

**Centro de Investigación Científica y de  
Educación Superior de Ensenada**



**Comportamiento Termoregulador del Lenguado de  
California *Paralichthys californicus* (Ayres, 1859)**

**TESIS  
MAESTRIA EN CIENCIAS**

**JOSE LUIS ESQUER MENDEZ**

**ENSENADA BAJA CFA, MEXICO SEPTIEMBRE DE 2006**

TESIS DEFENDIDA POR  
**José Luis Esquer Mendez**  
Y APROBADA POR EL SIGUIENTE COMITÉ

---

Dra. Mónica Hernández Rodríguez  
*Director del Comité*

---

Dr. Luis Fernando Bückle Ramírez  
*Miembro del Comité*

---

Dr. Arturo Velázquez Ventura  
*Miembro del Comité*

---

Dr. Gorgonio Ruiz Campos  
*Miembro del Comité*

---

Dr. Alexei Fedorovich Licea Navarro  
*Coordinador del programa de  
posgrado con orientación en  
Acuicultura*

---

Dr. Raúl Ramón Castro Escamilla  
*Director de Estudios de Posgrado*

04 de septiembre de 2006

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DE EDUCACIÓN SUPERIOR  
DE ENSENADA**



---

**PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS  
CON ORIENTACIÓN EN ACUICULTURA**

---

**COMPORTAMIENTO TERMORREGULADOR DEL LENGUADO DE  
CALIFORNIA *Paralichthys californicus* (Ayes, 1859)**

**TESIS**

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de  
**MAESTRO EN CIENCIAS**

Presenta:

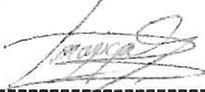
**JOSE LUIS ESQUER MENDEZ**

Ensenada, Baja California, México, Septiembre del 2006.

**RESUMEN** de la tesis de José Luis Esquer Mendez presentado como requisito parcial para la obtención del grado de **MAESTRO EN CIENCIAS** con orientación en Acuicultura. Ensenada, Baja California, México. Septiembre de 2006.

**COMPORTAMIENTO TERMORREGULADOR DEL LENGUADO DE CALIFORNIA (*Paralichthys californicus*) (Ayres 1859)**

Resumen aprobado por

  
-----  
Dra. Mónica Hernández Rodríguez

El presente estudio está dirigido al conocimiento de la termobiología de los juveniles de lenguado de California, debido a su importancia en la acuicultura y la pesca comercial y deportiva de la costa de California (EE.UU.) y Baja California, México.

El comportamiento termorregulador del lenguado de California se estudió en el intervalo térmico de aclimatación de 15 a 24 °C. La temperatura preferida de los juveniles de lenguado fue de 15.1 a 24.7 °C, con un preferendum final de 18.4 °C. Las temperaturas inferiores que los peces evitaron activamente cuando fueron aclimatados a 15, 18, 21 y 24 °C, fueron de 10.8 a 17.5 °C y las superiores de 26.2 a 29.1 °C.

Las temperaturas letales incipientes inferior (TLII) y superior (TLIS), proporcionan una medida de la tolerancia de los lenguados a los cambios climáticos y se midieron experimentalmente durante 96 horas para cada régimen térmico de aclimatación. La TLII se evaluó en un intervalo de 3.3 a 10 °C y la TLIS de 27 a 34 °C. Las respuestas de los organismos causadas por la exposición a temperaturas extremas fueron medidas con el tiempo medio de muerte (TL<sub>50</sub>). A bajas temperaturas la TLII se caracterizó con el estado de coma (EC) en 5.0 y 6.4 °C, a temperaturas altas, la TLIS se identificó con la muerte del 50% de los peces. Se aplicó el criterio de Kilgour *et al.* (1985) y el modelo de Spearman-Kärber con un nivel de confianza mayor al 90%, para predecir la TL<sub>50</sub>. La diferencia térmica de la TLIS con los valores obtenidos experimentalmente y los estimados con los modelos fue de 0.01 a 0.34 °C.

Se estudiaron las temperaturas críticas máxima y mínima (TCMax y TCMin), como una medida de estrés y de la capacidad que tiene la especie para adaptarse a las condiciones de variabilidad térmica ambiental.

La respuesta que caracterizó a la TCMax fue la pérdida del equilibrio (PE) debido a que fue la última respuesta de desorganización locomotora observada en los peces durante el estrés térmico agudo, la más constante y donde los organismos difícilmente escaparían de la muerte. La TCMax ocurrió en el intervalo de 32.4 a 37 °C.

La TCMin se identificó por el estado de coma (EC) debido a que la respuesta de PE fue muy irregular en las pruebas experimentales y sólo se observó en el 18% de los peces. La TCMin se observó en el intervalo térmico de 5.6 a 10 °C.

El polígono de respuestas térmicas de los juveniles de lenguado de California se construyó para una historia térmica de 15 a 24 °C, con las temperaturas preferidas y de evitación superior e inferior, con la TLII y TLIS y con la TCMin y TCMax. Esta representación gráfica muestra la amplitud de las áreas térmicas donde la especie muestra

respuestas de comportamiento o de compensación fisiológica, para asegurar su permanencia en un hábitat cuya variabilidad térmica es muy amplia.

El área de preferencia térmica del lenguado fue de  $121.5 (^{\circ}\text{C})^2$  y comprende las temperaturas preferidas, las temperaturas de evitación superior e inferior y el preferendum térmico final. Estos regímenes térmicos pueden ser aplicados para predecir la temperatura óptima de crecimiento, la temperatura letal incipiente superior última y el promedio máximo de temperatura semanal que no debe ser excedido en el hábitat de los organismos o en un cultivo.

El área de resistencia a la temperatura delimitada por las  $\text{TC}_{\text{Max}}$  y  $\text{TC}_{\text{Min}}$  fue de  $298.7 (^{\circ}\text{C})^2$ . Estas temperaturas permitieron estimar cuantitativamente el estrés térmico a corto plazo y proporcionaron un índice confiable de la capacidad adaptativa de la especie, que aunado a los límites de tolerancia térmica ( $242.8 (^{\circ}\text{C})^2$ ), se pudo estimar la plasticidad de la especie para permanecer en un hábitat térmicamente variable.

Las zonas de preferencia, tolerancia y resistencia térmica permitieron conocer la capacidad adaptativa y el grado de euritermalidad de la especie, así como los regímenes térmicos donde el rendimiento funcional se optimiza.

## ABSTRACT

### BEHAVIOR THERMOREGULATION OF THE CALIFORNIA HALIBUT *Paralichthys californicus* (Ayres 1859)

The present study is managed to the knowledge of the thermobiology of the juvenile California halibut, due to its importance in the aquaculture and the commercial and sport fishing of the coast of California (USA) and Baja California, Mexico. The thermoregulation behavior of the California halibut was studied in the acclimation interval from 15 to 24 °C. The preferred temperature of halibut juveniles was 15.1 to 24.7 °C, with a final preferendum of 18.4 °C. The low temperatures that the fish avoided actively when acclimated at 15, 18, 21 and 24 °C, were from 10.8 to 17.5 °C and the high temperature from 26.2 to 29.1 °C.

The low (LILT) and upper (UILT) incipient lethal temperatures, provide a measure of the halibuts tolerance towards the climatic changes and were measured experimentally during 96 hours for each thermal acclimation regime. The LILT was evaluated in an interval from 3.3 to 10 °C and the UILT from 27 to 34 °C. The responses of the organisms caused by the exposition to extreme temperatures were measured with the “half time of death” (TL<sub>50</sub>). The LILT was characterized with the coma state (CS) in 5.0 and 6.4 °C, at high temperatures, the UILT was identified with the death of 50% of the fish. The criteria of Kilgour *et al.* (1985) were applied and also the method of Spearman-Kärber with a confidence level greater than 90% to predict the TL<sub>50</sub>. The thermal difference of the UILT with the values obtained experimentally and those estimated by the models was from 0.01 to 0.34 °C.

The critical thermal maximum and minimum (CTMax and CTMin) were studied as a stress measure and the species capacity to adapt to the conditions of environmental thermal variability.

The response that characterized the CTMax was the loss of equilibrium (LE) because it was the last response of locomotive disorganization observed in the fish during the acute thermal stress, it was the most constant and where the organisms difficultly would escape death. The CTMax happened in the interval from 32.4 to 37 °C.

The CTMin was identified by the coma state (CS) because the response of LE was very irregular in the experimental tests and it was only observed in 18% of the fish. The CTMin was observed in the thermal interval from 5.6 to 10 °C.

The polygon of thermal responses of the juvenile California of halibut was built for a thermal history from 15 to 24 °C, with the preferred temperatures and upper and lower avoidance, with the UILT and LILT and with the CTMin and CTMax. This graphic

representation shows the width of the thermal areas where the species shows behavioral responses or physiologic compensation, to assure its permanency in a habitat whose thermal variability is very wide.

The thermal preference area of the halibut was of  $121.5\text{ }(^{\circ}\text{C})^2$  and comprises the preferred temperatures, the upper and lower avoided temperatures and the final thermal preferendum. These thermal regimens can be applied to predict the temperature of optimum growth, the upper ultimate incipient lethal temperature and the maximum weekly average temperature that should not be exceeded in the organism's habitat or in culture.

The resistance temperatures area limited by the CTMax and CTMin was of  $298.7\text{ }(^{\circ}\text{C})^2$ . These temperatures allowed to quantitatively estimate short term thermal stress, and provided a reliable index of the species adaptative capacity that along with thermal tolerance limits ( $242.8\text{ }(^{\circ}\text{C})^2$ ), allowed to estimate the plasticity of the species to remain thermically in a variable habitat.

The preference, tolerance and thermal resistance zones allowed to know the species adaptative capacity and grade of eurithermalitp, as well as the thermal regimes where the functional yield is optimized.

## DEDICATORIA

Con el más grande amor a mi esposa María Trinidad y a mis hijos  
María Luisa, José Luis y Tahiri Renee,  
Por prestarme el tiempo necesario para mis estudios.  
¡Mil Gracias!

A mis padres Manuel y María Monserrat †,  
Por su apoyo incondicional y eterna compañía.  
¡Gracias!

A mis hermanos,  
Por estar siempre en mi mente.  
¡Gracias!

A mis amigos y compañeros profesores de CESUES Navojoa,  
Por sus continuos correos y perennes palabras de aliento.  
¡Gracias!

## AGRADECIMIENTOS

Un eterno agradecimiento a la Dra. Mónica Hernández Rodríguez y al Dr. Luis Fernando Bückle Ramírez por compartir sin reservas sus grandes conocimientos teórico- prácticos, su valiosa dirección y por ser pilares en mi formación académica.

Con especial aprecio a los Doctores Benjamín Barón Sevilla, Juan Pablo Lazo C., Jorge Cazares Martínez y Miguel Ángel del Río, por proporcionarme las condiciones, material y equipo necesarios para la realización de la Tesis.

Con admiración y respeto, agradezco al Dr. Segovia por su paciente tolerancia.

Agradezco la amistad y el apoyo incondicional del Técnico Francisco Valenzuela Buriel, por la elaboración de graficas y figuras que integran la tesis.

A María Elena Corona y Bibiana, por su gran disposición de trabajo.

A mis compañeros y amigos: Julieta, Emmanuel, Diego, Francisco y Minerva por su valiosa compañía y apoyo en los momentos cruciales de mis estudios.

A Gil y Gaby, por todos los sueños compartidos.

Al Sr. Agustín Vega, por sus palabras de aliento.

Al Lic. Francisco Carlos Silva Toledo y Directivos del CESUES, por su continuo apoyo.

Al proyecto de investigación: Indicadores Biológicos de estrés en organismos acuáticos y su importancia en la acuicultura en el que se inserta esta Tesis, y a la Dra. Mónica Hernández Rodríguez responsable de su operación, por su dedicación, tolerancia y apoyo brindado para culminarlo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el apoyo económico otorgado a través del programa de becas.

A Ivonne Best, responsable del programa de Becas, por su incomparable sonrisa y carácter afable.

A todos los que he mencionado y a los que por omisión se me escapan, un sincero agradecimiento y un abrazo fraternal. Sé que siempre formaran parte de mi vida.

¡Por siempre, Gracias!

## CONTENIDO

	Página
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	1
<b>II. ANTECEDENTES.....</b>	8
<b>III. JUSTIFICACIÓN.....</b>	12
<b>IV. HIPOTESIS.....</b>	17
<b>V. OBJETIVOS.....</b>	17
<b>VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	18
VI.1. Obtención de crías de lenguado de California.....	18
VI.2. Mantenimiento de los peces.....	18
VI.3. Aclimatación de los peces.....	19
VI.4. Temperatura Preferida (TP).....	21
VI.5. Temperaturas de evitación inferior (TEI) y superior (TES).....	24
VI.6. Temperatura Crítica Máxima (TCMax).....	24
VI.7. Temperatura Crítica Mínima (TCMin).....	25
VI.8. Temperatura letal incipiente superior (TLIS).....	27
VI.9. Temperatura letal incipiente inferior (TLII).....	29
VI.10. Polígono de respuestas térmicas.....	32
VI.11. Procesamiento de datos.....	32
<b>VII. RESULTADOS.....</b>	34
VII.1. Temperatura preferida y de evitación inferior y superior.....	34
VII.2. Temperatura crítica máxima (TCMax).....	36
VII.3 Temperatura crítica mínima (TCMin).....	38
VII.4 Temperatura Letal Incipiente Superior (TLIS).....	41
VII.5 Temperatura Letal Incipiente Inferior (TLII).....	45
VII.5 Polígono de respuestas térmicas.....	47
<b>VIII. DISCUSIÓN.....</b>	50
<b>IX. CONCLUSIONES.....</b>	64
<b>X. LITERATURA CITADA.....</b>	67

## LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Polígono de respuestas térmicas de un organismo poiquilotermo. Tomado de Fry (1947) y modificado por Brett (1952). En el gráfico se incluye la zona de preferencia térmica propuesta por Giattina y Garton (1982).....	7
2	Distribución geográfica del lenguado de California, <i>P. californicus</i> . (Tomado de Kucas y Hassler, 1986).....	14
3	Juveniles de lenguado de California ( <i>P. californicus</i> ), utilizados en los estudios del comportamiento termorregulador.....	15
4	Diseño experimental utilizado en la aclimatación de los juveniles de lenguado de California.....	20
5	Gradiente térmico horizontal compuesto por 15 cámaras virtuales; estanque de acrílico de 365 x 31 x 26cm (a); estructura metálica para equilibrar el sistema (b); calentadores de titanio de 1000 watts (c); enfriador Neslab HX-100 (d); termógrafo (e); difusor de aire (f); termocuplas (g); impresora (h); controles de temperatura (i); flujómetro (j). Tomado de Bückle <i>et al.</i> (2003).....	22
6	Gradiente térmico horizontal utilizado en el estudio de la TLII de los juveniles de lenguado de California. Estanque de acrílico de 365 x 31 x 26cm (a); estructura metálica para equilibrar el sistema (b); enfriador Neslab HX-100 (c); enfriador Acualogic Inc. (d); medidor de temperatura (e); termocupla (f); difusor de aire (g); canastillas (h); bomba sumergible (i); flujómetro (j). Tomado de Bückle <i>et al.</i> (2003).....	32
7	Temperaturas preferidas (■) y preferendum final (↓) de los juveniles de <i>Paralichthys californicus</i> aclimatados a 15, 18, 21 y 24 °C. Línea de igualdad (—). (Media ± ES).....	36
8	Respuestas observadas en los juveniles de lenguado de California aclimatados a 15, 18, 21 y 24 °C en los experimentos de la temperatura crítica mínima. AEI + EM + PE (■); EC (▲). Media ± error estándar.....	40

## LISTA DE FIGURAS (continuación)

### Figura

### Página

- 9 Polígono de respuestas a la temperatura de los juveniles de lenguado de California aclimatados a 15, 18, 21 y 24 °C. Temperatura crítica máxima (▲); temperatura crítica mínima (+); temperatura letal incipiente superior (x); temperatura letal incipiente inferior (°); temperatura preferida (\*); temperatura de evitación inferior (■); temperatura de evitación superior (◆). El área sombreada corresponde a la zona de preferencia térmica.....

## LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
I	Parámetros fisicoquímicos, biométricos y porcentaje de sobrevivencia registrados durante la etapa de aclimatación de los juveniles de lenguado de California, <i>P. californicus</i> .	21
II	Parámetros biométricos de los peces utilizados en el estudio de la temperatura preferida y de evitación del lenguado de California. Media $\pm$ desviación estándar.	23
III	Parámetros biométricos, tasa de calentamiento (TCA) y de enfriamiento del agua (TEA) utilizados en el estudio de la temperatura crítica máxima y mínima en el lenguado de California. TA: temperatura de aclimatación. Media $\pm$ desviación estándar.	26
IV	Temperaturas experimentales a las cuales fueron expuestos los juveniles de lenguado, <i>P. californicus</i> , para el estudio de la temperatura letal incipiente superior (TLIS). TA, temperatura de aclimatación. Media $\pm$ desviación estándar.	28
V	Temperaturas experimentales y medidas biométricas de los juveniles de lenguado de California, utilizados en la evaluación de la temperatura letal incipiente inferior (TLII). TA, temperatura de aclimatación. Media $\pm$ desviación estándar.	31
VI	Temperatura preferida, de evitación superior e inferior de los juveniles de lenguado de California <i>P. californicus</i> , expuesta a temperaturas de aclimatación de 15, 18, 21 y 24 °C. Media $\pm$ desviación estándar. El superíndice marcado por diferentes letras indica las diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).	35
VII	Temperaturas de respuesta inducidas por el estrés térmico ascendente en la evaluación de la TCMax en los juveniles de lenguado de California. IAN; inicio de actividad de nado; EM; espasmos musculares; PE; pérdida del equilibrio. Media $\pm$ 1.96 desviación estándar. El superíndice marcado por diferentes letras indica las diferencias significativas ( $P < 0.01$ ).	38

## LISTA DE TABLAS (continuación)

Tabla		Página
VIII	Temperaturas de respuesta inducidas por el estrés térmico descendente en los juveniles de lenguado de California, utilizados en la evaluación de la TCM <sub>in</sub> . AEI+EM+PE, actividad espontánea intensa acompañada de espasmos musculares y ocasionalmente con la pérdida del equilibrio; EC, estado de coma por frío. Media $\pm$ 1.96 desviación estándar. El superíndice marcado por diferentes letras indica las diferencias significativas (P<0.01)	40
IX	Temperaturas experimentales y tiempo medio de muerte (min.) de los juveniles de lenguado de California. TA, temperatura de aclimatación.	43
X	Temperatura letal incipiente superior (TLIS) observada y estimada por el modelo de Kilgour <i>et al.</i> (1985) en juveniles de lenguado de California a diferentes temperaturas de aclimatación (TA).	44
XI	Temperatura letal incipiente superior (TLIS) observada y TL <sub>50</sub> estimada por el método de Spearman-Kärber en juveniles de lenguado de California a diferentes temperaturas de aclimatación (TA).	44
XII	Respuestas de los juveniles de lenguado de California durante el estudio de la TLII. TA, temperatura de aclimatación. EC, estado de coma. NC, no entran en coma. Media $\pm$ DS. * indica el porcentaje de mortalidad.	46
XIII	Resistencia térmica en diferentes especies de peces. TA, temperatura de aclimatación; TC <sub>Max</sub> , temperatura crítica máxima; TC <sub>Min</sub> , temperatura crítica mínima ( <i>Tomado de Hernández, 1998 y Tsuchida, 1995</i> ).	58

# COMPORTAMIENTO TERMORREGULADOR DEL LENGUADO DE CALIFORNIA

*Paralichthys californicus* (Ayres, 1859)

## I. INTRODUCCIÓN

Los cambios climáticos que ocasionan la variabilidad térmica tanto regional como global e impactan el hábitat de una especie, también inciden en su fisiología alterando su metabolismo, el cual contempla la suma de todas las reacciones químicas necesarias para la obtención de la energía requerida en la generación de trabajo, crecimiento, mantenimiento de la integridad estructural y en la reproducción (Randall *et al.*, 1998).

La temperatura es uno de los factores ambientales más importantes que regula la distribución de los organismos acuáticos. En la naturaleza, constituida por ambientes heterogéneos en espacio y tiempo, los animales están expuestos a cambios térmicos frecuentes que compensan a través de mecanismos bioquímicos, neuroendocrinos y de comportamiento (Anguilleta *et al.*, 2002). Thia-Eng y Paw (1989), mencionan que la tasa de reacción química se incrementa con la temperatura y que las respuestas de un organismo varían de una especie a otra. En relación a la tasa de reacción química y de los efectos del ambiente sobre los organismos, Fry (1947) los agrupó como: *Factores Letales* a aquéllos estresores que restringen el intervalo ambiental en el cual puede existir el organismo y donde más allá de este límite el metabolismo es destruido; *Factores Controladores y Limitantes* a los estresores que gobiernan la tasa metabólica y *Enmascaradores y Directrices* a aquéllos que son explotados por el organismo a través de la regulación orgánica para poder mantener su funcionamiento. La temperatura es considerada como un *Factor Letal, Controlador y Directriz* porque puede ocasionar la muerte, controla el estado

de activación molecular e influye en el comportamiento y fisiología de los organismos.

Los animales acuáticos en general son conocidos como poiquiloterms porque su temperatura corporal cambia de acuerdo a las variaciones del ambiente en el que viven, éstos a su vez son considerados ectoterms debido a que liberan rápidamente el calor ganado, por lo que su temperatura corporal depende en mayor grado de la temperatura del ambiente (Wilson, 1972).

La temperatura corporal es quizás la variable ecofisiológica más importante que afecta el rendimiento funcional de los poiquiloterms, prácticamente todos los aspectos del comportamiento y la fisiología son sensibles a las variaciones térmicas, incluyendo la locomoción, la función inmune, sensorial, la habilidad para el forrajeo, el cortejo y las tasas de alimentación y crecimiento (Anguilleta *et al.*, 2002).

En varios estudios se ha mencionado la importancia del intervalo térmico favorable, donde las actividades fisiológicas de los organismos se desarrollan óptimamente. Las diferentes estrategias y adaptaciones para lograr este objetivo, es a través del estudio del comportamiento termorregulador de los animales que consiste en seleccionar las temperaturas del agua más favorables según sus requerimientos fisiológicos, y del intercambio de calor entre la interfase superficie corporal-agua. Lo anterior explica el porque los peces son capaces de detectar pequeñas variaciones térmicas en el agua desde 0.03 °C (Despatie *et al.*, 2001). Las respuestas adaptativas que permiten a los organismos efectuar sus actividades normales dentro de un cierto intervalo térmico ambiental, solamente ocurren dentro de los límites impuestos por el genotipo, e influye en la distribución de las especies en los cuerpos de agua y de manera distinta en cada etapa del ciclo de vida (Coutant, 1987). Cuando se trabaja con los gradientes térmicos, algunas de las

respuestas pueden estudiarse si se consideran los procesos de aclimatización o aclimatación que involucran la compensación térmica tanto en el medio natural como a nivel de laboratorio (Prosser y Nelson, 1981).

La selección de la temperatura del agua más favorable, donde la mayor parte de las funciones fisiológicas de los organismos se realizan con la máxima eficiencia, se puede conocer en el laboratorio mediante dos métodos, el gravitacional (usualmente en 24 horas) y el agudo, con duración de 2 horas o menos (Reynolds y Casterlin, 1979). Ambos métodos son derivados de la descripción bipartita hecha por Fry (1947), donde se expresa que los intervalos de temperatura más favorables se refieren a las temperaturas preferidas o al preferendum térmico final (PF), definido como “la temperatura alrededor de la cual todos los organismos se congregan al ser colocados en un gradiente de temperaturas, sin tomar en cuenta su historia térmica anterior” y “aquella donde la temperatura preferida es igual a la de aclimatación”.

En el polígono de respuestas térmicas de un organismo poiquilotermo se puede conocer el valor del preferendum final cuando la temperatura preferida y la “línea de igualdad” [una recta de 45° formada por todos los puntos en los cuales la temperatura de respuesta y la de aclimatación son iguales] se cruzan en un punto térmico. Los dos métodos utilizados para conocer el preferendum térmico se consideran igualmente válidos aportando resultados similares (Reynolds y Casterlin, 1979; Despatie *et al.*, 2001).

El comportamiento termorregulador de los organismos acuáticos es la expresión más obvia de compensación fisiológica sobre el funcionamiento locomotor y la actividad espontánea de los peces a las diferentes temperaturas de aclimatación. Fry (1947) y Brett (1956), en un modelo gráfico mostraron la relación entre las respuestas de los organismos a

la temperatura y definen las zonas de tolerancia y resistencia térmica, las cuales se expresan en  $^{\circ}\text{C}^2$  (Fig. 1).

En la zona de tolerancia se encuentra la temperatura preferida y las temperaturas de evitación superior e inferior, estas últimas donde los organismos pasan menos tiempo o que visitan con menos frecuencia (Giattina y Garton, 1982). Esta misma zona está limitada de la zona de resistencia por la temperatura letal incipiente inferior (TLII) y superior (TLIS) y por la temperatura letal incipiente superior última (TLISU), mismas que corresponden a las temperaturas a la cual una especie ya no puede ser aclimatada en términos de su tolerancia térmica. Los límites de la TLII y la TLIS están representados por la temperatura letal media ( $\text{TL}_{50}$ ), donde el 50% de una población teóricamente puede sobrevivir indefinidamente. Dentro de la zona de tolerancia, la sobrevivencia no está limitada directamente por la temperatura (Reynolds y Casterlin, 1979).

La zona de resistencia está representada por la temperatura crítica máxima (TCMax) y mínima (TCMin) que caracteriza el límite de exposición térmica al cual el organismo puede estar expuesto, fuera de este límite la muerte es inmediata. La mortalidad de los organismos en esta zona mantiene una estrecha relación entre la temperatura y el tiempo de exposición, motivo por el cual las temperaturas críticas son utilizadas como indicadores de estrés y adaptación de los organismos poiquiloterms (Paladino *et al.*, 1980). La TCMax se puede observar en diferentes temperaturas y es característico de cada especie, sin embargo, las respuestas son similares en los diferentes grupos, por lo que representa un índice estándar para la evaluación de los requerimientos térmicos y fisiológicos de un organismo (Lutterschmidt y Hutchison, 1997).

La TCMax es una medida aguda de la resistencia térmica usualmente determinada por

el calentamiento del agua a una tasa de 1 °C/min hasta observar que la actividad locomotora empieza a desorganizarse, seguida de los espasmos musculares y la pérdida del equilibrio, donde los organismos no son capaces de escapar de la condición que los llevará rápidamente a la muerte. El tiempo de sobrevivencia más allá de la TCM<sub>ax</sub> es prácticamente nulo, y es un valor aproximadamente paralelo a la TLIS que puede ser tomado como referencia para estimar a corto plazo el tiempo medio de muerte de los organismos, mediante el uso de modelos matemáticos que hacen que el estudio de las temperaturas letales sea más económico y eficiente (Reynolds y Casterlin, 1979; Kilgour *et al.*, 1985).

El conocimiento de las respuestas de comportamiento termorregulador de un organismo poiquilotermo, conlleva a establecer el intervalo térmico óptimo donde los procesos fisiológicos son más eficientes, además permite establecer las condiciones y seleccionar los lugares apropiados para la acuicultura y la conservación de diferentes especies (Fry, 1947; Brett, 1956).

Holt y Strawn (1976), sugieren que las temperaturas óptimas para crecimiento y la tolerancia térmica, pueden ayudar a la selección de las especies con fines acuiculturales. El estudio de las respuestas térmicas en los organismos poiquiloterms potencialmente cultivables, es una herramienta para la selección y evaluación de una especie, así como para establecer las condiciones óptimas de cultivo. Por lo anterior, es que en este trabajo se estudio el comportamiento termorregulador del lenguado de California, *Paralichthys californicus*, una especie de gran importancia para la acuicultura, pesca comercial y deportiva en el sur y centro de California EE.UU. y Baja California, México, para establecer la zona biocinética donde los procesos fisiológicos se efectúan óptimamente; la

zona de tolerancia donde el régimen térmico puede ser utilizado para la protección de la especie y que permite conocer el tiempo de permanencia de los organismos sin que se afecte el rendimiento funcional, la exposición térmica que puede ser tolerada a corto plazo, la letalidad y la sobrevivencia a una temperatura específica dependiendo del tiempo de exposición; en la zona de resistencia, el estrés, la capacidad de adaptación de la especie a su ambiente acuático y la sobrevivencia están estrechamente relacionados con la temperatura y el tiempo de exposición (Reynolds y Casterlin, 1979; Armour, 1991).

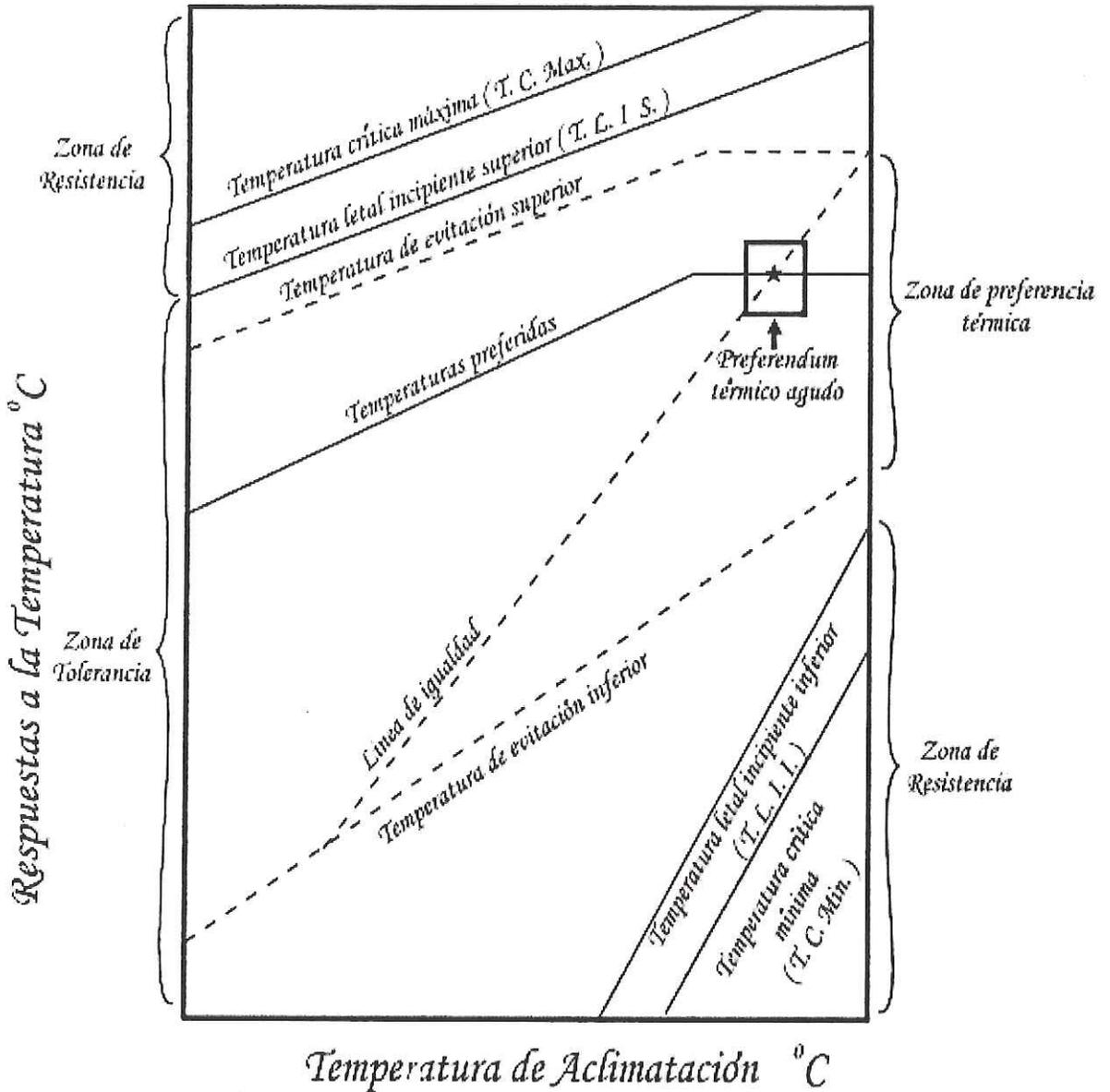


Figura 1. Polígono de respuestas térmicas de un organismo poiquilotermo. Tomado de Fry (1947) y modificado por Brett (1952). En el gráfico se incluye la zona de preferencia térmica propuesta por Giattina y Garton (1982).

## II. ANTECEDENTES

Desde hace varios años se está trabajando con el comportamiento termorregulador de varias especies acuáticas y sobre todo en peces. Las respuestas que se observan en los organismos son características de cada especie y pueden ser modificadas por factores tales como la edad, la disponibilidad de alimento, las estaciones del año, patología, la competencia intra e inter-específica, la calidad del agua, la intensidad luminosa, ubicación geográfica, entre otros (Giattina y Garton, 1982).

Los estudios de termorregulación se han enfocado en diferentes especies tales como el salmón del Atlántico (*Salmo salar*), la trucha (*Oncorhynchus mykiss*), el pez dorado (*Carassius auratus*), el bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) y la lobina (*Micropterus salmoides*), entre otros. Estos estudios se han realizado desde los años 40's por varios investigadores entre los cuales se encuentran Fry (1947), quién estudió los efectos del ambiente sobre la actividad de los organismos. Hart (1952), enfocó su trabajo al conocimiento de la variación geográfica sobre algunas características fisiológicas y morfológicas en los peces de agua dulce. Tyler (1966), estudió en peces del género *Chrosomus* la respuesta a las temperaturas letales y Kilgour *et al.* (1985), desarrollaron un modelo matemático para predecir la temperatura letal con base en los valores térmicos de la resistencia de los organismos, lo cual hace que el estudio de la letalidad por temperatura sea más económico, rápido y eficiente. Además los valores térmicos pueden ser utilizados en modelos de predicción de regímenes térmicos adecuados para la conservación de las especies y para su cultivo en sistemas de recirculación (Armour, 1991; Colt, 2006). Así mismo, se ha evaluado el posible uso de los efluentes térmicos para promover el crecimiento de los peces cultivados a nivel piloto y comercial (Silvester, 1975; Aston *et al.*,

1976).

Recientemente, Despatie *et al.* (2001) estudiaron en el bacalao del Atlántico los efectos del preferendum térmico final sobre la ración alimenticia, encontrando que la temperatura de 13.5 °C coincide con el óptimo para crecimiento y otros procesos fisiológicos. Hernández (1998), estudió la temperatura preferida de *Poecilia sphenops* y caracterizó el polígono de tolerancia térmica a temperaturas constantes y fluctuantes, indicando que se trata de una especie altamente euritérmica, que posee una gran tolerancia, resistencia y capacidad para adaptarse a las variaciones ambientales. En otros trabajos, Rajaguru y Ramachandran (2001), evaluaron la tolerancia térmica de algunos peces estuarinos, indicando que estos estudios pueden ser utilizados para seleccionar los sitios más adecuados para el cultivo de las especies.

La temperatura por si misma puede ocasionar la muerte del organismo, pero el nivel que determina su letalidad es dependiente de la interacción con otros factores, de las características genéticas individuales y de las condiciones ambientales a las que estuvo expuesto a lo largo de su vida. Por ejemplo, el oxígeno disuelto en el agua agrega estrés adicional en los salmónidos cuando permanecen en aguas calidas (Del Valle, 2001).

Chung (2001), mencionó que la salinidad y la temperatura de aclimatación son factores claves en la respuesta fisiológica de los organismos acuáticos tropicales. En este caso, el nivel de aclimatación tuvo mayor influencia en la tolerancia a la salinidad y el proceso de aclimatación a altas salinidades afectó más a los organismos tropicales que el descenso salino. Así mismo, el orden de sensibilidad de los peces expuestos a alta temperatura fue de los oligohalinos (agua dulce), los polihalinos (agua de mar) y los eurihalinos (amplios intervalos de salinidad). Por otro lado, Wenschel *et al.* (2004), encontraron que los

juveniles de *Lutjanus griseus* toleran un intervalo amplio de temperatura y salinidad característicos de hábitat estuarinos de aguas someras. La eficiencia en crecimiento de esta especie se incrementó con la temperatura hasta un nivel de máximo rendimiento funcional, sin que la salinidad ejerciera un efecto significativo.

Los estudios de termorregulación que se han realizado en peces planos, como en el género *Hippoglossus hippoglossus*, han determinado la temperatura óptima para el crecimiento y eficiencia alimentaria en diferentes tallas de peces, con lo cual pudieron observar que la temperatura óptima decrece con el incremento en la talla del pez (Björnsson y Tryggvadóttir, 1996). Estudios realizados en la misma especie por Aune *et al.* (1997), para conocer el efecto de la historia térmica sobre el crecimiento, coinciden con los resultados de Björnsson y Tryggvadóttir (1996). En el lenguado senegalés *Solea senegalensis*, propuesto como una opción para el desarrollo de la acuicultura marina, se conoce que el preferendum térmico final se encuentra en 20 °C (García-García *et al.*, 2004).

Así como en el lenguado senegalés, son pocos los estudios que han sido encaminados a conocer la biología básica del comportamiento termorregulador del lenguado de California, *P. californicus* (Dawbridge y Kent, 2001). La mayoría de los trabajos se han dirigido al estudio taxonómico, poblacional, de pesquerías, aspectos ecológicos y biología ambiental de la especie. Algunos de estos trabajos son los realizados por Kucas y Hassler (1986), en relación al ciclo de vida y requerimientos ambientales de invertebrados y peces del Pacífico Sur, en el cual se incluye al lenguado de California con una descripción de su taxonomía, morfología, distribución, historia de vida, pesquería deportiva y comercial, así como el papel ecológico que desempeñan en su hábitat las larvas, juveniles y adultos de esta especie. Ford y Chambers (1973), estudiaron la biología de la especie en el Sur de la bahía

de San Diego, California, así como los efectos que causan las descargas de las plantas generadoras de energía sobre el sistema lagunar-estuarino y en aguas profundas.

Por otra parte, Kramer (1990<sup>a</sup>) estudio el crecimiento, la mortalidad y el desplazamiento de los juveniles de lenguado en estos hábitat, encontrando que existe mayor mortalidad en aguas profundas de la bahía, y que los juveniles utilizan las áreas someras protegidas de los estuarios y lagunas costeras, como zonas de crianza durante el primer año de vida, donde las condiciones disminuyen los riesgos de mortalidad y favorecen su crecimiento por ser ambientes con abundante alimento. Gadomski y Caddell (1991), estudiaron los efectos de la temperatura sobre el crecimiento y sobrevivencia en los estadios de vida temprana de *P. californicus*. En esta especie, además de que la temperatura óptima cambia con la ontogenia el mayor crecimiento y sobrevivencia lo obtuvieron a 20 °C.

Otros estudios relacionados con el hábitat y funcionamiento de los juveniles de lenguado en relación a su medida corporal, temperatura del agua y salinidad, fueron realizados por Madon (2002), quien encontró que los juveniles de lenguado tienen problemas en el crecimiento y en el mantenimiento del balance de agua a salinidad de 8 mg l<sup>-1</sup> y 14 °C. Los juveniles de mayor tamaño fueron menos tolerantes a las variaciones térmicas y salinas. Innis en 1980, estudió el crecimiento de los juveniles de lenguado de California en relación a su temperatura preferida y a los efectos de efluentes termales. En este trabajo se destaca que los organismos pequeños tienen una mayor resistencia a la temperatura en comparación con los peces adultos, y caracteriza a los juveniles de lenguado como euritérmicos y a los subadultos y adultos como estenotérmicos. Madon (2002), en su trabajo de la relación de la respuesta ecofisiológica con la talla corporal en organismos de la misma especie, respaldó estas afirmaciones al obtener resultados similares. Dawbridge y

Kent (2001), mencionan que el lenguado de California está adaptado fisiológicamente a las condiciones estuarinas, y que los juveniles pueden tolerar temperaturas del agua entre 21.6 y 27.2 °C.

### III. JUSTIFICACIÓN

El lenguado de California se distribuye desde Bahía Magdalena Baja California Sur, hasta el río Quillayute, Washington EE.UU. (Fig. 2) (Kucas y Hassler, 1986). Es un pez plano que pertenece al Orden Pleuronectiformes, Familia Paralichthyidae, Género *Paralichthys* y a la especie *californicus* (Fig. 3), que en sus estadios de vida larvaria y juvenil habita en aguas someras de fondos blandos arenosos y fangosos, característicos de los sistemas estuarinos de la costa Oeste de los EE.UU. y de Baja California, México (California Sea Grant, 2004). En etapa subadulta y adulta, cuando alcanza tallas entre 15 y 20 cm de longitud total, migra hacia aguas oceánicas profundas (Kucas y Hassler, 1986). En este desplazamiento los organismos se exponen a la variabilidad térmica, salina y de oxígeno disuelto en el agua característicos de su hábitat transitorio y al cual pueden adaptarse, causándoles estrés en sus distintos estadios de vida (Madon, 2002).

Este pez es importante para la pesquería comercial y deportiva en el Sur y Centro de California. La reducción histórica en su desembarco comercial, de 2000 a 450 toneladas métricas anuales, ha impulsado el interés para su cultivo bajo condiciones controladas (California Sea Grant, 2004).

El lenguado de California *P. californicus*, es un excelente candidato para prácticas acuiculturales por las siguientes razones: es un pez de buen sabor y muypreciado en la alta cocina; transcurre su vida con el mínimo movimiento sobre el fondo marino, lo cual puede

reflejarse en altas tasas de conversión alimentaria y reducción en los costos de producción por consumo de alimento. Es un organismo que puede ser cultivado en altas densidades en doble capa en el fondo de un tanque. Mas de una década de trabajos en aspectos reproductivos en Redondo Beach, California, han permitido el dominio de la técnica para la obtención de crías de esta especie (California Sea Grant, 2004).

Aún con estos aspectos favorables para la crianza del lenguado de California, esta actividad se encuentra en etapa de desarrollo, que reflejan la necesidad de incrementar esfuerzos en la investigación de la biología básica que incluyan aspectos tales como el comportamiento termorregulador, los aspectos nutricionales y el desarrollo de tecnologías de producción que hagan realidad la factibilidad técnica y económica del cultivo de esta especie (Dawbridge y Kent, 2001).

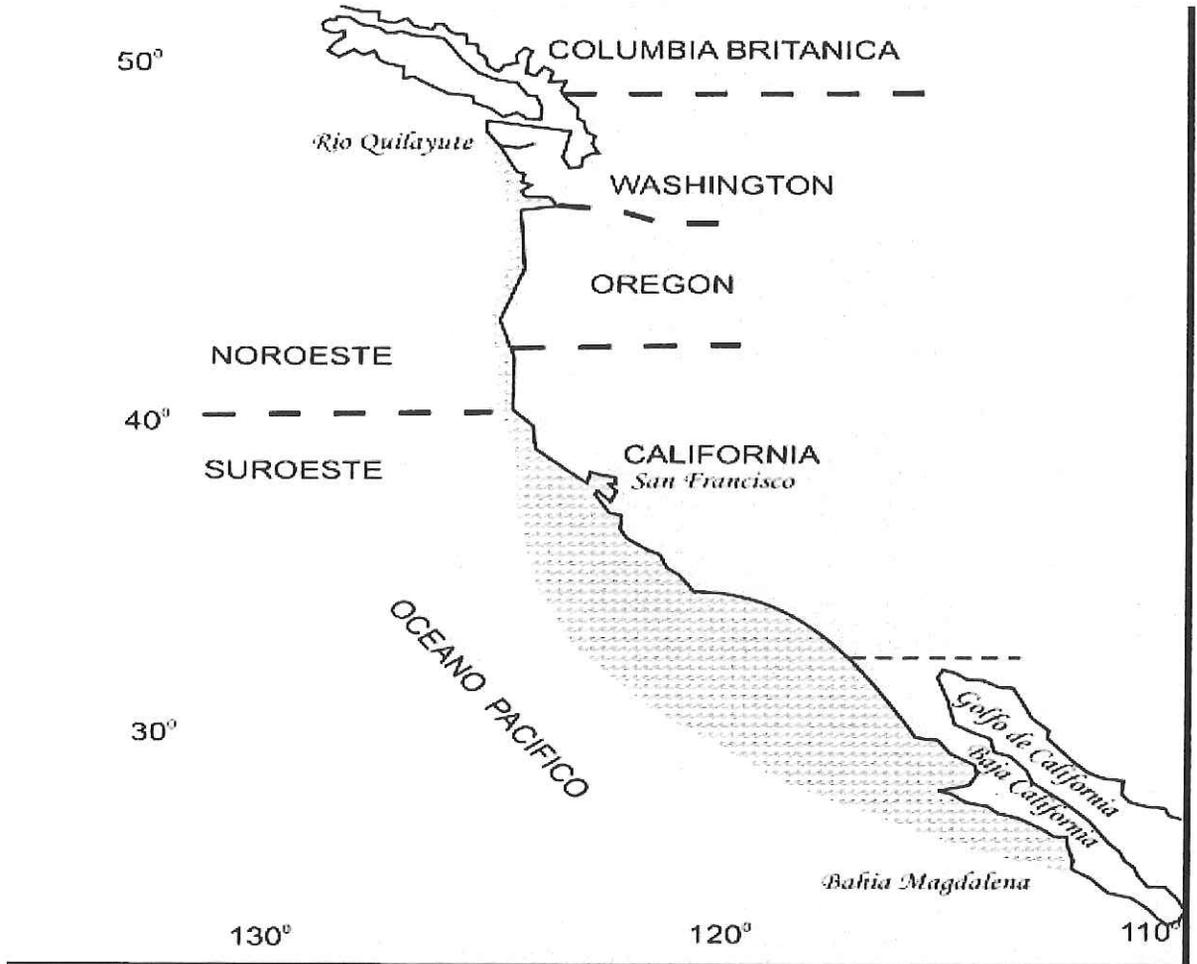


Figura 2. Distribución geográfica del lenguado de California, *P. californicus* (Tomado de Kucas y Hassler, 1986).

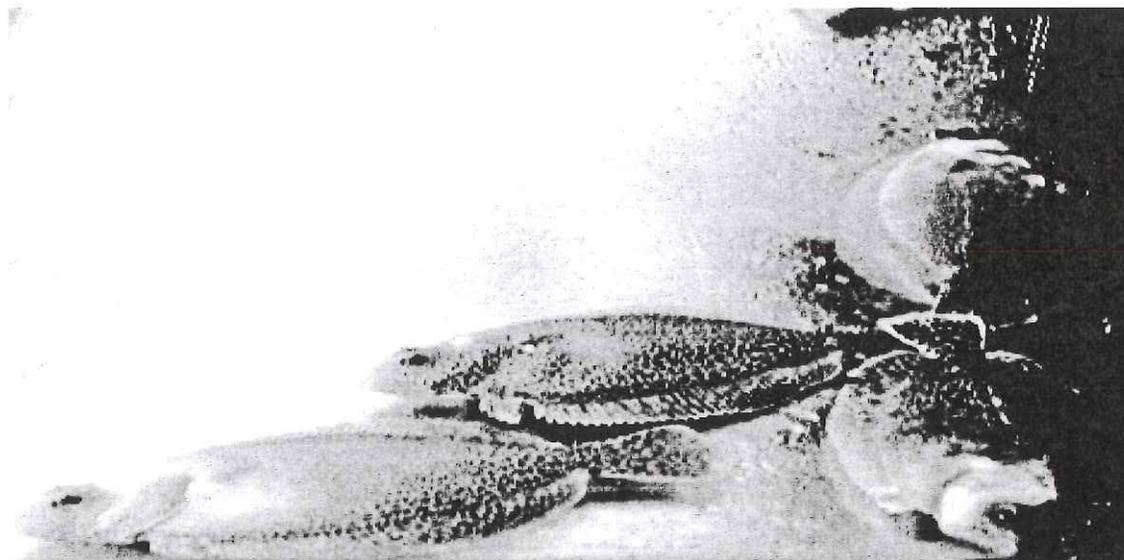


Figura 3. Juveniles de lenguado de California (*P. californicus*), utilizados en los estudios del comportamiento termorregulador.

Por lo anterior, es importante conocer los límites de tolerancia y resistencia térmica en el lenguado de California (*P. californicus*) considerando las variaciones térmicas que experimentan diaria y estacionalmente en su hábitat las cuales se pueden simular bajo condiciones de laboratorio, donde el trabajar con un solo factor de variación, como la temperatura, permite predecir las respuestas térmicas que ocurren naturalmente y que son el objetivo de estudio de este trabajo. Así mismo, establecer el intervalo térmico donde los procesos fisiológicos se optimizan y aplicarlo en el cultivo de esta especie. Además de establecer los límites térmicos letales y sub-letales y las temperaturas críticas que indican la capacidad adaptativa y de tolerancia que tendría la especie en su ambiente en etapa de vida temprana. Estos estudios aportarían elementos sobre la termobiología del comportamiento de los juveniles de lenguado de California para establecer los límites de tolerancia y resistencia térmica en su ambiente donde la perturbación del equilibrio térmico natural

causado tanto por factores naturales como por la acción del hombre podrían modificar sus límites térmicos. La aplicación de los estudios del comportamiento termorregulador del lenguado proporcionarían las estrategias necesarias para la toma de decisiones encaminadas al manejo de los juveniles del lenguado en las lagunas y estuarios de aguas someras, los cuales son utilizados por los organismos como áreas de crianza y protección contra depredadores; además de que son necesarias para el mantenimiento de la actividad pesquera comercial y deportiva.

#### IV. HIPOTESIS

Los estadios juveniles del lenguado de California (*P. californicus*) toleran un intervalo térmico amplio que lo caracterice como un organismo euritérmico.

#### V. OBJETIVOS

General:

- Conocer la tolerancia y la resistencia térmica de los juveniles de lenguado de California (*P. californicus*) a diferentes regímenes de temperatura de aclimatación constantes.

Específicos:

- Conocer la temperatura preferida y de evitación superior e inferior del lenguado de California.
- Conocer las diferentes respuestas de estrés térmico y determinar las temperaturas críticas máxima y mínima del lenguado.
- Establecer la temperatura letal incipiente superior e inferior para los juveniles de lenguado.
- Establecer la zona de preferencia, tolerancia y resistencia térmica de la especie al construir el modelo gráfico de las respuestas a la temperatura de un organismo poiquilotermo.

## VI. MATERIALES Y MÉTODOS

### VI.1. Obtención de crías de lenguado de California

Los huevecillos de lenguado de California se obtuvieron del Laboratorio Marino Hubbs de Bahía Misión, San Diego California, EE.UU., y transportados al Laboratorio de Acuicultura del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada Baja California, México (CICESE), donde fueron incubados hasta que eclosionaron las larvas, las cuales fueron mantenidas en tanques de crianza hasta que tuvieron un peso de  $0.43 \pm 0.3$  g.

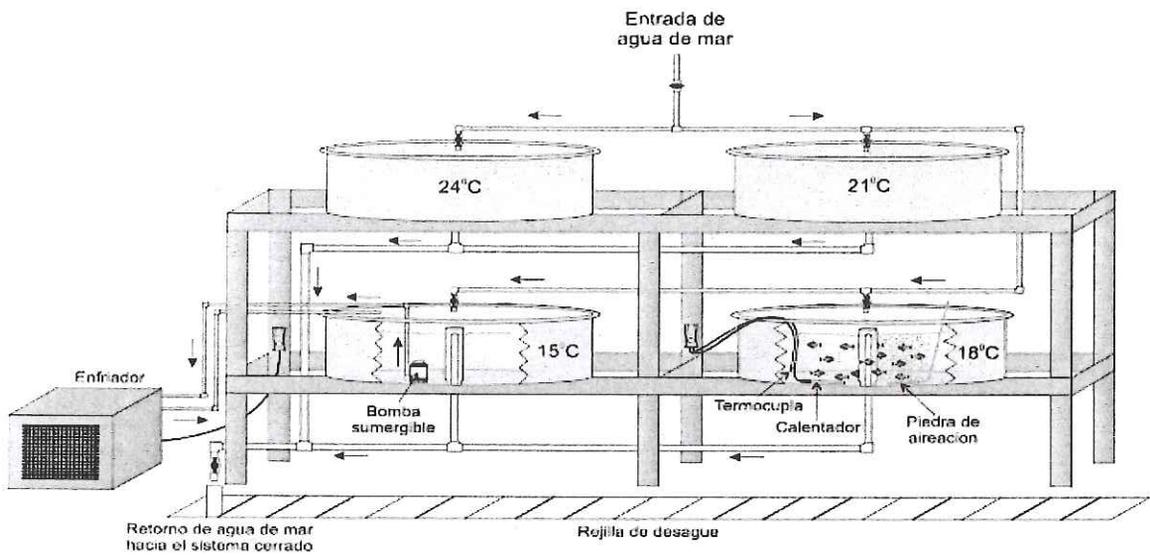
### VI.2. Mantenimiento de los peces.

Los juveniles de lenguado de California con un peso promedio de  $0.43 \pm 0.3$  g, fueron colocados en un tanque circular de fibra de vidrio con capacidad de 400 l, previamente lavado y desinfectado con hipoclorito de sodio comercial. En el tanque los animales permanecieron durante un mes antes de iniciar con la etapa de aclimatación y fueron alimentados *ad libitum* con una dieta comercial para trucha con 45% de proteína.

El suministro de agua al tanque fue provisto por un sistema de filtración biológico-mecánico diseñado en la propia institución y con el que se eliminaron los sólidos disueltos, los residuos de alimento y las heces de los peces. Diariamente se midió la temperatura y el oxígeno disuelto del agua, utilizando un termómetro de mercurio con un intervalo de -2 a 32 °C y un oxímetro YSI modelo 50B, respectivamente.

### VI.3. Aclimatación de los peces

Se utilizaron cuatro tanques de fibra de vidrio con un volumen de 206 l de agua y tasa de retención hidráulica de 12 h (Fig. 4). En cada uno de los estanques se colocaron 120 organismos con peso y talla promedio de  $0.96 \pm 0.04$ g y  $4.5 \pm 0.1$ cm, respectivamente. En los tanques se mantuvieron a las temperaturas de aclimatación de 15, 18, 21 y  $24 \pm 1$  °C mediante el incremento o reducción de la temperatura del agua a razón de 1°C/día, con un calentador de titanio de 1000 vatios para mantener las temperaturas de aclimatación de 18, 21 y 24 °C y un enfriador Aqualogic Inc. de 1/3 de Hp con intervalo de 10 a 20 °C para la aclimatación de 15 °C. En cada tanque se colocó una termocupla conectada a una caja electrónica de control de temperatura con una variación de  $\pm 1$  °C y aireación continua para evitar la heterogeneidad térmica y la disminución en la concentración de oxígeno disuelto en el agua. En estas temperaturas los organismos permanecieron un mes y fueron alimentados *ad libitum* tres veces al día, registrando la temperatura, el oxígeno disuelto del agua y la sobrevivencia en cada tanque (Tabla I). Una vez finalizado el tiempo de aclimatación, se evaluaron las temperaturas preferidas y de evitación superior e inferior mediante el método agudo, la temperatura crítica máxima y mínima, y la temperatura letal incipiente superior e inferior; antes de iniciar con los experimentos los organismos permanecieron 24h sin alimento.



Dibujo: Tec. Francisco Valenzuela Buriel

Figura 4. Diseño experimental utilizado en la aclimatación de los juveniles de lenguado de California.

Tabla I. Parámetros fisicoquímicos, biométricos y porcentaje de sobrevivencia registrados durante la etapa de aclimatación de los juveniles de lenguado de California, *P. californicus*.

Cobertura (peces/tanque)	Temperatura (°C)	Oxígeno (mg/l)	Longitud (cm)	Peso (g)	Sobrevivencia (%)
	15.2 ± 0.4	7.9 ± 0.3	4.7 ± 0.4	0.95 ± 0.3	99
	18.4 ± 0.6	7.5 ± 0.3	4.4 ± 0.5	0.91 ± 0.3	97
120	20.9 ± 0.2	7.1 ± 0.4	4.4 ± 0.6	1.02 ± 0.2	98
	24.0 ± 0.1	6.9 ± 0.4	4.6 ± 0.5	1.12 ± 0.3	98

#### VI.4. Temperatura Preferida (TP)

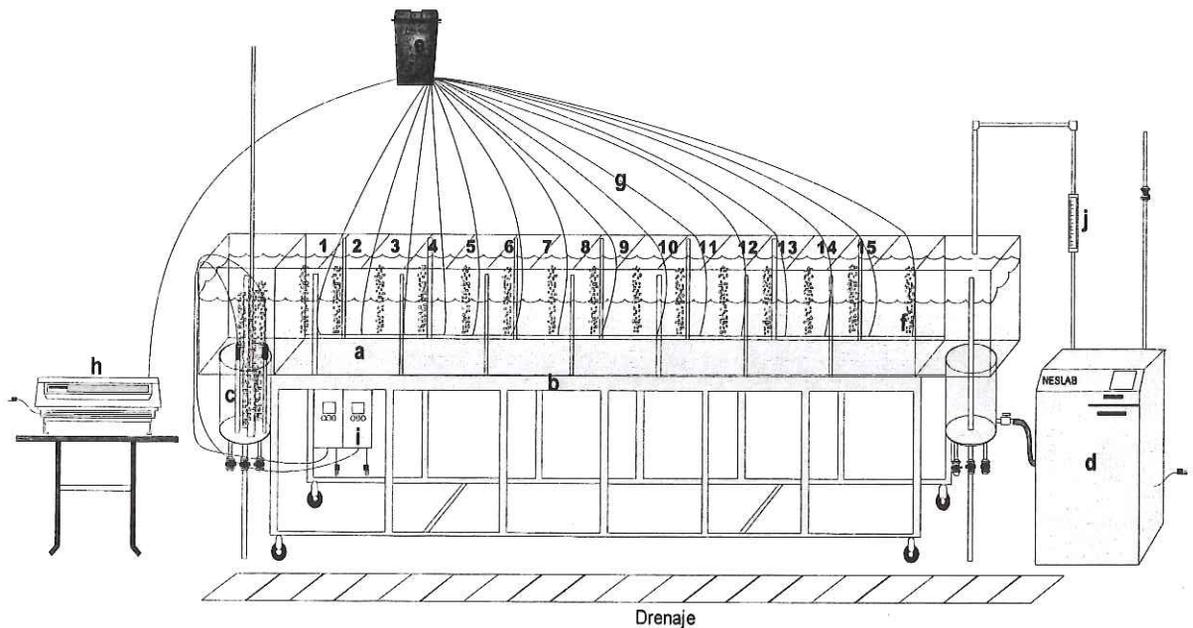
La temperatura preferida del lenguado de California se determinó mediante el método agudo, para lo cual se utilizó el equipo diseñado y construido por Bückle *et al.* (2003) en el Departamento de Acuicultura y en el laboratorio de instrumentación y electrónica del CICESE, el cual ha resultado altamente eficaz en las investigaciones de ecofisiología.

Se utilizó un estanque horizontal de acrílico transparente con 15 cámaras virtuales, con paredes de 1.1 cm de espesor, 365 cm de largo, 31 cm de ancho y 26 cm de alto con capacidad de 220 l de agua (Fig. 5).

El gradiente térmico se formó colocando en un extremo del estanque dos calentadores

de titanio de 1000 W cada uno, sumergidos en la columna de agua y dos termocuplas marca YSY 44106 los cuales se conectaron a un controlador electrónico para mantener la temperatura con una variación de  $\pm 1^\circ\text{C}$ .

El gradiente tuvo un intervalo de 10 a 30  $^\circ\text{C}$ , el cual se mantuvo al fijar la temperatura en la caja de control de los calentadores. En el otro extremo del estanque el agua fue enfriada por un intercambiador de calor marca Neslab modelo HX-100.



Dibujo: Tec. Francisco Valenzuela Buriel

Figura 5. Gradiente térmico horizontal compuesto por 15 cámaras virtuales; estanque de acrílico de 365 x 31 x 26cm (a); estructura metálica para equilibrar el sistema (b); calentadores de titanio de 1000 vatios (c); enfriador Neslab HX-100 (d); termógrafo (e); difusor de aire (f); termocuplas (g); impresora (h); controles de temperatura (i); flujómetro (j). Tomado de Bückle *et al.* (2003).

La temperatura de cada cámara se registró con un termógrafo marca SR 630 Stanford Research System con 15 termocuplas cuya información fue enviada a una impresora.

Para mantener una mezcla adecuada del agua fría y caliente, en cada extremo del gradiente se colocó una piedra de aireación además de suministrar aire a través de un difusor colocado longitudinalmente en el estanque.

Seis organismos provenientes de una temperatura de aclimatación se colocaron en la cámara del gradiente térmico que tenía la temperatura de aclimatación correspondiente. Se registró la temperatura y la ubicación de los peces en la cámara del gradiente térmico cada 10 minutos durante un periodo de dos horas. Los experimentos se efectuaron por duplicado para cada temperatura de aclimatación y al finalizar, todos los organismos fueron medidos y pesados (Tabla II).

Tabla II. Parámetros biométricos de los peces utilizados en el estudio de la temperatura preferida y de evitación del lenguado de California. ( $n = 12$  para cada temperatura de aclimatación). Media  $\pm$  desviación estándar.

Temperatura de aclimatación ( $^{\circ}\text{C}$ )	Peso (g)	Talla (cm)
$15.2 \pm 0.4$	$5.2 \pm 1.3$	$8.1 \pm 0.8$
$18.4 \pm 0.6$	$5.9 \pm 1.6$	$8.4 \pm 0.8$
$20.9 \pm 0.2$	$6.2 \pm 1.5$	$8.7 \pm 0.9$
$24.0 \pm 0.1$	$6.3 \pm 1.7$	$8.7 \pm 0.9$

### **VI.5. Temperatura de Evitación Inferior (TEI) y Superior (TES)**

Las temperaturas de evitación inferior y superior para cada temperatura de aclimatación, se obtuvieron a partir de los experimentos de temperatura preferida mediante el método agudo, las que se estimaron con la frecuencia relativa de las temperaturas que los organismos visitaron con menos frecuencia en el gradiente, es decir, aquellas que evitaron activamente (Fry, 1947; Reynolds y Casterlin 1979).

### **VI.6. Temperatura Crítica Máxima (TCMax)**

La temperatura crítica máxima se ha definido como el punto térmico en el cual la actividad locomotora del organismo empieza a desorganizarse y el animal pierde la capacidad de escapar a estas condiciones que lo llevarán rápidamente a la muerte. El estudio de la TCMax se realizó mediante el método estandarizado y modificado por Lowe y Vance (1955), que corresponde al incremento constante de la temperatura del agua generalmente a una tasa de  $1^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , hasta observar de acuerdo al criterio de Hernández (1988) una serie de respuestas de comportamiento caracterizada en los peces como aumento de actividad (AA) o inicio de la actividad de nado en el lenguado (IAN), los espasmos musculares (EM) y la pérdida del equilibrio (PE), momento en el cual finaliza la prueba (Lutterschmidt y Hutchinson, 1997).

Para el estudio de la TCMax, se colocaron cuatro peces en un acuario (50 x 26 x 30 cm) con 22 l de agua en el que se instaló previamente un calentador de titanio de 1000 vatios sujeto a una piedra de aireación de las mismas dimensiones para evitar la heterogeneidad térmica en la columna de agua y mantener una tasa de calentamiento constante. Todos los juveniles de lenguado de California (N = 12) permanecieron 20

minutos en esas condiciones y a su temperatura de aclimatación antes de iniciar el experimento, para disminuir el estrés ocasionado por el manejo. Se registró la temperatura del agua en la que dos observadores entrenados visualizaron las respuestas de IAN, EM y PE en los organismos. Se realizaron tres repeticiones para cada temperatura de aclimatación y al finalizar los experimentos, todos los peces fueron medidos, pesados y transferidos a los tanques de aclimatación para ser observados durante 72 h y evaluar con base en la sobrevivencia, el efecto del estrés térmico ascendente (Tabla III).

#### **VI.7. Temperatura Crítica Mínima (TCMin)**

La temperatura crítica mínima del lenguado de California se estudió utilizando un acuario de 40 x 20 x 25 cm con un volumen de cuatro litros de agua en el que se colocaron cuatro peces provenientes de cada temperatura de aclimatación, con tres repeticiones para cada condición experimental (N = 12). La temperatura del agua del acuario se mantuvo igual a la temperatura de aclimatación mediante un calentador de titanio de 1000 vatios. Los peces permanecieron 20 minutos en esas condiciones antes de iniciar la prueba para disminuir el estrés ocasionado por el manejo. Al iniciar el estudio de la TCMin, el acuario con los peces fue introducido rápidamente en otro acuario de mayor dimensión (50 x 26 x 30 cm) con un volumen de 22.5 l de agua conectado a un enfriador de recirculación marca NESLAB HX-100, el cual mantuvo la temperatura del agua en 1 °C. La tasa de enfriamiento del agua (TEA) fue de  $2.6 \pm 0.9$ ,  $2.1 \pm 0.9$ ,  $1.8 \pm 0.7$  y  $1.5 \pm 0.5$  °C min<sup>-1</sup> para las temperaturas de aclimatación de 15, 18, 21 y 24 °C, respectivamente (Tabla III). Se registró la temperatura en la que dos observadores entrenados caracterizaron las respuestas por estrés al frío, que correspondieron en el lenguado a una actividad espontánea intensa

acompañada de espasmos musculares y en algunos casos con la pérdida del equilibrio (AEI+EM+PE) y el estado de coma por frío (EC).

La TCM<sub>in</sub> del lenguado de California se caracterizó con el estado de coma al frío, respuesta que corresponde al momento en el que ocurrió el paro respiratorio y se determinó cuando los peces permanecieron inmóviles y se detuvo el movimiento opercular; en algunos organismos se pudo apreciar la respuesta de PE. Al presentarse el EC, los organismos fueron transferidos rápidamente a la temperatura de aclimatación y observados durante 72 horas para conocer el efecto del estrés térmico por bajas temperaturas, evaluado con el porcentaje de sobrevivencia.

Tabla III. Parámetros biométricos, tasa de calentamiento (TCA) y de enfriamiento del agua (TEA) utilizados en el estudio de la temperatura crítica máxima y mínima en el lenguado de California. TA: temperatura de aclimatación. Media  $\pm$  desviación estándar.

TA (°C)	Peso (g)	Talla (cm)	TCA (°C min <sup>-1</sup> )	TEA (°C min <sup>-1</sup> )
15.2 $\pm$ 0.4	3.3 $\pm$ 0.9	7.0 $\pm$ 0.6	0.96 $\pm$ 0.1	2.6 $\pm$ 0.9
18.4 $\pm$ 0.6	3.9 $\pm$ 1.4	7.4 $\pm$ 1.0	0.99 $\pm$ 0.1	2.1 $\pm$ 0.9
20.9 $\pm$ 0.2	4.3 $\pm$ 1.1	7.9 $\pm$ 0.6	1.01 $\pm$ 0.2	1.8 $\pm$ 0.7
24.0 $\pm$ 0.1	4.5 $\pm$ 1.8	7.6 $\pm$ 0.6	1.01 $\pm$ 0.1	1.5 $\pm$ 0.5

## VI.8. Temperatura Letal Incipiente Superior (TLIS)

El estudio de la temperatura letal incipiente superior se realizó mediante el método desarrollado originalmente por Fry *et al.* (1944) y con el criterio de Kilgour *et al.* (1985). Se colocaron seis peces procedentes de una temperatura de aclimatación en cada uno de los seis acuarios de vidrio de 40 l a distintas temperaturas experimentales. Se registró el tiempo en que fueron colocados los organismos en cada acuario y el momento en que se produjo la muerte de cada pez hasta obtener la temperatura experimental correspondiente a la temperatura letal media, es decir, donde el 50% de la muestra muere y el resto sobrevive indefinidamente en experimentos con una duración de 48 a 96 h. Todos los peces fueron medidos y pesados al finalizar la prueba.

La temperatura del agua de los acuarios considerada para cada régimen térmico de aclimatación, se estableció de acuerdo a la temperatura en la que se observó la respuesta de los espasmos musculares (EM) en los peces durante el estudio de la TCM<sub>max</sub>. La temperatura se mantuvo constante en cada acuario mediante la instalación de un calentador de titanio de 1000 vatios conectado a un control electrónico; el suministro de aire fue a través de una piedra difusora colocada en la base del calentador; y el flujo continuo de agua fue de 28 ml min<sup>-1</sup> a una tasa de retención hidráulica de 24 h, lo cual permitió mantener la temperatura constante del baño experimental y eliminar los desechos metabólicos producidos por los peces (Tabla IV).

Tabla IV. Temperaturas experimentales a las cuales fueron expuestos los juveniles de lenguado, *P. californicus*, para el estudio de la temperatura letal incipiente superior (TLIS). TA, temperatura de aclimatación. Media  $\pm$  desviación estándar.

TA(°C)	1	2	3	4	5	6	7	8
15.2 $\pm$ 0.4	26.9 $\pm$ 0.03	27.9 $\pm$ 0.1	28.9 $\pm$ 0.02	29.9 $\pm$ 0.06	30.9 $\pm$ 0.05	31.9 $\pm$ 0.06	----	----
18.4 $\pm$ 0.6	----	28.2 $\pm$ 0.04	28.8 $\pm$ 0.2	30 $\pm$ 0.09	30.9 $\pm$ 0.05	31.9 $\pm$ 0.08	32.9 $\pm$ 0.05	----
20.9 $\pm$ 0.2	----	----	28.9 $\pm$ 0.1	29.9 $\pm$ 0.07	30.9 $\pm$ 0.08	31.9 $\pm$ 0.04	32.9 $\pm$ 0.05	34 $\pm$ 0.02
24.0 $\pm$ 0.1	----	----	----	29.9 $\pm$ 0.04	30.9 $\pm$ 0.06	31.9 $\pm$ 0.08	32.7 $\pm$ 0.9	34 $\pm$ 0.03

Para estimar el valor de la TLIS, se utilizaron el modelo de Kilgour *et al.* (1985) y el método Spearman- Kerber (USEPA, 1986). El primero, utiliza el tiempo medio de muerte observado en cada una de las temperaturas experimentales, empleando la siguiente ecuación:

$$m(T) = K^{-1}(T-T_c)^n \quad (1)$$

Dónde  $m(T)$  es la tasa de morticidad obtenida con el inverso del tiempo de muerte;  $T$  representa a la temperatura experimental;  $T_c$  indica la TLIS;  $K$  es una constante y  $n$  es el parámetro de linealización que puede adoptar varios valores siendo  $n = 2$  el que proporciona una buena aproximación a la recta de predicción y facilita el proceso de cálculo (Kilgour *et al.*, 1985).

El método de Spearman-Kerber estima la concentración letal media en bioensayos de toxicidad y es aplicado por la Agencia de Protección al ambiente de los Estados Unidos (USEPA) bajo dos criterios; el primero se refiere a la exposición de los organismos a una concentración máxima (CCM, en exposición de 1h) y el segundo a la exposición a una concentración continua (CCC, en exposición de 4 días). Ambos criterios se utilizan desde 1985 para la evaluación de la calidad del agua en los EE.UU. en embalses naturales y en sistemas cerrados. Este programa fue elaborado por la Universidad de Montana U.S. y modificado por programadores de ERL-Duluth (Colt, 2006; USEPA, 1986).

En este estudio se aplicó el método de Spearman-Kerber para estimar la temperatura letal media ( $TL_{50}$ ) del lenguado de California, utilizando el criterio de exposición a la concentración continua con un periodo máximo de duración entre 48 y 96 horas.

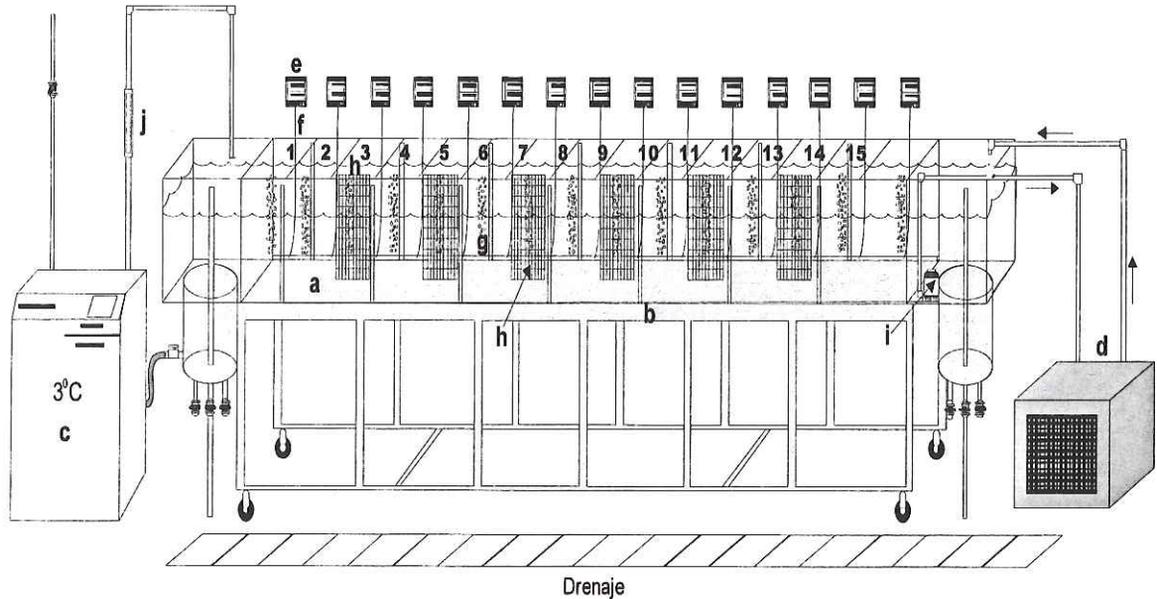
#### **VI.9. Temperatura Letal Incipiente Inferior (TLII)**

Para conocer la temperatura letal incipiente inferior (TLII) del lenguado de California, se utilizó un estanque construido con lámina de acrílico transparente, el cual fue descrito en los estudios de la temperatura preferida. Las temperaturas experimentales establecidas para cada régimen térmico de aclimatación se consideraron de acuerdo a la temperatura que ocasionó en los peces la respuesta del estado de coma al frío (EC) durante el estudio de la  $TC_{Min}$ . Las temperaturas experimentales del gradiente se mantuvieron estables en el estanque de acrílico utilizando un enfriador de agua marca Neslab, modelo HX-100 instalado en un extremo del gradiente horizontal y un enfriador Aqualogic Inc. de 1/3 de Hp con intervalo de 10 a 20 °C en el otro extremo; con difusión constante de aire suministrado longitudinalmente en el sistema. Los peces ( $n = 6$ ) fueron colocados en cada

temperatura experimental dentro de canastillas circulares de malla de plástico (24 cm de alto, 17 cm de diámetro y 1 cm de luz de malla) durante un periodo de exposición de 1h de acuerdo al criterio de Hernández (1998) (Tabla V). Transcurrido el periodo de exposición, los peces fueron trasladados rápidamente a su temperatura de aclimatación correspondiente para evaluar el efecto del estrés térmico por baja temperatura mediante el porcentaje de sobrevivencia. El EC se observó en las temperaturas experimentales mas bajas ubicadas en el gradiente térmico; esta respuesta fue caracterizada por el cese del movimiento opercular característico del estado de coma inducido por el frío (Fig. 6). Durante este tiempo se observaron en los peces las respuestas correspondientes a la rigidez corporal acompañada de espasmos musculares y en algunos casos con la pérdida del equilibrio. Una vez transcurrido el tiempo de exposición los organismos fueron transferidos inmediatamente a su temperatura de aclimatación y observados durante 24 horas para obtener la TLII, aquella en la que el 50% de los peces se recuperan del estado de coma. Al finalizar la prueba todos los organismos fueron medidos y pesados (Tabla V).

Tabla V. Temperaturas experimentales y medidas biométricas de los juveniles de lenguado de California, utilizados en la evaluación de la temperatura letal incipiente inferior (TLII). TA, temperatura de aclimatación. Media  $\pm$  desviación estándar.

TA ( $^{\circ}$ C)	1	2	3	4	5	6	Talla (cm)	Peso (g)
15.2 $\pm$ 0.4	10.9 $\pm$ 0.2	9.2 $\pm$ 0.1	7.6 $\pm$ 0.1	6.5 $\pm$ 0.1	5.0 $\pm$ 0.1	3.3 $\pm$ 0.1	7.7 $\pm$ 1.0	4.8 $\pm$ 1.5
18.4 $\pm$ 0.6	9.0 $\pm$ 0.2	7.2 $\pm$ 0.2	6.4 $\pm$ 0.1	5.1 $\pm$ 0.1	4.0 $\pm$ 0.2	----	8.7 $\pm$ 0.6	6.1 $\pm$ 1.0
20.9 $\pm$ 0.2	11.4 $\pm$ 0.1	9.7 $\pm$ 0.2	8.2 $\pm$ 0.2	6.4 $\pm$ 0.2	3.3 $\pm$ 0.06	----	8.5 $\pm$ 0.8	6.1 $\pm$ 2.1
24.0 $\pm$ 0.1	14.0 $\pm$ 0.1	11.5 $\pm$ 0.2	9.5 $\pm$ 0.1	8.1 $\pm$ 0.1	6.2 $\pm$ 0.1	----	8.7 $\pm$ 0.7	6.6 $\pm$ 1.7



Dibujo: Tec. Francisco Valenzuela Buriel

Fig. 6. Gradiente térmico horizontal utilizado en el estudio de la TLII de los juveniles de lenguado de California. Estanque de acrílico de 365 x 31 x 26cm (a); estructura metálica para equilibrar el sistema (b); enfriador Neslab HX-100 (c); enfriador Acualogic Inc. (d); medidor de temperatura (e); termocupla (f); difusor de aire (g); canastillas (h); bomba sumergible (i); flujómetro (j). Tomado de Bückle *et al.* (2003).

## VI.10. Polígono de respuestas térmicas

El polígono de respuestas térmicas para el lenguado de California se construyó con base en lo propuesto por Fry (1947) y Brett (1956), modificado por Giattina y Garton (1982). Se utilizaron las temperaturas de evitación inferior y superior, las temperaturas preferidas, las temperaturas críticas máxima y mínima y las letales incipiente superior e inferior para estimar las zonas de preferencia térmica, de tolerancia y resistencia, expresadas en ( $^{\circ}\text{C}$ )<sup>2</sup>.

## VI.11. Procesamiento de datos

Se aplicó un diseño de bloques completamente aleatorizado bifactorial para establecer la relación entre la temperatura de aclimatación y las respuestas de termorregulación de los

organismos (temperatura preferida, temperaturas de evitación superior e inferior, temperaturas letales superior e inferior y temperaturas críticas máxima y mínima).

Se aplicó una prueba de normalidad a los datos de cada tratamiento (respuesta a la temperatura) mediante la prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov, la cual se utiliza con muestras de cualquier tamaño y no requiere que las observaciones estén agrupadas. Al efectuarse el análisis de bondad de ajuste, la distribución normal de las observaciones fue negativa ( $P \leq 0.01$ ) por lo que se aplicó la prueba no paramétrica por rangos de Kruskal-Wallis y la de comparación múltiple de Tuckey que se utiliza en el diseño de bloques completamente aleatorizado. Todos los datos fueron procesados con el paquete estadístico Statistica para Windows Tulsa, OK (Daniel, 1999). Así mismo, se utilizó el programa de Excel en la aplicación del modelo de regresión lineal múltiple y de bondad de ajuste mediante el análisis de residuos para establecer la relación entre las respuestas de los peces en función de las temperaturas de aclimatación.

## VII. RESULTADOS

### VII.1. Temperatura preferida y de evitación inferior y superior

La temperatura preferida de los juveniles de lenguado de California, aclimatados a 15 y 24 °C fueron significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ), prefiriendo temperaturas de 15.1 y 24.7 °C con una diferencia de 0.1 y 0.7 °C con respecto a la temperatura de aclimatación. No existe diferencia significativa en la TP de los peces aclimatados a 18 y 21 °C, quienes seleccionaron 18.2 y 18.5 °C, respectivamente. Los organismos aclimatados a 21 °C gravitaron a una región de menor temperatura, a 2.5 °C de diferencia de su temperatura de aclimatación (Tabla VI) y dentro del intervalo en el que se encuentra el preferendum térmico final (PF) que correspondería a la temperatura en la cual los peces efectúan con mayor eficiencia los procesos fisiológicos. El PF se obtuvo a 18.4 °C, ésta temperatura se localiza en el punto de intersección entre la línea de igualdad y la temperatura preferida de los peces aclimatados a 15, 18, 21 y 24 °C (Fig. 7). Con el valor del PF se estimó la temperatura óptima para crecimiento de los juveniles del lenguado con la ecuación de regresión propuesta por Jobling (1981):

$$CO = \frac{PF + 0.53}{1.05} \quad (2)$$

Donde: CO, es el crecimiento óptimo y PF, es el preferendum final.

0.53 y 1.05 son constantes derivadas de la ecuación de regresión .

Al aplicar el valor del preferendum final en (2), se obtiene una temperatura óptima estimada para el crecimiento de los organismos de 18.02 °C, que difiere en 0.38 °C con el

PF obtenido experimentalmente en este trabajo.

Las temperaturas de evitación inferior fueron estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ ) en los peces aclimatados a 15 y 24 °C. Los lenguados evitaron activamente temperaturas del agua entre 10.8 y 17.5 °C, respectivamente. No hubo diferencias significativas en la respuesta de evitación inferior en los juveniles de lenguado aclimatados a 18 y 21 °C, los cuales evitaron temperaturas de  $13.2 \pm 0.4$  °C. Las diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en la temperatura de evitación superior sólo se encontraron en los peces aclimatados a 24 °C quienes evitaron temperaturas de 29.1 °C, mientras que a temperaturas de aclimatación de 15, 18 y 21 °C los organismos evitaron indistintamente temperaturas superiores a 26.2 °C (Tabla VI).

Tabla VI. Temperatura preferida y de evitación superior e inferior de los juveniles de lenguado de California *P. californicus*, expuesto a temperaturas de aclimatación de 15, 18, 21 y 24 °C. Media  $\pm$  desviación estándar. El superíndice marcado por diferentes letras indica las diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

Temperatura de aclimatación (°C)	Temperatura preferida (°C)	Temperatura de evitación inferior (°C)	Temperatura de evitación superior (°C)
15	15.1 $\pm$ 2.5 <sup>a</sup>	10.8 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	26.2 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>
18	18.2 $\pm$ 1.8 <sup>b</sup>	13.6 $\pm$ 0.5 <sup>b</sup>	26.3 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>
21	18.5 $\pm$ 2.3 <sup>b</sup>	12.8 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	26.2 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>
24	24.7 $\pm$ 2.1 <sup>c</sup>	17.5 $\pm$ 0.4 <sup>c</sup>	29.1 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>

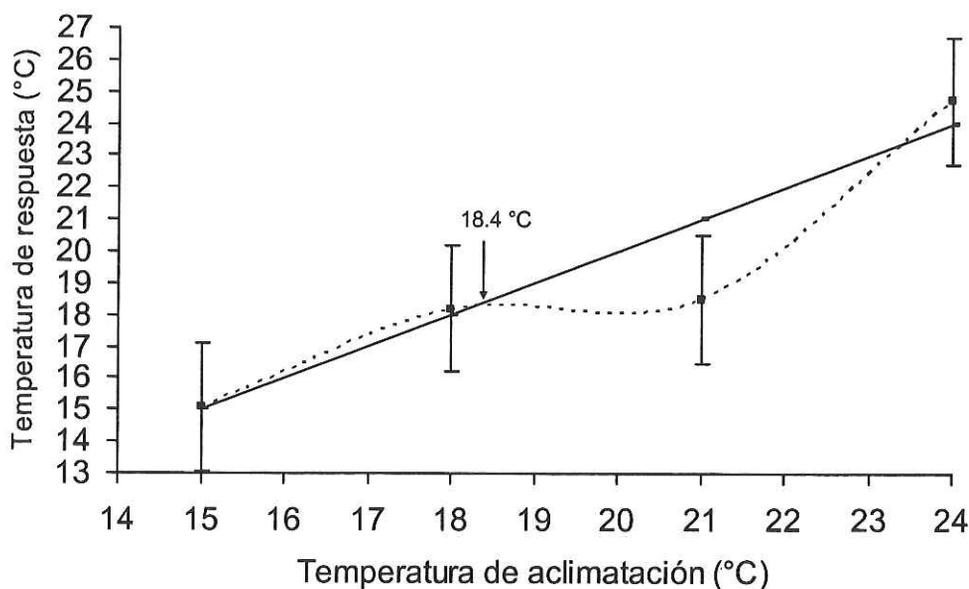


Figura 7. Temperaturas preferidas (■) y preferendum final (∇) de los juveniles de *Paralichthys californicus* aclimatados a 15, 18, 21 y 24 °C. Línea de igualdad (-). (Media ± ES).

## VII.2. Temperatura crítica máxima (TCMax)

La respuesta al estrés térmico ascendente en los juveniles de lenguado, correspondiente al inicio de actividad de nado (IAN) fue significativamente diferente ( $P < 0.01$ ) entre los organismos aclimatados a 15, 21 y 24 °C, los cuales iniciaron su actividad natatoria a 24.2, 26.6 y 30 °C con una diferencia térmica ascendente de 2.4 y 3.4 °C. No se observaron diferencias significativas en esta respuesta en los peces aclimatados en el intervalo térmico de 15 a 18 °C y de 18 a 21 °C. La respuesta de IAN se observó en el intervalo térmico de

24.2 a 30 °C. Los espasmos musculares (EM) de los organismos aclimatados a 24 °C fueron estadísticamente significativos ( $P < 0.01$ ) con una diferencia de 2.7 °C en relación a la temperatura de aclimatación de 21 °C. No hubo diferencias significativas en esta respuesta en los peces aclimatados a 15, 18 y 21 °C donde los espasmos musculares ocurrieron en el intervalo de 28.7 a 30 °C. El intervalo térmico en el que se observó la respuesta de la pérdida del equilibrio en los organismos fue de 32.4 a 37 °C y las diferencias fueron estadísticamente significativas ( $P < 0.01$ ) entre los grupos, excepto en los juveniles de lenguado aclimatados a 18 y 21 °C donde la respuesta de PE se observó en una media de 34.5 °C (Tabla VII).

Las temperaturas en la que se observaron las respuestas de IAN, EM y PE en los juveniles de lenguado de California, fueron analizados con el modelo de regresión lineal múltiple por mínimos cuadrados. Se obtuvo una relación positiva que explica el efecto de la temperatura de aclimatación sobre las respuestas (IAN, EM y PE) con un grado de intensidad ( $R^2$ ) superior a 91% en el inicio de actividad de nado, del 78% en los espasmos musculares y del 88% en la pérdida del equilibrio, siendo esta última respuesta la que caracteriza a la TCM<sub>Max</sub> de los juveniles de lenguado.

Tabla VII. Temperaturas de respuesta inducidas por el estrés térmico ascendente en la evaluación de la TCM<sub>ax</sub> en los juveniles de lenguado de California. IAN; inicio de actividad de nado; EM; espasmos musculares; PE; pérdida del equilibrio. Media  $\pm$  1.96 desviación estándar. El superíndice marcado por diferentes letras indica las diferencias significativas.

Temperatura de aclimatación (°C)	Temperatura de respuesta (°C)		
	IAN	EM	PE
15	24.2 <sup>a</sup>	28.7 <sup>a</sup>	32.4 <sup>a</sup>
18	26.0 <sup>ab</sup>	28.2 <sup>a</sup>	34.6 <sup>b</sup>
21	26.6 <sup>b</sup>	30.0 <sup>a</sup>	34.5 <sup>b</sup>
24	30.0 <sup>c</sup>	32.7 <sup>b</sup>	37.0 <sup>c</sup>

### VII.3 Temperatura crítica mínima (TCMin)

Las temperaturas que ocasionaron las respuestas de estrés al frío en los juveniles del lenguado de California y que corresponden a una actividad espontánea intensa acompañada de espasmos musculares y en algunas ocasiones de la pérdida del equilibrio (AEI+EM+PE), y el estado de coma por frío (EC) caracterizado cuando los peces dejaron de mover el opérculo, fueron estadísticamente significativas ( $P < 0.01$ ) en los peces aclimatados a 21 y 24 °C, en los cuales se observó la respuesta de AEI+EM+PE a temperaturas de 14.4 y 17.9 °C, respectivamente; con un incremento de 3.5 °C entre ambos grupos. Los organismos aclimatados a 15 y 18 °C muestran esta respuesta en el intervalo térmico de 9.8 a 11 °C, con una diferencia entre ambos grupos de 1.2 °C (Tabla VIII).

La respuesta caracterizada por el coma al frío (EC) que es el momento en que los peces dejan de mover el opérculo, fue estadísticamente significativa ( $P < 0.01$ ) en todos los grupos. El estado de coma se observó a temperaturas de 5.6, 6.5, 7.9 y 10 °C en los peces aclimatados a 15, 18, 21 y 24 °C respectivamente, con una diferencia térmica de 0.9, 1.4 y 2.1°C entre cada grupo, en orden ascendente a la temperatura de aclimatación (Tabla VIII). En este trabajo, el EC fue la respuesta considerada para caracterizar a la TCM<sub>in</sub> por dos razones; fue la última respuesta observada de desorganización locomotora que presentaron los peces por efecto de la exposición a bajas temperaturas, y debido a que la respuesta de PE fue un comportamiento muy irregular, que sólo se observó en el 18.7% de los organismos.

Las temperaturas en la que se observaron las respuestas de AEI+EM+PE y el EC en los juveniles de lenguado fueron analizados con el modelo de regresión lineal múltiple por mínimos cuadrados. La Fig. 8 muestra la relación positiva que explica la ocurrencia de las respuestas de AEI+EM+PE y EC con un coeficiente de correlación ( $R^2$ ) superior al 96%, el cual indica el grado de intensidad en la relación de la temperatura de aclimatación y las respuestas ocasionadas por estrés térmico descendente.

Tabla VIII. Temperaturas de respuesta inducidas por el estrés térmico descendente en los juveniles de lenguado de California, utilizados en la evaluación de la TCM<sub>in</sub>. AEI+EM+PE, actividad espontánea intensa acompañada de espasmos musculares y ocasionalmente con la pérdida del equilibrio; EC, estado de coma por frío. Media  $\pm$  1.96 desviación estándar. El superíndice marcado por diferentes letras indica las diferencias significativas ( $P < 0.01$ ).

Temperatura de aclimatación (°C)	AEI+EM+PE	EC
15	9.8 <sup>a</sup>	5.6 <sup>a</sup>
18	11.0 <sup>a</sup>	6.5 <sup>b</sup>
21	14.4 <sup>b</sup>	7.9 <sup>c</sup>
24	17.9 <sup>c</sup>	10.0 <sup>d</sup>

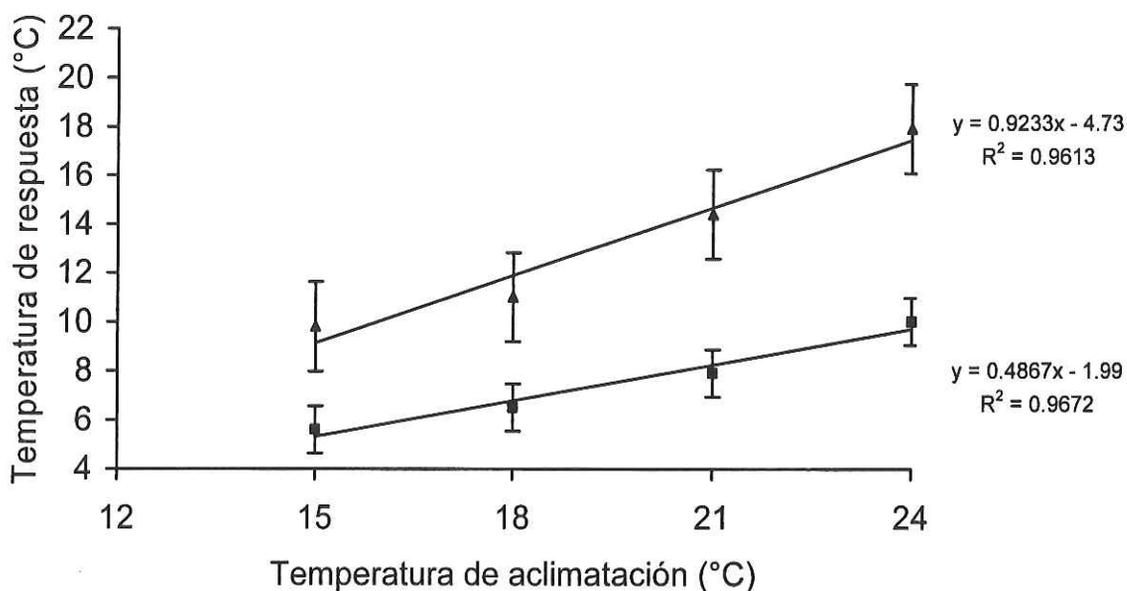


Figura 8. Respuestas observadas en los juveniles de lenguado de California aclimatados a 15, 18, 21 y 24 °C en los experimentos de la temperatura crítica mínima. AEI + EM + PE (■); EC (▲). Media  $\pm$  error estándar.

#### VII.4 Temperatura Letal Incipiente Superior (TLIS)

La TLIS observada en los juveniles de lenguado aclimatados a temperaturas de 15, 18, 21 y 24 °C fue obtenida durante un tiempo de exposición de 96 horas. Para los peces aclimatados a 15 °C la TLIS se obtuvo a 30 °C con un tiempo medio de muerte (TL<sub>50</sub>) de 33.8 h; en los peces que fueron expuestos a temperaturas menores a 30 °C se obtuvo el 100% de sobrevivencia, y a 31 °C la mortalidad ocurrió en menos de 41 minutos. En los organismos aclimatados a 18, 21 y 24 °C, la TLIS fue a 31 °C con un tiempo medio de muerte de 14.1, 19.2 y 19.5 h, respectivamente. La mortalidad a temperaturas inferiores a 31 °C fue nula y a 32 °C ocurrió en menos de 6 h (Tabla IX).

Los valores de mortalidad de los organismos expuestos a las temperaturas experimentales se analizaron con el modelo de Kilgour *et al.* (1985) y con el método de Spearman-Kärber (USEPA, 1986) para predecir la TLIS representada por la temperatura letal media (TL<sub>50</sub>). El análisis de regresión lineal entre la tasa de mortificidad y las temperaturas experimentales de cada temperatura de aclimatación para  $n = 2$  (Kilgour *et al.*, 1985) fue mayor al 93% en todos los casos, indicando un alto grado de confianza en el uso de las ecuaciones de regresión para la predicción de la TLIS. En el presente estudio el modelo predijo la TLIS con un nivel de error menor a 0.25 °C (Tabla X).

Con el método de Spearman-Kärber (USEPA, 1986) la temperatura letal media fue predicha a un nivel de confianza del 95%, con una diferencia de 0.01 a 0.34 °C en relación a la TLIS observada en cada temperatura experimental (Tabla XI).

Para estimar la temperatura letal incipiente superior última, que corresponde a la temperatura en la cual la tolerancia de los organismos no aumenta con el incremento en la temperatura de aclimatación se utilizó la ecuación propuesta por Jöbling (1981):

$$TLISU = 0.66 (PF) + 13.81; (r = 0.86) \quad (3)$$

Dónde, TLISU es la temperatura letal incipiente superior última y PF es el preferéndum térmico final.

Al sustituir el valor del PF (18.4°C) de los juveniles de lenguado en ( 3 ) y al considerar un nivel de confianza del 100% en la predicción, se obtiene una TLISU de 30.17 °C.

En el presente estudio el valor de la TLIS de 31 °C fue constante en las temperaturas de aclimatación de 18, 21 y 24 °C; por lo cual este punto térmico se podría considerar en este trabajo como la TLISU experimental. La diferencia entre la TLISU estimada por la ecuación ( 3 ) y la experimental es de 0.82 °C.

La importancia de obtener el valor de la TLISU experimental o estimada, se observa al aplicar este valor térmico en la ecuación propuesta por Coutant (1972) y por Brungs y Jones (1977) para estimar el promedio máximo de temperatura que no debe ser excedido a la semana en el hábitat o en el sistema de cultivo de los juveniles de lenguado de California:

$$PMTS = TO + \frac{TLISU - TO}{3} \quad (4)$$

Dónde PMTS, es el promedio máximo de temperatura semanal que no debe ser excedido; TO es la temperatura optima; TLISU es la temperatura letal incipiente superior última, que corresponde a la temperatura superior en donde la tolerancia no se incrementa con la

temperatura de aclimatación y 3 es una constante.

Al sustituir en ( 4 ), el valor del preferendum térmico final (18.4 °C) como el TO y la TLISU (31 °C), que se asume en este estudio, el promedio máximo de temperatura semanal que no debe ser excedido en el hábitat de los juveniles de lenguado o en el sistema de cultivo, es de 22.6 °C. El PMTS también se calculó con el valor térmico estimado con la ecuación (2) para el óptimo crecimiento (TO = 18.02 °C) y la TLISU de 30.17 °C estimada en la ecuación ( 3 ); obteniendo un valor similar con una diferencia de 0.53 °C.

Tabla IX. Tiempo medio de muerte (min) de los juveniles de lenguado de California expuestos a diferentes temperaturas experimentales. TA, temperatura de aclimatación.

TEMPERATURAS EXPERIMENTALES (°C)								
TA (°C)	27	28	29	30	31	32	33	34
15	0	0	0	2031	40	29	----	----
18	----	0	0	0	850	140	43	----
21	----	----	0	0	1152	238	85	36
24	----	----	----	0	1173	344	113	92

Tabla X. Temperatura letal incipiente superior (TLIS) observada y estimada por el modelo de Kilgour *et al.* (1985) en juveniles de lenguado de California a diferentes temperaturas de aclimatación (TA).

TA (°C)	TLIS observada (°C)	TLIS estimada (°C)	Ecuación de regresión	Error (°C)
15	30	29.76	$y = -2.4123 + 0.0818x$ $r = 0.93$	-0.24
18	31	31.01	$y = -1.8842 + 0.0617x$ $r = 0.99$	0.01
21	31	31.03	$y = -1.8542 + 0.0603x$ $r = 0.99$	0.03
24	31	30.98	$y = -0.792 + 0.0265x$ $r = 0.98$	-0.02

Tabla XI. Temperatura letal incipiente superior (TLIS) observada y TL<sub>50</sub> estimada por el método de Spearman-Kärber en juveniles de lenguado de California a diferentes temperaturas de aclimatación (TA).

TA (°C)	TLIS observada (°C)	TL <sub>50</sub> estimada (°C)	Nivel de confianza (%)	Diferencia (°C)
15	30	29.99	95	-0.01
18	31	31.30	95	0.30
21	31	30.99	95	-0.01
24	31	30.66	95	-0.34

### VII.5 Temperatura Letal Incipiente Inferior (TLII)

En este trabajo, el EC caracterizó a la TLII y se evaluó en los juveniles de lenguado de California de acuerdo al criterio de Hernández (1998), con un periodo de exposición a las bajas temperaturas de 1h. Lo anterior se debió a que el EC fue la última respuesta de desorganización locomotora observada durante la exposición de los lenguados a bajas temperaturas. En esta respuesta, los peces difícilmente escapan de la muerte a menos que sean retirados y regresados a una temperatura más cálida en un tiempo específico que hay que definir para cada especie. La temperatura letal representada por el tiempo medio de muerte de los organismos dependerá de la permanencia a la temperatura extrema en la que entraron en estado de coma.

El EC inducido en los peces aclimatados a 15 y 18 °C, ocurrió a  $5.0 \pm 0.1$  °C; en el intervalo térmico de 6 a 9 °C los organismos no entraron en coma. En los lenguados aclimatados a 21 y 24 °C, esta respuesta se observó a 6.4 °C y a temperatura de 7 a 10 °C los peces no entraron en coma. El 100% de los peces se recuperaron del EC con excepción de los organismos aclimatados a 15 °C que estuvieron expuestos a  $3.3 \pm 0.1$  °C y en los aclimatados a 21 °C expuestos a  $4.0 \pm 0.2$  °C, con una mortalidad del 33 y 66%, respectivamente (Tabla XII).

Tabla XII. Respuestas de los juveniles de lenguado de California durante el estudio de la TLII. TA, temperatura de aclimatación. EC, estado de coma. NC, no hay coma. Media  $\pm$  DS. El número encerrado en paréntesis indica el porcentaje de mortalidad.

TEMPERATURAS EXPERIMENTALES (°C)								
TA (°C)	3.3 $\pm$ 0.1	4.0 $\pm$ 0.2	5.0 $\pm$ 0.1	6.4 $\pm$ 0.2	7.2 $\pm$ 0.2	8.1 $\pm$ 0.1	9.0 $\pm$ 0.2	10 $\pm$ 0.2
15	EC (33)	EC	EC	NC	NC	NC		
18			EC	NC	NC	NC	NC	
21		EC (66)	EC	EC	NC	NC	NC	NC
24			EC	EC	NC	NC	NC	NC

## VII.6 Polígono de respuestas térmicas

El estudio de las respuestas a la temperatura en los juveniles de lenguado de California, se efectuó al considerar el régimen térmico de 15, 18, 21 y 24 °C, el cual está dentro del intervalo de variación térmica estacional de su hábitat.

Los valores de temperatura de las respuestas de los juveniles del lenguado, que se utilizaron en la construcción del polígono para delimitar las zonas de resistencia, de tolerancia y de preferencia térmica, fueron la pérdida del equilibrio y el estado de coma; la mortalidad del 50% de los peces ( $TL_{50}$ ) y las temperaturas en las que se observó una mayor presencia de los organismos y las que evitaron activamente en el gradiente térmico experimental.

La zona de resistencia térmica delimitada por las temperaturas críticas máxima y mínima fue de  $298.7 (^{\circ}\text{C})^2$ . En esta etapa de vida del lenguado de California, la tolerancia térmica delimitada por las temperaturas letales incipiente superior e inferior fue de  $242.8 (^{\circ}\text{C})^2$ ; mientras que el área de preferencia térmica, delimitada por las temperaturas de evitación superior e inferior, corresponde a  $121.5 (^{\circ}\text{C})^2$  (Fig. 9).

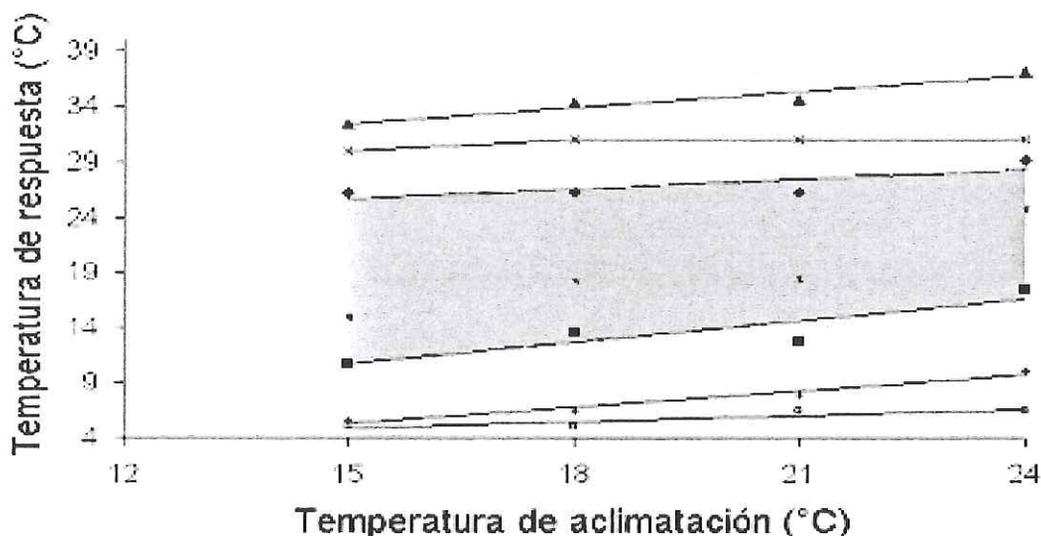


Figura 9. Polígono de respuestas a la temperatura de los juveniles de lenguado de California aclimatados a 15, 18, 21 y 24 °C. Temperatura crítica máxima (▲); temperatura crítica mínima (+); temperatura letal incipiente superior (x); temperatura letal incipiente inferior (°); temperatura preferida (\*); temperatura de evitación inferior (■); temperatura de evitación superior (◆). El área sombreada corresponde a la zona de preferencia térmica.

El efecto letal de la temperatura sobre los organismos ocurrió en el intervalo de 5 a 6.4 °C y de 30 a 31°C; evitaron temperaturas inferiores a 10.8 °C y superiores a 29.1 °C y tuvieron una preferencia térmica entre 15.1 a 24.7 °C, con un preferendum final de 18.4 °C. Los regimenes térmicos anteriores caracterizan a los juveniles de lenguado de California como un organismo mesotérmico, cuyo hábitat corresponde a la zona climática templada del norte, desde el río Quillayute hasta aguas subtropicales del centro de California EE.UU. y sur de Baja California, México. Esta caracterización se basa en el paradigma que Fry (1947) establece sobre la acción letal, controladora y directriz que la temperatura ejerce sobre los peces y cuyo intervalo de letalidad térmica ocurre de 0 a 31 °C, la que controla los

procesos metabólicos de 9 a 29 °C y la de preferencia térmica de 16 a 27 °C (Magnuson y Destasio, 1996).

La variación promedio anual de temperatura presente en el área de distribución de los juveniles de lenguado de California (14 a 24 °C) y las respuestas térmicas obtenidas experimentalmente en este trabajo, pueden ser utilizadas cuantitativamente para la acuicultura y en delimitar el hábitat térmico de la especie.

## VIII. DISCUSION

La temperatura es el factor ambiental más importante que afecta la distribución de los organismos acuáticos, determina sus tasas de actividad metabólica e influye en los procesos de reproducción, crecimiento y sobrevivencia (Prosser y Nelson, 1981). Además interviene en el movimiento espontáneo de los peces, al ocasionar que eviten temperaturas que pueden ser extremas para la realización de las actividades fisiológicas y, en estudios de laboratorio, origina que se reúnan en una región específica de un gradiente de temperatura hasta elegir un intervalo térmico donde el rendimiento funcional es más eficiente (Fry 1964).

Numerosos estudios en peces han relacionado el efecto de la temperatura con diferentes procesos fisiológicos implicados con la eficiencia de asimilación, la tasa metabólica, el crecimiento, la reproducción, el comportamiento termorregulador (temperaturas preferidas y de evitación), temperaturas críticas y letales, entre otros (Paladino *et al.*, 1980). Los estudios de la termobiología, comúnmente han empleado gradientes térmicos en tanques horizontales o verticales para demostrar que las especies seleccionan ciertos intervalos de temperatura y evitan otras; este proceso puede ser afectado por la edad, el sexo, la latitud, la época del año, el fotoperiodo, el estado nutricional y de salud, entre otros (Coutant 1987, Anguilleta *et al.*, 2002).

Los estudios de campo también han demostrado la selectividad térmica de los peces en su hábitat y evidencian la región ocupada por una especie en sus diferentes estadios del ciclo de vida, en respuesta a la localización de las temperaturas preferidas influenciada por los cambios estacionales y diarios de este factor (Coutant, 1987).

La mayoría de los estudios del efecto de la temperatura se han efectuado en especies como el salmón del Atlántico (*Salmo salar*), la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), el

pez dorado (*Carassius auratus*), el bagre de canal (*Ictalurus punctatus*), la lobina negra (*Micropterus salmoides*) y la mojarra de agallas azules (*Lepomis macrochirus*), entre otros (Paladino *et al.*, 1980).

El presente trabajo estuvo dirigido al estudio de la termobiología de los juveniles de lenguado de California, debido a que la mayoría de los estudios en esta especie, tratan sobre aspectos de su ciclo de vida y de su posición ecológica en los embalses costeros. Sin embargo, debido al uso de estos cuerpos de agua como lugares de crianza, por su importancia en la pesca comercial y deportiva, y por el asentamiento humano dentro de estos hábitat, es que la biología de esta especie ha sido estudiada con mayor énfasis (Allen, 1990).

El estudio sobre el preferendum térmico y las temperaturas de evitación en los juveniles de lenguado de California, se efectuó con un gradiente térmico horizontal que se ha empleado eficazmente en otras especies acuáticas (Bückerle *et al.*, 2003) y que resultó muy apropiado para los trabajos de termorregulación en estos peces, por las siguientes razones; es un pez plano béntico que en el estadio de juvenil se mantiene en reposo sobre el fondo de los embalses estuarinos de la línea costera a baja profundidad, con eventuales movimientos horizontales y mínimos desplazamientos hacia la superficie (Allen, 1990). De acuerdo con Tsuchida (1995), el equipo constituido por un gradiente térmico vertical es principalmente usado para especies pelágicas, aquellas que en el medio natural se desplazan verticalmente en la columna de agua.

El preferendum térmico se estudió en los juveniles de lenguado a temperaturas de aclimatación de 15, 18, 21 y 24 °C, las cuales se consideraron por estar dentro del intervalo de variabilidad térmica estacional y anual en el hábitat de esta especie, donde la

temperatura del agua en otoño, invierno y primavera es de 13 a 17 °C (Petersen *et al.*, 1986), mientras que en verano las aguas cercanas a la costa, comúnmente tienen temperaturas arriba de 20 °C y en aguas poco profundas puede llegar a los 24 °C (Kramer, 1990a).

En este estudio, las temperaturas preferidas oscilaron en el intervalo de 15.1 a 24.7 °C, lo cual está acorde a lo encontrado por Innis (1980), quien menciona que los juveniles de esta especie tienen un comportamiento euritérmico debido a que toleran un amplio intervalo de temperatura y prefieren entre 15 y 23 °C, con lo que proporcionan un tiempo suficiente para su aclimatización temporal, similar a la variabilidad climática que se presenta en su hábitat.

El preferendum térmico final del lenguado de California fue de 18.4 °C y constituye un indicador que refleja dos características en los peces, muestra la temperatura del ambiente en la que pueden ser encontrados los juveniles de lenguado durante su temporada activa (Ferguson, 1958) y, es la temperatura óptima donde se efectúan con mayor eficiencia los procesos fisiológicos del organismo (Fry, 1964).

De acuerdo a estos fundamentos, el PF (18.4 °C) obtenido en ese trabajo para los juveniles de lenguado, podría mostrar las zonas térmicas temporales y espaciales, alrededor de las cuales es muy probable encontrar la mayor abundancia de la especie en su hábitat transitorio, además de que podría utilizarse como un índice confiable en la toma de decisiones para proponer estrategias de manejo con base en la variabilidad térmica del ecosistema y por tanto, en la conservación y la permanencia de la especie en el sistema lagunar-estuarino. Además, se considera que es la temperatura más adecuada para el cultivo de la especie en esta etapa de vida, donde realizaría con mayor eficiencia los procesos

metabólicos de obtención, conservación y utilización de la energía para mantenimiento y crecimiento corporal.

Los estudios ecofisiológicos en los que se evaluó el efecto de la temperatura sobre el metabolismo de rutina en juveniles del lenguado de California, indican que el incremento del metabolismo es dependiente del aumento de la temperatura. Madon (2002), menciona que los lenguados consumen significativamente más alimento y tienen una menor eficiencia en la asimilación alimenticia a temperaturas mayores de 20 °C.

En el presente estudio, el preferendum térmico final de los juveniles de lenguado de California fue registrado en el intervalo térmico de aclimatación de 18 y 21 °C. Esta temperatura (18.4 °C) constituye el punto térmico en donde el rendimiento funcional de los organismos se optimiza. Estos resultados difieren en 1.6 °C con lo reportado por Madon (2002) y en 0.38 °C de acuerdo a lo estimado con la ecuación propuesta por Jobling en 1981. El PF obtenido en este trabajo podría constituir la temperatura que promueve una mejor asimilación con un mayor rendimiento funcional de los organismos lo que se vería reflejado en una mayor economía inherente al costo del alimento.

El preferendum final se encuentra dentro de la zona de preferencia térmica, definida por las temperaturas de evitación inferior y superior. En el presente trabajo, los peces evitaron temperaturas inferiores a 10.8 °C y superiores a 29.1 °C, lo cual concuerda con lo reportado por Koh y List (1974), quienes mencionan que los juveniles de lenguado de California muestran respuestas de evitación entre 24 y 28 °C dependiendo de la aclimatación térmica. Estos resultados proporcionan un indicador confiable sobre la capacidad adaptativa de la especie al sistema lagunar-estuarino y de aguas someras. Estos cuerpos de agua son altamente dinámicos por lo que ocurren cambios de temperatura en un

ciclo anual, que pueden ser modificados por factores naturales e inducidos por la acción del hombre.

Los incrementos graduales en la temperatura del agua, tal como se presentan generalmente en las zonas de descarga de las plantas termoeléctricas, pueden eventualmente provocar una respuesta de evitación de los lenguados entre 24 y 28 °C; a temperaturas menores pueden o no tener movimientos de evitación, tal como se mencionó para el lenguado en el estudio efectuado por Innis (1980) en un gradiente térmico artificial.

Con base en los estudios de laboratorio, el lenguado de California puede no verse afectado por cambios de 1 °C en la temperatura del agua, condiciones que se presentan en las periferias de algunas plantas generadoras de energía en el sur de California, que descargan en aguas costeras abiertas, como es el caso de la planta de fuerza Encina de San Diego o la estación de San Onofre del Condado Orange CA. (Koh y List 1974). Sin embargo, cuando las descargas son en bahías cerradas, el incremento de la temperatura sobre todo en la época de verano puede ser mayor a 24 °C; lo cual podría alterar el equilibrio térmico natural en el hábitat del lenguado y provocar respuestas de evitación en éstas áreas, las cuales abarcan entre un 10 y 20% de las costas de California EE.UU. y Baja California, México (Ford y Chambers, 1973).

Los hábitat costeros se consideran relativamente impredecibles comparados con aguas más profundas de la bahía, sobre todo en temporada de lluvias y tormentas, ya que la entrada a estos sistemas protegidos y semiprotegidos se obstruye por el depósito y formación de barras de arena y otros sedimentos, los cuales impiden el intercambio de agua con el océano y modifican las condiciones térmicas de la zona. Aunado a los factores naturales, la acción del hombre en estos cuerpos de agua, agudiza el desequilibrio térmico

y reduce la extensión del hábitat de la especie. Estos sitios son utilizados como áreas de crianza por los lenguados y la habilidad de los organismos para explotar, tanto los sistemas someros como las bahías y aguas costeras profundas, constituye en la especie una estrategia adaptativa importante de permanencia y conservación (Kramer, 1990b; Gadomski y Caddell, 1991).

Una combinación que implique tanto la alteración como la degradación y destrucción del equilibrio térmico en el hábitat del lenguado, reduce severamente el potencial de sobrevivencia en estos peces (Coutant, 1987). Por lo que, un manejo ambiental sustentable que considere los estudios del comportamiento termorregulador de los organismos es conveniente para la sobrevivencia, el desarrollo y la conservación de la especie.

Existen otras respuestas en los peces que caracterizan los límites de tolerancia y resistencia, las cuales son evaluadas con las temperaturas críticas y por la temperatura letal media ( $TL_{50}$ ).

Los límites térmicos constituyen una medida de la capacidad que tiene un organismo para ajustarse a los cambios de temperatura ambiental y que explica la tolerancia de la especie para sobrevivir en un hábitat cuyos intervalos térmicos son variables.

En este estudio la  $TC_{Max}$  de los juveniles de lenguado de California aclimatados en un régimen térmico constante de 15 a 24 °C ocurrió en el intervalo de 32.4 a 37 °C. La resistencia de los organismos se incrementó de 2.4 a 3.4 °C conforme aumentó la temperatura de aclimatación. Esta tendencia concuerda con lo encontrado por Hassan y Spotila (1976), quienes trabajaron con el efecto de temperaturas altas sobre las crías de sollo americano, demostrando que un incremento en la temperatura de aclimatación usualmente causa un aumento en la  $TC_{Max}$ , por lo que la historia térmica anterior

(temperatura de aclimatación) ejerce un efecto significativo sobre la resistencia de los peces a la temperatura. La respuesta considerada en la evaluación de la TCMax en estos organismos fue la pérdida del equilibrio, respuesta que se caracterizó por el cambio en la dirección del nado de una posición horizontal a una vertical.

Lutterschmidt y Hutchison (1997), concuerdan en que la TCMax puede ocurrir a diferentes temperaturas en diferentes especies, sin embargo, la respuesta es la misma en los distintos grupos de peces y, por esta razón es un excelente índice estándar utilizado para evaluar los requerimientos térmicos y fisiológicos de un organismo, además explica la capacidad de una especie para adaptarse a la variabilidad climática de su hábitat así como de su potencial para compensar los efectos del estrés térmico. Los estudios realizados por estos investigadores en la salamandra *Necturus maculosus*, demostraron que las respuestas ocasionadas por la exposición prolongada al incremento gradual de la temperatura del agua y, a una tasa de calentamiento lo suficientemente rápida, que no le permite compensar la transferencia de calor entre su cuerpo y el agua, ocasiona en los organismos los espasmos musculares como la respuesta característica del estrés térmico agudo, la cual es utilizada para evaluar la TCMax y constituye el punto térmico más allá del cual el organismo difícilmente puede escapar de la muerte.

Los estudios de estrés térmico ascendente indican que el aumento en la temperatura del agua que está en contacto con el pez, ocasiona que la tasa metabólica del organismo también se incremente y que las respuestas por exposición a temperaturas elevadas difieran de una especie a otra (Thia-Eng y Paw, 1989).

Acorde a lo anterior, Hernández (1998) menciona que el estrés térmico ascendente ocasiona una serie de respuestas que inician con el aumento de actividad (AA), seguido por

los espasmos musculares (EM) y por la pérdida del equilibrio (PE). Así, la respuesta que caracterizó a la TCMax en los estudios realizados con *Poecilia spenops*, fue la pérdida del equilibrio acompañada de espasmos musculares. Esta misma respuesta la observó Cheetham *et al.* (1976) en estudios de estrés térmico por altas temperaturas en el bagre de canal, *Ictalurus punctatus*; Cox (1978) en el robalo rayado *Morone saxatilis*; Barrionuevo y Fernández (1995) en *Prochilodus scrofa* y Tsuchida (1995) en *Engraulis japonica* (Tabla XIII).

En el presente estudio y de acuerdo con Hassan y Spotila (1976), Cheetham *et al.* (1976), Cox (1978), Barrionuevo y Fernández (1995), Tsuchida (1995) y Hernández (1998), la TCMax de los juveniles de lenguado, muestra una relación positiva entre el incremento de la TCMax y la temperatura de aclimatación de los peces.

Para los juveniles del lenguado, la PE caracterizó a la TCMax, por ser la última respuesta que se observó en los organismos durante la exposición a altas temperaturas y, de la cual los organismos difícilmente escaparían de la muerte si el tiempo de exposición se prolonga.

En relación al estrés térmico descendente, la TCMin mostró la misma relación positiva con el decremento de la temperatura. Las respuestas observadas en los juveniles de lenguado por exposición al frío fueron en forma primaria y conjunta, una actividad espontánea intensa acompañada con espasmos musculares y ocasionalmente con la pérdida del equilibrio (AEI + EM + PE). La última respuesta observada en estos peces y que caracterizó a la TCMin, fue el estado de coma (EC). Esta respuesta se observó a temperaturas entre 5.6 y 10 °C para el intervalo de aclimatación de 15 a 24 °C. De los pocos estudios relacionados con el efecto de las bajas temperaturas sobre los peces, Barrionuevo

y Fernández (1995) mencionan que, *Prochilodus scrofa* aclimatado en un intervalo térmico similar al utilizado en el lenguado de California, tiene una resistencia a las temperaturas bajas desde 5 a 9.1 °C con una diferencia máxima de 0.9 °C en relación a los juveniles de lenguado de California (Tabla XIII).

Tabla XIII. Resistencia térmica de diferentes especies de peces. TA, temperatura de aclimatación; TCMax, temperatura crítica máxima; TCMin, temperatura crítica mínima (Tomado de Hernández, 1998 y Tsuchida, 1995).

Especie	TA(°C)	TCMax (°C)	TCMin(°C)	Autor
<i>Ictalurus punctatus</i>	16	34.3		Cheetham <i>et al.</i> (1976)
	20	35.8		
	24	37.8		
<i>Morone saxatilis</i>	15	31.5		Cox (1978)
	20	32.0		
	25	36.4		
<i>Prochilodus scrofa</i>	15	33.9	5.0	Barrionuevo y Fernandez (1995)
	20	36.7	7.2	
	25	38.6	9.1	
<i>Engraulis japonica</i> 9.8 cm	15	31.7		Tsuchida (1995)
	20	32.6		
	25	33.9		
<i>Paralichthys californicus</i> 7.5 cm	15	32.4	5.6	En este estudio
	18	34.6	6.5	
	21	34.5	7.9	
	24	37.0	10.0	

En la frontera de la zona de resistencia, caracterizada por las temperaturas críticas máxima y mínima, limitan las temperaturas letales incipiente superior e inferior. Estas temperaturas indican el punto térmico máximo y mínimo de la zona de tolerancia de los lenguados las cuales están influenciadas por la historia térmica de los organismos.

En la presente investigación se obtuvo un intervalo en la zona de tolerancia térmica de 5 a 31 °C, con una TLII de 5 a 6.4 °C y la letal superior de 30 a 31 °C. Lo anterior indica el amplio intervalo de tolerancia que los juveniles de lenguado tienen ante este parámetro y de la capacidad de termorregulación que les permite escapar de la muerte ante las condiciones térmicas extremas que se presentan en su hábitat.

Los valores de tolerancia y preferencia térmica, pueden ser aplicados con fines de cultivo y de protección de los peces en su hábitat transitorio, constituido por lagunas y estuarios protegidos y semiprotegidos (Armour, 1991). Estos niveles térmicos se aplican en la ecuación (2) propuesta por Jobling (1981) y en la ecuación (4) propuesta por Coutant (1972); Brungs y Jones (1977) para estimar la temperatura óptima para el cultivo de la especie en esta etapa de vida y para conocer el promedio máximo de temperatura semanal (PMTS) que no debe ser excedido en el sistema de cultivo o en su ambiente, ya que estaría mas cerca de la evitación térmica superior.

En este estudio la temperatura óptima estimada por la ecuación (2), para cultivo de los juveniles de lenguado fue de 18.02 °C y el PMTS estimado por la ecuación (4) fue de 22.6 °C. Los niveles térmicos estimados por (2) y (4) pueden ser aplicados para estimar el impacto en los sitios que son o pueden ser afectados por la modificación de canales, por la construcción de reservorios, por prácticas de uso de la tierra, entre otros, que podrían ocasionar el calentamiento local en el hábitat de los juveniles de lenguado. Es necesario

recalcar que la aplicación de las estimaciones generadas por las ecuaciones (2), (3) y (4) son buenas aproximaciones, porque las respuestas que se utilizan son establecidas con base en las temperaturas experimentales. Además se debe considerar que estos resultados pueden ser afectados por factores relacionados con la talla del pez, la estación del año, la longitud del día, el sexo, la química del agua, las enfermedades, entre otros. Para algunas especies, entre las que se encuentra el lenguado de California, los requerimientos térmicos de juveniles y adultos, varían considerablemente. Esto ocasiona que grupos de peces de diferentes edades o estadios de vida se distribuyan en hábitat diferentes (Coutant, 1987).

Las respuestas a la temperatura que se consideran para evaluar la variabilidad térmica y los impactos al hábitat de los organismos, son las temperaturas críticas y las letales. Estas últimas estimadas mediante modelos de predicción tales como el de Kilgour *et al.* (1985) y el de Spearman-Karber (USEPA, 1986), los cuales utilizan los valores de mortalidad representados por la  $TL_{50}$ . Ambos métodos fueron aplicados en este estudio con un nivel de confianza en la predicción entre 93 y 99% y la diferencia fue de 0.01 a 0.34 °C, con respecto a los valores observados experimentalmente y tienen varias ventajas, agilizan y economizan estos estudios debido a que se efficientiza tiempo y equipo. Pueden utilizar datos de experimentos a corto plazo menores a 12 horas y se requiere de un menor número de organismos, considerando que la  $TL_{50}$  observada se obtiene durante periodos de 48 a 96 h.

Las respuestas identificadas en el lenguado y en otras especies, permiten valorar la capacidad de adaptación a los cambios de temperatura estacionales que ocurren de manera natural en su ambiente. Además los organismos pueden escapar de las condiciones térmicas adversas utilizando estrategias de comportamiento, como son las respuestas de evitación y

con la consecuente migración hacia áreas propicias, o por compensación fisiológica; en una situación contraria difícilmente escaparían de la muerte (Paladino *et al.*, 1980).

Coutant (1987), menciona que el estrés térmico en un organismo puede ocurrir por la acción de la naturaleza sobre el ambiente, como es el caso de la presencia de lluvias torrenciales que modifican la estructura térmica en zonas costeras de baja profundidad, o bien por cambios en el perfil batimétrico de los sistemas costeros a causa de la intensidad de las corrientes y mareas que afectan los patrones de flujo de agua, modifican los estratos térmicos del hábitat y alteran el proceso normal de migración de los peces y su rendimiento funcional.

Ford y Chambers (1973), mencionan que el transporte y depósito de sedimentos por las corrientes y mareas, obstruye la entrada de las bahías y reduce el intercambio de agua con el océano, lo que causa un efecto directo en el aumento de la temperatura del agua e incremento en los niveles de estrés en los peces.

Además de estos factores naturales, la intervención del hombre sobre el ecosistema puede causar cambios de temperatura extremos en el hábitat del lenguado de California, debido a la deforestación (destrucción y/o modificación de zonas de manglar), a la construcción de puentes, caminos y vías férreas que bloquean y separan los cuerpos de agua costeros. Lo anterior, aunado al establecimiento de estaciones generadoras de energía que descargan agua caliente en el sistema lagunar-estuarino, alteran la termodinámica natural del ecosistema sobre todo en la época más caliente, lo que podría ocasionar respuestas de evitación en los organismos si la variación térmica se torna aguda (Coutant, 1987).

Estas plantas termoeléctricas también pueden afectar a la población de juveniles de lenguado durante el periodo otoño- invierno, ya que la descarga de agua caliente en aguas

abiertas de la costa ocasiona que la temperatura se incremente y atraiga hacia esa zona al lenguado de California (>5.5 cm), el cual habita en aguas poco profundas y de amplia variabilidad térmica. En estos ambientes característicos de los estuarios y las lagunas costeras predominan peces pequeños como los gobidos, que sirven de alimento a los juveniles de lenguado (Haaker, 1975; Allen, 1990).

En este proceso migratorio que los juveniles de lenguado realizan en busca de condiciones térmicas mas estables y a causa de la acción del hombre sobre su ambiente, es que son depredados por otros organismos al exponerlos a otros peces conocidos como “consumidores de peces planos”, cuyo hábitat natural son aguas abiertas de la costa. Estos principales depredadores de juveniles de lenguado, incluyen a adultos de lenguado de California (*Paralichthys californicus*), a la mantarraya (*Platyrrhinoidis triseriata*), al lenguado cola de abanico (*Xystreuryx liolepis*), al lenguado boca grande (*Hippoglossina stomata*), al pez moteado de arena (*Citharichthys stigmaeus*) y al pez lagarto de California (*Synodus lucioceps*). Estos organismos son atraídos a estas zonas de confluencia por el mismo efecto térmico y por la presencia de posibles presas (Allen, 1990).

Los estudios realizados por la compañía San Diego Gas and Electric en 1980 y por Ford (1965), indican que estos y otros depredadores son 15.6 veces mas abundantes en aguas profundas por lo que el alimento es mas escaso, en comparación con las zonas protegidas y de baja profundidad cercanas a la costa (Kramer, 1990b).

Por lo anterior, se manifiesta la gran importancia que representan los sistemas protegidos (estuarios y lagunas costeras) para los juveniles de lenguado de California. Estos cuerpos de agua sirven como una protección natural contra los depredadores y aseguran la disponibilidad de alimento requerido para un mejor crecimiento de los organismos. Los

juveniles de lenguado abandonan estas áreas protegidas y semiprotegidas al primer año de vida como subadultos (>25cm). En este estadio sus requerimientos fisiológicos y de comportamiento cambian, surgen respuestas de carácter migratorio que impulsa a los organismos a buscar hábitat de aguas profundas, en las que se encuentra el alimento apropiado para satisfacer sus requerimientos nutricionales. Además, en estos lugares ocurre una menor variación de temperaturas lo cual influye en las respuestas de termorregulación y ocasiona una reducción, tanto en la tolerancia como en la resistencia térmica (Innis 1980).

De acuerdo a lo anterior la construcción del polígono de respuestas térmicas, permitió establecer las áreas de preferencia, tolerancia y resistencia térmica que caracterizan a los juveniles de lenguado de California como organismos euritermicos. La representación gráfica de los límites térmicos letales y de resistencia del lenguado a las temperaturas demuestra que posee la capacidad de escapar de las condiciones térmicas adversas. Además, se puede predecir el potencial de los organismos para aprovechar su hábitat cuando los factores naturales y humanos alteran las condiciones ambientales y ocasionan estrés, así como el grado de adaptabilidad que ha desarrollado la especie ante un hábitat considerablemente dinámico.

Con los resultados de las respuestas a la temperatura de los juveniles de lenguado se caracterizó la zona de preferencia térmica y la temperatura alrededor de la cual el rendimiento funcional de los peces se efficientiza. El valor del preferendum final (18.4 °C) y el promedio máximo de temperatura semanal que no debe ser excedido (22.6 °C), constituyen una herramienta que podría ser utilizada en las prácticas de cultivo de *Paralichthys californicus*.

## IX. CONCLUSIONES

- Los juveniles de lenguado de California prefieren temperaturas del agua de 15.1, 18.2, 18.5 y 24.7 °C cuando es aclimatado a 15, 18, 21 y 24 °C, respectivamente.
- El preferendum térmico final para esta especie fue de 18.4 °C y es la temperatura que se considera como la más adecuada para la realización de varios procesos fisiológicos y alrededor del cual podrían encontrarse la mayor abundancia de los juveniles de lenguado en el ambiente lagunar-estuarino de aguas someras.
- La temperatura para el óptimo crecimiento de los juveniles de lenguado, estimada por la ecuación de Jobling fue de 18.02 °C y difiere en 0.38 °C del preferendum final encontrado en este trabajo.
- La temperatura promedio máxima que no debe ser excedida en el hábitat o en el sistema de cultivo de los juveniles de lenguado fue de 22.6 °C y difiere en 4.2 °C del valor del preferendum final.
- Los juveniles de lenguado de California evitan temperaturas del agua en un intervalo de 10.8 a 29.1 °C para una historia térmica de 15 a 24 °C.
- La tolerancia térmica de los juveniles de lenguado de California delimitada por las temperaturas letales inferior y superior (5.0 a 31 °C), proporciona un buen indicador de la adaptación que tiene la especie en su hábitat transitorio y lo caracteriza como un organismo euritérmico.
- La temperatura en la cual la tolerancia del lenguado no se incrementa con el aumento de la temperatura de aclimatación y que podría considerarse como la temperatura letal incipiente superior última, fue de 31 °C y difiere en 0.83 °C del

estimado con la ecuación de Jobling.

- Las respuestas que ocurren en los juveniles de lenguado de California al ser expuestos al estrés térmico ascendente se caracterizaron por el inicio de actividad de nado (IAN), los espasmos musculares (EM) y la pérdida del equilibrio (PE). La última respuesta caracteriza a la temperatura crítica máxima (TCMax) de esta especie.
- El efecto de las altas temperaturas sobre los juveniles de lenguado de California aclimatados a 15, 18, 21 y 24 °C muestran una relación positiva al encontrar que el aumento en la temperatura de aclimatación causó un incremento en la TCMax de 32.4 a 37 °C.
- El criterio de Kilgour y el modelo de Spearman-Kärber, estimaron con un nivel de confianza del 93 al 99% las temperaturas que limitan la zona de tolerancia térmica y difieren de 0.01 a 0.34 °C de los valores obtenidos experimentalmente que fueron de 30 y 31 °C.
- Las respuestas que ocurren en los juveniles de lenguado de California al ser expuestos al estrés térmico descendente se caracterizaron por una actividad espontánea intensa acompañada de espasmos musculares y ocasionalmente con la pérdida del equilibrio (AEI + EM + PE) y por el estado de coma (EC). El EC identifica a la temperatura crítica mínima (TCMin) la cual se observó en el intervalo térmico de 5.0 a 6.4 °C.
- En la exposición al frío los peces aclimatados a bajas temperaturas resisten temperaturas más bajas que los peces aclimatados a altas temperaturas.

- Las zonas de tolerancia y resistencia caracterizadas por las temperaturas letales y críticas, predicen el límite donde el rendimiento funcional del organismo disminuye por estrés térmico e indica la capacidad adaptativa de la especie a su ambiente.
- El área de las zonas de preferencia, tolerancia y resistencia térmica delimitadas por las temperaturas de evitación, las letales incipiente y las críticas, fueron de 121.5, 242.8 y de 298.7 ( $^{\circ}\text{C}$ )<sup>2</sup>, respectivamente.
- Las respuestas a la temperatura pueden ser utilizadas para estimar el área térmica en la cual los organismos pueden permanecer sin alterar sus funciones fisiológicas y para establecer el punto térmico en el cual el crecimiento es el óptimo.
- El área térmica expresada por las respuestas de los organismos en el polígono de respuestas a la temperatura son fundamentales para caracterizar el nicho térmico de la especie.
- La explotación sustentable de un embalse acuático debe incluir estudios de distribución de los organismos con base en la termorregulación para el aprovechamiento integral del recurso, considerando la sobrevivencia, el desarrollo y la conservación de la especie.

## LITERATURA CITADA

- Allen, M.J. 1990. "The biological environment of the California halibut, *Paralichthys californicus*." *MBC applied environmental sciences*. Costa mesa, CA. Fish Bulletin 174: 7-15 pp.
- Angilletta, M. J., P. H Niewiarowski y C.A. Navas. 2002. "The evolution of thermal physiology in ectotherms. *Journal of Thermal Biology*". 27: 249-268 p.
- Armour, Carl L. 1991. "Guidance for Evaluating and Recommending Temperature Regimes to Protect Fish." U.S. Fish Wildl. Serv., Biol. Rep. 90(22): 13 p.
- Aston, R.J., D.J.A. Brown, A.G.P. Milner. 1976. "Heated water farms at inland power stations. *Fish Farm. Int.* 3: 41-44 p.
- Aune, A., A.K. Imsland y K. Pittman. 1997. "Growth of juvenile halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L., under a constant and switched temperature regime". *Acuaculture Research*. 28: 931-939 p.
- Björnsson, B., S.V. Tryggvadóttir. 1996. "Effects of size on optimal temperature for growth and growth efficiency of immature Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) *Elsevier Acuaculture* 142: 33-42 p.
- Brett, J.R. 1956. "Some Principles in the thermal requirements of fishes". *Quart. Rev. Biol.* 31: 75-87 p.
- Brungs, W.A., y B.R. Jones. 1977. "Temperature criteria for freshwater fish: protocol and procedures". U.S. Environmental Protection Agency Environmental Research Laboratory, Duluth, Minn. EPA-600/3-77-061. 129 p.
- Bückle, R. L. F. , B. Barón, M. Hernández, A. Ledo, R. Solís, B. Pérez y A. Hernández. 2003. "Sistema de Temperatura, Oxígeno y Salinidad para la experimentación en ecofisiología. *Hidrobiológica*" 13(4):277-287. p.
- California Sea Grant: Bienial Report 2003-2004. "Halibut Acuacultura: Sea Grant Supports An Emerging Industry". 5 pp.
- Cheetham, J.L., C.T. Garden Jr., C.L. King y M.H. Smith. 1976. "Temperature tolerance and preference of immature channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Copeia*. 3: 609-612.
- Chung, K.S. 2001. "Adaptabilidad ecofisiológica de organismos acuáticos tropicales a cambios de salinidad" *Rev. Biol. Trop.* 49(1):9-13 p.
- Colt, J. 2006. "Water quality requirements for reuse systems". *J. Aquacultural Engineering* (34):143-156 p.

- Coutant, C.C. 1972. "Water quality criteria. A report of the Committee on Water Quality Criteria, Environmental Studies Board". National Academy of Sciences, National Academy of Engineers, Washington, DC. 15: 1-170 p.
- Coutant, C. C. 1987. "Thermal preference: when does an asset become a liability?". *Environmental Biology of Fishes* 18(3):161-172 p.
- Daniel, W.W. 1999. "Bioestadística: base para el análisis de las ciencias de la salud" Ed. LIMUSA, México D.F. 3ª edición. 878 p.
- Dawbridge, M.A. y D.B. Kent. 2001. "Culture of Marine Finfish". California's Living Marine Resources: A Status Report. California Department of Fish and Game. 3 p.
- Despatie S.P., M. Castonguay y D. Chabot. 2001. "Final Thermal Preferendum of Atlantic Cod: Effect of Food Ration". *Transactions of the American Fisheries Society* 130:263-275 p.
- Del Valle A. 2001. "Temperatura: supervivencia y comportamiento de los salmónidos" Flyfishing-Argentina.com. <http://www.nwr.noaa.gov/ManTech/>. Abril de 2006.
- Ford, R.F. y R.L. Chambers. 1973. Biological studies at the South Bay Power Plant. Prepared for San Diego Gas y Electric Co., by Environmental Engineering Lab., San Diego CA. 188 p.
- Fry, F. E. J. 1947. "Effects off the environment on animal activity". Univ. Toronto Studies, Biol. Ser. 55, Ontario Fish. Res. Lab. Publ. 68: 1-62.
- Fry, F.E.J. 1964. "Adaptation to the environment" En: D.B.Dill, E.F.Adolph and G.C. Wilber(eds.). *Handbook of physiology*. Amer. Physiol. Soc. Press, Washington DC., 715-728 p.
- García-García, B., E. Gómez y M. D. Hernández. 2004. "Effect of temperature on metabolic rate in *Solea senegalensis*: estimate of optimum physiological temperature. Aquaculture Europe 2004". Biotechnologies for quality. Book of Abstracts. <http://www.sea.org.es/diversificacion.pdf>. Junio de 2006.
- Gadomski, D.M., S.M.Caddell. 1991. "Effects of temperature on early-life-history stages of California halibut, *Paralichthys californicus*". *Fishery Bulletin*, U.S. 89: 567-576 p.
- Giattina, J.D. y R.R. Garton. 1982. "Graphical model of thermoregulatory behavior by fishes with a new measure of eurythermality". *Can. J. Fish. Aquatic. Sci.* 39:524-528 p.
- Haaker, P.L. 1975. "The biology of the California halibut, *Paralichthys californicus* (Ayres) in Anaheim bay. Calif.Dept. Fish and Game, Fish Bull.165 137-151 p.

- Hart, J.S. 1952. "Geographic variations of some physiological and morphological characters in certain freshwater fish". Univ. Toronto Stud. Biol. Ser. 60. Publ. Ontario Fish. Res. Lab. 72: 1-79 p.
- Hernández, R.M. 1998. "Comportamiento termorregulador de *Poecilia sphenops* (Pisces: Poeciliidae) aclimatada a temperaturas constantes y fluctuantes." Tesis de Doctorado. CICESE, Ensenada BC., México. 136 p.
- Hassan, K.C. y J.R. Spotila. 1976. The effect of acclimation on the temperature tolerance of young muskellunge fry. En F.V. Paladino., *et al.* 1980. "The critical thermal maximum: a technique used to elucidate physiological stress and adaptation in fishes". Rev. Can. Biol., vol. 39 (2): 115-122 p.
- Holt, R.S. y K. Strawn. 1976. "Culture of black drum (*Pogonias cromis*) in cages receiving effluent from a power plant effluent characterized by wide salinity fluctuations". Proc. World Mar. Soc. 8: 73-90 p.
- Innis, D.B. 1980. "Juvenile California halibut, *Paralichthys californicus*, growth in relation to thermal effluent". Environmental and energy services company. Avila Beach CA, 93424. 153-165 p.
- Jobling, M. 1981. "Temperature tolerance and final preferendum rapid methods for assessment of optimum growth temperatures. J. Fish Biol. 19:439-455.
- Kilgour, D.M., R.W. McCauley, y W. Kwain. 1985. "Modeling the Lethal Effects of High Temperature on fish". Can. J. Fish. Aquat. Sci. 42: 947-951. 5 p.
- Koh, R.C.Y. y E.J. List. 1974. "Report to Southern California Edison Company on further analysis related to thermal discharges at San Onofre Nuclear Generating Station". Hydraulics Consultants, Pasadena, CA. 116 p.
- Kramer, S.H. 1990<sup>a</sup>. "Growth, mortality, and movements of juvenile California halibut *Paralichthys californicus* in shallow coastal and bay habitats of San Diego County, California". Fishery Bulletin, U.S. 89:195-207 p.
- Kramer S.H. 1990<sup>b</sup>. "Distribution and abundance of juvenile California Halibut *Paralichthys californicus* in shallow waters of San Diego County". Ed. C. H. Haugen. En "The California Halibut, *Paralichthys californicus*, resource and fisheries. Department of fish and game. Fish Bulletin 174:99-126 p.
- Kucas, S.T. y T.J. Hassler. 1986. "Species Profiles: Life Histories and Environmental Requirements of Coastal Fishes and Invertebrates (Pacific Southwest). California Halibut. U.S. Fish Wildl. Serv. Biological Report. 82 (11.44). U.S. Army Corps of Engineers. 8 p.

- Lowe, C. H. y V.J. Vance. 1955. "Acclimation of the critical thermal maximum of the reptile *Urosaurus ornatus*." Science 122: 73-74 p.
- Lutterschmidt, W.I. y V.H. Hutchison. 1997. "The critical thermal maximum: history and critique". Can. J. Zool. 75: 1561-1574 p.
- Madon, S.P. 2002. "Ecophysiology of juvenile California halibut *Paralichthys californicus* in relation to body size, water temperature and salinity" Mar Ecol Prog Ser. 243: 235-249.
- Magnuson, J.J. y B.T. Destasio. 1996. "Thermal niche of fishes and global warming". En: C.M. Wood y D. G. McDonald (eds.). Global Warming: Implications for freshwater and marine fish. Society for Experimental Biology Seminar. Ontario, Canadá, 377-408 p.
- Paladino, F.V., J.R. Spotila, J.P. Schubauer y K.T. Kowalsky. 1980. "The critical thermal maximum: a technique used to elucidate physiological stress and adaptation in fishes". Rev. Can. Biol., vol. 39 (2): 115-122 p.
- Petersen, J.H., A.E. Jahn, R.J. Lavenberg, G.E. McGowen y R.S. Grove. 1986. "Physical-chemical characteristics and zooplankton biomass on the continental shelf. Calif. Coop. Oceanic Fish. Invest. Rep. 27:36-52 p.
- Prosser, C.L. y D.O. Nelson. 1981. "The role of nervous systems in temperature adaptation of poikilotherms". Ann. Rev. Physiol. 43:281-300 p.
- Rajaguru, S. y S. Ramachandran. 2001. "Temperature tolerance of some estuarine fishes." Journal of Thermal Biology 26: 41-45 p.
- Randall, D; W. Burggren y K. French. 1998. "Fisiología Animal, Mecanismos y Adaptaciones". McGraw-Hill Interamericana. Cuarta edición. España. 795 pp.
- Reynolds, W.W. y M.E. Casterlin. 1979. "Behavioral Thermoregulation and the Final Preferendum Paradigm". Amer. Zool., 19:211-244 p.
- Silvester, J.R., 1975. "Biological Considerations on the use of thermal effluents for finfish aquaculture". Aquaculture 6: 1-10 p.
- Thia-Eng, Ch. y J.N. Paw. 1989. "The impact of global climatic change on the aquaculture of tropical species". Infofish International. 44-52 p.
- Tsuchida, S. 1995. "The relationship between upper temperature tolerance and final preferendum of Japanese marine fish". J. Therm. Biol. 20:35-41p.
- Tyler, A.V. 1966. "Some lethal temperature relations of two minnows of the genus *Chrosomus*." Can. J. Zool. 44: 349-364 p.

USEPA [Agencia de Protección al Ambiente de los Estados Unidos].1986. "Trimmed Sperm-Karber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays (LC50)." Environmental Research Laboratory and Athens, Georgia. 1-7 p.

Wenschel, M.J., A.R. Jugovich, J.A. Hare. 2004. "Effect of temperature and salinity on the energetics of juvenile *Lutjanus griseus*: implications of nursery habitat value". J.Exp.Mar.Biol.Ecol. 312(2):333-347 p.

Wilson, A. J., 1972. "Principles of Animal Physiology". Collier-Mcmillan. Primera edición. Ontario, Canadá. 842 p.