la tilapia Pargo UNAM a diferentes temperaturas de aclimatación.** Valores de CTT obtenidos de la diferencia entre temperaturas crítica máxima y mínima de cada temperatura de aclimatación.

Campo de tolerancia térmica			
TA (°C)	TCMax (°C)	TCMin (°C)	CTT (°C)
20	39.2	8	31.2
23	41	10	31
26	41.25	11.75	29.5
29	43.2	14.1	29.1
32	43.5	14.85	28.65

El área del polígono de tolerancia obtenido a partir de las temperaturas críticas representa una zona de  $355.2\text{ }^{\circ}\text{C}^2$  (Figura 16). De la cual un área de  $122.5\text{ }^{\circ}\text{C}^2$  corresponde al  $\text{Pejus}_{\text{max}}$  y un área de  $169.3\text{ }^{\circ}\text{C}^2$  corresponde al  $\text{Pejus}_{\text{min}}$  es decir estas zonas que se encuentran fuera del óptimo son temperaturas en las cuales la tilapia tiene que invertir mayor energía en la termorregulación, lo que se pudiera ver reflejado en su campo de actividad metabólico. La zona óptima delimitada por los cuartiles de 25% y 75% en la distribución, comprende un área menor de  $63.4\text{ }^{\circ}\text{C}^2$ , lo cual se debe al carácter tropical de la variedad de tilapia.

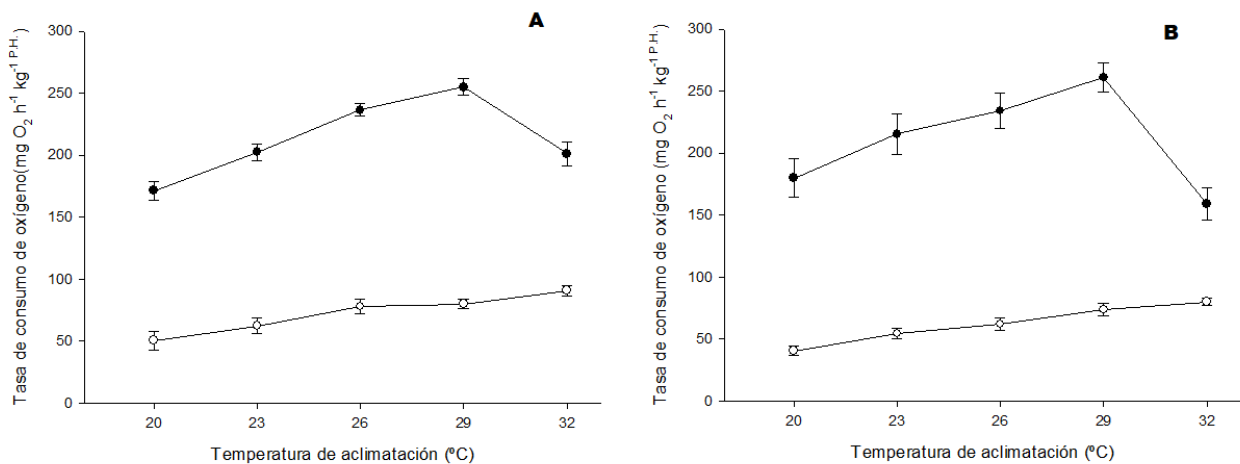


**Figura 16. Ventana térmica de Pargo UNAM.** La zona sombreada representa temperatura preferida (media  $\pm$  DE). La línea de  $45^{\circ}$  representa el punto donde la temperatura preferida y la temperatura de aclimatación son iguales. Los triángulos representan TCMax y TCMin, y el área delimitada por estos puntos y la zona óptima representan las zonas del Pejus superior e inferior considerando que la temperatura crítica representa el umbral donde el campo aeróbico es cercano o igual a cero de acuerdo a Sokolova *et al.*, 2012.



### 2.3.8 Campo de actividad metabólico y $Q_{10}$ de los juveniles de Pargo UNAM

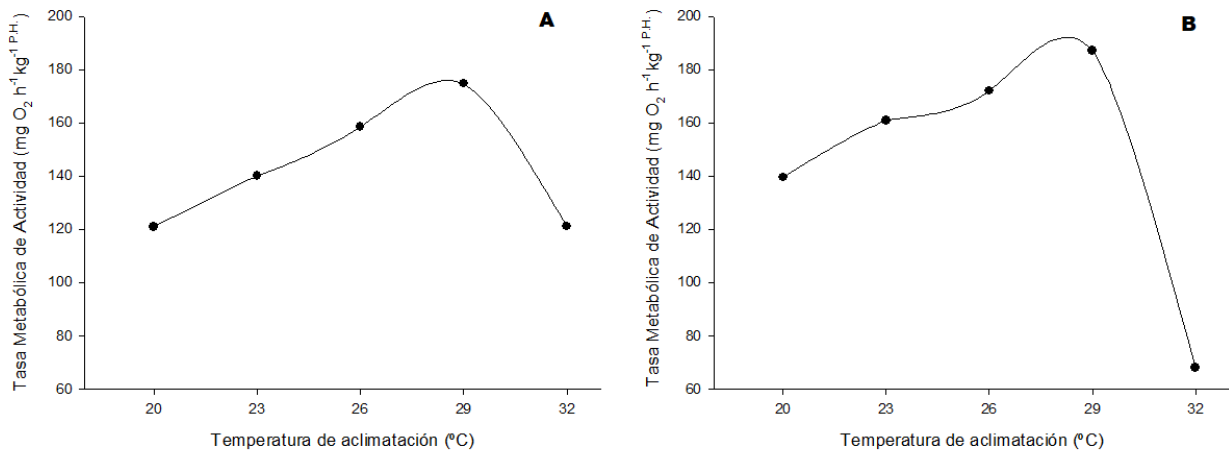
La figura 17 muestra los niveles del metabolismo estándar y máximo obtenidos mediante los métodos TIMR (Figura 17A) y persecución (Figura 17B). En ambos métodos en la temperatura de 29 °C se alcanzaron los valores máximos (254.9 y 261.0  $\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-1} \text{ P.H.}$ ). Las tasas metabólicas de escape y de máxima se incrementaron significativamente con el incremento de la temperatura de aclimatación de 20 a 29 °C y disminuyeron en la temperatura de 32 °C. La máxima tasa metabólica disminuyó a niveles más bajos que la tasa metabólica de escape (159 y 201  $\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-1} \text{ P.H.}$  respectivamente). Las tasas metabólicas de reposo y estándar fueron similares en ambos métodos, las cuales incrementaron significativamente con el incremento de las temperaturas de aclimatación, sin embargo los valores fueron menores a las tasas metabólicas de escape y máxima con intervalos de 50.5 a 91.0 y 40.6 a 80.0  $\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-1} \text{ P.H.}$  respectivamente.



**Figura 17. Metabolismo de la tilapia Pargo UNAM aclimatada a 20, 23, 26, 29 y 32 °C expuestas a distintas condiciones experimentales.** A) tasas metabólicas de escape ESMR (representada con círculos negros), y reposo REMR (representada con círculos blancos) obtenidas con el método TIMR. B) tasas metabólicas máxima MMR (representada con círculos negros) y estándar SMR (representada con círculos blancos) obtenidas mediante el método de persecución. Los círculos representan los valores de la media y las colas el valor del error estándar).

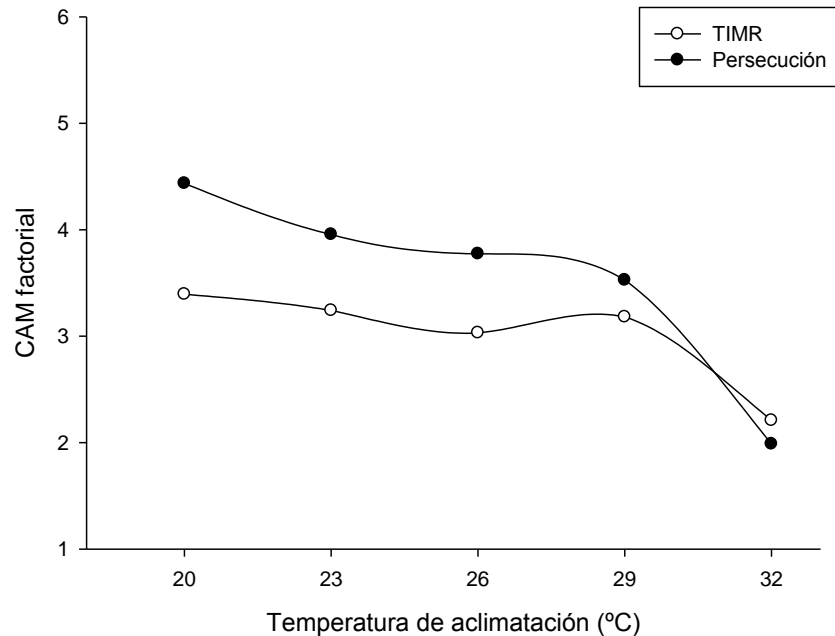
En la figura 18 se presentan los campos de actividad metabólicos de los juveniles de Pargo UNAM los cuales fueron obtenidos mediante la diferencia entre los niveles metabólicos ESMR-REMR (Figura 18A) y MMR-SMR (Figura 18B), cuyos valores se incrementaron al aumentar la temperatura de aclimatación en el intervalo de 20 a 29 °C, y disminuyeron en la temperatura de 32 °C. Aunque se observaron similitudes en la tendencia, los valores fueron mayores en todas las temperaturas en el método de persecución con

excepción del campo metabólico de la temperatura de 32 °C. La menor tasa metabólica para la actividad de presentó en la temperatura de 20 °C ( $121.0 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-1} \text{ P.H.}$ ) mientras que por el método de persecución la menor tasa metabólica para la actividad fue en 32 °C ( $68 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-1} \text{ P.H.}$ ). En ambos métodos los valores máximos se localizaron en la temperatura de 29 °C, cercano a la temperatura preferida obtenida para los juveniles en este trabajo.



**Figura 18. Campo de actividad metabólico de juveniles de tilapia Pargo UNAM aclimatados a 20, 23, 26, 29 y 32 °C.** A) campo de actividad metabólico de los juveniles de Pargo UNAM obtenida mediante TIMR. B) campo de actividad metabólico obtenido mediante el método de persecución.

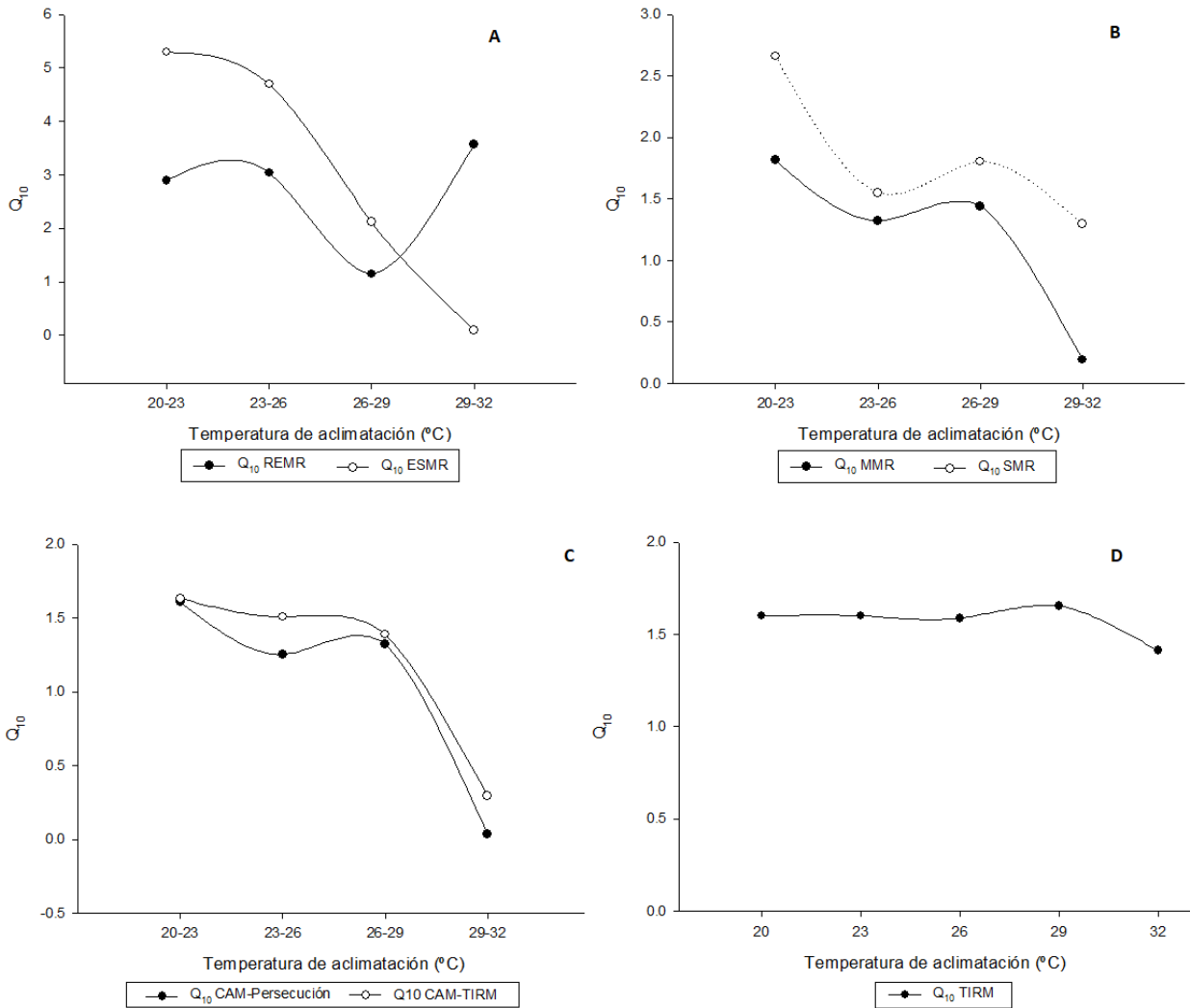
Los valores del campo de actividad metabólico factorial obtenidos mediante la razón de los niveles del metabolismo obtenidos en cada método (persecución y TIMR) se representan en la figura 19. donde en el intervalo de 20 a 29 °C el CAM factorial de la persecución es mayor que los valores obtenidos por el método TIMR para el mismo intervalo de temperatura. En el intervalo de 29 a 32 °C los valores se cruzan, por lo cual en la temperatura de 32 °C el valor de CAM factorial de persecución es ligeramente inferior que el obtenido mediante TIMR.



**Figura 19. Campo de actividad metabólico factorial de juveniles de tilapia Pargo UNAM aclimatados a 20, 23, 26, 29 y 32 °C.** La línea con círculos claros representa la razón MMR/SMR, las cuales fueron obtenidas mediante el método de persecución. Los círculos negros representan la razón ESMR/REMR obtenidas mediante el método TIMR.

Los valores  $Q_{10}$  obtenidos a partir de las diferentes tasas metabólicas en los dos métodos empleados se representan en las figuras 21 A, 21 B, 21 C y 21 D. El  $Q_{10}$  de la tasa metabólica de reposo (Fig. 23 A) disminuyó desde los intervalos de la temperatura de aclimatación de 20-23 °C a 26-29 °C (2.9 -1.14) y aumentó de 29 a 32 °C a 3.57 debido al incremento en la tasa respiratoria de los organismos aclimatados a 32 °C y expuestos a 16°C (TIMRmin). El  $Q_{10}$  del intervalo de 20-23 expuestos a TIMRmax (Fig. 21 A) fue el mayor entre todos los obtenidos mediante esta metodología para obtener la tasa metabólica de escape, y el menor fue calculado en el intervalo de temperatura de 29 a 32 °C cuyas temperaturas TIMRmax fueron 38 y 39 °C y el valor de  $Q_{10}$  de 0.1. Los organismos mostraron tener mayor plasticidad dentro del intervalo de 26 a 29 °C con valores de  $Q_{10}$  de 1.14 y 2.12 (TIMRmin y TIMRmax respectivamente). Los valores de  $Q_{10}$  obtenidos a partir de máxima tasa metabólica (MMR) y estándar (SMR) se representan en la figura 21 B, en la que se observa que en el intervalo de 20 a 23 los valores de  $Q_{10}$  fueron mayores (1.81 y 2.66 respectivamente). El  $Q_{10}$  del intervalo de 29 a 32 °C fue el menor de los obtenidos en persecución y fue significativamente menor al  $Q_{10}$  calculado a partir de los valores promedio del metabolismo estándar para el mismo intervalo de temperaturas. Los valores de  $Q_{10}$  calculados con los valores del campo de actividad metabólico tanto para el método de persecución y el método TIMR se representan en la figura 21C, cuyas tendencias son muy similares, presentando los mayores valores dentro del intervalo de

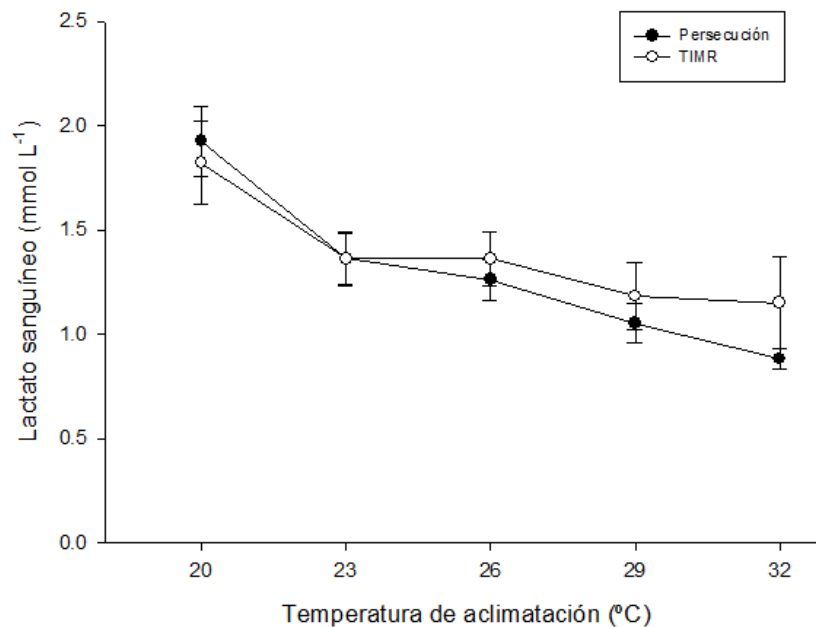
temperatura de 20 a 23 °C ( 1.60 y 1.63), en el intervalo de 26 a 29 °C los valores de  $Q_{10}$  se aproximan (1.32 y 1.39) y en ambos métodos disminuyen en el intervalo de 29 y 32 °C a 0.03 y 0.29 (persecución y TIMR respectivamente). Por último, en la figura 21D se representan los  $Q_{10}$  calculados con las tasas metabólicas ESMR y REMR y las temperaturas TIMRmax y TIMRmin en la que se puede observar que los valores permanecen dentro de intervalo 1.59 a 1.65 entre las temperaturas de 20 a 29 °C y el valor disminuye en 32 °C a 1.41.



**Figura 20. Valores de  $Q_{10}$  en juveniles de tilapia Pargo UNAM aclimatados a 20, 23, 26, 29 y 32 °C y expuestos a las condiciones de los métodos TIMR y persecución.** A)  $Q_{10}$  promedio en los organismos expuestos al método TIMR, B) valores de  $Q_{10}$  obtenidos por persecución, C)  $Q_{10}$  obtenidos a partir de los valores del campo de actividad metabólico y D)  $Q_{10}$  obtenido con las tasas metabólicas y temperaturas empleadas en TIMRmin y TIMRmax.

### 2.3.9 Lactato sanguíneo

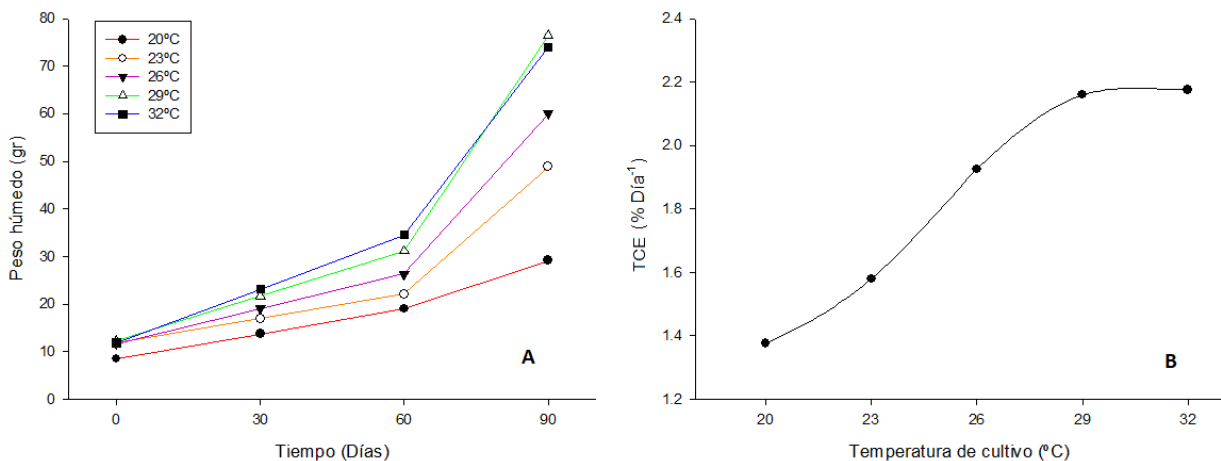
Las concentraciones de lactato sanguíneo obtenidas durante los experimentos de TIRMmax y en persecución se representan en la figura 20. La mayor concentración de lactato se presentó en los organismos aclimatados a la temperatura de 20 °C en ambos métodos (1.82 y 1.93 mmol L<sup>-1</sup> respectivamente), siendo los valores similares ( $P < 0.05$ ), en la temperatura de 23 °C las concentración fue la misma en ambos métodos y las curvas formadas por las mismas se cruzaron, siendo ligeramente mayores las concentraciones de lactato de los peces sometidos a TIMRmax (90% TCMMax). Los valores mínimos fueron mostrados por los organismos aclimatados a 32 °C en ambos métodos (1.15 y 0.88 mmol L<sup>-1</sup> respectivamente). Las concentraciones de lactato de TIMRmin y en la determinación del metabolismo estándar no fueron incluidas en la gráfica debido a que el aparato (Accutrend plus) tuvo la limitante de no mostrar las concentraciones de lactato inferiores de 0.7 mmol L<sup>-1</sup> por lo que se asumió que todas las concentraciones en estas circunstancias fueron menores a este valor. Las concentraciones de lactato fueron significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ) en los organismos aclimatados de 20 a 32 °C.



**Figura 21. Concentración del lactato sanguíneo de juveniles de tilapia Pargo UNAM aclimatados a 20, 23, 26, 29 y 32 °C y expuestos a las condiciones de los métodos TIMR y persecución.** Los círculos claros representan las concentraciones promedio de lactato en organismos expuestos a TIRMmax, y los círculos negros representan los valores de la media de los organismos que fueron sometidos a persecución. Las colas representan el error estándar de la media.

### 2.3.10 Crecimiento de los juveniles de Pargo UNAM cultivados a las temperaturas experimentales durante tres meses.

La temperatura de cultivo afecto significativamente ( $P < 0.05$ ) al crecimiento de los organismos (Figura 22 A), los organismos cultivados a 29 y 32 °C presentaron el mayor peso a los tres meses de ser cultivados ( $76.47 \pm 16.5$  y  $73.98 \pm 20.38$  respectivamente). Los organismos que fueron cultivados a 20 °C presentaron el menor peso final ( $26.13 \pm 8.14$ ). Los organismos cuya temperatura de cultivo fue de 26°C presentaron un peso final intermedio de  $60.08 \pm 17.58$ , demostrando que las temperaturas cálidas de 29 a 32 °C favorecen el crecimiento. Con respecto tasa de crecimiento específica (TCE) (Figura 22B) los organismos cultivados a 20 °C presentaron un TCE de 1.38 el cual está muy por debajo de los vales de TCE de los organismos cultivados a 29 y 32 °C (2.16 y 2.15 respectivamente), temperaturas a las cuales TCE no fue significativamente diferente.



**Figura 22. Crecimiento a las temperaturas 20, 23, 26, 29 y 32 °C tras 3 meses de cultivo.** A) crecimiento promedio de los organismos cultivados a las diferentes temperaturas en muestreos realizados mensualmente, los símbolos representan el peso húmedo promedio de los organismos. B) Curva de crecimiento en la que se muestra la influencia de la temperatura sobre el crecimiento diario TCE (% Día<sup>-1</sup>).

## 2.4 Discusión

Cuando existe un cambio rápido y heterogéneo de la temperatura ambiental a corto plazo, como por ejemplo un ciclo diurno, o a largo plazo como en cambios estacionales, los peces inevitablemente se adaptan a través de la plasticidad de su comportamiento termorregulador (Golovanov, 2013), los peces han desarrollado estos mecanismos de repuesta para mantener la homeostasis fisiológica (Johnson y

Kelsh, 1998). Pargo UNAM demostró tener una rápida tasa de aclimatación a las temperaturas altas como *O. mossambicus* (Badenhuizen, 1967) la cual forma parte del pool genético de este tetra-híbrido (Muñoz-Cordova y Garduño-Lugo, 2003). En todo el ciclo diurno y nocturno los juveniles de Pargo UNAM tuvieron una afinidad por temperaturas cálidas, seleccionando temperaturas entre 26.8 a 32.3 °C. La intensidad de la luz y el tiempo no afectaron los resultados obtenidos, aunque se pudo observar que en el periodo entre las 7 a 14 horas los organismos se encontraban menos dispersos y se concentraban alrededor de la temperatura seleccionada, lo que redujo los intervalos de confianza de la mediana y las temperaturas seleccionadas fueron ligeramente superiores en este periodo de tiempo. Todos los experimentos de temperatura preferida por el método gravitacional se iniciaron a las 13:30 horas y las mediciones de las posiciones de los organismos y temperaturas de las cámaras fueron medidas cada hora a partir de las 14 h, por lo tanto la amplitud de los intervalos de confianza y dispersión a las primeras horas del experimento se pudo deber al tiempo que tardaron los organismos a perder la aclimatación previa (26 °C) para posteriormente congregarse alrededor de un intervalo térmico ligeramente superior. Sin embargo, las diferencias entre las temperaturas preferidas de día y noche no fueron significativas ( $P < 0.05$ ), lo cual sugiere que la tilapia Pargo UNAM no presentó ningún patrón migratorio diurno adaptativo ya sea por hábitos alimenticios, disponibilidad de alimento, por la luz o presencia de depredadores, o por eficiencia bioenergética como sucede en algunas otras especies, por lo cual no aplican las hipótesis de Brett (1971). En su medio natural, el ciclido *Tilapia rendalli* realiza un movimiento diurno hacia dentro y fuera de la costa en respuesta a los movimientos del agua cálida durante el día y no por la presión de depredadores, ni por el suministro de alimento (Caulton, 1975). Otras especies de agua dulce como el depredador natural de la tilapia *Micropterus salmoides* (Díaz et al., 2007), el camarón *Liptopenaus vannamei* (González et al., 2010) y *Tegula regina* (Salas et al., 2014) son especies que también han demostrado tener independencia de sus temperaturas seleccionadas con respecto a ciclo diurno y nocturno como ocurre en los juveniles de Pargo UNAM.

De acuerdo a Fraenkel y Gunn (1961), algunos organismos utilizan un mecanismo de orientación por ortotermokinesis el cual es un comportamiento móvil de los organismos con respecto a la temperatura con el cuál detectan aquellas temperaturas que ofrecen un mejor campo para el desarrollo de sus funciones como la actividad metabólica, alimentación y sobrevivencia (Fraenkel y Gunn, 1961; Fry, 1971; Kelsh y Neill, 1990; Kelsh, 1996). Los peces pueden detectar las variaciones de la temperatura por medio del órgano pre-óptico situado en el hipotálamo (Nelson y Prosser, 1979) y regulados mediante procesos bioquímicos y fisiológicos para mantener una tasa metabólica óptima (Tsai y Wang, 1997). De ésta forma y como se observó que cuando los juveniles de Pargo UNAM detectaron la temperatura de  $29.5 \pm 1.4$  °C (mediana  $\pm$  I.C), redujeron su velocidad de desplazamiento desde  $48.5 \text{ cm h}^{-1}$  a  $12.7 \text{ cm h}^{-1}$  permaneciendo

en un intervalo más angosto de temperaturas. Este comportamiento fue independiente del ciclo diurno y nocturno, ya que las velocidades de desplazamiento entre estos no fueron significativamente diferentes.

La temperatura preferida de los juveniles de Pargo UNAM fue positiva (pendiente de 0.29). De acuerdo a Kelsh y Neill (1990) y Johnson y Kelsh (1998), la relación entre la temperatura preferida y la temperatura de aclimatación se puede dividir en tres clases: positiva, independiente y negativa. Cuando el valor de la pendiente es mayor de 0.2, la respuesta es positiva, lo cual representa un ajuste fisiológico de compensación parcial para incrementar la eficiencia metabólica a la nueva temperatura, que se ve reflejado en el incremento de la temperatura seleccionada con respecto al aumento de la temperatura de aclimatación (Johnson y Kelsh, 1988). Esto pudiera considerarse a la vez, como una respuesta adaptativa de los juveniles de tilapia Pargo UNAM como también se ha reportado por Badenhuizen (1967) en *O. mossambicus* ( $m= 0.21$ , donde  $m=$  valor de la pendiente). El valor de la pendiente en estas tilapias contrastan con los obtenidos por Cherry *et al.* (1975) en la carpa común *Cyprinus carpio* ( $m= 0.49$ ) y en el pez de agalla azul, *Lepomis macrochirus* ( $m= 0.37$ ), o por Cincotta y Stauffer (1984) en la lobina rayada *Micropterus salmoides* ( $m= 0.62$ ). Lo que tienen en común estas especies con la tilapia Pargo UNAM es la preferencia de temperaturas cálidas, sin embargo el género tilapia se origina principalmente en zonas tropicales donde las temperaturas se mantienen en un estrecho intervalo, aunque las mismas tengan un amplio grado de euritermicidad y su cultivo se haya extendido a otras áreas. Las otras especies mencionadas tienen una preferencia térmica mayor que las temperaturas que tienen en su hábitat natural.

De acuerdo a la hipótesis de Kelsch y Neill (1990) la compensación parcial es el resultado de los ajustes metabólicos cualitativos a la temperatura que resultan en un verdadero cambio en la temperatura óptima para los procesos metabólicos por la aclimatación, los cuales incluyen adaptaciones como variaciones en la composición lipídica de las membranas celulares y la inducción de isoenzimas o aloenzimas. La respuesta mostrada por los juveniles de Pargo UNAM es común en organismos que pueden vivir en hábitats con amplias variaciones estacionales de la temperatura, aun su ambiente original sea tropical, lo cual las clasifica en el grupo de euritermos de aguas cálidas. Aunque estos organismos puedan sobrevivir en condiciones fuera de las óptimas no quiere decir que su cultivo pudiera ser muy exitoso en temperaturas fuera del intervalo óptimo, sino que pudiera crecer a cambio de la inversión de energía a costa de sacrificar su desempeño.

La temperatura preferida de los juveniles de Pargo UNAM fue muy cercana a otras especies de tilapia: Badenhuizen (1967) y Stauffer (1986) obtuvieron la temperatura preferida de la tilapia *O. mossambicus* de 28 y 32.2 °C respectivamente; Beamish (1970) en *O. niloticus* reportó un intervalo de



selección de temperaturas entre 28 a 29.5 °C. La temperatura preferida ha sido considerada cercana a la temperatura óptima de crecimiento por numerosos autores. La temperatura óptima de crecimiento para los juveniles de Pargo UNAM calculada con el valor de la temperatura preferida utilizando la ecuación de Jobling (1981) fue de  $28.6 \pm 0.9$  °C se encuentra dentro de los intervalos reportados para la tilapia del Nilo, los cuales van de 28 a 32 °C (Likongwe *et al.*, 1996; Azaza *et al.*, 2008; Qiang *et al.*, 2012; Abdel-Tawwab y Waffek, 2014) y cercana a la tilapia roja de Florida la cual alcanza su máximo crecimiento a 27 °C (Watanabe *et al.*, 1993). La temperatura de 29.5 °C por tanto, refleja el estado óptimo ecofisiológico para la tilapia Pargo UNAM, lo cual tiene un impacto grande en la acuicultura de estos organismos para disminución de los costos de energía y alimentación en su cultivo (Huey y Stevenson, 1979).

CTMax y CTMin han sido usados como excelentes indicadores para la evaluación de los requerimientos térmicos y la fisiología de diferentes especies incluyendo en este trabajo a Pargo UNAM. De acuerdo con Pörtner (2010) y Sokolova *et al.* (2012) estos índices representan los límites superior e inferior que corresponden al umbral térmico, donde el campo aeróbico puede ser cercano o igual a cero, lo cual explica porque los organismos que se exponen a estas temperaturas pueden permanecer vivos solo por un corto periodo de tiempo. Para cada especie, el estado crítico térmico ocurre a diferente temperatura, más sin embargo el comportamiento de estrés causado por el calentamiento o enfriamiento del agua es similar entre los diversos taxa (Lutterschmidt y Hutchinson, 1997). En este estudio se utilizó como indicador final del umbral o punto final la pérdida de horizontalidad (LRR, siglas en inglés de “loss of righting response”).

El comportamiento de Pargo UNAM fue muy similar a otros peces en los experimentos de temperaturas críticas máximas y mínimas. En TCMax, este comportamiento consistió en un incremento en la actividad conforme se aumentó la temperatura, los juveniles de Pargo UNAM nadaron rápido tratando de escapar de la condición que les causaba estrés, seguido de un momento en el cual los peces cesaron de nadar pero en el que se observó un aumento en el ritmo de movimiento opercular antes de un último y repentino desplazamiento y pérdida de horizontalidad, considerado como punto final.

Los juveniles de Pargo UNAM alcanzaron TCMax extremos, mayores de 40°C. Brock (1985) propuso que estas tolerancias térmicas extremas establecen los límites bio-cinéticos de los vertebrados acuáticos ectotermos. Beitinger *et al.* (2000) hizo una recopilación y publicó una lista que contiene 22 especies y las magnitudes de TCMax mayores o iguales de 40 °C. Entre ellas se encuentran *Cyprinodon artifrons* (Heath *et al.*, 1993), *C. variegatus* (Bennet y Beitinger, 1997), *Ictalurus punctatus* (Bennet *et al.*, 1998) y *Micropterus salmoides salmoides* (Fields *et al.*, 1987), cuyas TCMax fueron 45.4, 45.1, 42.1 y 40.9 °C.

*Cyprynodon artifrons* y *Cyprinodon variegatus* son especies conocidas por su habilidad de sobrevivir en cambios extremos estacionales y diurnos de temperatura, donde las pozas hipertermales se forman y cuya temperatura puede variar de 26 y 40 °C diariamente (Heath *et al.*, 1993), pueden experimentar cambios de hasta 19 °C en un día y estacionales cercana a 40 °C (Feldmeth *et al.*, 1981). La TCM<sub>Max</sub> obtenida en este trabajo es superior a la reportada por Lutterschmidt y Hutchinson (1997) en la tilapia *O. niloticus* cuya magnitud fue de 33.6 °C, sin embargo la diferencia muy probablemente sea porque esos autores aclimataron la tilapia a 10 °C, por lo tanto para hacer comparaciones es importante revisar que las temperaturas de aclimatación sean similares.

Las temperaturas mínimas causaron en los juveniles de Pargo UNAM un comportamiento similar a la de la tilapia azul (*Oreochromis aurea*) como fue la pérdida del movimiento opercular, la falta de respuesta al tacto, y la pérdida de balance y estado comatoso (Starling *et al.*, 1995). Las magnitudes de TCM<sub>Min</sub> fueron mayores a los encontrados para especies como *Cyprinodon variegatus* cuyo intervalo de temperaturas de TCM<sub>Min</sub> se reporta entre 2.5 a 11.3 °C (Bennet y Beitinger, 1997) y también que *Ictalurus punctatus* cuyo intervalo fue en el orden de 2.7 a 9.8°C (Currie *et al.*, 1998), y que *Micropterus salmoides* cuyo intervalo fue reportado de 3.2 a 10.7 °C (Currie *et al.*, 1998), mientras que el valor de TCM<sub>Min</sub> fue ligeramente menor que el de la *Tilapia melanotheron*, aclimatada a 21 °C cuyo TCM<sub>Min</sub> fue reportada en 9.4 a 9.7 °C (Jennings, 1991).

La magnitud de los campos de termotolerancia de los juveniles de Pargo UNAM fue menor que las magnitudes de *Cyprinodon artifrons* y para *Cyprinodon variegatus* (39 y 34 °C respectivamente) los cuales habitan aguas muy poco profundas y térmicamente inestables (Feldmeth *et al.*, 1974, Bennet y Beitinger, 1997), sin embargo fue mayor que la magnitud del campo de termotolerancia de *Cyprinus carpio* (carpa común) dentro de intervalo de 31.3 a 32.7 °C. Estas especies al igual que Pargo UNAM son peces de interés comercial que son cultivados en zonas tropicales y subtropicales (Chatterjee *et al.*, 2004). La amplitud del campo sirve para indicar el grado de adaptación, y puede ser correlacionado con la estabilidad térmica de su hábitat (Brett 1970b). En los juveniles de Pargo UNAM se ratifica un amplio grado de euritermicidad que les permite mantener sus funciones fisiológicas en un amplio intervalo de temperaturas.

El intervalo de tolerancia de los juveniles Pargo UNAM (8 a 43.5 °C) puede diferir a lo encontrado en otras especies a los rangos de temperatura de aclimatación de los organismos, ya que la temperatura de aclimatación afecta directamente la tolerancia de los organismos, de tal forma que si los intervalos de aclimatación son menores a los intervalos de tolerancia igualmente serán menores, de igual forma sucede con los polígonos de termotolerancia. Sin embargo, este intervalo es muy similar a lo reportado para las

tilapias *Oreochromis niloticus* (Chervinski y Lahav, 1976; Trewavas, 1982; Kather y Smitherman, 1988), *O. mossambicus* (Behrends *et al.* 1990) y la tilapia Roja de Florida cuyo intervalos de tolerancia están entre 8-42 °C. El rango de tolerancia para la *O. aureus* es menor que el de Pargo UNAM, el cual es de 8-30°C (McBay, 1961; Trewavas, 1982; Zale y Gregory, 1989; Starling *et al.*, 1995), a diferencia de las otras especies de tilapia, la tilapia *O. aureus* se caracteriza por tener una mayor resistencia a periodos largos a temperaturas bajas, por la cual esta tilapia se utiliza en procesos de hibridación para ampliar la resistencia de las variedades de tilapia que pudieran llegar tener interés comercial y poder ampliar las temporadas de cultivo o ampliar las posibilidades de establecer otros sitios para los cultivos.

El efecto de la temperatura de aclimatación sobre la temperatura crítica máxima ha sido bien documentado (Lutterschmidt y Hutchinson, 1997; Beitinger *et al.*, 2000). La tendencia de los juveniles de Pargo UNAM a incrementar su tolerancia de acuerdo al aumento de la temperatura de aclimatación representa una ganancia en tolerancia al calor y un patrón de plasticidad que confirma que la termotolerancia es muy dependiente de su historia previa de aclimatación (Lutterschmidt y Hutchinson, 1997). La razón de respuesta a la aclimatación RRA por otra parte, refleja el efecto de la aclimatación sobre la tolerancia, así como también la magnitud de la pendiente de estas dos variables (Claussen, 1977), además de que se ha considerado confiable para denotar la respuesta fisiológica del pez a determinado cambio de temperatura (Claussen, 1977; Chatterjee *et al.*, 2004) y como se obtiene a partir de las temperaturas críticas, también depende de la experiencia térmica de los organismos (Díaz *et al.*, 1998). El RRA puede ser interpretado como los grados de tolerancia ganados por cada grado de temperatura incrementado (He *et al.*, 2014). Los juveniles de Pargo UNAM tendieron a ganar en promedio 0.36 °C de tolerancia por cada grado aumentado de aclimatación y a perder en promedio 0.59 °C de tolerancia por cada grado disminuido en la aclimatación. Los organismos que habitan en regiones tropicales y subtropicales han demostrado tener valores mayores de ARR que aquellos que habitan regiones con agua fría o templada (Re *et al.*, 2005) lo cual se piensa que es debido a que los organismos de las regiones subtropicales, tropicales y en ambientes estuarinos experimentan mayores fluctuaciones de temperatura en periodos cortos comparados con aquellos que experimentan cambios graduales a largo tiempo en regiones templadas a frías; como resultado, ellos presentan una reducida tolerancia a cambios abruptos de temperatura (Díaz *et al.*, 1998; Díaz *et al.*, 2002, Díaz *et al.*, 2004, Re *et al.*, 2005). Especies de agua fría como por ejemplo *Schizothorax kozlovi* (He *et al.*, 2014), *Oncorhynchus mykiss* (Brett, 1952) y *Salvelinus fontinalis* (Currie *et al.*, 1998) han presentados valores de RRA de 0.21, 0.18, 0.14 y de 0.1-0.3 respectivamente. En contraste, las especies que experimentan amplias fluctuaciones de temperatura en tiempos cortos tienen magnitudes de RRA mayores debido a que no pueden usar mecanismos de ajuste, como fue reportado por Currie *et al.* (1998) en *Ictalurus punctatus* y *Micropterus salmoides* cuyas

magnitudes de RRA se documentan en 0.40 y 0.32 respectivamente, y en este estudio en Pargo UNAM (0.36).

Los polígonos de termotolerancia obtenidos a partir de las temperaturas críticas proveen de información importante sobre la ecología y distribución, identifican la ventana térmica dentro de las cuales el organismo puede usar tácticas de supervivencia (Bennet y Beitinger, 1997) y determinan las condiciones óptimas de cultivo (Noyola *et al.*, 2013), además de proveer un índice comparativo de euritermicidad entre especies; también permite estimar como respondería la especie a los cambios del clima global (Eme y Bennet, 2009). En el presente estudio se presenta la ventana completa *para* Pargo UNAM en la cual se incluyeron las zonas óptimas, de transición (Pejus) y los límites críticos usando el modelo propuesto por Cumillaf *et al.* (2016), donde las temperaturas preferidas y críticas fueron puestas como equivalentes de los umbrales óptimos y críticos dentro de los conceptos de la hipótesis de propuesta por Pörtner (2010) en la cual establece que la termotolerancia puede ser limitada por el oxígeno y la capacidad. De acuerdo con Farrell (2013) los organismos deben de encontrarse dentro de la temperatura óptima ( $T_{opt}$ ) o dentro de la ventana térmica óptima para que este pueda maximizar su potencial. De esta forma, la mayor cantidad de energía puede ser canalizada a funciones adaptativas como la actividad, crecimiento, reproducción y sobrevivencia. De acuerdo a este modelo, el mejor rendimiento ocurre en la zona óptima con un área de 63.4 °C, es decir en los juveniles de Pargo UNAM esto ocurre entre 25 y 32 °C. El área del polígono de termotolerancia de Pargo UNAM fue mayor que la reportada en la carpas *Labeo rohita* y *Cyprinus carpio* (Charteje *et al.* 2004), que el pez subtropical *Ocyurus chrysurus* (Paschke *et al.*, 2017) cuyos polígonos de tolerancia tienen un área de 273.5, 311.6 °C<sup>2</sup> y 282 °C<sup>2</sup> respectivamente; similar a la encontrada para el pez tropical *Lutjanus guttatus* por Larios (2014) (344.25 °C<sup>2</sup>) y menor que el bagre de agua dulce tropical *Horabagrus brachisoma* (Dalvi *et al.*, 2009) y que el pez marino subtropical *Argyrosomus regius* (Kir *et al.*, 2017) cuyos polígonos presentaron un área de 526 °C<sup>2</sup> y 460 °C<sup>2</sup> respectivamente. Por lo tanto, debido a la amplia ventana térmica Pargo UNAM puede ser catalogada como un híbrido euritérmico.

Los estudios respirométricos pueden ayudar en el diseño de las instalaciones acuícolas, con el objeto de maximizar la disponibilidad de oxígeno para los peces y reducir el volumen de agua de recambio a cualquier escala y condición ambiental (Ross y McKinney, 1988), por lo que es necesario saber la demanda de oxígeno necesaria tomando en cuenta que el oxígeno disuelto limita el campo de actividad metabólico (Jobling, 1981). La tasa de consumo de oxígeno de los juveniles de Pargo UNAM se vio afectada significativamente por la temperatura de aclimatación ( $P < 0.05$ ), la tendencia fue a elevarse en el intervalo de 20 a 26 °C, para después disminuir y mantenerse entre 29 y 32 °C. La reducción en el consumo de

oxígeno entre estas temperaturas pudiera ser la característica más importante entre la demanda de oxígeno para el metabolismo de rutina y la temperatura de aclimatación en los peces de esta talla de Pargo UNAM. Desde el punto de vista energético esta puede ser una reducción en la energía del metabolismo empleada en la termorregulación y utilizan esta energía en el crecimiento. De acuerdo a Caulton (1977) y Fry (1971), las mesetas en el consumo de oxígeno se pueden deber a una supresión del consumo de oxígeno causado por una reducción en el movimiento dentro de un rango experimental. Caulton (1977) encontró en las tasas de consumo de oxígeno con respecto a la temperatura de aclimatación una meseta similar en la *Tilapia rendalli* y Job (1969) en *O. mossambicus*, en la primera ocurrió entre las temperaturas de aclimatación entre 28 y 35 °C y en la segunda entre 15 y 30 °C. Caulton (1977) interpretó la depresión en el consumo de oxígeno como un ahorro de energía del 40%, mientras que para Job (1969) significó que un mecanismo de homeostasis había sido activado haciendo que dentro de ese intervalo el consumo de oxígeno fuera independiente de la temperatura. En Pargo UNAM esta reducción en la tasa de consumo de oxígeno ocurrió dentro del intervalo óptimo, así como en aquellas especies. Las magnitudes del metabolismo de rutina de Pargo UNAM (88.2 a 141.4 mg O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) fueron ligeramente inferiores a las reportadas por Caulton (1977) en *T. rendalli* (86 a 264 mg O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>) y Caulton (1978) en *O. mossambicus* (60 a 246 mg O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>) dentro de intervalos de temperatura de aclimatación similares a los empleados en este estudio. Sin embargo, las tasas de consumo de oxígeno de las temperaturas de aclimatación 20 y 23 °C mayores a las magnitudes del metabolismo de rutina de *O. niloticus* publicado por Mamun *et al.* (2007).

El proceso mediante el cual los organismos son capaces de recuperarse o acercarse a su punto de ajuste metabólico en ambientes que son térmicamente fluctuantes, puede cuantificarse comparando los Q<sub>10</sub> a través de los regímenes de aclimatación. También es útil para predecir que especies tienen mayor plasticidad térmica, los cuales tendrán un menor Q<sub>10</sub> dentro de un intervalo de temperatura dado (Díaz *et al.*, 2007). Estudios previos sugieren que este menor Q<sub>10</sub> corresponde a los intervalos de temperatura óptimos para el crecimiento, debido a que el metabolismo es reducido y hay mayor energía para el crecimiento (Chatterjee *et al.*, 2004; Das *et al.*, 2004). Los juveniles de Pargo UNAM mostraron tener una gran plasticidad a los cambios de temperatura en el intervalo de 26 a 32°C, lo que indica que dentro de este intervalo están bien adaptados a mantener la homeostasis.

La relación entre la temperatura preferida y la temperatura óptima para el metabolismo está ligada con el concepto del campo aeróbico para la actividad (Fry, 1974). El máximo campo metabólico para la actividad generalmente ocurre en la temperatura preferida. El máximo campo metabólico obtenido por los dos métodos en el presente estudio de Pargo UNAM coincide con este fundamento, y fueron similares

en la temperatura de 29 °C, donde esta temperatura corresponde a la temperatura preferida. De tal forma que la mayor cantidad de energía disponible puede ser canalizada a las funciones adaptativas como actividad, crecimiento, reproducción, sobrevivencia, es decir al máximo desempeño, en forma similar como se ha visto en otras especies (Beamish, 1981; Kelsh y Neill, 1980; Kelsh, 1996; Alsop *et al.*, 1999; Lee *et al.*, 2003).

En el presente estudio se obtuvieron valores de CAM por el método TIMR que por el método de persecución; Paschke *et al.* (2017) en el pez tropical llamado Canane *Ocyurus chrysurus* obtuvo una tendencia similar para el campo metabólico que obtuvieron por ambos métodos. El método TIMR desencadenó una respuesta directa a la temperatura que ocasiona un incremento de la actividad enzimática metabólica debido a la actividad de comportamiento de escape mostrada por los organismos. En contraste el método de persecución incrementó la actividad natatoria lo que condujo a que los organismos incrementaran la demanda energética muscular, lo cual da como resultado un aumento del consumo de oxígeno. Canane como Pargo UNAM pueden ser catalogados como peces semi-sedentarios de acuerdo al criterio de Paschke *et al.* (2017) por sus características de nado mostradas en los experimentos de persecución.

La disminución del campo metabólico a la temperatura de aclimatación de 32 °C en el método TIMR puede deberse a que a esa alta temperatura y estrés del espacio reducido de la cámara que no permitió el nado, pudo haber limitado la capacidad de difusión del oxígeno a través de las branquias, causando un estado de transición al metabolismo anaeróbico mitocondrial aunque la concentración de oxígeno haya sido la adecuada (Sommer *et al.* 1997; Frederich y Pörtner, 2000; Pörtner, 2001; Sokolova y Pörtner, 2002). Un efecto similar fue encontrado por Lee *et al.* (2003) en el campo de actividad metabólico de *Oncorhyncus nerka* y en *Oncorhyncus kitsutch*.

Los resultados de crecimiento de este estudio coinciden con que una temperatura de 29 °C favorece el crecimiento, y una temperatura de 32 °C no aumenta la tasa de crecimiento, sino que el crecimiento fue similar a estas dos temperaturas, pero como se pudo ver en el estudio de campo de actividad metabólica es en 29 °C donde se puede utilizar la energía de forma más eficiente para su desempeño. El cultivar los organismos a una temperatura a 32 °C les daría una menor capacidad para enfrentarse a alguna condición de estrés que pudiera llegar a ocurrir durante el cultivo.

Los organismos que se encuentran bajo condiciones prolongadas de estrés como por ejemplo las temperaturas subóptimas, tienen que invertir mayor energía que la disponible con su metabolismo activo,

por lo que son forzados a la activación de rutas metabólicas anaeróbicas (Priede, 1977). Los lactatos y los aminoácidos son los sustratos preferidos para la glucoogénesis en los peces (Moon y Foster, 1995; Suarez y Mommsen, 1997) y se ha demostrado que la concentración de lactato en la sangre se incrementa después del estrés debido a la glicolisis del músculo (Wood *et al.*, 1985), porque este sustrato puede ser usado para la producción de glucosa o la repleción de glicógeno en el hígado de los peces estresados. La concentración de lactato en la sangre de los juveniles de Pargo UNAM expuestos a TIMR y Persecución fue baja, indicando que utilizaron el metabolismo aeróbico. Los valores encontrados estuvieron en el intervalo de 1.2 a 1.8 lo que puede ser asociado con niveles estables de lactato en sangre, hígado y musculo (Frederich y Pörtner, 2000; Sokolova y Pörtner, 2002) y fueron similares en ambos métodos. En los peces aclimatados a condiciones óptimas, la transición al metabolismo anaerobio no ocurrió tal y como se esperaba. La concentración de lactato sanguíneo de los peces utilizados como controles fue similar a los organismos que se expusieron a TCMIN<sub>110%</sub>, esto debido a que bajo estas condiciones los organismos disminuyen su actividad disminuyendo la cantidad de energía que utilizan al mínimo, por lo que los organismos no producen cantidades significativas de lactato, al igual que los organismos que se encontraban aclimatados a las temperaturas de 20, 23, 26, 29 y 32 °C (controles) los cuales no se encontraban en condiciones de estrés. En 29 °C representa su óptimo fisiológico y los organismos tuvieron más oportunidad de tolerar la TCM<sub>Max90%</sub> debido a que la cantidad de energía potencial es mucho mayor en este punto por lo que su metabolismo fue aeróbico. Existen muy pocos estudios relacionados con el metabolismo del lactato el cual se asocia con el glucógeno resintetizado, en el musculo de la trucha el lactato puede ser utilizado por el hígado, el cual representa del 1 al 10% de la sangre (Milligan y Girard, 1983). Bajo condiciones de estrés como una temperatura de 20 °C estas gastan mayor energía que la disponible para su metabolismo activo, por lo cual se ven forzadas a activar rutas anaeróbicas (Priede, 1977). El el pez tropical *Ocyurus chrysurus* tiene una baja concentración de lactato sanguíneo en el intervalo de 20 a 26 °C, la cual aumenta cuando se exponer a 30 y 32 °C indicando que la temperatura de aclimatación afecta su metabolismo probablemente porque a esas altas temperaturas los peces se encuentran cercanos a su umbral térmico superior (Noyola *et al.*, 2015).

Pargo UNAM tiene un gran potencial en la acuicultura mexicana, en el presente estudio demostró tener un alto grado de euritermicidad y plasticidad térmica, por lo que se puede cultivar exitosamente en ambientes con temperaturas entre 26 y 32 °C, sin embargo los costos de producción serían menores si se mantiene la temperatura a 29 °C debido a que a esta temperatura su campo de actividad metabólico es máximo y por tanto a esta temperatura utilizaría su energía metabólica de forma más eficiente, por lo que se acortaría el tiempo de crecimiento y se reduciría la cantidad de alimento que se necesita para su cultivo, el cual es uno de los mayores costos en la producción. Pargo UNAM puede sobrevivir en condiciones de

invierno en temperaturas de 20 °C por tiempos prolongados, sin embargo a estas temperaturas disminuyen su metabolismo por lo que no se verá reflejado en un lento crecimiento. La termotolerancia de estos organismos es muy amplia de 8 a 42.5 °C sin embargo las temperaturas extremas deben de evitarse o deben ser de muy corta duración para evitar comprometer la integridad de los organismos.



## Capítulo 3. Efecto de la salinidad constante sobre el consumo de oxígeno, excreción de amonio, osmorregulación y crecimiento en juveniles de Pargo UNAM

---

### 3.1 Introduccion

La mayoría de las tilapias tienen una tolerancia limitada a las diferencias de salinidad, sin embargo los niveles de tolerancia pueden variar entre especies, siendo menos tolerantes a las salinidades elevadas ya que inciden en fallas en el intercambio osmótico y causan la muerte (Ross, 2000). De las especies cultivadas de tilapia la que tiene mayor tolerancia a la salinidad es *O. mossambicus* de 36 a 68 g L<sup>-1</sup> (Popper y Lichatowich, 1975); por ejemplo, mientras que la tilapia mosambica y sus híbridos pueden adaptarse a salinidades de 20 g L<sup>-1</sup> (Hwang *et al.*, 1989; Sardella y Brauner, 2008) la tilapia nilótica (*O. niloticus*) es intolerante a medios salinos mayores a 18 g L<sup>-1</sup> independientemente de su etapa de crecimiento (Watanabe *et al.*, 1985). Suresh y Lin (1992) por otra parte, notaron que la tilapia nilótica y la tilapia aurea (*O. aureus*) solo pueden crecer en ambientes de baja salinidad. En las tilapias nilótica y aurea se presenta un incremento en las células del cloro en los filamentos de las branquias al incrementar la salinidad como sucede en teleósteos marinos (Avella *et al.*, 1993). Además, en agua de mar los niveles de prolactina en la pituitaria son menores que en agua dulce, lo que ocurre es que al exponer a peces de agua dulce a medios salinos se desencadena la síntesis de prolactina para prevenir la difusión de Na<sup>+</sup> y disminuir la permeabilidad de la membrana (Avella *et al.*, 1993).

Son varios los factores que afectan la tolerancia a la salinidad en la tilapia, como la historia natural de la especie (Trewavas, 1982), la cepa, el tamaño, edad (Watanabe *et al.*, 1984; Suresh y Lin, 1992; Lemaire *et al.*, 2004; Paz, 2004), la temperatura (Linkonwe *et al.*, 1996) y la genética (Lutz, 2006). La tasa de aclimatación a la salinidad también juega un rol importante para la transferencia de organismos a salinidades mayores, la cual se puede atribuir al incremento en la osmolaridad de la sangre. Wang *et al.* (2001) sugieren que para evitar la mortalidad; el incremento en la sangre de Na<sup>+</sup> y Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPasa debe compensar los intercambios iónicos a altas salinidades.

La salinidad puede tener un efecto sobre la tasa de consumo de oxígeno en los organismos acuáticos. Iwama *et al.* (1997) midieron la tasa de consumo de oxígeno en la tilapia mosambica en agua dulce, agua de mar y agua hipersalina, encontrando que la menor tasa de consumo de oxígeno de esta tilapia fue en agua de mar (78.6 mg O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) en comparación con las otras dos concentraciones. Lo cual lo relacionaron con una respuesta adaptativa, debido a que los organismos de este estudio fueron

capturados en un estuario ubicado al norte de Okinawa donde las variaciones de salinidad y temperatura son de gran magnitud.

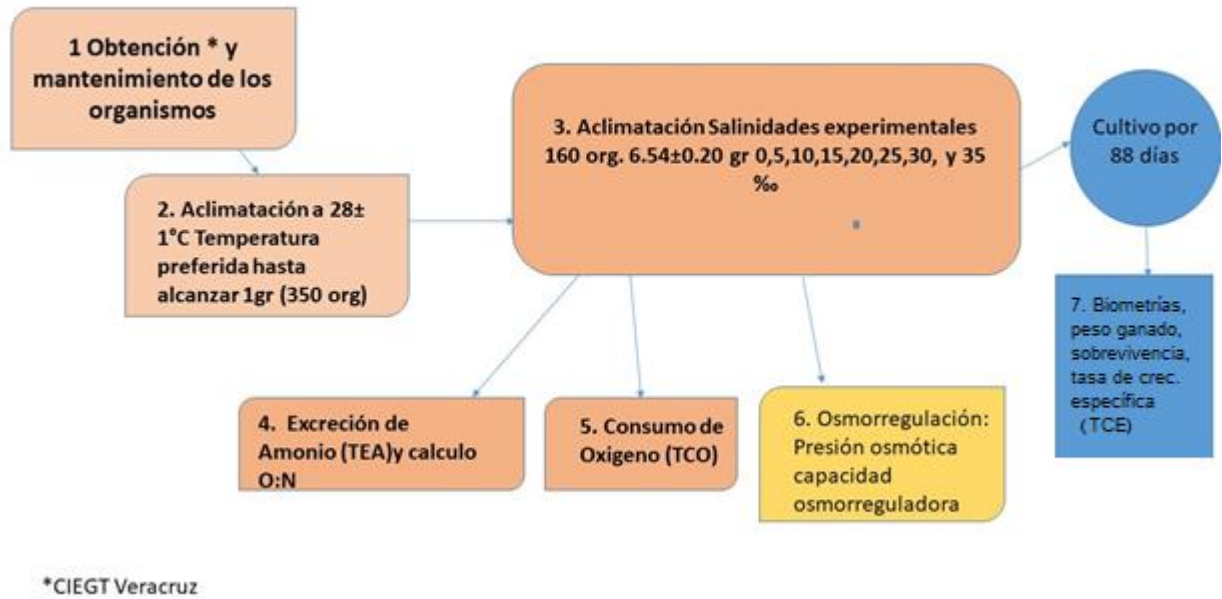
El presente trabajo describe el efecto de diferentes condiciones de salinidad constante en combinación con la temperatura preferida sobre el desempeño de juveniles de Pargo UNAM, tilapia tetrahibrida de origen mexicano con un gran potencial en la acuicultura, con la finalidad de obtener información aplicable al cultivo y posible extensión a otras regiones cercanas a la costa para hacer uso de agua de mar total o parcialmente.

## **3.2 Materiales y Métodos**

### **3.2.1 Obtención y mantenimiento de los organismos**

Un total de 350 alevines de Pargo UNAM fueron obtenidos de la instalación de Acuicultura del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión de Ganadería Tropical (CEIEGT) perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, ubicada en Tlapacoyan, Veracruz y enviados vía aérea hasta la ciudad de Tijuana, Baja California y vía terrestre hasta las instalaciones de acuicultura del departamento de Biotecnología Marina, de la División de Biología Experimental Aplicada perteneciente a CICESE, en Ensenada, B.C. Fueron colocados en dos estanques de 250 de 2000 L con flujo continuo de agua dulce a una temperatura de  $28 \pm 1^\circ\text{C}$  y aireación constante. El peso inicial de los alevines a su llegada fue menor a 1 g, por lo cual los organismos fueron mantenidos bajo estas condiciones y alimentados a saciedad con Nutripec inicial (alimento en polvo) hasta llegar a un peso promedio de un 1 g. Posteriormente se les cambio el alimento a una dieta enriquecida preparada con Nutripec inicial como fuente principal de proteína (Anexo 1) y fueron alimentados a saciedad hasta alcanzar un peso aproximado a 5 g. Los alevines fueron sorteados y llevados al laboratorio húmedo de biotecnología marina y donde fueron colocados en tinas circulares de 250 L para iniciar la aclimatación a las diferentes salinidades.

### 3.2.2 Diseño Experimental



### 3.2.3 Aclimatación a las salinidades experimentales

Se usaron 160 alevines de UNAM, cuyo peso promedio fue de  $6.54 \pm 2.12$  g, y se colocaron en grupos de 20 dentro de estanques ovalados de plástico reforzado de 150 L de capacidad, llenos de agua dulce, aireación constante, a una temperatura de 29 °C regulada con un controlador conectado a un calentador de titanio de 800 watts. Las salinidades experimentales fueron 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35g L<sup>-1</sup>, por lo que se utilizaron 8 estanques (uno por salinidad), se incrementó la salinidad a una razón de 2 g L<sup>-1</sup> (Qiang *et al.*, 2013) hasta llegar a las salinidades deseadas. Una vez alcanzada la salinidad deseada, los organismos fueron aclimatados por una semana previa a los experimentos (Qiang *et al.*, 2013). Durante la aclimatación y durante la medición del crecimiento, la salinidad fue monitoreada diariamente con un refractómetro y conforme fueron creciendo los organismos el volumen de recambio fue incrementándose de 30 a 50%. Las heces fueron removidas diariamente mediante un sifón, así como los restos de alimento.

### 3.2.4 Analisis de las Variables generales

#### 3.2.4.1 Tasa de Consumo de oxígeno de rutina (TCO)

El consumo de oxígeno se midió un sistema respirométrico semi-abierto, similar al descrito por Díaz *et al.* (2007), el cual consistió en 6 cámaras respirométricas de 500 mL de capacidad, dispuestas dentro de un tanque de fibra de vidrio rectangular lleno de un baño de agua a la salinidad experimental y a 29 °C. Cada cámara respirométrica fue provista con un sensor de oxígeno de fibra óptica (precisión  $\pm 0.005\%$  O<sub>2</sub>, límite de detección 0.03% O<sub>2</sub>), el cual fue introducido por la parte superior de la tapa hermética. Los sensores de oxígeno fueron conectados a un oxímetro modelo Oxy-10 mini-amplifier (PreSens GmbH, PreSens®, Alemania) y éste a su vez a una computadora. Las concentraciones de oxígeno en el interior de cada cámara respirométrica fueron registradas mediante un programa de cómputo elaborado por la misma compañía. El sistema respirómetro consta además del tanque rectangular, de un reservorio de agua de 200 L que sirve de compensación y aumenta el volumen en circulación, de donde se bombea agua a una tubería de distribución la cual tiene seis válvulas con las que se regula en flujo de agua que entra al interior de la cámara respirométrica. Se hicieron dos grupos de cinco organismos por salinidad (n=10, Salinidad g L<sup>-1</sup>), los cuales fueron introducidos dentro de las CR individualmente una hora previa antes de la medición. Transcurrido este tiempo, se midió la concentración de oxígeno inicial y se tomó una muestra de agua con una pipeta de cada una de las cámaras para la determinación de la concentración de amonio. Inmediatamente se interrumpió el flujo de agua al interior de la cámara durante 12 min, en los cuales cada 2 min automáticamente se registraron las concentraciones de oxígeno para evitar que bajara a niveles inferiores de 4 mg de O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. A los doce min se tomó una muestra final de agua y se reanudó el flujo de agua. Por cada grupo experimental se utilizó una cámara respirométrica control, a la cual no se le introdujo pez para corregir los resultados con el consumo de oxígeno y amonio producidos por los microorganismos (Díaz *et al.*, 2007). Finalizados los experimentos de respirometría se pesaron los organismos y fueron devueltos a la salinidad correspondiente. Los resultados de consumo de oxígeno fueron dados en mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>p.h. obtenidos al transformar las concentraciones con la ecuación 3 (Página 32).

#### 3.2.4.2 Tasa de Excreción de amonio (TEA)

Para la determinación de la concentración de amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) se tomaron muestras iniciales y finales de 1 ml de agua del interior de las cámaras respirométricas, y se utilizó el método de azul de indofenol (Rodier, 1981) adaptado al uso de microplaca. La técnica consiste en la conversión total del amonio en amoniaco al adicionar fenol y nitroprusiato con un medio alcalino de citrato con hipoclorito de

sodio y se utiliza nitroprusiato de sodio como catalizador. Al reaccionar se obtiene una coloración azul. Las muestras ya tratadas se pusieron una hora en oscuridad y posteriormente y fueron leídas con espectrofotómetro Thermo Scientific™ Multiskan™ GO a 640 nm. Se hizo una curva de calibración para cada salinidad utilizando sal marina para la preparación del agua con la que se diluyó cloruro de amonio a diferentes concentraciones. Para la determinación de la tasa de excreción de amonio se utilizó la fórmula 5 (Página 30). Las unidades de la tasa de excreción de amonio son  $\text{mg NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-1} \text{ p.h.}$ .

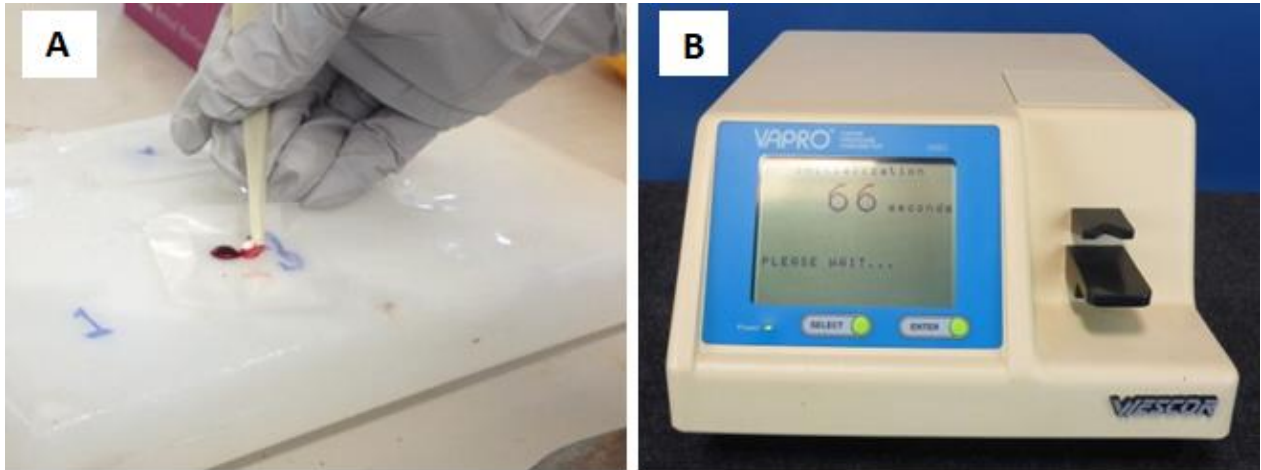
### 3.2.4.3 Razón atómica O:N

Se obtuvo la razón atómica O:N mediante la utilización de los valores de consumo de oxígeno y la excreción de amonio de los organismos expuestos a las diferentes salinidades. Esta relación es un indicador del tipo de sustrato metabólico empleado por los organismos para cubrir con los requerimientos energéticos, además de ser un indicador de estrés. El cálculo se hizo mediante la ecuación 6 (Página 31) descrita por Flores *et al.* (2008). Los datos de O:N a las diferentes temperaturas de aclimatación fueron analizados con el programa SigmaPlot V11, con el cual se realizó una ANOVA de una vía de Kruskal-Wallis para determinar las diferencias entre los valores O:N de las diferentes salinidades experimentales. Los datos fueron graficados en cajas en paralelo con sus intervalos de confianza.

### 3.2.4.4 Osmorregulación

Para la determinación de la presión osmótica de la sangre de los peces de cada salinidad experimental. De cada uno de los peces extraídos de las cámaras respirométricas se tomó una muestra de sangre con una jeringa pediátrica de 3 ml desechable cuya aguja se insertó a la altura de la vena caudal (por debajo de la columna vertebral a la altura del ano), y la muestra se colocó sobre un film sobre una barra de hielo de donde se extrajo con una pipeta de 10  $\mu\text{L}$  y se colocó inmediatamente dentro del osmómetro de vapor Wescor VAPRO (Fig. 23). La osmolaridad del agua también fue medida con el mismo dispositivo. Los datos obtenidos fueron expresados en  $\text{mmol kg}^{-1}$ . Los datos fueron analizados con el programa SigmaPlot V. 11, con el cual se realizó un análisis de varianza de una vía de Kruskal-Wallis para determinar las diferencias entre los valores de la presión osmótica de la sangre a las diferentes salinidades experimentales. Los datos obtenidos fueron graficados en cajas paralelas y se obtuvo el punto isosmótico mediante el método gráfico. Así mismo se calculó la capacidad osmorreguladora (CO) como la diferencia

entre la osmolaridad de la sangre y la del medio interno y estos datos fueron expresados en  $\text{mmol kg}^{-1}$  (Díaz *et al.* 2001).



**Figura 23. Experimentos de osmorregulación en tilapia Pargo UNAM.** A) Toma de muestra de sangre, B) Osmómetro Vapro® Marca Wescor®

### 3.2.4.5 Crecimiento de juveniles de tilapias cultivados a temperatura de 29°C y salinidades constantes de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L<sup>-1</sup>

Se cultivaron 20 alevines de Pargo UNAM por salinidad experimental durante 88 días, del 16 de junio al 12 de agosto de 2016. Durante este tiempo la cantidad de alimento suministrado fue controlado, se utilizó la dieta enriquecida (Anexo I). Las dosis de alimento fueron aumentando con el aumento de peso de los organismos mismos que fueron alimentados tres veces al día. Los juveniles fueron pesados y medidos mensualmente (anchos y largos). Los datos de los pesos fueron tratados con el programa Sigma Plot V.11 para comparar el peso ganado mensualmente a las diferentes salinidades. Se graficaron los pesos húmedos de los organismos y la tasa de crecimiento específico (TCE) calculada con la formula 8 (Pagina 38).



**Figura 24. Mediciones de longitud y peso.** A) la medición de la longitud del pez se hizo de la punta de la boca hasta la punta de la cola, también se midió perpendicularmente para obtener el ancho del organismo en el espacio con mayor amplitud entre el lomo y el vientre. B) los organismos fueron secados con una toalla y colocados directamente en la báscula.

### 3.3 Resultados

#### 3.3.1 Tasa de consumo de oxígeno de rutina (TCO)

Los resultados de la tasa de consumo de oxígeno (TCO) se presentan en la tablas 5 y 6 se presentan los resultados de la ANOVA de una vía aplicada a los mismos. Los datos de consumo de oxígeno pasaron las pruebas de normalidad y de igual varianza, y el resultado de la ANOVA de una vía aplicada demostró que los resultados fueron significativamente diferentes, lo que se puede interpretar como que la salinidad si afectó la tasa de consumo de oxígeno (TCO) de rutina de los juveniles de tilapia. Los valores de TCO fueron altos debido al tamaño de los organismos cuyo peso promedio varió de 13.25 a 19.65 g.

**Tabla 5. Valores de la tasa de consumo de oxígeno de rutina (TCO) de juveniles de Pargo UNAM aclimatados a las salinidades constantes 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L<sup>-1</sup>.**

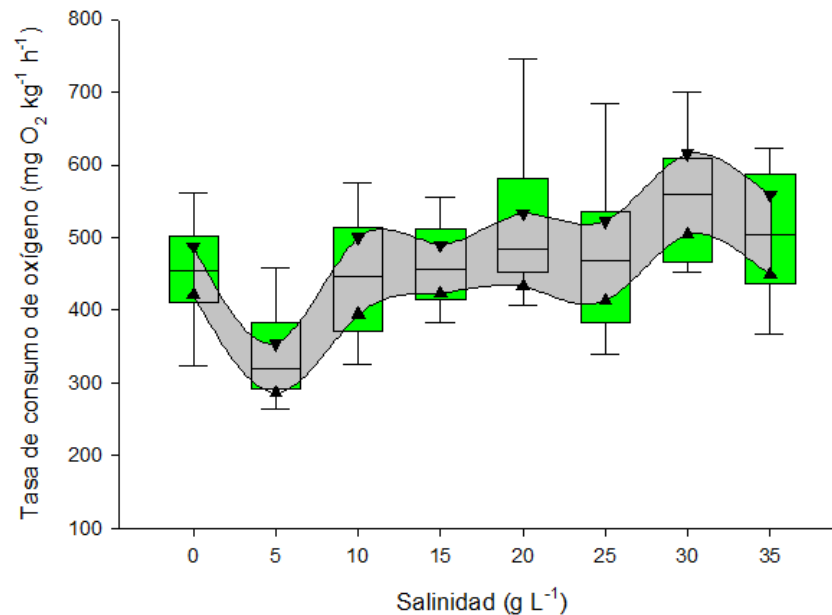
Salinidad g L <sup>-1</sup>	N	TCO	
		(mg O <sub>2</sub> h <sup>-1</sup> kg <sup>-1P.H</sup> )	Mediana
0	16	185.7-595.2	454.1
5	16	252.1-532.4	320.2
10	16	305.6-618.0	447.1
15	16	355.7-567.3	456.3
20	16	372.4-766.9	483.2
25	16	333.9-714.7	467.6
30	16	447.4-739.7	559.9
35	16	315.9-687.4	503.7

**Tabla 6. Resultados de la prueba de análisis de varianza para la tasa de consumo de oxígeno (TCO).** GL; grados de libertad, SC, suma de cuadrados; MC; media de cuadrados, P; probabilidad mínima de rechazo y F; estadístico.

Nivel de variación	GL	SC	MC	F	P
Entre grupos	7	463778.199	66254.028	8.138	<0.001
Residual	120	976965.488	8141.379		
Total	127	1440743.687			

La figura 25 representa los valores de consumo de oxígeno de rutina obtenidos para cada salinidad experimental, y se observa que los valores más bajos se obtuvieron en la salinidad de 5 g L<sup>-1</sup>. Los valores de la mediana de las salinidades de 0, 10, 15, 20 y 25 g L<sup>-1</sup> fueron cercanos entre ellos (454.1, 447.1, 456.3, 483.2 y 467.6 mg O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1P.H</sup> respectivamente), mientras que en las salinidades de 30 y 35 g L<sup>-1</sup> se registraron las tasas de consumo de oxígeno más elevadas (559.9 y 503.7 O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1P.H</sup> respectivamente).





**Figura 25.** Tasa de consumo de oxígeno de rutina de los juveniles de Pargo UNAM expuestos a las salinidades experimentales de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L<sup>-1</sup> y temperatura constante de 29 °C. Las cajas paralelas incluyen el 50% de la distribución de los datos y las colas los cuartiles 25% y 75%, el área sombreada representan los intervalos de confianza al 95%.

### 3.3.2 Tasa de excreción de amonio (TEA)

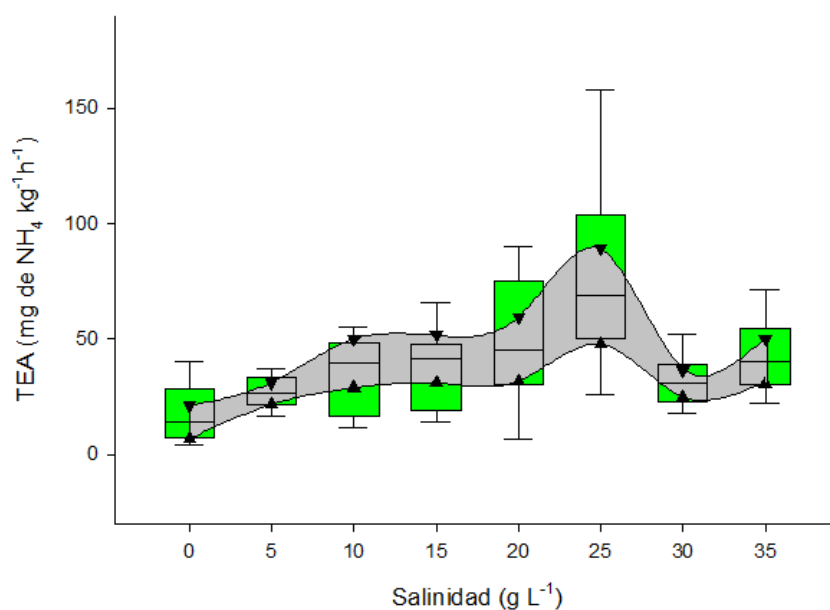
La prueba de normalidad aplicada a los datos de excreción de amonio falló a  $P < 0.05$ , por lo que se aplicó un análisis de varianza de una vía de Kruskal-Wallis, cuyo resultados se presentan en la tabla 7, con el cuál se encontraron diferencias significativas entre la tasa de excreción de amonio de las diferentes salinidades experimentales ( $P < 0.001$ ). La figura 26 representa los datos de excreción de amonio cuyos valores de la mediana aumentan significativamente con el aumento de la salinidad hasta la salinidad de 25 g L<sup>-1</sup> cuya mediana fue la mayor (68.59 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1P.H.</sup>). La menor tasa de excreción de amonio fue en la salinidad de 0 g L<sup>-1</sup> seguida de la salinidad 5 g L<sup>-1</sup> (13.98 y 26.41 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1P.H.</sup>). Se hizo una prueba de comparación entre las medianas con lo cual se obtuvieron las diferencias entre salinidades. La tasa de excreción de amonio de la salinidad de 0 g L<sup>-1</sup> no fue significativamente diferente ( $P < 0.05$ ) a las obtenidas en las salinidades de 5, 10 y 30 g L<sup>-1</sup>, mientras que la tasa de excreción de amonio de la salinidad de 25 g L<sup>-1</sup> tampoco fue significativamente diferente ( $P < 0.05$ ) a las obtenidas para las salinidades de 15, 20 y 35 g L<sup>-1</sup>. Los valores obtenidos de excreción de amonio fueron muy altos al igual que el consumo de

oxígeno debido al peso de los organismos muestreados, los cuales estuvieron dentro del intervalo de 13.25 a 19.65 g.

**Tabla 7.** Valores de la tasa de excreción de amonio (TEA) de juveniles de Pargo UNAM aclimatados a las salinidades constantes 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L<sup>-1</sup>. N; número de datos.

Salinidad g L <sup>-1</sup>	N	TEA (mg NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> h <sup>-1</sup> kg <sup>-1PH</sup> )	Mediana
0	16	2.74 - 43.13	13.98
5	16	11.84 - 37.34	26.41
10	16	11.15 - 61.84	39.48
15	16	13.73 - 75.52	41.47
20	16	5.76 - 94.61	45.55
25	16	6.54 - 194.52	68.59
30	16	10.85 - 66.77	30.71
35	16	15.38 - 72.92	40.47

H = 43.997 con 7 grados de libertad. (P = <0.001)



**Figura 26.** Tasa de excreción de amonio de los juveniles de Pargo UNAM aclimatados a las salinidades experimentales de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L<sup>-1</sup> y temperatura constante de 29 °C. Las cajas paralelas incluyen el 50% de la distribución de los datos de amonio y las colas los cuartiles 25% y 75%, el área sombreada representan los intervalos de confianza al 95%.

### 3.3.3 Razón atómica O:N

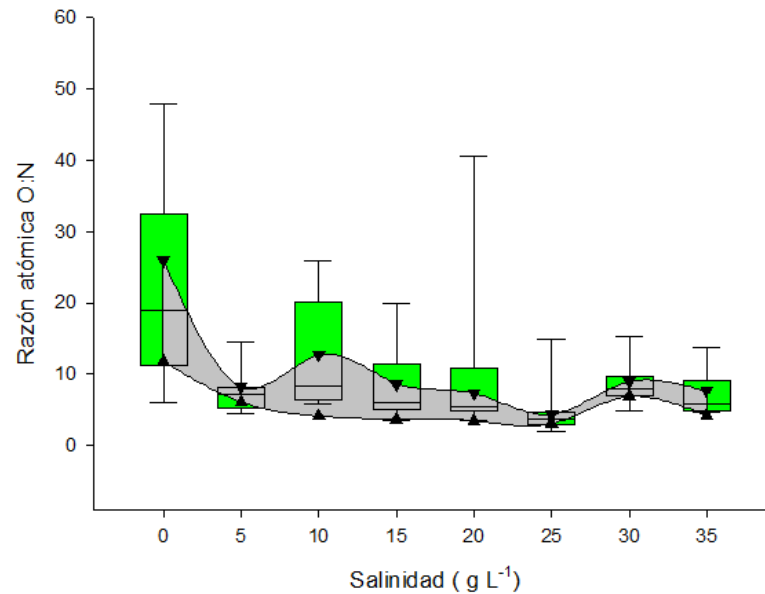
La prueba de normalidad de varianza aplicada a los datos calculados de O:N falló ( $P < 0.05$ ) por lo cual se utilizó estadística no paramétrica. Los resultados de la ANOVA de una vía de Kruskal-Wallis se presentan en la tabla 8, con la cual se encontraron diferencias significativas entre los valores de O:N de las distintas salinidades experimentales ( $P < 0.001$ ). Fue necesario determinar las diferencias entre las medianas de O:N de las distintas salinidades experimentales mediante una prueba de Tukey, con lo que se obtuvo que la razón O:N de los organismos aclimatados a  $0 \text{ g L}^{-1}$  no fue significativamente diferente ( $P < 0.05$ ) a la de aquellos aclimatados a las salinidades de 5, 10 y  $30 \text{ g L}^{-1}$  y significativamente diferente y mayor que en las salinidades restantes, el valor de O:N de los organismos aclimatados a la salinidad de  $10 \text{ g L}^{-1}$  fue similar a los valores de O:N del resto de las salinidades ya que no fue significativamente diferente, mientras que los valores de O:N de aquellos aclimatados a  $25 \text{ g L}^{-1}$  fueron significativamente diferentes a los aclimatados a 5, 10 y  $30 \text{ g L}^{-1}$ .

**Tabla 8. Resultados obtenidos de la relación atómica oxígeno:nitrógeno (O:N) de juveniles de Pargo UNAM aclimatados a las salinidades constantes 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y  $35 \text{ g L}^{-1}$ . N; número de datos.**

Salinidad $\text{g L}^{-1}$	N	O:N	Mediana
0	16	3.49 – 51.252	18.87
5	16	4.33 – 25.33	7.13
10	16	5.42 – 27.89	8.43
15	16	3.49 – 23.29	6.12
20	16	2.89 – 53.01	5.44
25	16	2.07 – 31.96	3.71
30	16	4.09 – 23.60	7.96
35	16	4.36 – 19.53	5.93

H = 42.005 con 7 grados de libertad. ( $P = < 0.001$ )

La figura 27 representa los resultados de la razón atómica O:N, los cuales en la salinidad de  $0 \text{ g L}^{-1}$  fueron superiores al resto de los obtenidos para las salinidades experimentales. La mayor razón atómica O:N se presentó en los peces en agua dulce (O:N 18.87), mientras que la menor se presentó en los peces aclimatados a  $25 \text{ g L}^{-1}$ . Al aumentar salinidad a partir de  $15 \text{ g L}^{-1}$  la razón O:N no fue afectada por la misma manteniéndose en valores bajos correspondientes al catabolismo de proteínas.



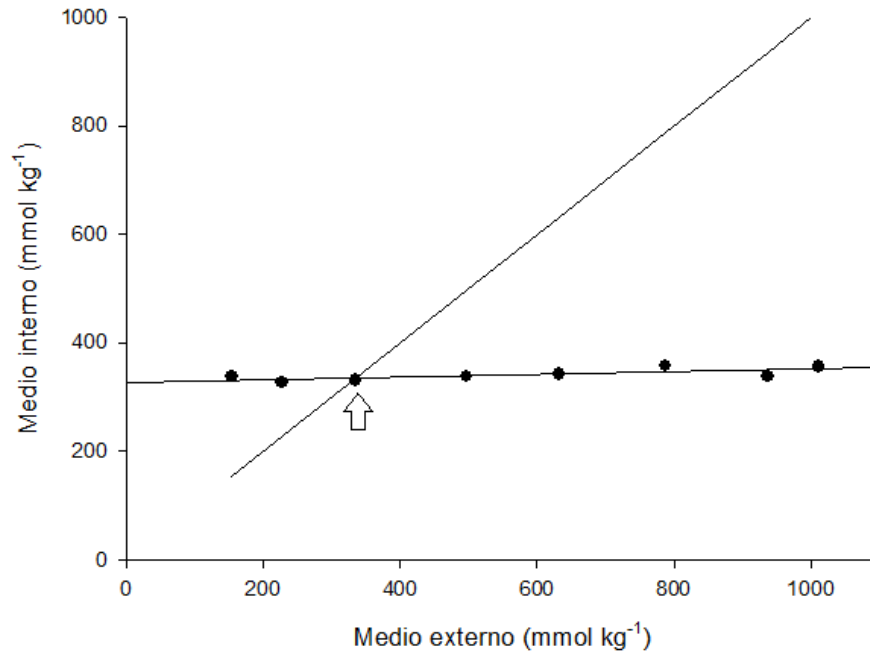
**Figura 27.** Razón atómica O:N de los juveniles de Pargo UNAM acclimatados a salinidades distintas (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L<sup>-1</sup>) y temperatura constante de 29 °C. Las cajas paralelas incluyen el 50% de la distribución de los datos de O:N y las colas los cuartiles 25% y 75%, el área sombreada representan los intervalos de confianza de la mediana.

### 3.3.4 Osmorregulación

La figura 28 muestra la relación lineal entre la osmolaridad del medio externo y la del medio interno. Mediante un análisis de regresión lineal se obtuvo la siguiente ecuación:

$$MI = 315.85 + (0.0396 \times ME), r^2 = 0.8$$

Donde MI es la osmolaridad del medio interno de los juveniles de tilapia Pargo UNAM y ME es la osmolaridad del agua o medio externo. La pendiente fue de 0.0396 lo que indica que estos peces son fuertes osmorreguladores, ya que mantienen la concentración de su medio interno dentro de un estrecho rango aun con el aumento de la salinidad del medio externo dentro del rango de 0 a 35 g L<sup>-1</sup>.



**Figura 28. Relación entre la osmolaridad promedio del medio interno (concentración en sangre) y la osmolaridad del medio externo en juveniles de tilapia Pargo UNAM aclimatados a las salinidades de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L<sup>-1</sup> y a una temperatura de 29°C. El punto isomótico se señala con una flecha en 335 mmol kg<sup>-1</sup> (11.73 g L<sup>-1</sup>). La línea de 45° representa la isosmolaridad.**

Los datos de salinidad del medio interno fallaron en la prueba estadística de normalidad ( $P < 0.05$ ). El resultado de la ANOVA de una vía de Kruskal-Wallis se presenta en la tabla 9, donde se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre la la osmolaridad del medio interno de los organismos aclimatados a las distintas salinidades experimentales ( $H = 27.129$  con 7 grados de libertad,  $P \leq 0.001$ ). El análisis por el método de Dunn para comparar todos los pares de las mediana demostró las diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre la osmolaridad interna de los peces aclimatados a 25 g L<sup>-1</sup> con respecto a aquellos aclimatados a 0, 5 y 10 g L<sup>-1</sup>, de igual forma la concentración interna de aquellos aclimatados a 35 g L<sup>-1</sup> fue significativamente diferente a la de los aclimatados a 0 y 5 g L<sup>-1</sup>.

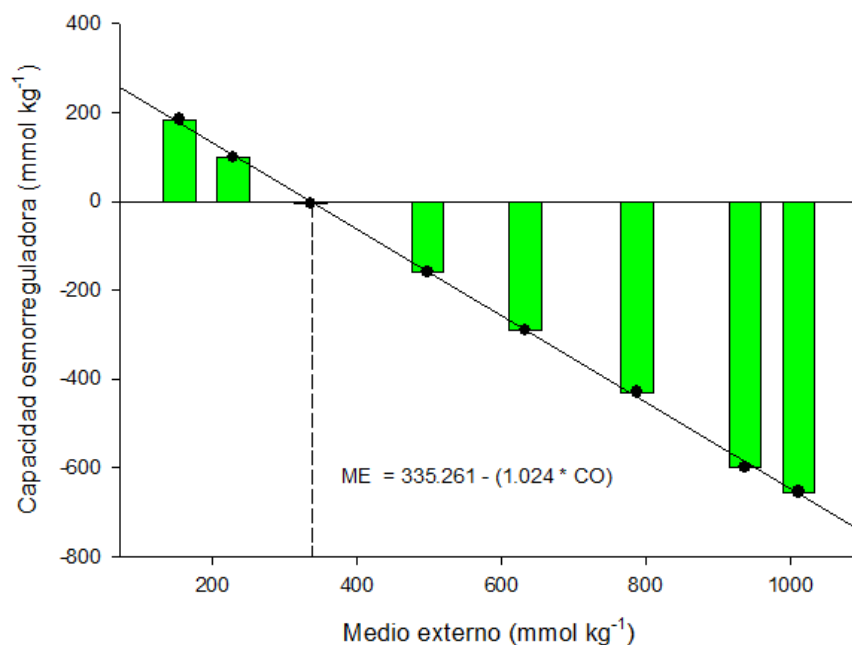
La capacidad osmorreguladora se representa en la figura 29 donde se observa que los juveniles de Pargo UNAM tuvieron un patrón de regulación hiperosmótico en osmolaridades menores de 335 equivalente, es decir en 0 y 5 g L<sup>-1</sup> ligeramente hiperosmótico en la salinidad de 10 g L<sup>-1</sup> e hiposmótico en las salinidades experimentales de 15, 20, 25, 30 y 35 °C. También es esta misma grafica se puede

observar el punto isosmótico obtenido mediante una regresión lineal con los valores de capacidad osmorreguladora y osmolaridad de medio externo que fue de 335.26 ( $11.73 \text{ g L}^{-1}$ ).

**Tabla 9. Osmolaridad de la sangre de juveniles de Pargo UNAM aclimatados a las salinidades constantes 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35  $\text{g L}^{-1}$ . N; número de datos.**

Salinidad $\text{g L}^{-1}$	N	Osmolaridad ( $\text{mmol kg}^{-1}$ )	Mediana
0	8	319-439	324
5	7	311-354	322
10	8	316-353	327
15	8	326-365	335
20	8	329-353	343
25	8	341-383	358
30	8	306-360	341
35	8	337-369	358.5

H = 27.129 con 7 grados de libertad. (P = <0.001)



**Figura 29. Capacidad osmorreguladora de los juveniles de tilapia Pargo UNAM aclimatados a 0,5,10,15,20,25,30 y 35  $\text{g L}^{-1}$ . Los puntos que se unen con la línea recta representan la capacidad osmorreguladora y donde la línea punteada intersecta al eje x representa el punto isosmótico.**

### 3.3.5 Crecimiento de juveniles de Pargo-UNAM cultivadas a 29 ° C y siete salinidades constantes

Se tomó el peso como principal indicador de crecimiento. Los pesos iniciales de los organismos que fueron aclimatados a las distintas temperaturas se encuentran en la tabla 10, los cuales pasaron el análisis de normalidad de varianza a  $P=0.094$  y fallaron la prueba de normalidad a  $P<0.05$ . Solo fueron significativamente diferentes ( $P<0.05$ ) los pesos de los organismos dispuestos a la salinidad de  $30 \text{ g L}^{-1}$  de los distribuidos para aclimatar a  $15$  y  $35 \text{ g L}^{-1}$ . Los pesos iniciales variaron de  $1.0$  hasta  $14.0 \text{ g}$  y los valores de la mediana fueron entre  $5$  a  $8 \text{ g}$ .

**Tabla 10. Peso húmedo inicial de los juveniles de Pargo UNAM que fueron aclimatados a las salinidades constantes 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y  $35 \text{ g L}^{-1}$ . N; número de datos.**

Salinidad $\text{g L}^{-1}$	N	Peso inicial	
		g	Mediana
0	20	5.0-9.0	6.5
5	20	2.0-9.0	6.5
10	20	3.0-12.0	6.0
15	20	5.0-12.0	7.0
20	20	1.0-10.0	5.0
25	20	1.0-13.0	6.0
30	20	3.0-9.0	5.0
35	20	4.0-14.0	8.0

$H = 24.464$  con 7 grados de libertad. ( $P = <0.001$ )

Los resultados de las biometrías durante el tiempo de cultivo se muestran en la figura 30, el experimento tuvo que detenerse a los 80 días debido a una falla en la aireación, por lo tanto solo se consideraron las biometrías 1 a la 4. En la figura se observa que los organismos cultivados en  $30$  y  $25 \text{ g L}^{-1}$ , fueron los que presentaron los menores pesos, la mayor diferencia se observó a partir de la biometría del día 47 a la realizada el día 45. Las diferencias entre las medianas de los pesos fueron mayores en el día 75, donde los organismos cultivados a  $20 \text{ g L}^{-1}$  mostraron tener un mayor peso aparente, pero cabe mencionar que estos tuvieron una sobrevivencia final del 80%, por lo que los organismos sobrevivientes fueron los más fuertes. En las tablas 12 y 13 se muestran los resultados obtenidos de la ANOVA realizada a los pesos húmedos finales, los cuales pasaron la prueba de normalidad ( $P=0.781$ ) y la prueba de igual varianza ( $P=0.059$ ), y se encontraron diferencias significativas. Sin embargo, la comparación de por pares realizada por el método de Student-Newman-Keuls, solo el peso final de los organismos cultivados a  $30 \text{ g}$

L<sup>-1</sup> fue significativamente diferente a 20 g L<sup>-1</sup>, y todas las demás comparaciones no lo fueron (P<0.05). Por lo cual se podría decir que la salinidad en este tiempo de cultivo no tuvo un efecto significativo sobre el peso.

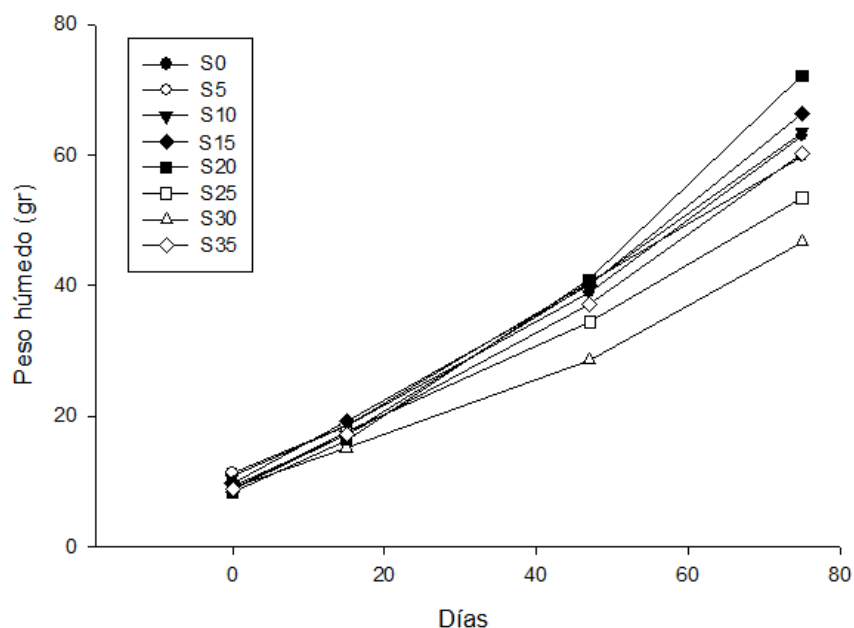


Figura 30. Resultados de las biometrías realizadas a los juveniles de tilapia Pargo UNAM cultivadas en las salinidades 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L<sup>-1</sup>. Los símbolos representan los valores promedio del peso húmedo a las salinidades distintas.

Tabla 11. Peso húmedo final de los juveniles de Pargo UNAM que fueron cultivados a las salinidades constantes 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L<sup>-1</sup>. N; número de datos, DE; Desviación estándar, EEM; error estándar de la media.

Salinidad g L <sup>-1</sup>	N	Peso final			
		g	Media	DE	EEM
0	17	33.0-94.0	62.882	17.302	4.196
5	20	14.0-89.0	59.850	20.265	4.531
10	18	25.0-89.0	63.444	17.688	4.169
15	19	30.0-125.0	66.389	23.565	5.554
20	16	26.0-113.0	72.125	26.588	6.647
25	14	15.0-92.0	53.357	23.938	6.398
30	18	23.0-72.0	46.632	12.361	2.836
35	12	29.0-92.0	60.167	19.683	5.682



En la tabla 13 se muestran las ganancias en peso por salinidad de las cuales sobresale la obtenida de los organismos cultivados a 20 g L<sup>-1</sup> (64.55 g), seguida por la ganancia de los organismos cultivados en 15 g L<sup>-1</sup> (58.84 g), la menor ganancia de peso se muestra en los organismos cultivados a 30 g L<sup>-1</sup> (41.53 g), sin embargo las desviaciones estándar fueron muy amplias en los pesos finales, por lo cual se traslapan, y las diferencias no fueron significativamente diferentes con excepción de aquellos organismos cultivados a 30 g L<sup>-1</sup>.

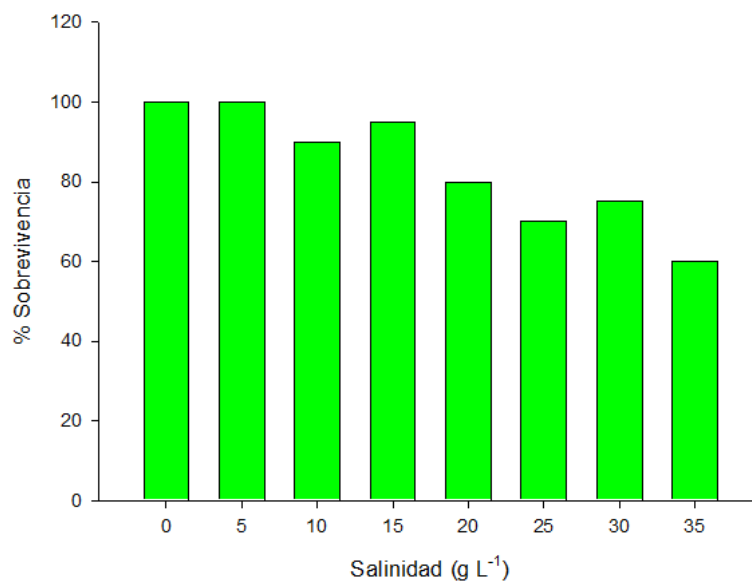
**Tabla 12. Resultados de la prueba de análisis de varianza para el peso húmedo final de los juveniles de tilapia Pargo UNAM cultivados a diferentes salinidades experimentales durante 75 días.** GL; grados de libertad, SC, suma de cuadrados; MC; media de cuadrados, P; probabilidad mínima de rechazo y F; estadístico.

Nivel de variación	GL	SC	MC	F	P
Entre grupos	7	7417.224	1059.603	2.547	0.017
Residual	126	52416.089	416.001		
Total	133	59833.313			

**Tabla 13. Valor promedio inicial y final del peso húmedo (g) ± Desviación estándar (DE), y ganancia de peso de los organismos cultivados a diferentes salinidades.**

Salinidad g L <sup>-1</sup>	Peso Inicial (g)	DE (g)	Peso final (g)	DE (g)	Ganancia (g)
0	6.700 <sup>ab</sup>	1.218	62.882 <sup>ab</sup>	17.302	56.182
5	6.300 <sup>ab</sup>	1.780	59.850 <sup>ab</sup>	20.265	53.550
10	6.250 <sup>ab</sup>	1.832	63.444 <sup>ab</sup>	17.688	57.194
15	7.550 <sup>b</sup>	2.114	66.389 <sup>ab</sup>	23.565	58.839
20	5.579 <sup>ab</sup>	2.714	72.125 <sup>b</sup>	26.588	66.546
25	6.750 <sup>ab</sup>	3.338	53.357 <sup>ab</sup>	23.938	46.607
30	5.100 <sup>a</sup>	1.294	46.632 <sup>a</sup>	12.361	41.532
35	8.100 <sup>b</sup>	2.673	60.167 <sup>ab</sup>	19.683	52.067

En la figura 31 se muestra la sobrevivencia de los juveniles de Pargo UNAM a las distintas salinidades de cultivo, de las cuales la sobrevivencia del 100% de los organismos se registró en las salinidades de 0 y 5 g L<sup>-1</sup>, mientras que en la salinidad de 15 g L<sup>-1</sup> fue del 95%, en la salinidad de 10 g L<sup>-1</sup> la fue del 90%, en 20 g L<sup>-1</sup> la sobrevivencia disminuyó a 80 %, de los cultivados a 25 g L<sup>-1</sup> sobrevivieron el 70% y la menor sobrevivencia se registró en los organismos de 35 g L<sup>-1</sup> con una sobrevivencia del 60%. Los organismos cultivados en las salinidades de 30 y 35 g L<sup>-1</sup> presentaron síntomas de enfermedad con escoriaciones cutáneas, heridas y coloración rojiza a partir de la última fase del experimento como se puede observar en la figura 34.

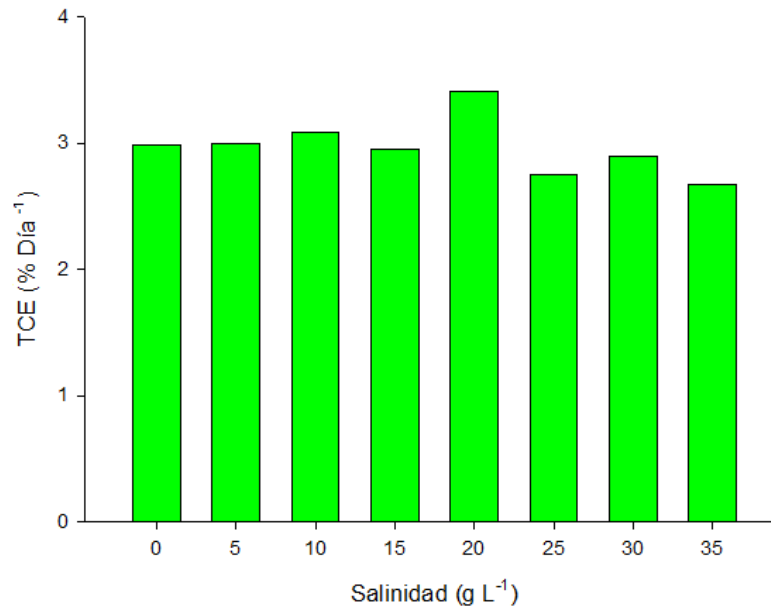


**Figura 31.** Porcentaje de sobrevivencia de los juveniles de Pargo UNAM cultivados por 77 días a las salinidades 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L<sup>-1</sup>.



**Figura 32.** Daño en piel en peces cultivados a 30 y 35 g L<sup>-1</sup>. Los peces presentaron escoriaciones en cola y aletas así como enrojecimiento en la piel y branquias.

En la figura 33 representa la tasa de crecimiento específica (TCE) la cual presenta un valor máximo en la salinidad de 20 g L<sup>-1</sup> (3.41 % Día<sup>-1</sup>), mientras que el valor mínimo se presentó en los organismos que fueron cultivados en la salinidad de 35 g L<sup>-1</sup> (2.67 % Día<sup>-1</sup>). Mientras que en el resto de las salinidades fueron similares con un intervalo de 2.76 a 2.98 % Día<sup>-1</sup>.



**Figura 33.** Tasa de crecimiento absoluta calculada a partir de los pesos inicial y final de los juveniles de tilapia Pargo UNAM cultivadas en las salinidades 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L<sup>-1</sup> y la temperatura constante de 29 °C.

### 3.4 Discusión

Pargo UNAM demostró en el presente estudio tener tolerancia a la salinidad y la habilidad para poder vivir en agua de mar como se ha demostrado en otras especies de tilapias (Lemarié *et al.*, 2004). Esta habilidad depende de la especie, el peso, el método de transferencia, las técnicas de alimentación previas a la aclimatación, el estado fisiológico del pez y de manera general de los factores ambientales (Chervinski, 1982; Watanabe *et al.*, 1988; Suresh y Lin, 1992). La tasa que se empleó en el presente estudio de salinidad demostró ser adecuada, pues un incremento de 2 g L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> hasta llegar a la salinidad experimental dio el tiempo suficiente para la adaptación a la nueva condición experimental. Lemarié *et al.* (2004), realizaron un estudio en el cual incrementaron las salinidades a distintas razones (2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14 g L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>), contabilizaron la mortalidad en tilapias *O. niloticus* y *Sarotherodon melanotheron*, y definieron que una tasa máxima de 8 g L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> permite la capacidad total del pez a adaptarse al incremento de la salinidad.

Kinne (1967) describió cuatro tipos de respuesta metabólica en organismos acuáticos cuando estos han sido aclimatados a una nueva salinidad: (1) La tasa de consumo de oxígeno (TCO) no es influenciada por los cambios de salinidad; (2) TCO se incrementa en salinidades reducidas y disminuye en salinidades altas; (3) TCO se incrementa tanto en bajas como en altas salinidades; y (4) TCO disminuye tanto en bajas como en altas salinidad. De acuerdo a esta clasificación la tilapia Pargo UNAM mostró la respuesta tipo 1, ya que el consumo de oxígeno no se modificó de forma significativa en los organismos aclimatados a 29 °C con los cambios de salinidad, con una ligera diferencia en la salinidad de 5 g L<sup>-1</sup>, donde hubo diferencia en el valor de la mediana pero los datos estuvieron dentro de los intervalos mostrados en las otras salinidades experimentales. Si bien la salinidad en el intervalo de 0 a 35 L<sup>-1</sup> no tuvo un efecto significativo sobre el consumo de oxígeno, se ha demostrado que en el híbrido de tilapia mosámbica "California" (*O. mossambicus* x *O. urolepis hornorum*) la tasa de consumo de oxígeno disminuye con la salinidad en un 40.5% cuando se transfieren de 35 g L<sup>-1</sup> a 95 g L<sup>-1</sup> por 2 semanas a pesar del incremento de la actividad de la enzima Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ATPasa (Sardella *et al.*, 2004). También se ha reportado en *O. mossambicus* el consumo de oxígeno de rutina en agua dulce es significativamente mayor que en agua de mar (Sparks *et al.*, 2003) e igualmente en *Cyprinodon variegatus* y *Chanos chanos* los cuales reducen su tasa metabólica de rutina en ambientes hipersalinos (Swanson, 1998 y Haney y Nordlie, 1997). Existen diferencias entre la tendencia en el consumo de oxígeno con las especies de tilapias reportadas. Job (1969) en su trabajo con salinidades 0, 50 y 100% de agua de mar y temperaturas de 15 a 40 °C con *O. mossambicus* encontró que en todas las temperaturas el consumo de oxígeno de las tilapias expuestas a la salinidad correspondiente a su punto isosmótico (12.5 g L<sup>-1</sup>) fue mayor, argumentando que bajo estas condiciones los peces se vuelven más activos o tienen un mejor desempeño, es decir que favorece al campo metabólico de actividad (Fry, 1947), ya que se reduce la carga osmótica y el costo de osmorregulación. Mientras que Lotan (1966), Farmer y Beamish (1969) y Jurrs *et al.* (1984) coinciden en sus trabajos con *O. aureus*, *O. niloticus* y *O. mossambicus* en que los menores consumos se presentan en el punto isosmótico.

Ha sido sugerido por algunos autores que cuando los peces osmorregulan requieren una proporción alta de energía metabólica, que puede ser de 20 a mayor del 50% del total de energía gastada (Boef y Payan, 2001). En el caso de la tilapia Pargo UNAM dentro del rango de salinidad en combinación a una temperatura similar a la preferida (29 °C) el gasto energético empleado para la osmorregulación no fue significativamente diferente. La respuesta metabólica a los cambios de salinidad mostrada por la tilapia Pargo UNAM es característica de especies eurihalinas las cuales habitan ambientes con salinidades variables, como *Cyprinodon variegatus* (Haney y Nordlie, 1987), *Chanos chanos* (Swanson, 1998) y *Spheroides annulatus* (Perez-Robles, 2010).

El valor de la pendiente de la relación entre la concentración osmótica del medio y de la sangre de los juveniles de tilapia Pargo UNAM fue de solo  $0.036 \text{ g L}^{-1}$  lo cual nos indica que es un fuerte osmorregulador. Pues una pendiente=0 indica osmorregulación y una pendiente = 1 sería característico de un osmoconformador (Re *et al.*, 2004). De acuerdo a Fiess *et al.*, (2007) este aumento corresponde a que a que los osmolitos en el plasma se incrementan con el aumento de la salinidad. La tilapia Pargo UNAM demostró sus estrategias de osmorregulación hiper-osmorregulando en salinidades menores a su punto isosmótico y hipo-osmorregulando en salinidades mayores al mismo. Esta estrategia de ajuste fisiológico también se ha observado en *O. mossambicus* (Fiess *et al.*, 2007).

Las células del cloro del epitelio branquial son el mayor sitio para la osmorregulación en peces tanto para la toma de sales en agua dulce y la excreción de sales en agua salada (Foskett y Scheffey 1982; Uchida *et al.*, 2000). De acuerdo a McCormick (1990) la disminución de la osmolaridad de la sangre en la adaptación al agua de mar se debe a la acción de la enzima  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  ATPasa, mientras que en agua dulce la aceptación de iones está relacionada con el cortisol (McCormick, 2001). Durante la aclimatación al agua de mar se suprime la secreción de prolactina para facilitar la excreción de sales (Ayson *et al.*, 1993). En tilapia mosámbica se ha demostrado que los niveles de glucosa en plasma se incrementan con el aumento de la salinidad, y una alta correlación entre la glucosa en plasma y la osmolaridad. El rol de la glucosa como osmolito en este caso puede reflejar una respuesta al estrés y/o el incremento de una demanda energética que incluye el mantenimiento del equilibrio hidro-mineral en ambientes de altas salinidades (Fiess *et al.*, 2007).

El punto isosmótico de encontró en  $335.3 \text{ mmol L}^{-1}$  lo equivalente a  $11.73 \text{ g L}^{-1}$ , el cual fue similar a los reportados por Farmer y Beamish (1969) en *O. niloticus* ( $11.6 \text{ g L}^{-1}$ ), Job (1969) en *O. mossambicus* ( $12.5 \text{ g L}^{-1}$ ) y Watanabe *et al.* (1997) en la tilapia roja de Florida ( $12 \text{ g L}^{-1}$ ). Los puntos isosmóticos de los organismos marinos pueden ser superiores, Pérez-Robles (2010) reportó en el botete *S. annulatus* un punto isosmótico de  $356 \text{ mmol L}^{-1}$  el cual es un pez marino que es un fuerte osmorregulador que durante su ciclo de vida se enfrenta a fluctuaciones de salinidad, ya que los adultos migran a sistemas lagunares estuarinos para desovar, y los juveniles viven en estas áreas para alimentarse hasta que crecen y migran a zonas costeras (Duncan *et al.*, 2003). Se ha demostrado que el punto isosmótico puede variar con la temperatura (Imsland *et al.*, 2003; Sardella *et al.* 2008) y la temperatura puede alterar los efectos de la salinidad sobre el crecimiento y las respuestas fisiológicas (Qiang *et al.*, 2013). Por ejemplo, Handeland *et al.* (2000) transfirieron juveniles de salmón del Atlántico *Salmo salar* de agua dulce a agua de mar a un intervalo de temperaturas y notaron un mayor incremento de niveles de cloro en el plasma y un incremento gradual de la actividad de la enzima  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPasa a temperaturas altas ( $18.9 \text{ }^\circ\text{C}$ ) cuando se

compararon con las temperaturas bajas (4.6 a 9.1 °C). En el caso de la tilapia Pargo UNAM un estudio de osmorregulación con una temperatura de 26 °C (Anexo II, fig. 34) en el cual se observó que dentro del mismo intervalo de aclimatación a la temperatura el punto isosmótico fue 11.5 g L<sup>-1</sup> similar al encontrado a 29 °C (9.6 g L<sup>-1</sup>). Sin embargo, la salinidad tiene un mayor efecto en la osmolaridad del medio interno que la temperatura. ya que al mantener la temperatura constante a 29 °C y la salinidad en el intervalo de 0 a 35 g L<sup>-1</sup> la osmolaridad varió de 324 a 358.5 mmol L<sup>-1</sup>.

La tilapia Pargo UNAM fue capaz de mantener su homeostasis, lo cual puede deberse a que los iones se transfieren activamente al agua debido al incremento de actividad de la enzima Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPasa (Uchida *et al.*, 1997; Qiang *et al.*, 2003).

La salinidad influyó significativamente sobre la tasa de excreción de amonio, los resultados de esta respuesta fisiológica fueron menores en las salinidades de 0 a 15 g L<sup>-1</sup> con un incremento significativo en 20 y 25 g L<sup>-1</sup> y una disminución en las salinidades altas de 30 y 35 g L<sup>-1</sup>. Estos resultados contrastaron con lo reportado en otros peces eurihalinos como *Spheroides annulatus* cuya tasa de excreción de amonio no se vio afectado por la salinidad (Pérez-Robles, 2010) y *Centropomus undecimalis* (García-López *et al.*, 2006) los cuales aumentan la excreción de amonio al exponerse en medios diluidos (0, 12 y 25 g L<sup>-1</sup>), estas dos especies eurihalinas son predominantemente marinas.

Pargo UNAM es un híbrido que desciende entre otras especies de *Oreochromis mossambicus* que se cree es altamente tolerante a aguas salinas (Suresh y Kwei Lin, 1992). La tilapia roja de Florida ha demostrado que puede ser cultivada en agua de mar y por lo tanto su maricultura puede ser llevada a cabo como lo han demostrado pruebas de laboratorio y de campo (Watanabe, 1988). Romana-Eguia y Eguia (1998) demostraron que cinco cepas de tilapia roja asiáticas tuvieron un mejor crecimiento en agua salobre que en agua dulce y marina. En estudios de laboratorio con la tilapia roja de Florida el mayor crecimiento bajo el régimen de agua de mar se atribuyó a que bajo estas condiciones aumentan el consumo de alimento y disminuyen la tasa de conversión del alimento conforme la salinidad aumenta (Watanabe *et al.*, 1988), lo cual no pudo ser observado en la tilapia ya que la dosis de alimento fue la misma para todas las salinidades experimentales, y el alimento pudo ser un factor limitante.

Qiang *et al.* (2013) notaron un decremento en la TCE a las salinidades mayores de 8 g L<sup>-1</sup> en tilapia híbrida GIFT, que asociaron con el incremento del costo energético de la osmorregulación. En peces, la osmorregulación requiere de una alta proporción del presupuesto energético, en el intervalo de 20 a 50% de la energía total gastada (Boeuf y Payan, 2001), de este modo se reduce la energía disponible para el

crecimiento. Este fenómeno se ha observado en otras especies como en el besugo, *Crysophrys major* (Woo y Kelly, 1995), pargo australiano *Pargus auratus* (Fielder *et al.*, 2005), y el salmón del Atlántico *Salmo salar* (Handeland *et al.*, 1998). En tilapia Pargo UNAM se muestra que la TCE se mantiene 2.9 a 3.4 % por día entre las salinidades de 0 a 20 g L<sup>-1</sup> mientras que en las salinidades mayores la TCE disminuye encontrándose menor crecimiento en los organismos aclimatados a 35 g L<sup>-1</sup>. Esto podría interpretarse en que a salinidades mayores a 20 g L<sup>-1</sup> el costo energético para la osmorregulación es significativamente mayor como ocurre en las especies antes mencionadas y diferente a la tilapia mosámbica la cual ha demostrado tener un mayor crecimiento en agua de mar que en agua dulce (Job, 1969). La TCE y la eficiencia alimenticia (FE) de la tilapia híbrida GIFT en el estudio realizado por Qiang *et al.*, también fue diferente en las mismas salinidades pero a diferentes temperaturas. A una temperatura de 27.5 °C, TCE y FE fueron 2.01-2.38 %d<sup>-1</sup> y 0.78-0.86 respectivamente, mientras que a la temperatura de 18 °C estas fueron de 0.59 %día<sup>-1</sup> y 0.34 respectivamente. Como observamos en el capítulo anterior la temperatura por si misma tiene un efecto la TCE, lo que explica que valor de TCE de los juveniles de Pargo UNAM cultivadas a 26 °C (Anexo II, fig. 39) en el mismo intervalo de salinidades difieren de las cultivadas a 29 °C. Incluso en salinidades de 30 y 35 los valores de TCE fueron negativos, lo que implica una pérdida de peso debido principalmente a la deshidratación.

Por otra parte, la disminución de TCE pudo deberse a la disminución de la alimentación de las tilapias Pargo UNAM cultivadas a las salinidades superiores (25 a 35 g L<sup>-1</sup>), lo cual se pudo observar en el alimento que se quedaba en el fondo de los estanques después de una hora de ser alimentadas. A las tilapias cultivadas bajo estos regímenes de salinidad se les proporcionó la misma cantidad de alimento que a las cultivadas a las demás salinidades, sin embargo presentaron pérdida de apetito a la segunda ración de alimento. Se ha observado que el consumo de alimento de *O. niloticus* disminuye en salinidades superiores a 20 g L<sup>-1</sup> y a los 30 g L<sup>-1</sup> cesa de alimentarse, mientras que en *S. melanotheron* el consumo de alimento se detiene en 80 g L<sup>-1</sup> (Lemarié *et al.*, 2004).

También se observó que las tilapias Pargo UNAM cultivadas en las salinidades de 30 y 35 g L<sup>-1</sup> presentaron un oscurecimiento de la piel y el color salmonado cambió a un color rojo oscuro, además presentaron puntos rojos y escoriaciones, muchas de ellas perdieron parte de la aleta caudal y pectoral. El oscurecimiento de la piel con el aumento de la salinidad también se observó en *S. melanotheron* en salinidades mayores a 80 g L<sup>-1</sup>, acompañada de nado errático y mortalidad (Lemarié *et al.*, 2004). En Pargo UNAM se observó una mortalidad significativa en el intervalo de salinidad de 20 hasta 35 g L<sup>-1</sup>.

En términos generales, la tilapia Pargo UNAM mostró tener un crecimiento más lento en agua salina mayor de 20 g L<sup>-1</sup> que en salinidades inferiores a ésta lo cual es consistente con lo reportado para otros híbridos de tilapias rojas. Liao and Chang (1983) y Pongthana *et al.* (2010), coinciden en que estos resultados son esperados debido a que reflejan el fondo genético de las variedades descendientes de *O. niloticus*, y aunque no haya evidencia científica disponible, existe la percepción de que cepas que tienen origen en la tilapia roja *O. mossambicus* han sido frecuentemente mejoradas al cruzarlas con *O. niloticus* como una práctica común para mejorar el desempeño en criaderos de países Asiáticos. Sin embargo, los híbridos que contienen una composición genética de *O. mossambicus* x *O. hornorum* se perciben con un alto grado de capacidad eurihalina, y exhiben mayor crecimiento y mejor eficiencia de utilización del alimento en agua salina que aquellas que descienden de *O. niloticus* (Watanabe *et al.*, 2006). En términos de porcentaje la tilapia Pargo UNAM tiene un 42.5 % de esta última, por lo que se podría sugerir que el lento crecimiento sea por esta causa, sin embargo se requieren estudios adicionales para poder comprobar esta hipótesis.

En conclusión los rendimientos del cultivo de la tilapia Pargo UNAM reflejan la relación entre las condiciones óptimas de crecimiento y la utilización del alimento eficientemente por lo tanto se recomienda una temperatura de 29 °C en combinación con salinidad de 0 a 20 g L<sup>-1</sup>, con la finalidad de reducir los costos de osmorregulación, mejorar el crecimiento, la sobrevivencia y los rendimientos a la cosecha. Además otros factores importantes son la dieta, pH, oxígeno disuelto, amonio, fotoperiodo etc., que pudieran jugar un papel combinado influenciando el crecimiento lo cual también debería de ser determinado.



## Capítulo 4. Conclusiones generales

---

Se evaluaron diferentes respuestas fisiológicas y metabólicas de la tilapia tetra-híbrida Pargo UNAM, las cuales fueron aclimatadas a 5 temperaturas experimentales, y en 7 salinidades en combinación con la temperatura preferida en forma constante.

- La temperatura preferida de Pargo UNAM es de 29.5 °C, y la calculada mediante la ecuación de Jobling (1981) es de 28.6 °C dado que la diferencia entre ellas es pequeña 29 °C se puede considerar como la temperatura optima
- Pargo UNAM demostró una gran tolerancia térmica característica de su género (*Tilapia spp*), obteniendo un área de termotolerancia de 355 °C<sup>2</sup> del cual el 17.9 % representó la zona óptima equivalente a un intervalo de 25 a 32 °C.
- Los valores calculados de RRA fueron 0.36 y 0.67, con lo cual Pargo UNAM queda ubicada en un grupo que tiene una distribución subtropical que tolera cambios estacionales y cambios drásticos de temperatura.
- La temperatura afectó significativamente el metabolismo de la tilapia y el catabolismo de los aminoácidos, ya que las tasas de consumo de oxígeno y de excreción de amonio tendieron a incrementarse en las temperaturas sub-optimas y a disminuir en la temperatura óptima lo que demostró que Pargo UNAM puede canalizar la energía metabólica al crecimiento.
- Los dos métodos utilizados para la determinación del campo de actividad metabólico (TIMR y Persecución) tuvieron tendencias similares y permitieron caracterizar a Pargo UNAM como un animal semi-sedentario.
- Pargo UNAM bajo las diferentes condiciones de salinidad y una temperatura constante (temperatura preferida) demostró una gran capacidad osmorreguladora: el consumo de oxígeno no fue afectado significativamente, teniendo un comportamiento osmorregulador tipo I (Kinne, 1961), lo que la caracterizó como un pez eurihalino, cuyo patrón de osmorregulación fue hiperosmótico en salinidades bajas e hiposmóticos en salinidades altas.

- El punto isosmótico de Pargo UNAM fue de  $335 \text{ mmol L}^{-1}$  (aproximadamente  $11.73 \text{ g L}^{-1}$ ), lo que coincide con lo reportado para otras especies del género *Tilapia* spp.

#### 4.1 Recomendaciones

Realizar estudios complementarios sobre el efecto de la salinidad sobre las respuestas termorreguladoras de Pargo UNAM.

1. Se podría determinar si existe un efecto de la salinidad sobre la preferencia y tolerancia térmica de Pargo UNAM dentro de intervalos de temperatura y salinidad definidos.
2. Se pueden utilizar biomarcadores ecofisiológicos para corroborar y definir las áreas en donde el campo metabólico es óptimo y una mejor identificación de las áreas de  $pejus_{max}$  y  $pejus_{min}$  a manera de complementar lo obtenido en este estudio así como la inclusión de expresión de las proteínas de estrés térmico HSPs, glucosa, y hematocrito en organismos que se sometan al método TIRM.
3. Se podría realizar un estudio de bioenergética para determinar la cantidad del alimento suministrado en este estudio en las diferentes etapas de crecimiento y el alimento no consumido. Hacer comparativos con otras opciones de alimento o posible mejoramiento de la dieta, mediante la inclusión o exclusión de algunos ingredientes.
4. Investigar a que se debe el daño visible en la piel en la tilapia cultivada a las salinidades de 30 y 35  $\text{g L}^{-1}$  y su prevención mediante la inclusión de probióticos en la dieta.
5. Se podría cuantificar la actividad de la enzima  $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{ATPasa}$  de Pargo UNAM y evaluar el efecto de las salinidad sobre la expresión de esta enzima y si esta es diferente a las diferentes temperaturas.

## Literatura citada

- Abdel-Tawwab, M., Wafeek, M. (2014). Influence of water temperature and waterborne cadmium toxicity on growth performance and metallothionein-cadmium distribution in different organs of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Journal of Thermal Biology* **45**,157-162
- Al-Amoudi, M., El-Sayed, A-F.M., El-Ghobashy, A. (1996) Effects of termal ans thermo-haline shocks on survival and osmotic concentration of the tilapias *Oreochromis mossambicus* and *Oreochromis aureus* x *Oreochromis niloticus* hybrids. *Journal of the World Aquaculture Society* **27**, 456-461
- Allason, B.R., Noble, R.G. (1964).The tolerance of *Tilapia mossambica* (Peters) to high temperature. *Transactions of the American Society* Vol 93, **4**, 323-332
- Allanson, B.R., Bok, A., Van Wuk, N.I. (1971) The influence of exposure to low temperatura on *Tilapia mossambica* Peters (Cichidae). II. Changes in serum osmolarity, sodium and chloride ion concentrations. *Journal of Fisheries Biology* **3**, 181-185.
- Alsop, D.H., Kieffer, J.D., Wood, C.M. (1999). The effects of temperature and swimming speed on instantaneous fuel use and nitrogenous waste excretion of the Nile tilapia. *Physiological and Biochemical Zoology* **72**, 474-483.
- Altinok I., Galli, S., Chapman, F. (1998). Ionic and osmotic regulation capabilities of juvenile Gulf of Mexico sturgeon, *Acipenser oxyrinchus de sotoi*. *Comparative Biochemistry and Physiology A* **120**, 609–616.
- Altinok, I., Grizzle, J. M. (2003). Effects of low salinities on oxygen consumption of selected euryhaline and stenohaline freshwater fish. *Journal of the World Aquaculture Society* **34**, 113-117.
- Armas-Rosales, A.M. (2006). Genetic effects influencing salinity and cold tolerance in tilapia. Dissertation. University of Stirling, Scotland, UK.
- Arredondo, F.J., Lozano, G.S. La acuicultura en México. Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa. México.
- Avella, M., Berhaut, J., Bornancin, M. (1993). Salinity tolerance of two tropical fishes, *Oreochromis aureus* and *O. niloticus*. I. Biochemical and morphological changes in the gill epithelium. *Journal of Fish Biology* **42**, 243-254.
- Ayson, F.G., Kaneko, T., Tagawa, M., Hasegawa, S., Grau, E.G., Nishioka, R.S., King, D.S., Bern, H.A., Hirano, T. (1993). Effects of acclimation to hypertonic environment on plasma and pituitary levels of two prolattins and growth hormone in two species of tilapia, *Oreochromis mossambicus* and *Oreochromis niloticus*. *General and Comparative Endocrinology* **89**, 138-148.
- Azaza, M.S., Dhraïef, M.N., Kraïem, M.M. (2008). Effects of water temperature on growth and sex ratio of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) reared in geothermal waters in southern Tunisia. *Journal of Thermal Biology* **33**, 98-105.

- Azaza, M.S., Legendre, M., Kraïem, M.M., Baras, E. (2010). Size-dependent effects of daily thermal fluctuations on the growth and size heterogeneity of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Journal of Fish Biology* **76**, 669-683.
- Badenhuizen, T.R. (1967). Temperatures selected by *Tilapia mossambica* (Peters) in a test tank with a horizontal temperature gradient. *Hydrobiologia* **30**, 541-554.
- Balarin, J.D., Hatton, J.P. (1979). Tilapia. A guide to their Biology and Culture in Africa. Unit of Aquatic Pathobiology, Stirling University. 174 p.
- Baras, E., Jacobs, B., Mélard, C. (2001). Effect of water temperature on survival, growth and phenotypic sex of mixed (XX-XY) progenies of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* **192**, 187-199.
- Beamish, F.W.H. (1970). Influence of temperature and salinity acclimation on temperature preference of the euryhaline fish *Tilapia nilotica*. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **27(7)**, 1209-1214.
- Beamish, F.W.H. (1981). Swimming performance and metabolic rate of three tropical fishes in relation to temperature. *Hydrobiologia* **83**, 245-254.
- Beamish, F.W.H., Trippel, E.A. (1990). Heat increment: a static dynamic dimension in bioenergetics models?. *Transactions of American Fisheries Society* **119**, 649-661.
- Becker, D.C., Genoway, R.G. (1979). Evaluation of critical thermal maximum for determining thermal tolerance of freshwater fish. *Environmental Biology of Fishes* **4**, 245-256.
- Behrends, L.L., Kingsley, J.B., Bulls, M. (1990). Cold tolerance in maternal mouthbrooding tilapias: Phenotypic variation among species and hybrids. *Aquaculture* **85**, 271-280.
- Bennet, W.A., Beitinger, T. (1997). Temperature tolerance of the sheepshead minnow, *Cyprinodon variegatus*. *Copeia* **1997 (1)**, 77-87
- Bennet, W.A., Currie, R.J., Wagner, P.F., Beitinger, T.L. (1997). Cold tolerance and potential overwintering of the Red-Bellied Piranha, *Pygocentrus natterii*, in the United States. *Transactions of American Fisheries Society* **126**, 841-849
- Bennet, W.A., McCauley, R.W., Beitinger, T.L. (1998). Rates of gain and loss of heat tolerance in channel catfish. *Transactions of American Fisheries Society* **127**, 1051-1058.
- Beitinger, T.L., Thommes, M.M., Spigarelli, S.A. (1977). Relative roles of conduction and convection in the body temperature of gizzard shad, *Dorosoma cepedianum*. *Comparative Biochemistry and Physiology A* **57**, 275-279.
- Beitinger, T.L., Bennet, W.A., McCauley, R.W. (2000). Temperature tolerances of North American freshwater fishes exposed to dynamic changes in temperature. *Environmental biology of fishes* **58(3)**, 237-275.
- Bláška, P., Volf, M., Čepela, M. (1960). A new type of respirometer for the determination of the metabolism of fish in an active state. *Physiologia Bohemoslovenica* **9**, 553-558

- Boeuf, G., Payan, P. (2001). How should salinity influence fish growth?. *Comparative Biochemistry and Physiology C* **130**, 411-423.
- Bond, C.E. (1996). *Biology of fishes*. Brooks/Cole. Second edition. Corvallis, Oregon, 750 p.
- Brett, J.R. (1952). Temperature tolerance of young Pacific salmon, genus *Oncorhynchus*. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **9**, 265-323.
- Brett, J.R. (1964). The respiratory metabolism and swimming performance of young sockeye salmon. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **21**, 1183-1226.
- Brett, J.R. (1970a). 3. Temperature 3.3 Animals 3.32 Fishes. In: O. Kinne, ed. *Marine Ecology, Vol. 1. Environmental factors*, Wiley-Interscience, London and New York, pp. 515-560.
- Brett, J.R. (1970b). Environmental factors on the physiology of fish. In: W.S Hoar and D.J. Randall, eds. *Fish physiology. Vol.6*. Academic Press, New York. pp. 1-98.
- Brett, J.R. (1971). Energetic responses of salmon to temperature: a study of some thermal relations in the physiology and fresh water ecology of sockeye salmon *Orcorhynchus nerka*. *American Zoologist* **11**, 99-113.
- Brett, J.R., Groves, T.D.D. (1979). Physiological energetic. En: *Fish fisiology. Vol VIII: Bioenergetics and Growth* (ed. W.S.Hoar, D.J. Randall y J.R Brett), pp. 279-352. Academic Press, New York, USA
- Brock, T.D. (1985). Life at high temperatures. *Science* **230**, 132-138
- Brougher, D.S., Douglass, L.W., Soares J.H. ( 2005). Comparative oxygen consumption and metabolism of striped bass *Morone saxatilis* and its hybrid *M. chrysops* ♀x *M. saxatilis* ♂. *Journal of World Aquaculture Society* **36**, 521-529.
- Caulton, M.S. (1975). Diurnal movement and temperature selection by juvenile and sub-adult *Tilapia rendalli* Boulenger (Cichlidae). *Transactions of Rhod. Science Association* **56**, 51-56.
- Caulton, M.S. (1977). The effect of temperature on routine metabolism in *Tilapia rendalli* Boulenger. *Journal of Fish Biology* **11**, 549-553
- Caulton, M.S. (1978). The effect of temperature and mass on routine metabolism in *Sarotherodon* (*Tilapia*) *mossambicus* (Peters). *Journal of Fish Biology* **13**, 195-201
- Chatterjee, N., Pal, A.K., Manush, S.M., Das, T., Mukherjee, S.C. (2004). Thermal tolerance and oxygen consumption of *Labeo rohita* and *Cyprinus carpio* early fingerlings acclimated to three different temperatures. *Journal of Thermal Biology* **29**, 265-270.
- Cherry, D.S., Dickson, K.L., Cairns, Jr. J. (1975). Temperatures selected and avoided by fish at various acclimation temperatures. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **32**, 485-491.
- Chervinski J., Yashouv A. (1971) Preliminary experiments on the growth of *Tilapia aurea* Steindachner (Pisces, Cichlidae) in seawater ponds. *Bamidgeh* **23**, 125-129.
- Chervinski J., Hering E. (1973) *Tilapia zilli* (Gervais) (Pisces, Cichlidae) and its adaptability to various saline conditions. *Aquaculture* **2**, 23-29.

- Chervinski, J. (1982). Environmental physiology of tilapias. En: Pullin, R.S.V., Lowe-McConnell, R.H. (Eds.), *The Biology and Culture of Tilapias*, ICLARM Conference Proceedings, vol. 7. International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines, pp. 119-128.
- Chervinski, J., Lahav, M. (1976). The effect of exposure to low temperature on fingerlins of local tilapia (*Tilapia aurea*) (Steindachner) and imported tilapia (*Tilapia vulcani*) (Trewavas) and *Tilapia nilotica* (Linné) in Israel. *Bamidgeh* **28**, 25-29.
- Chimits, P. (1957). The tilapia and their culture. *FAO Fisheries bulletin* **8(1)**, 1-33.
- Cincotta, D.A., Stauffer Jr, J.R. (1984). Temperature preference and avoidance studies of six North American fresh water fish species. *Hydrobiologia* **109**, 173-177.
- Claireaux, G., Lagardère, J-P. (1999). Influence of temperature, oxygen and salinity on the metabolism of the European sea bass. *Journal of Sea Research* **42**, 157-168.
- CONAPESCA. *Registro y Estadística Pesquera y Acuicola 2015* [Cita 13 Marzo 2016.] Disponible URL: <http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx> .
- Coutant, C.C. (1977). Cold shock to aquatic organisms: guidance for power plant siting, design and operation. *Nuclear Safety* **18**, 329-342
- Claussen, D.L. (1977). Thermal acclimation in ambystomatid salamanders. *Comparative Biochemistry and Physiology* **58**, 333-340
- Claireaux, G., Webber, D.M., Lagardère, J.P., Kerr, S.R. (2000). Influence of water temperature and oxygenation on the aerobic metabolic scope of Atlantic cod (*Gadhus morhua*). *Journal of Sea Research* **44**, 257-265
- Cumillaf, J.P., Blanc, J., Paschke, K., Gebauer, P., Díaz, F., Re, D., Chimal, M.E., Vázquez, J., Rosas, C. (2016). Thermal biology of the sub-polar-temperate estuarine crab *Hemigrapsus crenulatus* (Crustacea: Decapoda: Varunidae). *Biology Open* **0**, 1-9. doi:10.1242/bio.013516
- Currie, R. J., Bennett, W. A., Beitinger, T.L. (1998). Critical thermal minima and maxima of three freshwater game-fish species acclimated to constant temperatures. *Environmental Biology of Fishes* **51**, 187-200.
- Dalvi, T., Pal, A.K., Tiwari, L.R., Das, T., Baruah, K. (2009). Thermal tolerance and oxygen consumption rates of the catfish *Horobagrus brachysoma* (Gunther) acclimated to different temperatures. *Aquaculture* **295**, 116-119.
- Das, T., Pal, A.K., Chakraborty, S.K., Manush, S.M., Chatterjee, N., Mukherjee, S. C. (2004). Thermal tolerance and oxygen consumption of Indian Major Carps acclimated to four temperatures. *Journal of Thermal Biology*, **29(3)**, 157-163
- Debnath, D., Pal, A.K., Sahu, N.P., Baruah, K., Yengkokpam, S., Das, T., Manush, S.M. (2006). Thermal tolerance and metabolic activity of yellowtail catfish *Pangasius pangasius* (Hamilton) advanced fingerlings with emphasis on their culture potential. *Aquaculture* **258**, 606-610.
- Díaz, F., Sierra, E., Bückle, F., Garrido, A. (1998). Critical thermal maxima and minima of *Macrobrachium rosenbergii* (Decapoda: Palemonidae). *Journal of Thermal Biology* **23**, 381-385.

- Díaz, F., Sierra, E., Re, A.D., Rodríguez, L. (2002). Behavioural thermoregulation and critical thermal limits of *Macrobrachium acanthurus* (Wiegman). *Journal of Thermal Biology* **27**, 423-428.
- Díaz, F., Re-Araujo, A., Sierra, E., Amador, G. (2004). Behavioural thermoregulation and critical limits applied to the culture of red claw Crayfish *Cherax quadricarinatus* (von Martens). *Freshwater Crayfish* **14**, 90-98.
- Díaz, F., Re, A.D., Medina, Z., Re, G., Valdez, G., Valenzuela, F. (2006). Thermal preference and tolerance of green abalone *Haliotis fulgens* (Philippi, 1845) and pink abalone *Haliotis corrugata* (Gray, 828). *Aquaculture Research* **37**, 877-884.
- Díaz, F., Re, A.D., González, R.A., Sánchez, L.N., Leyva, G. and Valenzuela, F. (2007). Temperature preference and oxygen consumption of the largemouth bass *Micropterus salmoides* (Lacépède) acclimated to different temperatures. *Aquaculture Research* **38**, 1387-1394
- Duncan, N. J., Rodríguez, G. A. de O., Alok, D., Zohar, Y. (2003). Effects of controlled delivery and acute injections of LHRHa on bullseye puffer fish (*Sphoeroides annulatus*) spawning. *Aquaculture* **218**, 625-635 p.
- Eliason, E.J., Farrell A.P. (2016). Oxygen uptake in Pacific salmon *Oncorhynchus spp.*: when ecology and physiology meet. *Journal of fish biology*. **88**, 359-388.
- El-Sayed, A-F.M. (2006). Environmental requirements. En: El-Sayed, ed. *Tilapia Culture*. CABI Publishing, Oxfordshire, UK, pp. 34-36.
- Eme, J., Bennet, W.A. (2009) Critical thermal tolerance polygons of tropical marine fishes from Sulawesi, Indonesia. *Journal of Thermal Biology*. **35(5)**, 220-225
- Evans, B.H., Claiborne, J.B. eds. (2006) *The Physiology of Fishes*, 3<sup>rd</sup>. ed., CRC Press, Boca Raton, Florida, 454 p.
- FAO. *State of World Fisheries and Aquaculture 2004*. [Cita 5 Febrero 2017] Disponible URL: <http://www.fao.org/docrep/007/y5600e/y5600e00.htm>
- Farmer, G.J., Beamish, F. W. H. (1969). Oxygen consumption of *Tilapia nilotica* in relation to swimming speed and salinity. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **26**, 2807-2821.
- Farrell, A.P., Hinch, S.G., Cooke, S.J., Patterson, D.A., Crossin, G.T., Lapointe, M., Mathes, M.T. (2008). Pacific Salmon in hot water: Applying aerobic scope models and biotelemetry to predict the success of spawning migrations. *Physiological and Biochemical Zoology*. DOI:10.1086/592057
- Farrell, A.P. (2013). Aerobic scope and its optimum temperature: clarifying their usefulness and limitations- correspondence on *Journal of Experimental Biology* **216**, 2771-2782
- Ferreira, E.O., Anttila, K., Farrell, A.P. (2014). Thermal optima and tolerance in the eurythermic Goldfish (*Carassius auratus*): relationships between whole-animal aerobic capacity and maximum heart rate. *Physiological and Biochemical Zoology* **87**, 599-611
- Feldmeth, R.C., Stone, E.A., Brown, J.H. (1981). An increased scope for thermal tolerance upon acclimating pupfish (*Cyprinodon*) to cycling temperatures. *Journal of Comparative Physiology* **89**, 39-44.

- Fielder, D.S., Bardsley, W.J., Allan, G.L., Pankhurst, P.M. (2005). The effects of salinity and temperature on growth and survival of Australian snapper, *Pagrus auratus* larvae. *Aquaculture* **250**, 201-214.
- Fields, R., Lowe, S.S., Kaminski, C., Whitt, G.S., Philipp, D.P. (1987). Critical and chronic thermal maxima of northern and Florida largemouth bass and their reciprocal F<sub>1</sub> and F<sub>2</sub> hybrids. *Transactions of American Fisheries Society* **116**, 856-863.
- Fiess, J.C., Kunkel-Patterson, A., Mathias, L., Riley, L. G., Yancey, P.H., Hirano, T., Grau, E.G. (2007). Effects of environmental salinity and temperature on osmoregulatory ability, organic osmolytes, and plasma hormone profiles in the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology A* **146**, 252-264.
- Fitzsimmons, K. (2000). Future trends of tilapia aquaculture in the Americas. In eds. B.A. Costa-Pierce and J.E. Racocy. Pp. 252-264. *Tilapia aquaculture in the Americas*, Vol. 2. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, EUA.
- Fitzsimmons, K. (2015). World tilapia trade. *Proceedings of Globefish, INFOFISH Tilapia Conference, Kuala Lumpur, Abril, 2015*. [Cita 19 Febrero 2018] Disponible URL: [http://www.infopesca.org/sites/default/complemento/actividadesrecientes/adjuntos/1369//1%20Keynote%20Address\\_Fitzsimmons.pdf](http://www.infopesca.org/sites/default/complemento/actividadesrecientes/adjuntos/1369//1%20Keynote%20Address_Fitzsimmons.pdf)
- Flores, M., Díaz, F., Medina, R., Re, A.D., Licea, A. (2008). The effect of dietary astaxanthin on physiological responses of juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei* acclimated to low-salinity water. *Journal of Fisheries International* **3(3)**, 75-82.
- Flores, Q.C. (2009). Celulas del Cloro. Citología en peces. *Revista Veterinaria* **20(1)**, 57-60
- Foskett, J.K., Scheffey, C. (1982). The chloride cell: definitive identification as the salt-secretory cell in teleosts. *Science* **215**, 164-166.
- Frederich, M., Pörtner, H.O. (2000). Oxygen limitation of thermal tolerance defined by cardiac and ventricular performance in the spider crab, *Maja squinado*. *American Journal of Physiology* **279**, 1531-1538.
- Fraenkel, G.S., Gunn, D.L. (1961). *The Orientation of Animals. Kineses, taxes and compass reactions*. Dover Publications, New York.
- Fry, F.E.J. (1947). Effects of the environment on animal activity. University of Toronto Studies, Biological Series, No. 55 *Publications of Ontario Fisheries Research*, Laboratory of the Department of Zoology, University of Toronto, Canada. **68**, 1-62.
- Fry, F.E.J. (1957). *The aquatic respiration of fish*. In: Brown, M.E. (Ed), *The physiology of fishes*, 44 pp Vol.1. Academic Press, New York, pp 1-63.
- Fry, F.E.J. (1971). The effect of environmental factors of the physiology of fish. En *Fish Physiology*, Vol. 6. Hoar, W.S., Randall, D.J., eds., London & New York: Academic Press
- García-López, V., Rosas-Vázquez, C., Brito-Pérez, R. (2006). Effects of salinity on physiological conditions in juvenile common snook *Centropomus undecimalis*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **145**, 340-345.



- Garduño-Lugo, M., Muñoz-Córdova, G., Olvera-Novoa, M.A. (2004). Mass selection for red colour in *Oreochromis niloticus* (Linnaeus 1758). *Aquaculture research* **35**, 340-344.
- Golanov, V.K. (2013). Ecophysiological patterns of distribution and behavior of fresh water fish in thermal gradients. *Journal of Ichthyology* **4**, 252-280.
- González, R.A., Díaz, F., Licea, A., Re, D., Sanchez, N., García-Esquivel, Z. (2010). Thermal preference, tolerance and oxygen consumption of adult white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) exposed to different acclimation temperatures. *Journal of Thermal Biology* **35** vol. 5, 218-224.
- Greenwell, M.G., Sherrill, J., Clayton, L.A. (2003). Osmoregulation in fish - Mechanisms and clinical implications. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice* **6(1)**, 69-89.
- Halsey, L.G., Matthews, P.G.D., Rezende, E.L., Chauvaud, L., Robson, A.A. (2015). The interactions between temperature and activity levels in driving metabolic rate: theory, with empirical validation from contrasting ectotherms. *Oecologia*. **177**, 1117-1129.
- Handeland, S.O., Berge, A., Bjornsson, B.T., Stefansson, S.O. (1998). Effects of temperature and salinity on osmoregulation and growth of Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts in seawater. *Aquaculture* **168**, 289-302
- Haney D., Nordlie F. (1997). Influence of environmental salinity on routine metabolic rate and critical tension of *Cyprinodon variegatus*. *Physiological Zoology* **70**, 511-518.
- He, Y., Wu, X., Zhu, Y., Li, H., Li, X., Yang, D. (2014). Effect of rearing temperature on growth and thermal tolerance of *Schizothorax (Racoma) kozlovi* larvae and juveniles. *Journal of Thermal Biology* **46**, 24-30.
- Heath, A.G., Turner, B.J., Davis, W.P. (1993). Temperature preference and tolerances of three fish species inhabiting hyperthermal ponds on mangrove islands. *Hydrobiologia* **259**, 47-55.
- Huey, R.B., Stevenson, R.D. (1979). Integrating thermal physiology and ecology of ectotherms: a discussion of approaches. *American Zoologist* **19**, 357-366.
- Hutchinson, V.H. (1976) Factors influencing thermal tolerance of individual organisms, p. 10-26. En: Thermal ecology II. G.W. Esch y R.W. Mc Farlane (eds). CONF 752425, ERDA, Symposium Series, Nat, Tech. Inf. Serv. Springfield, VA.
- Hwang, P., Sun, C.M., Wu, S.M. (1989). Changes of plasma osmolality, chloride concentration and gill Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> - ATPase activity in tilapia (*Oreochromis mossambicus*) during sea water acclimation. *Marine Biology* **100**, 295-299.
- Imsland, A.K., Gunnarsson, S., Foss, A., Stefansson, S.O. (2003) Gill Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> -ATPase activity, plasma chloride and osmolality in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) reared at different temperatures and salinities. *Aquaculture* **218**, 671-683.
- Iwama, G.K., Takemura A., Takano. K. (1997). Oxygen consumption rate of tilapia in fresh water, sea water, and hypersaline sea water. *Journal of Fish Biology*. **51**, 886-894.
- Jennings, D. P. (1991). Behavioral aspects of cold tolerance in blackchin tilapia, *Sarotherodon melanotheron*, at different salinities. *Environmental Biology of Fishes* **31**, 185-195.

- Job, S.C. (1969). The respiratory metabolism of *Tilapia mossambica*. *Marine Biology* **2**, 121-126.
- Jobling, M. (1981). Temperature tolerance and the final preferendum- rapid methods for assessment of optimum growth temperatures. *Journal of Fish Biology* **19**, 439-455.
- Jobling, M. (1995). Environmental biology of fishes. Chapman & Hall. London. 455 pp.
- Johnson, J.A., Kelsch, S.W. (1998). Effect of evolutionary thermal environment on temperature preference relationships in fish. *Environmental Biology of Fishes* **53**, 447-458.
- Jost, J.A., Podolski, S.M., Frederich, M. (2012). Enhancing thermal tolerance by eliminating the pejus range: a comparative study with three decapod crustaceans. *Marine Ecology Progress Series* **444**, 263-274
- Josuweit, H. (2007). World tilapia trade. *Proceedings of Globefish, INFOFISH Tilapia Conference, Kuala Lumpur, Agosto 2007*. [Cita 15 Febrero 2018], URL Disponible: <https://thefishsite.com/articles/world-tilapia-trade>
- Jubb, R.A. (1961). An illustrated guide to the freshwater fishes of the Zambezi River, Lake Kariba, Pungwe, Sabi, Lundi and Limpopo River. Stuart Manning, Bulawayo, 171 pp.
- Jurss, K., Bittorf, Th., Volker, Th., Wacke, R. (1984). Biochemical investigations into the influence of environmental salinity on starvation of the Tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Aquaculture*, **40**, 171-182.
- Kammerer, B.D., Cech Jr., J.J., Kültz, D. (2010). Rapid changes in plasma cortisol, osmolality, and respiration in response to salinity express in tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Comparative Biochemistry and Physiol A* **157**, 260-265.
- Khather, A. A., Smitherman, R.O. (1988). Cold tolerance and growth of three strains of *Oreochromis niloticus*. En: Pullin, RSV, Bhukaswan T, Tonguthai K, Maclean JL, eds. The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture. Conference proceedings 15, Department of Fisheries, Bangkok, Thailand, and International Center for living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines
- Kelsch, S.W., Neill, W.H. (1990). Temperature preference versus acclimation in fishes: Selection for changing metabolic optima. *Transactions of the American Fisheries Society* **119**, 601-610
- Kelsch, S.W. (1996). Temperature selection and performance by bluegills: evidence for selection in response to available power. *Transactions of the American Fisheries Society* **112**, 424-430.
- Kinne, O. (1967). Physiology of estuarine organisms with special reference to salinity and temperature: general aspects. *Estuaries, Publications of American Association for the Advancement of Science*, **83**, 525-540.
- Kir, M., Sunar, M.C., Altındağ, B.C. (2017). Thermal tolerance and preferred temperatures range of juvenile meagre acclimated to four temperatures. *Journal of thermal Biology* **65**, 125-129.
- Kirk, R.G. (1972). A review of recent developments in Tilapia culture, with special reference to fish farming in the heated effluents of power stations. *Aquaculture* **1**, 45-60
- Lagerspetz, K.Y.H. (1974). Temperature acclimation and nervous system. *Biology Review* **49**, 477-514

- Larios, E. (2014). Temperatura preferida, temperaturas críticas y respuestas metabólicas de *Lutjanus guttatus* (Steindachner 1869) ante diferentes temperaturas de aclimatación. Tesis de maestría. CICESE 73 p.
- Lee, C.G., Farrel, A.P., Lotto, A., MacNutt, M.J., Hinch, S.G. y Healey, M.C. (2003). The effect of the temperature on swimming performance and oxygen consumption in adult sockeye (*Oncorhynchus nerka*) and coho (*O. kisutch*) salmon stocks. *Journal of Experimental Biology* **206**, 3239-3251.
- Lemarié, G., Baroiller, J.F., Clota, F., Lazard, J., Dosdat, A. (2004). A simple test to estimate the salinity resistance of fish with specific application to *O. niloticus* and *S. melanotheron*. *Aquaculture* **240**, 575-587
- Liao, I.C., Chang, S.L. (1993). Studies on the feasibility of red tilapia culture in saline water. Proceedings of the first International Symposium on Tilapia in Aquaculture, pp. 554-533.
- Likongwe, J.S., Stecko, T.D., Stauffer, J.R. y Carline R.F. (1996) Combined effect of water temperature and salinity on growth and feed utilization of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus). *Aquaculture* **146**, 37-46.
- Lotan, R. Adaptability of *Tilapia aurea* to various saline conditions. *Bamidgeh* **12**, 96-100
- Lutterschmidt, W. I., Hutchison, V. H. (1997). The critical thermal maximum: history and critique. *Canadian Journal of Zoology* **75**, 1561-1574.
- Lutz, C.G. (2006). Recent directions in genetics. En C.E. Lim y C.D. Webster, eds. Tilapia: biology, culture, and nutrition. The Haworth Press, Inc. pp 139-180
- Mamun, S.M., Focken, U., Becker, K. (2007). Comparison of metabolic rates and feed nutrient digestibility in conventional, genetically improved (GIFT) and genetically male (GMNT) Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L). *Comparative Biochemistry and Physiology A* **148**, 214-222
- Manush, S. M., Pal, A.K., Chatterjee, N., Das, T., Mukherjee, S. (2004). Thermal tolerance and oxygen consumption of *Macrobrachium rosenbergii* acclimated to three temperatures. *Journal of Thermal Biology* **29**, 15-19.
- Mayzaud P., Conover R. J. (1988). O:N atomic ratio as a tool to describe zooplankton metabolism. *Marine Ecology Progress Series* **45**, 289-302.
- McBay, E.G. (1961). The biology of *Tilapia niloticus* Linnaeus. En: Proceedings from the 15<sup>th</sup> Annual Conference of the Southeastern Association of Game and Fish Commissioners. pp. 21-25
- McCormick, S.D. (1990). Cortisol directly stimulates the differentiation of chloride cell in tilapia opercular membrane. *American Journal of Physiology* **259**, R857-R863
- McCormick, S.D. (2001). Endocrine control of osmoregulation in teleost fish. *American Zoology* **41**, 781-794.
- Milligan, C.L., Girard, S.S. (1993). Lactate metabolism in rainbow trout. *Journal of Experimental Biology* **180**, 175-193.
- Mommsen, T.P., Vijayan, Moon, T.W. (1999). Cortisol in teleosts dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **9**, 211-268

- Moon, T.W., Foster, G.D. (1995). Tissue carbohydrate metabolism, gluconeogenesis and hormonal and environmental influences. En: Hochachka PW, Mommsen TP, eds. *Metabolic and Adaptational Biochemistry*. Elsevier, Amsterdam pp. 65-100.
- Morales-Alamán, V., Muñoz-Córdova, G., Garduño-Lugo, M. (2006). Desempeño productivo de la tilapia del Nilo y una población compuesta de tilapia roja: El Pargo UNAM. En: Barradas-Lagunes H, ed. Memorias de la XIX Reunión Científica-Tecnología Forestal y Agropecuaria, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias, Veracruz, México, pp. 8-14
- Morales, D.A. (1991). La tilapia en México, Biología, Cultivo y Pesquerías. AGT Editor S.A., México, DF. 190 p.
- Morgan, J.D., Sakamoto, T., Grau, E.G., Iwama, G.K. (1997). Physiological and respiratory responses of the Mozambique Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) to salinity acclimation. *Comparative Biochemistry and Physiology A* **117**, 391-398.
- Muñoz-Córdova, G., Garduño-Lugo, M. (2003). Mejoramiento genético en tilapia: sistema de cruzamiento y mecanismos genéticos en la determinación del color. Facultad de Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, Sistema de Investigación del Golfo de México del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.
- Musuka, C.G., Linkongwe, J.S., Kang'ombe, J., Jere, W.W.L., Mtethiwa, A.H. (2009). The effect of dietary protein and water temperatures on performance of *T. rendalli* juveniles reared in indoor tanks. *Pakistan Journal of Nutrition* **8**, 1526-1531.
- Neill, W.H. Stevens, E.D. (1974). Thermal inertia versus thermoregulation in "warm" turtles and tunas. *Science* **184**, 1008-1010
- Nelson, J.S. (2006). Fishes of the world, 4th edition. Wiley, New York, 390 p.
- Nelson D.O., Prosser, C.L. (1979). Effect of preoptic lesions on behavioral thermoregulation of Green Sunfish, *Lepomis cyanellus*, and Golfish, *Carassius auratus*. *Journal of Comparative Physiology A* **129**, 193-197.
- Norin, T., Malte, H., Clark, T.D. (2014). Aerobic scope does not predict the performance of a tropical eurythermal fish at elevated temperatures. *Journal of Experimental Biology* **217**, 244-251.
- Noyola, J., Cammal-Monsreal, C., Díaz, F., Re, D., Sanchez, A., Rosas, C. (2013). Thermopreference, tolerance and metabolic rate of early stages *Octopus maya* acclimated to different temperatures. *Journal of Thermal Biology* **38**, 14-19.
- Noyola, J., Mascaró, M., Caamal-Monsreal, C., Noreña-Barroso, E., Díaz, F., Re, D., Rosas, C. (2015). Effect of temperature on energetic balance and fatty acid composition of early juveniles of *Octopus maya*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **445**, 156-166.
- Olvera, N.M. (2005). Guía práctica para el cultivo de la Tilapia. Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional Unidad Mérida. Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca, SAGARPA, pp 1-36.

- Padilla-Ramirez, S., Díaz, F., Re, A. D., Galindo-Sanchez, C.E., Sanchez-Lizarraga, A. L, Nuñez-Moreno, L. A, Moreno-Sierra, D., Paschke, K. & Rosas, C. (2015). The effect of thermal acclimation on the behavior, thermal tolerance and respiratory metabolism in a crab inhabiting a wide range of thermal habitats (*Cancer antennarius* Stimpson, 1856) the red shore crab. *Marine Freshwater Behaviour and Physiology* **48**, 89-101.
- Paschke, K., Cumillaf, J.P., Chimal M.E., Díaz F., Gerbauer P., Rosas C. (2013). Relationship between age and thermoregulatory behavior of *Lithodes santolla* (Molina, 1782) (Decapoda, Lithodidae) juveniles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **448**,141-145.
- Pauly D. (1976). The biology, fishery and potential for aquaculture of *Tilapia melanotheron* in a small west African lagoon. *Aquaculture* **7**, 33-49.
- Paz, P.E. (2004). Evaluation of growth, production and cold tolerance of four varieties of tilapia. Tesis de maestría. Louisiana State University, Baton Rouge, Louisiana, USA.
- Pérez, E., Díaz, F., Espina, S. (2003). Thermoregulatory behavior and critical thermal limits of the angelfish *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein) (Pisces:Cichlidae). *Journal of Thermal Biology* **28**, 531-537.
- Pérez-Robles, J. (2010). Análisis del efecto de la salinidad constante sobre el consumo de oxígeno, excreción de amonio, excreción nitrogenada y la osmorregulación en botete Diana (*Spheroides annulatus*, Jenyns 1842). Tesis de Maestría en Ciencias, CICESE, Ensenada, B.C., México.
- Perry, S. (1997). The chloride cell structure and function in the gill of freshwater fishes. *Annual Review of Physiology* **59**, 325–347.
- Philippart, J-Cl., Ruwet, J-Cl. (1982). Ecology and distribution of tilapias. The biology and culture of tilapias. pp. 15-59 En: ICLARM Conference Proceedings 7. Manila, Philippines.
- Pongthana, N., Nguyen, H. N., Ponzoni, R. W. (2010). Comparative performance of four red tilapia strains and their crosses in fresh- and saline water environments. *Aquaculture* **308**, S109-S114.
- Popper, D., T. Lichatovich (1975) Preliminary success in predator control of *Tilapia mossambica*. *Aquaculture* **5**, 213-214.
- Pörtner, H. O. (2001). Climate change and temperature dependent biogeography: oxygen limitation of thermal tolerance in animals. *Naturwissenschaften* **88**,137-146
- Pörtner, H.O. (2010). Oxygen-and capacity-limitation of thermal tolerance: a matrix for integrating climate-related stressor effects in marine ecosystems. *Journal of Experimental Biology* **213**, 881-893.
- Priede, I.G. (1977). Natural selection for energetic efficiency and the relationship between activity level and mortality. *Nature* **267**, 610-611.
- Prosser, C.L., Nelson, D.O. (1981) The role of the nervous system in temperature adaptation of poikilotherms. *Annual Review.of Physiology* **43**, 281-300
- Qiang, J., Yang, H., Wang, H., Kpundeh, M.D., Xu, P. (2012). Growth and IGF-I response of juvenile Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) to changes in water temperature and dietary protein level. *Journal of Thermal Biology* **37**, 686-695.

- Qiang, J., Wang, H., Kpundeh, M.D., He, J. y Xu, P. (2013). Effect of water temperature, salinity, and their interactin on groth, plasma osmolality, and gill Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup> -ATPase activity in juvenile GIFT tilapia *Oreochromis niloticus* (L). *Journal of Thermal Biology* **38**, 331-338.
- Ramírez-Paredes, J.G., Garduño-Lugo, M., Muñoz-Córdova, G. (2012). Productive performance of a new synthetic red tilapia population 'Pargo-UNAM' compared with that of wild-type Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture Research* **43**, 870-878.
- Reynolds, W.W., Casterlin, M.E. (1979). Behavioral thermoregulation and the final preferendum paradigm. *American Zoologist* **19**, 211–224.
- Riego, R.M. (2005). Comportamiento productivo y heterosis retenida de una población sintética de tilapia (¼ tilapia Rocky Mountain, ¼ *Oreochromis niloticus* y ½ tilapia roja de Florida) durante la etapa de engorda. Tesis de Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Rodier, J. (1981). Analisis de las aguas: Aguas naturales, aguas residuales y agua de mar. Omega, Barcelona. 134-138.
- Rodríguez-Fuentes, G., Murua-Castillo, M., Díaz, F., Rosas, C., Caamal-Monsreal, C., Sánchez, A., Pashke, K., Pascual, C. (2017). Ecophysiological biomarkers defining the termal biology of the Caribbean lobster *Panulirus argus*. *Ecological indicators*. **78**, 192-204.
- Rodríguez-Montes de Oca, G., Román-Reyes, J.C., Alaniz-Gonzalez, A., Serna-Delval, O.C., Muñoz-Cordova, G., Rodríguez-González, H. (2015). Effect of salinity on three tilapia (*Oreochromis* sp.) strains: hatching rate, length and yolk sac size. *International Journal of Aquatic Science* **6**, 96-106.
- Romana-Eguia, M.R.R., Eguia, R.V. (1999). Growth of five Asian red tilapia strains in saline environments. *Aquaculture* **173**, 161-170.
- Ross, L.G. (2000). Environmental Physiology and Energetics. Pages 89-128. En: Beveridge M.C.M. y B.J. McAndrew Editores. Tilapias: Biology and Explotation. Kluwer Academic publishers, London, UK.
- Rubio-Godoy, M., Muñoz-Córdova, G., Garduño-Lugo, M., Salazar-Ulloa, M., Mercado-Vidal, G. (2012). Microhabitat use, not temperature, regulates intensity of *Gyrodactylus cichlidarum* long-term infection on farmed tilapia-Are parasites evading competition or immunity?. *Veterinary Parasitology* **183**, 305-316.
- Rubio-Mejía, O.L. (2009). *Efecto de la proteína dietética sobre el crecimiento y composición corporal de la tilapia híbrida roja "Pargo UNAM"*. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Saavedra-Martínez, M.A. (2006). Manejo del Cultivo de Tilapia Facultad de Ciencia, Tecnología y Ambiente, Universidad Centroamericana, Managua, Nicaragua. 22 pp.
- SAGARPA. Anuario Estadístico de la Pesca 2011. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. En: Vision General del Sector Acuicola Nacional, México, FAO, Departamento de Pesca y Acuicultura [Cita 19 Marzo 2018]. URL disponible: [http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso\\_mexico/es](http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_mexico/es).

- Salas, A., Díaz, F., Re, A.D., Galindo, C. E., Sánchez, E., González, M., Licea, A., Sanchez, A. y Rosas, C. (2014). Preferred temperature, thermal tolerance, and metabolic response of *Tegula regina* (Stearns, 1892). *Journal of Shellfish Research* **33**, 239-246.
- Santos, V.B.D., Mareco, E.A., Dal Pai Silva, M. (2013). Growth curves of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) strains cultivated at different temperatures. *Acta Scientiarum. Animal Sciences* **35**, 235-242.
- Sardella, B.A., Brauner, C.J. (2008). The effect of elevated salinity on "California" Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus* x *O. urolepis hornorum*) metabolism. *Comparative Biochemistry and Physiology C* **148**, 430-436
- Sardella, B.A., Kültz, D, D., Cech Jr., J.J., Brauner, C.J. (2008b). Salinity-dependent changes in Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> - ATPase content of mitochondria-rich cells contribute to differences in thermal tolerance of Mozambique tilapia. *Journal of Comparative Physiology* **178**, 249-256
- Sardella B., Matey V., Cooper J., Gonzalez R., Brauner C. (2004). Physiological, biochemical and morphological indicators of osmoregulatory stress in "California" Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus* x *O. urolepis hornorum*) exposed to hyper saline water. *Journal of Experimental Biology* **207**, 1399-1413.
- Sayed, M. F. A., Kawanna, M. (2008). Optimum water temperature boosts the growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) free reared in a recycling system. *Aquaculture research* **39**, 670-672
- Schmidt-Nielsen, K. (1997). *Animal Physiology: Adaptation and Environment*. 5th edition. Cambridge University Press, New York. 612pp.
- Sokolova, I.M., Pörtner, H.O. (2002). Metabolic plasticity and critical temperatures for aerobic scope in eurythermal marine invertebrate (*Littorina saxatilis*, Gastropoda: Littorinidae) from different latitudes. *Journal of Experimental Biology* **206**, 195-207.
- Sokolova, I.M., Frederich, M., Bagwe, R., Lanning, G., Sukhotin, A.A. (2012). Energy homeostasis as an integrative tool for assessing limits of environmental stress tolerance in aquatic invertebrates. *Marine Environmental Research* **79**, 1-15
- Somero, G.N. (2004). Adaptation of enzymes to temperature: searching for basic "strategies". *Comparative Biochemistry and Physiology* **100**, 69-73
- Sommer, A., Klein, B., Pörtner, H.O- (1997). Temperature induced anaerobiosis in two populations of polychaete worm *Arenicola marina* (L.). *Journal of Comparative Physiology B* **167**, 25-35.
- Spaas, J.T. (1959). Contribution to the biology of some cultivated Cichlidae: temperature, acclimation, lethal limits and resistance in three Cichlidae. *Biol. Jarbubuch. Dononaea*, **27**, 21-38
- Sparks, R.T., Shepherd, B.S., Ron, B., Richman, N.H., Riley, L.G., Iwama, G.K., Hirano, T., Grau, E.G. (2003). Effects of environmental salinity and 17 $\alpha$ -methyltestosterone on growth and oxygen consumption in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Comparative Biochemistry and Physiology B* **136**, 657-665.
- Stauffer, J.R. Jr (1986). Effects of salinity on preferred and lethal temperatures of the mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Water Resources Bulletin* **22**, 205-208.

- Starling, S. M., Bruckler, R. M., Strawn, R. K., Neill, W. H. (1995). Predicting the lethality of fluctuating low temperatures to blue tilapia. *Transactions of American Fisheries Society* **92**, 317-318
- Stevens, E.D. & Fry F.E. (1970) The rate of thermal exchange in a teleost, *Tilapia mossambica*. *Canadian Journal of Zoology* **52**,1137-1145
- Suarez, R. K., Mommsen, T.P. (1997). Gluconeogenesis in teleost fishes. *Canadian Journal of Zoology* **65**, 1869-1882.
- Suresh, A.V., Lin, C.K. (1992). Tilapia culture in saline waters: a review. *Aquaculture* **106**, 201-226.
- Swanson, C. (1998). Interactive effects of salinity on metabolic rate activity, growth and osmoregulation in the euryhaline milkfish (*Chanos chanos*). *Journal of Experimental Biology* **201**, 3355-3366.
- Tierney, K.B. (2011). Swimming performance assessment in fishes. *Journal of Visualized Experiments* **51**, 2-4.
- Tolley, S.G., Torres, J.J. (2002). Energetics of swimming in juvenile common snook, *Centropomus undecimlalis*. *Environmental Biology of fishes* **63**, 427-233
- Trewavas, E. (1982). Tilapias: Taxonomy and speciation. p 3-15. En: Pullin y R.H. Lowe-McConnell, editores. The biology and culture of tilapias, ICLARM conference proceedings 7. International center for living aquatic resources management, Manila, Philippines.
- Trewavas, E. (1983). Tilapine Fishes of the Genera *Sarotherodon*, *Oreochromis* and *Danakilia*. En: Costa-Pierce, B.A. y Doyle, R.W. editors. 1997 Tilapia Aquaculture in the Americas, Vol. 1. World Aquaculture Society, Balton Rouge, Louisiana, United States.
- Tsai, C.L., Wang, L.H. (1997). Effects of thermal acclimation on the neurotransmitters, serotonin and neonepinephrine in the discrete brain of male and female tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Neuroscience letters* **223**,77-80.
- Tukey, J.W. (1977). Exploratory Data Analysis. Addison-Wesley, Reading, Massachusetts.
- Uchida, K., Kaneko, T., Miyakazi, H., Hasegawa, S., Hirano, T. (2000). Excellent salinity resistance of Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*): elevated chloride cell activity in the branchial and opercular epithelia of the fish adapted to concentrated seawater. *Zoological Science* **17**, 149-160.
- Uchida, K., Kaneko, T., Yamauchi, K., Ogasawara, T., Hirano, T. (1997). Reduced hypoosmoregulatory ability and alteration in gill chloride cell distribution in mature chum salmon (*Onchorhynchus keta*) migrating for spawning. *Marine Biology* **129**, 247-253.
- UMDI. Proyectos de investigación, Red para el estudio de los efectos de la temperatura y el oxígeno disuelto en organismos marinos de importancia ecológica, pesquera y acuícola (TEMPOXMAR), 21 de Julio 2014. Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación, Facultad de Ciencias, UNAM, Sisal, Yucatan, México. 13p.
- Watanabe, W.O., Ellingson, L.J., Olla, B.L., Ernst, D.H., Wicklund, R.I. (1990). Salinity tolerance and seawater survival vary ontogenetically in Florida red tilapia. *Aquaculture* **87**, 311-321.



- Watanabe, W.O., Ellingson, L.J., Wicklund, R.I., Olla, B.L. (1988). The effects of salinity on growth, food consumption and conversion in juvenile, monosex male Florida red tilapia. En: Pullin R.S.V., Bhukaswan, T., Tonguthai, K., Maclean, J.L., editors. The second International Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM Conference Proceedings 15, 623pp. Department of Fisheries, Bangkok, Thailand, and International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines, p 515-523.
- Watanabe, W.O., Ernst, D.H., Chassar, M.P., Wicklund, R.I., Olla, B.L. (1993). The effects of temperature and salinity on growth and feed utilization of juvenile, sex reversed male Florida red tilapia cultured in a recirculating system. *Aquaculture* **112**, 309-320.
- Watanabe, W.O., Kuo, C.M., Huang, M.C. (1985). The ontogeny of salinity tolerance in the tilapias *Oreochromis aureus*, *O. niloticus*, and a *O. mossambicus* x *O. niloticus* hybrid, spawned and reared in freshwater. *Aquaculture* **47**, 353-367.
- Watanabe, W.O., Fitzsimmons, K., Yi, Y. (2006) Farming tilapia in saline water. En: Lim, C., Webster, C.D. (Eds), Tilapia: Biology, Culture and Nutrition. The Haworth Press, Inc.
- Wedemeyer, G.R., Meyer, F.P., Smith, L. (1976). Environmental Stress and Fish Diseases. THF Publications, Inc. Neptune City, New Jersey, p. 192.
- Woo, N.Y.S., Kelly, S.P. (1995). Effects of salinity and nutritional status on growth and metabolism of *Spams sarba* in closed seawater system. *Aquaculture* **135**, 229-238.
- Wood, C.M., Perry, S.F., Moon, T.W. (1985). Respiratory, circulatory, and metabolic adjustments to exercise in fish. En: Gilles R, ed. *Circulation, respiration, metabolism*. Berlin: Springer-Verlag 2-22.
- Yancey, P.H., (2005). Organic osmolytes as compatible, metabolic and counteracting cytoprotectants in high osmolarity and other stresses. *Journal of Experimental Biology* **208**, 2819-2830.
- Zale, A.V., Gregory, R.W. (1989). Effect of salinity on cold tolerance of juvenile blue tilapias. *Transactions of the American Fisheries Society* **118**, 718-720.
- Zheng, Z., Jin, J.C., Mingyun, L., Peifeng, B., Shuanglin, D. (2008). Effects of temperature and salinity on oxygen consumption and ammonia excretion of juvenile miiuy croaker, *Miichtys miiuy* (Basilewsky). *Aquaculture* **16**, 581-589.
- Zielinski S, Pörter HO- (1996). Energy metabolism and ATP free-energy change of the intertidal worm, *Sipunculus nudus*, below a critical temperature. *Journal of Comparative Physiology B* **166**, 492-500.

## Anexos

---

### 1. Dieta enriquecida

La dieta enriquecida utilizada se elaboró con la harina Nutripec como fuente principal de proteína, que tiene un alto valor nutricional. La composición de este alimento que para esta dieta se utilizó como base y sustitución de la harina de pescados 53% de proteína y 15% de grasa.

#### Ingredientes:

Harina de trigo 300g	Huevo 100g
Nutripec 1000g	Zanahoria 250gr
Gluten 125g	Chicharo 205gr
Soya 85g	Betabel 250gr
Semola 80g	Eisenia 2gr

#### Modo de preparación:

1. Cernir juntos todos los ingredientes secos y mezclarlos en la batidora
2. Verter el aceite y el huevo a la mezcla anterior y seguir batiendo
3. Rayar finamente la zanahoria y el betabel y mezclarlos con las harinas en la batidora.
4. Moler el chicharo en la licuadora y agregar a la mezcla
5. Agregar lentamente agua tibia en dado caso que esta sea necesario. La consistencia debe ser ligeramente arenosa.
6. Dejar reposar 10 min
7. Extruir
8. Dejar secar 24 horas a temperatura ambiente
9. Colocar en bolsas y refrigerar.

## 2. Resultados de experimentos de osmorregulación en Pargo UNAM, Temperatura de aclimatación 26°C y peso $135.9 \pm 23.3$ g

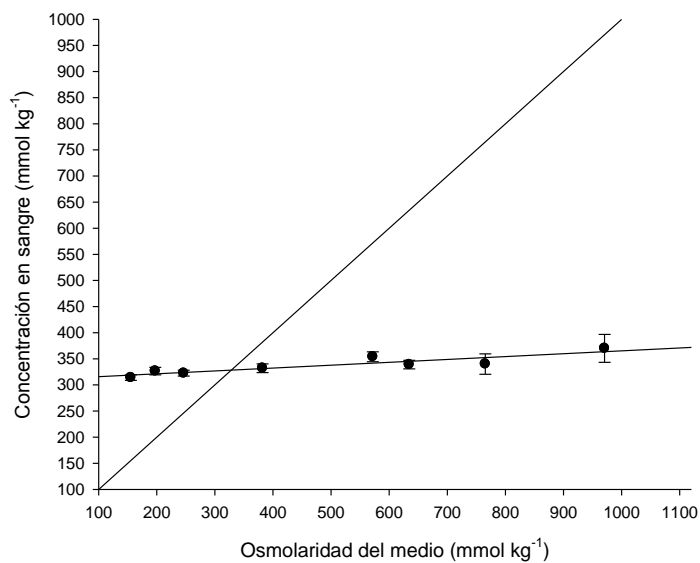


Figura 34. Relación de la concentración en sangre y la osmolaridad del medio externo en tilapia Pargo UNAM de un peso promedio de  $139.6 \pm 23.3$  g, aclimatadas a 26°C y a salinidades de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L<sup>-1</sup>, el punto isosmótico fue de 327 g L<sup>-1</sup>.

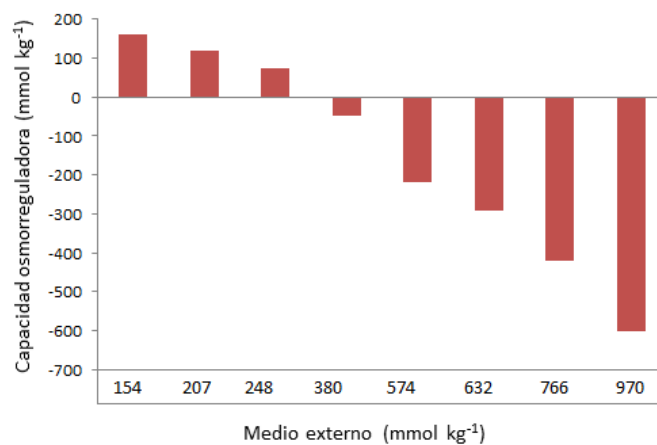
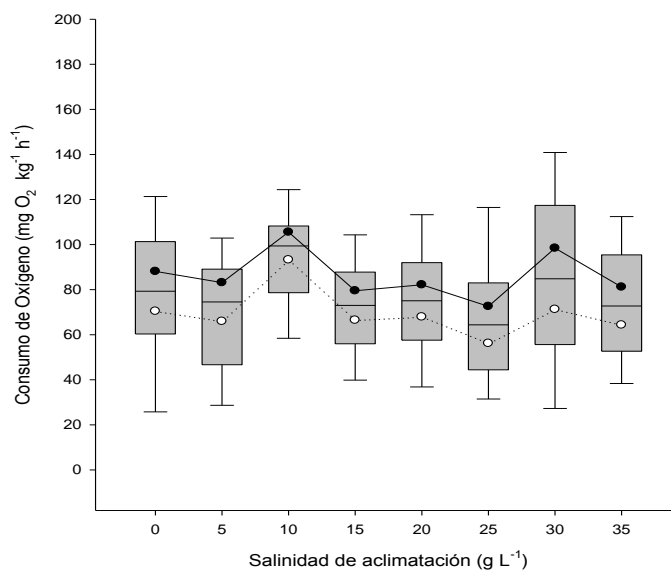
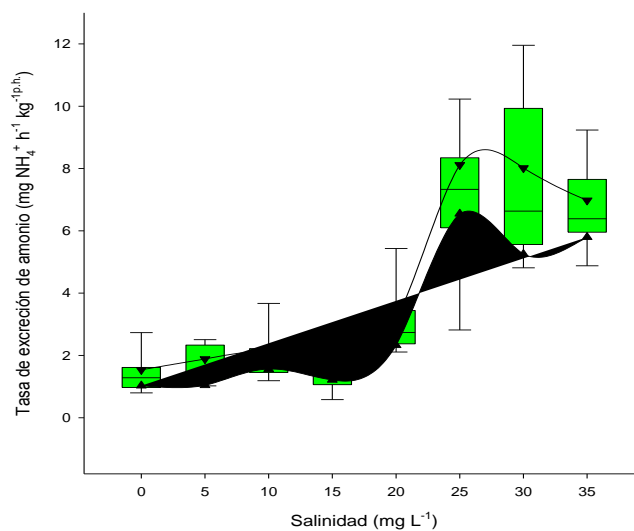


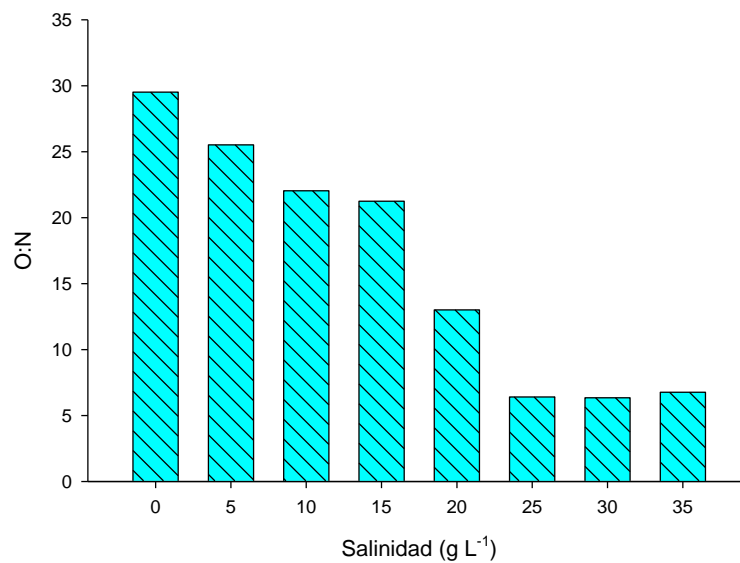
Figura 35. Capacidad osmorreguladora de la tilapia Pargo UNAM de un peso promedio de  $139.6 \pm 23.3$  g, aclimatadas a 26°C y a salinidades de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L<sup>-1</sup>



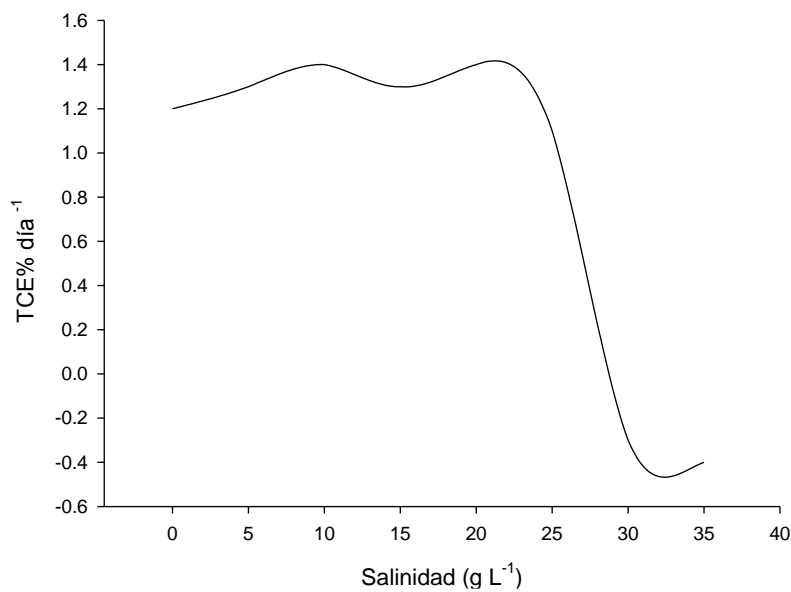
**Figura 36.** Tasa de consumo de oxígeno de la tilapia Pargo UNAM de un peso promedio de  $139.6 \pm 23.3$  g, aclimatadas a 26°C y a salinidades de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L<sup>-1</sup>



**Figura 37.** Tasa de excreción de amonio de la tilapia Pargo UNAM de un peso promedio de  $139.6 \pm 23.3$  g, aclimatadas a 26°C y a salinidades de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g L<sup>-1</sup>



**Figura 38. Razón atómica O:N de la tilapia Pargo UNAM de un peso promedio de  $139.6 \pm 23.3$  g, aclimatadas a  $26^{\circ}\text{C}$  y a salinidades de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y  $35 \text{ g L}^{-1}$**



**Figura 39. Tasa de crecimiento específica de la tilapia cultivada durante 28 días a una temperatura de  $26^{\circ}\text{C}$  y salinidades de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y  $35 \text{ g L}^{-1}$**