

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



**Doctorado en Ciencias
en Acuicultura**

Desempeño biológico de juveniles de *Totoaba macdonaldi* aclimatados a diferentes temperaturas y alimentados con distintos niveles de inclusión de harina de soya en la dieta

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

Presenta:

Eloy Eduardo Yen Ortega

Ensenada, Baja California, México
2020

Tesis defendida por

Eloy Eduardo Yen Ortega

y aprobada por el siguiente Comité

Dra. Mónica Hernández Rodríguez
Codirectora de tesis

Dr. Juan Gabriel Correa Reyes
Codirector de tesis

Miembros del comité

Dra. Ma. del Refugio González Esparza

Dr. Benjamín Barón Sevilla

Dr. Daniel Badillo Zapata



Dra. Fabiola Lafarga De la Cruz
Cordinadora del posgrado en Acuicultura

Dra. Rufina Hernández Martínez
Directora de estudios de Posgrado

Eloy Eduardo Yen Ortega © 2020

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

Resumen de la tesis que presenta **Eloy Eduardo Yen Ortega** como requisito parcial para la obtención del grado de Doctor en Ciencias en Acuicultura.

Desempeño biológico de juveniles de *Totoaba macdonaldi* aclimatados a diferentes temperaturas y alimentados con distintos niveles de inclusión de harina de soya en la dieta

Resumen aprobado por:

Dra. Mónica Hernández Rodríguez
Codirectora de tesis

Dr. Juan Gabriel Correa Reyes
Codirector de tesis

En el presente trabajo se evaluaron los parámetros de crecimiento, índices productivos, la composición de ácidos grasos en el músculo, los parámetros sanguíneos, la preferencia térmica y la resistencia térmica de juveniles de *Totoaba macdonaldi* en respuesta a la temperatura de aclimatación (23, 26 y 29 °C) y al remplazo del 32, 43 y 56% de la harina de pescado (HP) por harina de soya (HS) en la dieta. Después de 61 días de cultivo la interacción de estos factores no afectó la supervivencia, la concentración y el tipo de ácidos grasos del músculo y la concentración de glóbulos rojos (GR) de los peces. En estas tres temperaturas, el remplazo de HP por HS afectó la concentración de proteínas totales (PT), albuminas (ALB), globulinas (GLOB), glucosa (GLU), triglicéridos (TG), aspartato aminotransferasas (AST), alanina aminotrasferasas (ALT) y la relación albumina:globulina (ALB:GLOB) de los peces. El factor de conversión alimenticia, la concentración de glóbulos blancos (GB), la concentración GLU, TG, AST, ALT y la resistencia térmica de los peces aclimatados a 23 y 26°C fueron afectados por la dietas con harina de soya, mientras que a 29 °C, influyó en el peso promedio, la ganancia en peso, la tasa de crecimiento específico (TCE), la tasa de eficiencia proteica (TEP), el factor de condición, el coeficiente de crecimiento térmico, el hematocrito (Htc), el volumen corpuscular medio (VCM) y la temperatura preferida. La temperatura de aclimatación 23 y 26 °C tuvo un efecto en el peso promedio, la TCE, la ganancia en peso, la TEP, la concentración de AST y ALT, la temperatura preferida y la resistencia térmica, mientras que la interacción *temperatura-dieta* afectó la concentración de GB, ALB, TG y la relación ALB:GLOB de los peces en 23 y 26°C. La menor concentración de algunos componentes de la química sanguínea (PT, ALB, GLOB, GLU y TG) se presentó a 23 y 26 °C con la dieta control (D0%) y cuando la HP se sustituyó en un máximo de 32% (D1). La temperatura preferida más alta (27.72 °C) se registró en los peces aclimatados a 23 °C, mientras que la mayor resistencia térmica (39.83 °C) se presentó en las totoabas aclimatadas a 29 °C y alimentadas con un 56% de HS en la dieta. Independientemente de la temperatura de aclimatación, cuando el porcentaje de HS en la dieta fue mayor, la concentración de GB, PT, ALB, GLOB, GLUC, TG, AST y ALT aumentó, mientras que la temperatura preferida de los peces aclimatados a 29 °C, y la resistencia térmica de los aclimatados a 23 y 26 °C disminuyó. En este contexto, los resultados de este trabajo muestran los posibles efectos que podría tener un alto porcentaje de HS (>32%) en la dieta de *T. macdonaldi*. Por tal motivo, es necesario complementar estos estudios con la evaluación de otros aspectos sanguíneos y de fisiología energética con el objetivo de comprender el efecto del remplazo de la HP por HS en la salud y la resistencia térmica de esta especie bajo diferentes condiciones térmicas.

Palabras Clave: temperatura, harina de soya, biología térmica, hematología, química sanguínea, *Totoaba macdonaldi*

Abstract of the thesis presented by **Eloy Eduardo Yen Ortega** as a partial requirement to obtain the Doctor of Science degree in Aquaculture.

Biological performance of juveniles *Totoaba macdonaldi*, acclimated to different temperatures and levels of inclusion of soybean meal in diet.

Abstract approved by:

Dra. Mónica Hernández Rodríguez
Codirectora de tesis

Dr. Juan Gabriel Correa Reyes
Codirector de tesis

This study evaluated the growth parameters, productive indices, muscle fatty acid profile, blood parameters, thermal preference and thermal resistance of juveniles of *Totoaba macdonaldi* in response to acclimation temperature (23, 26 and 29 °C) and replacement of 32, 43 and 56% of fishmeal (FM) by soybean meal (SBM) in the diet. After 61 days of culture none of these factors or their interaction affected the survival, muscle fatty acids and red blood cell concentration (RBC) of fish. In these three temperatures, the replacement of FM by SBM affected the concentration of total proteins (TP), albumin (ALB), globulins (GLOB), glucose (GLU), triglycerides (TG), aspartate aminotransferases (AST), alanine aminotransferases (ALT), and the albumin:globulins (ALB: GLOB) ratio of fish. At 23 and 26 °C, the replacement of the FM affected the feed conversion factor, white blood cell (WBC), GLU, TG, AST, ALT concentration, and the thermal resistance. While the average weight, the weight gain, the specific growth rate (SGR), the protein efficiency rate (PER), the condition factor, the thermal growth coefficient, the hematocrit (Htc), the mean corpuscular volume (MCV), and the preferred temperature were affected by the 29°C condition. The acclimation temperature had an effect on the average weight, SGR, weight gain, PER, AST and ALT concentration, preferred temperature, and thermal resistance of *T. macdonaldi* at 23 and 26 °C, while the temperature-diet interaction affected the concentration of GB, ALB, TG, and ALB:GLOB ratio of fish. The lowest concentration of some parameters of blood chemistry (TP, ALB, GLOB, GLU, and TG) occurred at 23° and 26 °C with control diet (D0%), and when FM was replaced by a maximum of 32%. The highest preferred temperature (27.72 °C) was registered in fish acclimated at 23 °C, while the highest thermal resistance (39.83 °C) was found in organisms acclimated at 29 °C and fed with 56% SBM in the diet. Regardless of the acclimation temperature, when the percentage of SBM in the diet was higher, the concentration of WBC, TP, ALB, GLOB, GLUC, TG, AST, and ALT increased. While the temperature preferred by acclimated fish at 29 °C, and thermal resistance of the acclimated at 23° and 26 °C decreased. In this context, the results of this work show the possible effects the a high percentage of SBM (> 32%) could have in the diet of *T. macdonaldi*. For this reason, it is necessary to complement these studies with the evaluation of other blood aspects and energy physiology in order to understand the effect of the replacement of FM by SBM on the health and thermal resistance of this species under different thermal conditions.

Keywords: Temperature, soybean meal, thermal biology, hematology, blood chemistry, *Totoaba macdonaldi*

Dedicatoria

A mi madre por haberme apoyado siempre

A Rosa e Itzae por ser los dos pilares más importantes en mi vida y la principal fuente de inspiración para alcanzar cada una de mis metas

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para alcanzar esta meta tan importante.

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE) en especial, al Departamento de Acuicultura por haberme aceptado en su programa de Doctorado.

Al Centro de Reproducción de Especies Marinas del Estado de Sonora (CREMES) por la generosa donación de los huevos y juveniles de *Totoaba macdonaldi*, gracias a lo cual fue posible desarrollar este trabajo.

A la Dra. Mónica Hernández Rodríguez y al Dr. Juan Gabriel Correa Reyes por aceptar el reto de ser mis directores de tesis. GRACIAS por compartir sus conocimientos y brindarme su apoyo incondicional durante mi formación académica. Pero sobre todo GRACIAS por su paciencia.

A mi comité de tesis, la Dra. María. del Refugio González Esparza, el Dr. Benjamín Barón Sevilla y el Dr. Daniel Badillo Zapata por compartir todo su conocimiento y mostrar siempre la disposición de apoyo cuando me acerque a ellos. Gracias por sus críticas constructivas, sugerencias y recomendaciones lo cual hicieron de esta tesis un mejor trabajo.

Al personal docente del Departamento de Acuicultura de CICESE: Dra. Mónica Hernández Rodríguez, Dra. Beatriz Cordero, Dra. Carmen Paniagua, Dra. María. del Refugio González Esparza, Dr. Benjamín Barón Sevilla, Dr. Juan Pablo Lazo, Dr. Eugenio Díaz y Dr. Jorge Cáceres por brindarme su conocimiento durante mi formación académica.

Al personal técnico, Uvinai Salgado, Yanet Guerrero, Adrian Celaya, Jesús Mariscal y en especial a Luis Murillo por su valiosa ayuda para la instalación y funcionamiento del sistema de cultivo y al M. en C. Abelardo Campos por su gran colaboración en los análisis hematológicos, de espectrofotometría y de cromatografía de las muestras.

A todo el personal administrativo del Departamento de Acuicultura y de Servicios Escolares, M. en C. Dolores Sarracino Ramírez, L. C. E. Norma Alicia Fuentes Domínguez y María Citlali Romero Manzano por la ayuda y consejos en los trámites académicos.

Al Dr. Fernando Barreto Curiel por toda su enseñanza, consejos y ayuda que permitieron el funcionamiento de los sistemas de recirculación en el IIO de UABC.

A mis compañeros de generación Miriam, Arely, Brenda, Priscila, Estrella, Claudia, Francisco, Marco Antonio, José Antonio, y Vladimir. Fue un placer compartir esta etapa con ustedes. A mis amigos Candy, Eliasid, Doris, Atondo, Gabriel, Omar Aguillón, fue un gusto conocerlos y convivir con ustedes.

A Mirian y Milton por su gran apoyo durante las biometrías

A mi mamá y mis hermanos, Oyuki, Alonso, Alaín y Aldo. Los quiero mucho

A mi esposa Rosa por toda su comprensión, apoyo y amor incondicional durante los años que he tenido la fortuna de estar a su lado.

A Eduardo Itzae, quien me hizo comprender lo mucho que se puede amar a un hijo. A este gran ser que cambió completamente mi vida y le dio sentido a todo lo que hago.

A todos los que de alguna manera contribuyeron para que esta tesis pudiera llevarse a cabo

A Dios por ser mi sostén en todo momento y por permitirme ser lo que soy.

Tabla de contenido

	Página
Resumen.....	ii
Resumen en inglés.....	iii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimientos.....	v
Lista de figuras.....	xii
Lista de tablas	xiii
Capítulo 1. Introducción.....	1
1.1 Generalidades de <i>Totoaba macdonaldi</i>	2
1.2 Antecedentes de captura de <i>Totoaba macdonaldi</i>	2
1.3 Importancia del estudio de las proteínas.....	3
1.4 Sustitución de la harina de pescado (HP) en la dieta de peces.....	4
1.4.1 Sustitución de HP por harina de Soya (HS).....	5
1.4.1.1 Sustitución de HP por HS en esciénidos.....	7
1.4.1.1.1 Sustitución de HP por proteínas alternativas en <i>Totoaba macdonaldi</i>	7
1.4.2 Influencia de la dieta en la composición corporal de los ácidos grasos (AG) de peces.....	8
1.5 Temperatura.....	10
1.5.1 Interacción de la calidad de la dieta y temperatura.....	12
1.6 Parámetros sanguíneos en peces.....	13
1.7 Justificación.....	15
1.8. Objetivo General.....	16
Capítulo 2. ETAPA 1.....	17
2.1 Efecto de la temperatura de aclimatación y la dieta sobre la supervivencia, el rendimiento fisiológico y la composición de ácidos grasos en el músculo de juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i>	17
2.2 Hipótesis.....	17
2.3 Objetivos.....	17
2.4 Materiales y métodos.....	17
2.4.1 Dietas Experimentales.....	17

2.4.2	Análisis proximales.....	19
2.4.2.1	Proteína	19
2.4.2.2	Lípidos	19
2.4.2.3	Extracto libre de nitrógeno (ELN).....	20
2.4.2.4	Cenizas	20
2.4.2.5	Humedad).....	20
2.4.3	Origen de los peces.....	20
2.4.4	Sistema experimental.....	21
2.4.5	Condiciones de cultivo.....	21
2.4.6	Protocolo de alimentación.....	22
2.4.7	Biometrías.....	22
2.4.7.1	Supervivencia.....	23
2.4.7.2	Parámetros de Crecimiento.....	23
2.4.7.2.1	Peso promedio (g)	23
2.4.7.2.2	Tasa de crecimiento específica (TCE)	23
2.4.7.2.3	Ganancia en peso (GP%).....	23
2.4.7.2.4	Coefficiente de crecimiento térmico (CCT).....	23
2.4.7.3	Índices productivos.....	24
2.4.7.3.1	Factor de conversión alimenticia (FCA).....	24
2.4.7.3.2	Tasa de Eficiencia proteica (TEP)	24
2.4.7.3.3	Factor de condición (K).....	24
2.4.8	Efecto de la temperatura de aclimatación y la calidad de la dieta sobre el perfil de ácidos grasos del músculo de los peces.....	25
2.4.8.1	Cuantificación del perfil de ácidos grasos (AG).....	25
2.4.9	Análisis estadísticos.....	26
2.5	Resultados.....	26
2.5.1	Análisis proximales.....	26
2.5.2	Supervivencia, Parámetros de crecimiento e índices productivos.....	27
2.5.2.1	Supervivencia.....	27
2.5.2.2	Parámetros de Crecimiento.....	28
2.5.2.2.1	Peso promedio (g), Ganancia en peso (GP%), Tasa de Crecimiento específico (TCE) y Coeficiente de crecimiento térmico (CCT).....	28
2.5.2.3	Índices productivos.....	29
2.5.2.3.1	Factor de conversión alimenticia (FCA).....	29
2.5.2.3.2	Tasa de eficiencia proteica (TEP)	30
2.5.2.3.3	Factor de condición (K).....	30
2.5.3	Ácidos grasos del músculo de los peces.....	30

2.6	Discusión.....	35
2.6.1	Supervivencia, Rendimiento en crecimiento e índices productivos.....	35
2.6.2	Perfil de ácidos grasos (AG) del músculo de <i>T. macdonaldi</i>	37
Capítulo 3. ETAPA 2.....		39
3.1	Efecto de la temperatura y la dieta sobre los parámetros hematológicos y química sanguínea de juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i>	39
3.2	Hipótesis.....	39
3.3	Objetivo.....	39
3.4	Materiales y métodos.....	39
3.4.1	Análisis hematológicos.....	39
3.4.1.1	Hematocrito Hct (%).....	40
3.4.1.2	Conteo de glóbulos rojos (GR) y glóbulos blancos (GB).....	40
3.4.1.3	Volumen corpuscular medio (VCM).....	41
3.4.1.4	Química sanguínea.....	41
3.5	Análisis estadísticos.....	41
3.6	Resultados.....	43
3.6.1	Análisis hematológicos.....	43
3.6.1.1	Hematocrito (Hct), Glóbulos rojos (GR) y Volumen corpuscular medio (VCM).....	43
3.6.1.2	Glóbulos blancos (GB).....	43
3.6.2	Química sanguínea.....	45
3.6.2.1	Proteínas totales (PT), Albúmina (ALB), Globulinas (GLOB) y Albumina:Globulina (ALB:GLOB).....	45
3.6.2.2	Glucosa (GLU) y Triglicéridos (TG).....	46
3.6.2.3	Alanina Aminotransferasa (ALT) y Aspartato Aminotransferasa (AST).....	47
3.7	Discusión.....	49
3.7.1	Parámetros hematológicos.....	49
3.7.2	Química sanguínea.....	50
Capítulo 4. ETAPA 3.....		54
4.1	Efecto de la temperatura y la dieta sobre la preferencia y resistencia térmica de juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i>	54
4.2	Hipótesis.....	54
4.3	Objetivo.....	54
4.4	Materiales y métodos.....	54
4.4.1	Temperatura Preferida.....	54

4.4.2 Resistencia térmica (temperatura crítica máxima, TCMax).....	55
4.4.3 Análisis estadísticos.....	56
4.5 Resultados.....	56
4.5.1 Temperatura preferida.....	56
4.5.2 Resistencia térmica (TCMax).....	57
4.5.2.1 Espasmos Musculares (EM).....	58
4.5.2.2 Pérdida del Equilibrio (PE).....	59
4.6 Discusión.....	60
4.6.1 Preferencia y resistencia térmica de juveniles de <i>T. macdonaldi</i>	60
4.7 Síntesis de las principales discusiones de las Etapas de la Investigación.....	63
5. Conclusiones	64
6. Literatura citada	66

Lista de figuras

	Página
<p>Figura 1. Supervivencia de los juveniles (promedio \pm desviación estándar) de <i>Totoaba macdonaldi</i> aclimatados a tres temperaturas y alimentados con dietas con distintos porcentajes de inclusión de harina de soya. Dieta control (D0%: 100%HP); Dieta 1 (D32%: 68%HP-32%HS); Dieta 2 (D43%: 57%HP-43%HS); Dieta 3 (D56%: 44%HP-56%HS). La interrupción en el eje de las x significa que los datos para la temperatura de 29 °C fueron alizados en un tiempo diferente respecto a la temperatura de 23 y 26 °C.....</p>	27
<p>Figura 2. Peso promedio (\pm desviación estándar) de juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> aclimatados a tres temperaturas y alimentados con distintos porcentajes de inclusión de harina de soya en la dieta durante 61 días de cultivo. PI: Peso inicial (g); Dieta control (D0%: 100%HP); Dieta 1 (D32%: 68%HP-32%HS); Dieta 2 (D43%: 57%HP-43%HS); Dieta 3 (D56%: 44%HP-56%HS). Las letras w, x, y denotan diferencias significativas entre los tratamientos (dietas con HS) a 23 y 26 °C. Las letras A, B indican diferencias significativas entre las dietas a 29 °C. La interrupción en el eje de las x significa que los datos para la temperatura de 29 °C fueron alizados en un tiempo diferente respecto a la temperatura de 23 y 26 °C.....</p>	29
<p>Figura 3. Esquema de una cámara del hematocitómetro utilizado para el recuento de células sanguíneas de juveniles de <i>T. macdonaldi</i>. Los cuadrantes considerados para el conteo de eritrocitos se muestran en color rojo, mientras que la cuadrícula de color verde se consideraron para el conteo de leucocitos.....</p>	40
<p>Figura 4. Temperatura preferida por los juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> aclimatados a tres temperaturas (23° C, 26 °C y 29 °C) y alimentados con dietas con distintos porcentajes de inclusión de harina de soya. Dieta control: D0% (Dieta de control: 100%HP); D32% (Dieta 1: 68%HP-32%HS); D43% (Dieta 2: 57%HP-43%HS); D56% (Dieta 3: 44%HP-56%HS). T: temperatura de aclimatación, D: dieta. Las letras w, x, y denotan diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos a 23 y 26 °C. Las letras A, B, C indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos a 29 °C.....</p>	57
<p>Figura 5. Tempertura en la que se registró la perdida del equilibrio (Resistencia térmica: TCM_{ax}) en los juveniles de <i>T. macdonaldi</i> aclimatados a tres temperaturas y alimentados con dietas con distintos porcentajes de inclusión de harina de soya. D0% (Dieta de control: 100%HP-0%HS); D32% (Dieta 1: 68%HP-32%HS); D43% (Dieta 2: 57%HP-43%HS); D56% (Dieta 3: 44%HP-56%HS). Las letras a, b denotan diferencias singinifactivas ($P < 0.05$) entre la D0% y los tratamienos (dietas con HS). Las letras w, x, y denotan diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos a 23 y 26 °C.....</p>	60

Lista de Tablas

	Página
Tabla 1. Composición de las dietas experimentales y la dieta Control (g kg ⁻¹) para el cultivo de juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i>	18
Tabla 2. Valores promedio de los principales componentes de las dietas experimentales utilizadas para alimentar a los juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i>	26
Tabla 3. Valores promedio (\pm desviación estándar) de los parámetros de crecimiento e índices productivos de juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> aclimatados a tres temperaturas y alimentados con dietas con distintos porcentajes de inclusión de harina de soya. Dieta control (D0%: 100%HP); Dieta 1 (D32%: 68%HP-32%HS); Dieta 2 (D43%: 57%HP-43%HS); Dieta 3 (D56%: 44%HP-56%HS).	31
Tabla 4. Perfil de ácidos grasos (mg/100 g) de las dietas utilizadas para la alimentación de juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> aclimatados a 23, 26 y 29 °C. Dieta control (D0%: 100%HP); Dieta 1 (D32%: 68%HP-32%HS); Dieta 2 (D43%: 57%HP-43%HS); Dieta 3 (D56%: 44%HP-56%HS).	32
Tabla 5. Perfiles de ácidos grasos (mg/100 g de tejido) del músculo de juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> , después de 61 días de aclimatación a dos temperaturas (23 y 26 C) y alimentación con dietas experimentales con distintos porcentajes de remplazo de harina de pescado (HP) por harina de soya (HS). Dieta control (D0%: 100%HP); Dieta 1 (D32%: 68%HP-32%HS); Dieta 2 (D43%: 57%HP-43%HS); Dieta 3 (D56%: 44%HP-56%HS).....	33
Tabla 6. Perfiles de ácidos grasos (mg/100 g de tejido) del músculo de juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> después de 61 días de aclimatación a 29 °C y alimentación con 4 dietas experimentales con distintos porcentajes de remplazo de harina de pescado (HP) por harina de soya (HS). Dieta control (D0%: 100%HP); Dieta 1 (D32%: 68%HP-32%HS); Dieta 2 (D43%: 57%HP-43%HS); Dieta 3 (D56%: 44%HP-56%HS).	34
Tabla 7. Valores promedio (\pm desviación estándar) de los parámetros hematológicos de juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> aclimatada a tres temperaturas (23, 26 y 29) °C y alimentadas con distintos porcentajes de inclusión de harina de soya en la dieta. Dieta control (D0%: 100%HP); Dieta 1 (D32%: 68%HP-32%HS); Dieta 2 (D43%: 57%HP-43%HS); Dieta 3 (D56%: 44%HP-56%HS).....	44
Tabla 8. Valores promedio (\pm desviación estándar) de los indicadores de la bioquímica sanguínea de <i>Totoaba macdonaldi</i> aclimatada a 23, 26 y 29 °C y alimentada con distintos porcentajes de harina de soya. Dieta control: D0% (Dieta de control: 100%HP); D32% (Dieta 1: 68%HP-32%HS); D43% (Dieta 2: 57%HP-43%HS); D56% (Dieta 3: 44%HP-56%HS). T: temperatura de aclimatación, D: dieta.	48
Tabla 9. Respuestas de comportamiento de juveniles de <i>T. macdonaldi</i> aclimatados a tres temperaturas, alimentados con dietas con distintos porcentajes de inclusión de soya y expuestos a un incremento de la temperatura del agua (1°C·min ⁻¹).	58

Capítulo 1. Introducción

En el área de la producción de alimentos, la acuicultura es el sector de mayor crecimiento a nivel mundial en los últimos años. Durante el período comprendido entre 2001 a 2016, el crecimiento anual registrado por esta actividad acuícola fue de 5.8% (FAO, 2018).

En el año 2016, la producción por acuicultura fue de 110.2 millones de toneladas (equivalente a 243,500 millones de USD), de las cuales 80 millones correspondieron a peces para consumo humano con un valor de 231, 600 millones de USD. En este mismo año, la producción de peces de cultivo superó a las capturas de peces del medio natural en 37 países pertenecientes a todas las regiones, excepto Oceanía (FAO, 2018). Así mismo, se produjeron 51.4 millones de toneladas de peces en aguas continentales lo cual representó el mayor porcentaje (64.2%) del total de peces cultivados. En cuanto a los peces marinos y costeros, su producción es menor que la de peces de agua dulce ya que sólo representan 28.7 millones de toneladas. A pesar de ello, su valor (67, 400 millones de USD) está alrededor del 29.10 % del valor total para todos los peces cultivados (FAO, 2018). Esto se debe a que gran parte de las especies marinas cultivadas tienen un valor unitario superior al de la mayoría de peces cultivados en agua dulce (FAO, 2014).

En la actualidad el cultivo de peces marinos continúa experimentando un crecimiento a nivel mundial. Esto probablemente se debe al desarrollo y la optimización de tecnologías de cultivo y al mejoramiento de las técnicas de producción, lo que ha permitido incrementar el número de especies sobre las cuales es factible una producción a nivel industrial (Martínez-Lagos y García-López, 2009).

En México, aproximadamente el 80% de los cultivos de peces son de tipo extensivo, en los cuales se obtiene un bajo rendimiento. La acuicultura dulceacuícola es la que ha tenido un mayor desarrollo, mientras que los cultivos de especies de aguas marinas y salobres aún son escasos (Norzagaray-Campos et al., 2012). Para que la actividad acuícola en México mejore, no sólo es necesario el desarrollo de estudios enfocados a hacer más eficiente cada una de las etapas de producción, sino también, el cultivo de un mayor número de especies con potencial biológico. De lograrse lo anterior, la acuicultura será una importante alternativa para el desarrollo de México ya que no sólo aportará beneficios económicos, sino también, será una importante opción para repoblar las regiones naturales sobreexplotadas y para la producción de alimentos de consumo con alto valor nutricional (SAGARPA, 2001-2006).

En este contexto, el conocimiento del estado de salud y de los requerimientos nutricionales de los organismos de cultivo, son aspectos clave que pueden contribuir al éxito de la actividad acuícola (Vizcaíno-Pérez, 2012). El conocimiento de sus requerimientos nutricionales y de su composición bioquímica proximal, son elementos indispensables para la formulación de dietas específicas que promuevan el crecimiento y la reproducción (Espinoza y Labarta, 1987; López et al., 2006; Nates, 2016). Por tal motivo, uno de los principales retos de la nutrición acuícola es la formulación y elaboración de alimentos balanceados que cubran los requerimientos nutricionales de los organismos. Estas dietas deberán estar formuladas de tal manera que promuevan en la medida de lo posible, una alta retención y asimilación de los principales nutrientes (Pirozzi et al., 2010, Tacon et al., 2011). En particular, para la alimentación de los peces, el conocimiento de sus necesidades proteicas es de gran importancia (Nates, 2016), ya que las proteínas son consideradas como nutrientes esenciales por las diversas funciones biológicas en las que participan (Webster y Lim, 2002).

La acuicultura se enfrenta al reto de la diversificación de especies con potencial de cultivo para fomentar el crecimiento de esta actividad, por lo que es de gran relevancia la generación de conocimiento sobre especies con potencial acuícola como *Totoaba macdonaldi*. Por este motivo, es de

gran importancia determinar los requerimientos nutricionales y fisiológicos de los peces, ya que de esto dependerá el que puedan ser cultivados en las condiciones que favorezcan su desempeño biológico (NRC 2011; Nates, 2016).

1.1 Generalidades de *Totoaba macdonaldi*

La *Totoaba macdonaldi* (familia Sciaenidae) es una especie endémica del Golfo de California (Cisneros-Mata et al., 1997) que tiene gran potencial para su desarrollo acuícola (Rueda-López et al., 2011; Pérez-Velázquez et al., 2016). Es una especie que alcanza tallas de hasta 2 metros de longitud, un peso de 135 kilogramos en la edad adulta (Román-Rodríguez y Hammann, 1997) y puede llegar a vivir hasta 25 años (Román-Rodríguez, 1994 en: Cisneros-Mata et al., 1995). De las especies que integran la familia Sciaenidae, *T. macdonaldi* alcanza los mayores pesos y longitudes (Flanagan y Hendrickson, 1976). El mayor crecimiento se presenta en sus dos primeros años de vida y disminuye alrededor del sexto o séptimo año, cuando alcanza la primera madurez sexual, a partir de los 12 a 14 años de edad, la curva de crecimiento presenta una asíntota (Román-Rodríguez y Hammann, 1997).

La distribución geográfica de *T. macdonaldi* comprende desde el Delta del Río Colorado hasta Bahía Concepción en Baja California (costa oeste del Golfo) y desde el Delta del Río Colorado hasta la desembocadura del Río Fuerte en la costa del estado de Sinaloa (costa este del Golfo) (Rosales-Juárez y Ramírez-González, 1987). De acuerdo a Berdegué (1995 en: Valdez-Muñoz, 2010), *T. macdonaldi* realiza dos migraciones anuales; la primera probablemente para huir de las temperaturas cálidas de los meses de verano en las aguas litorales del Golfo, movimiento que le permite refugiarse en aguas profundas y frías, y la segunda, para reproducirse en las aguas salobres del Río Colorado, la que ha originado que sea clasificada como una especie “anádroma”.

La totoaba está clasificada como un depredador tope del mar de Cortés (Cisneros-Mata et al., 1995). En su etapa de juveniles, además de anfípodos suelen alimentarse de crustáceos o de pequeñas lisas y chanos, mientras que en su etapa adulta, consumen crustáceos como las jaibas y peces pelágicos como anchovetas y sardinas (Arvizu y Chávez, 1972; Cisneros-Mata et al., 1995).

1.2 Antecedentes de captura de *Totoaba macdonaldi*

A principios del siglo XX, la pesquería de totoaba fue una de las pesquerías más importantes en el noroeste de México. Los primeros registros de esta actividad corresponden al año de 1920, periodo en el que se pescó de manera indiscriminada, con el objetivo de satisfacer la alta demanda de la vejiga natatoria (comúnmente llamado, “buche”) en el mercado asiático (Flanagan y Hendrickson, 1976). Debido al auge de la comercialización de la vejiga natatoria, en 1942 se capturaron 2,261 toneladas de totoaba, que representa la captura más grande de la que se tenga registro. Como resultado de la continua sobrepesca, las poblaciones comenzaron a disminuir alrededor de 1960 (Arvizu y Chávez 1972; Valenzuela-Quiñonez et al., 2015) y años después, la situación se volvió más crítica lo que originó que se declarara el cierre de la pesquería en los años 70 (Arvizu y Chávez, 1972). Ante esta situación, el gobierno de México decretó una veda total indefinida en 1975, la cual aún está vigente

(Diario Oficial de la Federación, 1975). En 1976 *T. macdonaldi* fue clasificada en peligro de extinción por la Convención Internacional para el Tráfico de Especies en Peligro (Apéndice I) y en 1979 por el Servicio Nacional de Pesquerías Marinas de los Estados Unidos de América (registro federal 44(99): 29478-29480). En la actualidad, es la única especie marina de escama considerada en peligro de extinción en México e incluida en el Programa de Vida Silvestre 1995-2000 (INEC, SEMARNAT, 1995).

En la búsqueda de alguna posible solución ante el estado crítico de las poblaciones naturales de *T. macdonaldi*, el gobierno de México autorizó el registro de algunas Unidades de Manejo para la Conservación de Vida Silvestre (UMAs) por parte de la Dirección General de Vida Silvestre (DGVC) perteneciente a la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). Estas UMAs fueron autorizadas con el objetivo de realizar trabajos de investigación que permitieran generar información sobre aspectos de reproducción, aprovechamiento extractivo y repoblamiento (CEMDA, 2017).

Actualmente los programas que existen bajo la figura de UMA son: 1. *Unidad de Biotecnología en Piscicultura de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC)*, 2. *Instituto de Acuicultura del Estado de Sonora - Centro Reproductor de Especies Marinas del Estado de Sonora (CREMES)*; 3. *Earth Ocean Farms S.A. de C.V.*; 4. *Pacífico Acuaculture S.A de R. L. de C.V.*; 5. *Frutos del Mar sección Bahía de Altata* y 6. *Cygnus Ocean Farms S.A. de C.V./DENE*B (CEMDA, 2017). En cuanto a la liberación de organismos con fines de repoblamiento sólo se tiene información de las UMA a cargo de la UABC, la cual liberó 101, 270 ejemplares en un periodo comprendido entre 1997 a 2016; del CREMES que liberó 134,722 peces entre 2012 a 2016 y de Earth Ocean Farms que liberó 16,500 juveniles entre 2015-2016, lo que da un total de 252,492 ejemplares liberados al medio natural (CITES, 2016).

La totoaba es una especie con potencial en la acuicultura y para consolidar su cultivo, es indispensable continuar generando los conocimientos que fortalezcan las diferentes etapas de su cultivo. Entre los temas relevantes, diferentes aspecto de su fisiología y nutrición, son fundamentales, ya que al ser una especie de hábitos carnívoros, es un requisito que su dieta contenga altos porcentajes de proteína.

1.3 Importancia del estudio de las proteínas

Las proteínas representan más del 50 % del peso seco de la mayoría de las células y están involucradas prácticamente en casi todas las funciones que realiza un organismo (Reece et al., 2017). Las proteínas son de gran importancia ya que participan a nivel estructural (como el colágeno y la elastina, presentes en el tejido conectivo), como enzimas (las amilasas, la glucosidasas, las proteasas, las lipasas) para acelerar reacciones bioquímicas específicas, en los mecanismos de defensa contra enfermedades (anticuerpos específicos en el reconocimiento de virus y bacterias) y como hormonas (hormona del crecimiento), entre otras funciones (Dumas et al., 2007; NRC, 2011; Audesirk et al., 2017; Reece et al., 2017).

Las proteínas contenidas en el alimento consumido por los peces, son hidrolizadas para liberar los aminoácidos que las componen, los cuales, son absorbidos en el tracto intestinal y transportados por el torrente sanguíneo a los distintos órganos y tejidos (Wilson, 2002). Debido a la importancia de los aminoácidos, es recomendable que sean incluidos en la dieta en la cantidad y la composición que el organismo requiere, ya que son

empleados para diversas funciones biológicas como la síntesis de nuevas proteínas durante el crecimiento, la reproducción o para el reemplazo de proteínas existentes (Audesirk et al., 2017; Reece et al., 2017).

En cuanto a la composición corporal de los peces, las proteínas son los compuestos orgánicos más abundantes, ya que equivalen al 65 a 75% del total respecto al peso seco (Wilson, 2002). Se ha comprobado que para un crecimiento y reproducción adecuados, los requerimientos nutricionales de los peces, son similares a los de otros animales, sin embargo, los peces tienen un mayor requerimiento de proteína, por lo que son alimentados con dietas cuyos porcentajes van de 25 a 45% (Webster y Lim, 2002; Davies y Gouveia, 2010; NRC, 2011; Nates, 2016).

Cuando los peces se alimentan con dietas que no cubren sus requerimientos proteicos, el crecimiento disminuye o se interrumpe totalmente, lo que ocasiona una reducción del peso corporal, causado por el metabolismo de las proteínas del tejido muscular y por los costos del mantenimiento de aquellas proteínas que desempeñan funciones de mayor relevancia, como las que integran el tejido cerebral (Wilson, 2002). Por el contrario, cuando se alimentan con un exceso o con proteínas de mala calidad, éstas no son aprovechadas eficientemente, lo cual lleva a una baja capacidad de síntesis de nuevas proteínas y su uso para la producción de energía (Lovell, 2002; NRC, 2011), lo que conlleva un incremento en los costos de producción en cualquier cultivo (Ahmad et al., 2010).

Tomando en cuenta el porcentaje de proteína que se encuentra en el cuerpo (Ahmad et al., 2010) y que son los nutrientes más caros para elaborar los alimentos de organismos acuáticos cultivados (Sargent et al., 2002; Hepher, 2009; NRC, 2011), es de gran importancia el desarrollo de estudios en los que se determine la cantidad y la calidad de proteína requerida para cada especie y etapa de vida (Craig, 2009).

Los niveles de proteína cruda en la formulación de las dietas para acuicultura, varían en función de los requerimientos de cada especie. En general, el intervalo en el que se han utilizado está entre el 25 al 65% (Nates, 2016). Los porcentajes de inclusión de proteína dependen de factores como la edad (a menor edad mayor es el requerimiento); la etapa de vida (es mayor para las primeras etapas que para juveniles o adultos) o de variables ambientales como la temperatura (normalmente a mayor temperatura el requerimiento es mayor) (Webster y Lim, 2002; NRC, 2011). De igual manera, se debe tomar en cuenta el tipo de organismo del que se trata (peces o crustáceos); si son marinos, de agua dulce o salobre, sus hábitos alimenticios (carnívoros>herbívoros>omnívoros) (Wilson, 2002), entre otros factores (Nates, 2016).

1.4 Sustitución de la harina de pescado (HP) en la dieta de peces

Tradicionalmente la harina de pescado (HP) se ha utilizado como la fuente principal de proteína para la elaboración de alimentos balanceados en acuicultura (Dersjant-Li, 2002). Esto es debido a su elevado contenido de proteína, buen balance de aminoácidos esenciales, alta digestibilidad, elevado contenido de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga de la serie *n-3*, minerales y otros ingredientes (Watanabe, 2002; Ayodele, 2010; NRC, 2011).

La HP se obtiene principalmente de peces pelágicos, cuyas poblaciones naturales se encuentran en un nivel crítico (Hardy y Tacon, 2002; Merrifield et al., 201; Olsen y Hasan, 2012; FAO, 2016). Las poblaciones de peces marinos explotadas (a un nivel biológicamente sostenible) han mostrado

una tendencia a la baja ya que de estar en un 90% en 1974 disminuyeron a un 66.9% en el 2015 (FAO, 2018). Derivado de esta situación, la producción de HP alcanzó su máximo en 1994 (30 millones de toneladas equivalente como peso vivo), en los años siguientes se ha presentado una tendencia fluctuante, aunque generalmente a la baja (FAO, 2018).

En el año 2016, el pescado utilizado para la producción de HP, se redujo a menos de 15 millones de toneladas (a menos del 50% respecto a 1994) debido a la disminución en las capturas de anchoveta (FAO, 2018). Con base en estos registros, se ha planteado que las poblaciones de peces pelágicos no aumentarán y por lo tanto, la cantidad de pescado requerida para satisfacer la creciente demanda de harina y de aceite no será suficiente, situación que traerá como consecuencia que los precios de estos insumos aumenten considerablemente (Merican y Sanchez, 2016; FAO, 2018). Estas predicciones han causado una gran preocupación en el sector acuícola, ya que la mayoría de las dietas para acuicultura y específicamente para el cultivo de peces marinos, depende en gran medida de la harina de pescado como fuente principal de proteína (Watanabe, 2002; Tocher y Glencross, 2015).

Como una medida para satisfacer la alta demanda de HP, desde hace algunos años se han utilizado los subproductos de pescado que antes se descartaban, con el fin de aumentar la producción de harinas, sin embargo, esto podría bajar la calidad nutricional de los peces cultivados como fuente de alimento debido a un menor contenido de proteínas o al aumento en la cantidad de ceniza (minerales) (FAO, 2018). En este contexto, es prioridad que la acuicultura no dependa de fuentes proteicas obtenidas de stocks finitos de peces, por el contrario, es necesario buscar fuentes alternativas de proteínas, que mediante su inclusión en las dietas, permitan producir peces de alta calidad nutricional sin comprometer su salud, evitando el impacto al ambiente y asegurando la rentabilidad económica del cultivo (Hardy, 2006, Turchini et al., 2009; Ayodele, 2010).

De las proteínas alternativas que se han utilizado para la elaboración de dietas para acuicultura, se encuentran las proteínas aportadas por las harinas vegetales (HVs) obtenidas a partir del trigo, el maíz, el gluten, los guisantes, los frijoles, el cacahuate, el girasol, la canola y la soya, entre otros (NRC, 2011). Algunas de las razones por las que estas HVs se han utilizado, son: *1. presentan una similitud a la HP en cuanto a la digestibilidad aparente de sus proteínas y de aminoácidos; 2. al elevado porcentaje de proteína que tienen, principalmente cuando se utilizan como concentrados; 3. son fáciles de conseguir y 4. generalmente son de bajo costo* (Dersjant-Li, 2002; Hardy, 2006).

La sustitución de las proteínas de la HP mediante la inclusión de HVs en la formulación de alimentos se ha realizado desde hace tiempo, sin embargo, hasta el momento no ha sido posible sustituir el 100% de la proteína de origen animal en la dieta, ya que las HVs carecen de algunos nutrientes esenciales (Tacon, 1989), como los aminoácidos esenciales (AAE) lisina y metionina (Gatlin et al., 2007) y tienen ingredientes más complejos que los presentes en la HP (Glencross et al., 2007). Por esta razón, es necesario el desarrollo de investigaciones no sólo enfocadas a evaluar el valor nutricional de las HVs que ya se usan, también se deben establecer los porcentajes en los que se pueden incluir en las dietas, para mantener o mejorar su calidad nutricional y para buscar la viabilidad de nuevas alternativas.

1.4.1 Sustitución de HP por harina de Soya (HS)

El valor nutricional de una harina que es empleada como fuente de proteína está principalmente relacionado con su contenido proteico y composición de aminoácidos esenciales (arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina). Sin

embargo, se deben considerar otros factores importantes, como la biodisponibilidad de carbohidratos, lípidos y vitaminas o la presencia de componentes anti nutricionales (Francis et al., 2001; Watanabe, 2002). Cuando se pretende reemplazar la HP por HVs en la formulación de alimentos para acuicultura, se debe considerar que algunas plantas tienen elevados contenidos de carbohidratos de poco valor nutricional para los peces (principalmente para los de hábitos carnívoros) y son deficientes en algunos AAE como la lisina y metionina (Gatlin et al., 2007). Entre las fuentes de HVs, la harina producida a partir de la soya (HS) es considerada como una de las de mejor calidad, debido a su gran valor nutricional para el consumo humano y animal (Martin, 1998). La HS generalmente tiene un buen balance de aminoácidos, específicamente elevados niveles de isoleucina, lisina, treonina, triptófano y valina (Cromwell, 2012); es resistente a la oxidación, tiene un bajo o nulo contenido de organismos patógenos (Swick et al., 1995) y presenta una buena composición de ácidos grasos poliinsaturados *n*-3 y grasas insaturadas (Salgado y Donado-Pestana, 2011).

La harina de soya se obtiene a partir de la leguminosa *Glycine max*, considerada como una de las plantas de mayor importancia a nivel mundial para la obtención de proteína y aceite (Sugiyama et al., 2015). Esto en parte se debe a que tiene el porcentaje de proteína más alto (40-42%) comparado con otros alimentos de origen vegetal y en cuanto a su contenido de aceite, sólo es superado por el cacahuete (Robert, 1986 en: Pagano y Miransari, 2016).

Aunque la HS es deficiente en algunos AAE (Gatlin et al., 2007; Cromwell, 2012), ha sido empleada para reemplazar la HP en el cultivo de peces y camarones (Dersjant-Li, 2002; Glencross et al., 2004) con resultados favorables con valores de inclusión en el alimento de hasta un 90% (dependiendo de la especie). Kaushik et al. (2004), reemplazaron la HP desde un 2% al 100% por una mezcla de HS y harina de canola (HC) en un cultivo de *Dicentrarchus labrax* por 12 semanas. Los autores no encontraron diferencias en la digestibilidad aparente de las dietas, ni en la eficiencia alimenticia, mientras que el crecimiento de los organismos fue favorable independientemente de la dieta recibida. En *Pagrus major* alimentado por 56 días con dietas con sustitución de HP por HS en un 70, 80 y 90%, no se encontraron diferencias en el peso final, en la tasa de crecimiento específico, ni tampoco afectaron la composición proximal del músculo ni los parámetros somáticos de los peces (Kader et al., 2012). También se ha utilizado proteína de HS genéticamente no modificada (*HS 3011*: en un 50, 60 y 70% y *HS 3032*: en un 40, 50 y 60%) complementada con lisina (3.2%), metionina+cisteína (2%) y taurina (1.5%) en una dieta para el cultivo de juveniles de *Seriola lalandi* (Buentello et al., 2015). Los resultados indicaron que los organismos alimentados por 10 semanas con 50 y 60% de la *HS 3032* tuvieron el mejor crecimiento.

En un estudio con *Lates calcarifer*, se sustituyó el aceite de pescado (AP) por aceite de salvado de arroz y la HP por una mezcla de HS y harina de ave de corral en la dieta (Glencross et al., 2016) y se observó que aunque se presentó una reducción en la ingesta del alimento y el peso de los organismos, es posible utilizar esta fuente alternativa de proteínas para el cultivo de esta especie. García-Ortega et al. (2016) analizaron la mezcla de HS, concentrado de proteína de soya (CPS) y harina de alga (*Schizochytrium limacinum*) como un sustituto de la HP y de calamar en un 20, 40 y 80 %, así como del AP en un 60 y 20% en las dietas para *Epinephelus lanceolatus*. Los mejores resultados de crecimiento y eficiencia de alimentación se presentaron en la dieta sin inclusión de fuentes vegetales y en aquellas en las que se sustituyó el 20 y 40% de la HP y AP. Los mayores contenidos de DHA, proporción DHA:EPA, *n*-3 y *n*-6 y ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga aumentaron cuando se incluyó el concentrado de alga. Con base en estos resultados, los autores concluyeron que una mezcla de HS, CPS y harina de *S. limacinum* puede reemplazar hasta en un 40% a la HP, mientras que el concentrado de alga puede ser usado como principal fuente de lípidos sin afectar el rendimiento o la condición de *E. lanceolatus*.

1.4.1.1 Sustitución de HP por HS en esciénidos

En diferentes especies de la Familia Sciaenidae se han realizado estudios sobre la sustitución de HP por HS. Wang et al. (2006), formularon cinco dietas en las que reemplazaron la HP con HS (20, 40, 60, 80 o 100%) para *Nibea miichthioides* durante ocho semanas de cultivo y no encontraron diferencias en el peso final de los peces alimentados con 20% de la HS y con la dieta control (HP de arenque), pero si entre los peces alimentados con un 40 al 100% de remplazo de la HS, por lo que al parecer *N. miichthioides* tiene una capacidad limitada para utilizar a la HS como fuente de proteína. En *Argyrosomus regius* se evaluó la eficiencia proteica y la tasa de conversión alimenticia cuando se suministraron dietas donde se sustituyó la HP por HS (0, 15, 30 y 45%) y no se encontró un efecto de los diferentes tratamientos sobre estas respuestas (Velazco-Vargas et al., 2013). Estos autores también reportaron que los porcentaje de inclusión de 26.4 y 27.6 % producen los mejores resultados en el coeficiente de crecimiento térmico (CCT) y en la tasa de conversión alimenticia respectivamente. Minjarez-Osorio et al. (2016) reemplazaron el 25, 50 y 75% de HP con proteína vegetal de tres fuentes (1.- HS genéticamente no modificada; 2.- concentrado de proteína de soya (CPS) y 3.- concentrado de maíz (CM)) suplementadas con lisina, metionina, taurina y glicina para un cultivo con *Sciaenops ocellatus* y *Cynoscion parvipinnis*. Los resultados mostraron que es posible reemplazar la HP en un 75% por HS más CPS en la dieta proporcionada a *S. ocellatus* y en *C. parvipinnis* se pueden utilizar los mismos porcentajes con CPS y CM, debido a que en ninguna de las dos especies se afectó el crecimiento, y solamente hubo un efecto en la composición proximal corporal de *C. parvipinnis*.

1.4.1.1.1 Sustitución de HP por proteínas alternativas en *Totoaba macdonaldi*

En los trabajos realizados para estudiar los efectos de la sustitución de harina de pescado (HP) en la dieta de *T. macdonaldi*, se encuentran los desarrollados por Carpio-Ramírez (2013), quien sustituyó la HP por tres porcentajes de inclusión (33, 67 y 100) de harina de subproducto de ave (HA) en un cultivo de juveniles de totoaba, y encontró resultados positivos en el rendimiento biológico cuando se añadieron a las dietas la combinación de las dos fuentes de harina (HP y HA) o con un remplazo del 67% de la HP.-Espinoza-Acevedo (2014) quien reemplazó la HP por diferentes porcentajes (15, 30, 45, 60, 75, 90 Y 100) de proteína de soya (PS), encontró que la mayor ganancia en peso se presentó con una sustitución de 15 y 30 %, los cuales no fueron diferentes estadísticamente de un 45% de PS ni de la dieta control (sin PS), por lo que concluyó que es posible sustituir hasta un 45 % la HP por HS como fuente de proteína sin afectar la salud de los juveniles de totoaba. En otro estudio, Bañuelos-Vargas et al. (2014), evaluaron la inclusión de 30 y 60 % de proteína de soya y almidón con o sin la inclusión de taurina (1%), y observaron que la mayor ganancia en peso se presentó con un 30% de PS y taurina, sin embargo, la inclusión de la proteína vegetal en las dietas ocasionó una disminución de la ingesta de alimento, sin importar el porcentaje y la presencia de taurina en la dieta. También se ha estudiado la sustitución de harina de pescado (HP: 0, 15 y 30%) por harina de cabeza de camarón (HCC) en un cultivo de juveniles de totoaba (26.3 ± 4.7 g) aclimatados a $20.5 \pm 0.9^\circ\text{C}$. Después de ocho semanas de alimentación, no se encontraron diferencias en el incremento en peso y la tasa de crecimiento específico entre los porcentajes de inclusión de la HCC (Espinoza-Chaurand et al., 2015).

La inclusión de concentrado de proteína de soya (CPS, 30 y 60%) y taurina en la dieta de juveniles de totoaba (7.5 ± 0.6 g) y proporcionada por seis semanas, dio como resultado que el peso de los juveniles alimentados con 30% (con y sin taurina) y 60 % (con taurina), fuera similar al de los peces que recibieron la dieta control (contenia sólo HP) (López et al., 2015). Los autores también encontraron que la concentración de eritrocitos y el

hematocrito de los peces alimentados con 30 y 60% de CPS más taurina fueron iguales al de las totoabas que recibieron la dieta control, mientras que las proteínas totales y la albumina en la sangre aumentaron y la relación albumina:globulina disminuyó con la inclusión de CPS (con y sin taurina). Badillo-Zapata et al. (2016), evaluaron por 12.2 semanas la sustitución de HP por 0, 33, 67 y 100% de harina de subproducto de ave (HSA) en juveniles de totoaba (2.7 ± 0.1 g;) aclimatados a $26.0 \pm 1^\circ\text{C}$. Los autores analizaron el rendimiento biológico de los peces mediante el perfil de aminoácidos (de las dietas), de ácidos grasos (en dietas y músculo) y del uso de isotopos estables en músculo (nitrógeno $\delta^{15}\text{N}$) e hígado para cuantificar la retención protéica de las dietas evaluadas. Los resultados mostraron que la mejor ganancia en peso se presentó con 67% de inclusión de HSA y que este porcentaje se retuvo en hígado y músculo en mayor proporción en relación a su nivel de inclusión en la dieta, por lo que concluyeron que la HSA es una buena alternativa cuando se incluye en un máximo de 67%.

La sustitución de la HP por CPS (15, 30, 45, 60, 75, 90 y 100%) en las dietas suministradas por 8.6 semanas a juveniles de totoaba (50 ± 1.0 g), mostró que el crecimiento con dietas en las que el CPS se incluyó en un máximo de 45% fue igual que el registrado con las dietas sin CPS (Trejo-Escamilla et al., 2016) Sin embargo, la concentración de proteínas totales disminuyó cuando la inclusión de CPS fue de un 90 y 100 %, por lo cual recomiendan que el porcentaje de sustitución de HP por CPS debe ser menor a 45%. Recientemente, Fuentes-Quesada et al. (2018) sustituyeron la HP por HS (22, 44 y 64 %) y adicionaron las dietas con taurina, con el fin de evaluar su efecto en el intestino e hígado de juveniles (50.0 ± 1.0 g) aclimatados a $23.3 \pm 1.1^\circ\text{C}$. Los autores reportaron que el crecimiento y la fisiología digestiva estuvieron influenciadas negativamente por elevados porcentajes de inclusión de HS. Así mismo, observaron enteritis en el intestino, daño en el hígado, alteraciones en la actividad de las enzimas digestivas (tripsina, quimotripsina, L-aminopeptidasa, proteasas alcalinas totales y amilasa) en los peces alimentados con 44% y 64% de HS.

Mata-Sotres et al. (2018) evaluaron el efecto de la harina de subproductos de ave y la inclusión de DHA (extracto de *Aurantiochytrium sp.*) y sebo vacuno por nueve semanas en juveniles de totoaba (9.5 ± 0.1 g) para cubrir la demanda de lípidos en sustitución del AP. Los autores no encontraron un efecto negativo en la supervivencia ni una deficiencia en los ácidos grasos, sin embargo, si reportaron una afectación en la tasa de conversión alimenticia, del índice viscerosomático y del contenido de lípidos en el hígado. En cuanto a los parámetros sanguíneos, (glóbulos rojos, volumen corpuscular medio, hemoglobina corpuscular media, concentración de hemoglobina corpuscular media, glóbulos blancos, proteínas totales, albúmina, globulina y glucosa) no fueron influenciados por la inclusión de sebo, a excepción de los triglicéridos los cuales fueron mayores en las dietas con harina de subproductos de ave más sebo. Además, los peces alimentados con esta misma dieta presentaron niveles significativamente menores de DHA y EPA, los cuales aumentaron con la adición de DHA en el alimento. En conclusion, los autores reportaron que la inclusión de la harina de subproductos de ave y el sebo vacuno reemplazaron con éxito al aceite de pescado en el contexto del rendimiento en crecimiento y los parámetros sanguíneos generales.

1.4.2 Influencia de la dieta en la composición corporal de los ácidos grasos (AG) de peces

Se ha reportado que existe una alta relación entre los niveles y composición de los lípidos (ácidos grasos) consumidos en la dieta y los niveles de lípidos (ácidos grasos) en los tejidos corporales de los organismos que los consumen (Sargent et al., 2002; Turchini et al., 2011). Normalmente la modificación del perfil de AG de los peces se ha evaluado en relación a la sustitución del aceite de pescado (AP) por fuentes alternativas como los aceites vegetales (AVs), los cuales han sido incluidos en la dieta de manera individual o como mezcla de varios de ellos, con el objetivo de conseguir

un perfil de AG lo más cercanamente posible al encontrado en el aceite de pescado obtenido de peces marinos (Torstensen et al., 2008; Turchini, 2011; Álvarez et al., 2020; Ofori-Mensah et al., 2020).

Pocos estudios han evaluado el perfil de AG en el músculo de los peces en respuesta a la sustitución de la HP por harinas vegetales (HVs). Karalazos et al. (2007) evaluaron por 12 semanas la sustitución de HP por tres porcentajes de HS (12, 24 y 36%) en el bacalao del Atlántico *Gadus morhua* y no encontraron diferencias significativas en los pesos finales pero si en la tasa de crecimiento específico, el cual fue mayor con la dieta control (sin HS) que con las dietas con soya. También reportaron un efecto negativo de la HS en la composición de AG del músculo y del hígado, los cuales mostraron una relación lineal entre las concentraciones de AG en la dieta y en los tejidos. En la trucha arcoiris *Oncorhynchus mykiss* se reportó que el remplazo de HP por dos cantidades de HS (400 o 550 gramos por kilogramo de dieta) afectó negativamente la composición de AG del músculo y el hígado de los peces, reduciendo significativamente la proporción de EPA, DHA y los AG poliinsaturados n-3/n-6 del musculo (Harlioğlu y Güvenç, 2013). Yeşilayer y Kaymak (2020) evaluaron en juveniles de esta misma especie (*O. mykiss*) dos porcentajes de sustitución de la HP por HS (25% y 50% + 1% de betaina como atractante) o sin atractante (50% de HS), después de 60 días de alimentación no encontraron diferencias significativas en la supervivencia entre la dieta control (sin HS) y las dietas con HS pero si en el peso final, la ganancia en peso y la tasa de crecimiento específica, lo cuales fueron mayores en las dieta con HS. Tambien encontraron diferencias significativas en el perfil de AG de los peces que consumieron las dietas con betaína al 1% en comparación con el control. Respecto a esta última dieta, reportaron que los peces alimentados con HS presentaron contenidos de AG saturados totales significativamente más altos y un nivel significativamente menor de AG monoinsaturados.

A pesar de que la sustitución de porcentajes elevados de HP por HS puede no afectar algunos aspecto del rendimiento biológico, si puede tener un efecto negativo en la composición de ácidos grasos del musculo, por tal motivo, es de gran relevancia determinar qué porcentaje de reemplazo de la HP por HS es posible realizar en la dieta de peces marinos, no solo para obtener resultados favorables en supervivencia y crecimiento, si no también para garantizar que la composición de ácidos grasos del músculo particularmente los HUFAs *n-3*, no se afecte negativamente, ya que además de ser esenciales para los peces, proporcionan una serie de benéficos a la salud humana (Turchini et al., 2009).

Aunque los resultados demuestran que la sustitución parcial de la HP por porcentajes elevados de HS puede no afectar algunos aspectos del rendimiento biológico de peces marinos, esta proteína de origen vegetal debe ser incluida en las dietas con precaución debido a la presencia de algunos compuestos anti-nutricionales que pueden afectar la salud de los organismos (Hardy y Barrows 2002; Kroghal et al., 2010; NRC, 2011) y debido al efecto negativo que la HS puede tener en la composición de AG del músculo.

En este sentido el reto en la nutrición de peces marinos es determinar qué porcentaje de reemplazo de la HP por HS se factible realizar en la elaboración de las dietas. Lo anterior no sólo se deberá llevar a cabo como alternativa para reducir los costos de producción o para obtener resultados favorables en supervivencia y crecimiento, sino también para garantizar que la composición de AG del músculo, particularmente los HUFAs *n-3*, no se afecte negativamente ya que además de que estos ácidos son esenciales para los organismos, el músculo de peces con un perfil adecuado de HUFAs *n-3* (p.e. EPA y DHA) es considerado como un alimento saludable ya que proporcionan una serie de benéficos a la salud humana (Turchini et al., 2009; Lands, 2014; Tocher, 2015).

La calidad de la dieta es de suma importancia para el cultivo de cualquier organismo, sin embargo, también se ha comprobado que variables ambientales como la disponibilidad de oxígeno, salinidad, luz y la temperatura tienen un efecto directo sobre los peces (Person-Le et al. 2004) y

por lo tanto sobre la supervivencia y el crecimiento. De las variables antes mencionadas, la temperatura afecta procesos como el crecimiento, el metabolismo y la ingesta de alimento, por lo que, aunado a la calidad de la dieta, tiene un efecto directo sobre la eficiencia nutricional y los requerimientos de energía en los organismos (Burel et al., 1996; Bureau et al., 2002).

1.5 Temperatura

La temperatura ejerce un efecto sobre los sistemas biológicos en todos sus niveles de organización, así como en cada aspecto de la fisiología del organismo, en consecuencia, impone límites sobre los cuales la vida se desarrolla, aun cuando otros factores parezcan ser favorables para vivir (Hochachka y Somero, 2002, Schulte, 2011). El efecto de la temperatura sobre los organismos es universal e influye directamente en las reacciones bioquímicas (Beitinger y Fitzpatrick, 1979, Beitinger y Bennett, 2000; Das et al., 2004) así como en la formación y en la estabilidad de las interacciones intermoleculares (Schulte, 2011).

La presencia y el éxito de los peces en un hábitat particular depende de la combinación adecuada de los factores ambientales, de los cuales la temperatura es el más importante (Beitinger y Lutterschmid, 2011). Por esta razón, el conocer los principales efectos que ejerce la temperatura es crucial para entender cómo los organismos interactúan con su ambiente. Ante el efecto que ejerce la temperatura sobre los organismos, diversas especies han desarrollado una variedad de estrategias (mecanismos bioquímicos, neuroendocrinos o de comportamiento) para evitar o compensar los cambios térmicos a los que se enfrentan en el ambiente (Beitinger y Lutterschmid, 2011). Por ejemplo, cuando los peces experimentan un intervalo amplio de temperaturas, desarrollan mecanismos de comportamiento (ajustes en la actividad de natación) y bioquímicos (consumo de oxígeno, tasa de digestión, actividad enzimática y tasa metabólica) para compensar o minimizar los efectos de estas variaciones y utilizar más eficientemente la energía y los nutrientes del alimento (Johnston y Dunn, 1987; Burel et al., 1996; Wester y Lin, 2002).

El comportamiento termorregulador es un proceso coordinado por el sistema nervioso central (Luna-Figueroa et al., 2003), el cual produce un comportamiento de búsqueda de las temperaturas en donde las funciones biológicas como el crecimiento y la reproducción (Pulgar et al., 2003; Beitinger y Lutterschmid, 2011) sean más eficientes, y evitando aquellas que pueden comprometer su integridad (Luna-Figueroa et al., 2003; Das et al., 2004; Re et al., 2006). La habilidad para termorregular por comportamiento es un aspecto importante en la biología de los organismos acuáticos, ya que les permite reducir los posibles efectos que una temperatura poco favorable pueda tener sobre su rendimiento fisiológico (Jobling, 1997).

La resistencia, tolerancia y preferencia térmica son respuestas que los peces experimentan ante los cambios de temperatura (Jobling, 1981), las cuales se han documentado y representado en un polígono térmico característico para un organismo poiquilotermo (Brett, 1956; Currie y Schulte, 2014). Para establecer la zona de tolerancia y de resistencia térmica se construyen graficas a partir de los valores de la temperatura letal incipiente (límite de tolerancia) y de los puntos térmicos en los que la muerte de los organismos ocurre rápidamente (límite de resistencia). Estos valores después son comparados contra la temperatura a la cual fueron previamente aclimatados los organismos (Jobling, 1981).

Para el estudio de la tolerancia y la resistencia térmica en peces, se han empleado varias metodologías (Lutterschmidt y Hutchison, 1997) con el fin de conocer la respuesta de los organismos ante una variación térmica y para evaluar los efectos biológicos que fenómenos naturales como el cambio climático y el Niño pueden tener sobre la dinámica poblacional (Beitinger et al., 2000; Mora y Ospina, 2001). Así mismo, estos estudios se han realizados para establecer las estrategias empleadas por los organismos para la supervivencia (Jobling, 1981; Eme y Bennett, 2009), en la selección de sitios de cultivo (Lyytikäinen y Jobling, 1998 en Hernández-Rodríguez y Bückle-Ramírez, 2002) y para estimar los riesgos de mortalidad en sistemas de cultivo con fluctuaciones de temperaturas diarias y anuales (Hernández-Rodríguez y Bückle-Ramírez 2002).

La tolerancia térmica puede ser determinada mediante el desarrollo del *método estático* (Fry et al., 1942 en: Brett, 1956) con el cual se puede estimar un valor de temperatura letal para el 50% de una muestra de peces (previamente aclimatados a temperaturas constantes) después de que son colocados en una serie de temperaturas constantes entre las que está el valor térmico inferior y superior que la especie puede tolerar (Beitinger y Lutterschmidt, 2011). Este método se ha utilizado ampliamente, ya que no permite la aclimatación parcial de los peces durante los experimentos y debido a que parte de los organismos mueren durante las pruebas, se le ha considerado como una herramienta para determinar la tolerancia térmica fisiológica (Fry, 1947).

La resistencia térmica se puede estudiar a través del método *dinámico* con el cual se pueden conocer las temperaturas críticas mínimas (TCmin) y máximas (TCMax), ambas caracterizadas por respuestas de comportamiento. La narcosis por frío, es la conducta que define la TCMin, mientras que en la TCMax, se consideran los espasmos musculares o la pérdida del equilibrio (Cowles y Bogert, 1944; Lutterschmidt y Hutchison, 1997). La metodología para evaluar la TCMax es muy utilizada ya que no es letal por lo que puede ser aplicada para especies amenazadas o en peligro de extinción (Gelbach et al., 1978), se necesitan pocos ejemplares y se requiere poco tiempo para el estudio (normalmente menos de 2 horas; Lutterschmidt, & Hutchinson, 1997), y es una excelente alternativa para estudiar la influencia de diferentes factores bióticos o abióticos sobre la resistencia térmica (Beitinger y Lutterschmidt, 2011).

En el estudio de la TCMax, los organismos son expuestos a un incremento progresivo de la temperatura del agua (iniciando a partir del valor al que fueron previamente aclimatados) hasta que en respuesta al estrés térmico, ocurre una desorganización de la conducta (Reyes et al., 2011). Al determinar la TCMax se conoce la temperatura a la cual se presenta los primeros síntomas de estrés (Paladino et al., 1980) como el incremento de actividad o la desorientación inicial (Hernández-Sandoval et al., 2018), razón por la cual la TCMax es considerada como una excelente herramienta para evaluar los requerimientos de los organismos acuáticos, a nivel térmico, fisiológico y ecológico (Lutterschmidt y Hutchison, 1997; Das et al., 2004; Re et al., 2006).

La tercera respuesta de los peces ante un cambio de la temperatura del agua es la denominada *preferencia térmica* o *temperatura preferida*, la cual fue definida por Fry (1947) como “La temperatura alrededor de la cual los organismos se congregan al ser colocados en un gradiente térmico, y aquella temperatura preferida que es igual a la temperatura de aclimatación”. Por su parte, Reynolds y Casterlin (1979) definieron la temperatura preferida (o preferendum térmico) como el intervalo de temperaturas en el cual se congregan los organismos o donde pasan un mayor tiempo.

La temperatura preferida es una respuesta específica de cada especie y puede variar en función de la edad, peso, estación del año, calidad del agua, disponibilidad de alimento, competencia y presencia de patógenos, entre otros (Reynolds y Casterlin, 1979, Giattina y Garton, 1982). La selección de la temperatura preferida implica una acción conductual que es llevada a cabo para buscar ambientes térmicos que favorezcan el uso

más eficiente de la energía para la supervivencia y la reproducción (Kelsh y Neill, 1990), así como para optimizar el crecimiento (Beitinger y Fitzpatrick, 1979; Jobling 1981; Kelsch, 1996; Schram et al., 2013), la tasa de eficiencia alimenticia, el trabajo cardiaco, secreción y acción hormonal y la respuesta inmunológica (Hutchison y Maness, 1979). Por estas razones, para un gran número de especies la temperatura preferida está relacionada con la temperatura óptima en la cual los procesos fisiológicos, bioquímicos y metabólicos son más eficientes (Beitinger y Fitzpatrick, 1979).

Determinar la temperatura preferida para las especies es importante en la actividad acuícola, ya que puede ayudar a obtener índices metabólicos y tasas de crecimiento favorables (Díaz y Bückle-Ramírez, 1993; Díaz-Iglesias et al., 2004). Tidwell et al. (2003), analizaron el efecto de la temperatura de cultivo (20, 26 y 32 °C) en *Micropterus salmoides* y encontraron que el crecimiento, la supervivencia y la conversión alimenticia fueron mejores a 26 °C, por lo que al parecer algunos procesos fisiológicos se llevaron a cabo de manera más eficiente cuando los organismos se cultivaron en su temperatura preferida. Sun y Chen (2014), analizaron el efecto de cinco temperaturas (23, 27, 31, 33 y 35 °C) sobre el crecimiento de *Rachycentron canadum* de diferentes pesos (10, 30, 70 y 200 g) y encontraron que los mejores índices de crecimiento y la mejor tasa de conversión alimenticia, independientemente del peso inicial, se registraron entre los 31 y 33 °C.

Estudios recientes se han encaminado a conocer el efecto de la dieta sobre la temperatura preferida de los organismos. Pulgar et al. (2003), encontraron que la calidad del alimento suministrado (algas o bivalvos) a juveniles de *Girella laevis* afectó la temperatura preferida, ya que los peces alimentados con bivalvos (alimento considerado por los autores como de alta calidad) seleccionaron temperaturas entre 16-18 °C, mientras que los peces que consumieron algas, seleccionaron valores entre 10-12 °C. Killen (2014), evaluó en *Phoxinus phoxinus* el grado en el que la alimentación, la tasa metabólica estándar y el campo aeróbico (capacidad para realizar tareas fisiológicas simultáneas que consumen oxígeno como el crecimiento, actividad, digestión; Pörtner y Farrell 2008) interactúan para afectar a la temperatura preferida. Esta investigación se realizó en dos grupos de peces, el primero no recibió alimento por 21 días y después se alimentaron a saciedad por los restantes 74 días del experimento. El segundo grupo de peces recibieron alimento durante todo el ensayo. Los resultados mostraron que los peces que no fueron alimentados, mostraron un crecimiento compensatorio después de consumir alimento y prefirieron temperaturas más frías.

1.5.1 Interacción de la calidad de la dieta y temperatura

Los organismos obtienen del alimento los nutrientes que les permiten afrontar las variaciones del ambiente. Se ha demostrado que la energía presente en la dieta tiene una influencia directa sobre la temperatura corporal y el metabolismo de los animales (Dent y Lutterschmidt, 2003). Dado que la temperatura afecta la asimilación del alimento y las tasas de crecimiento (Morgan y Metcalfe, 2001), su determinación es un factor que se debe considerar cuando se pretende analizar el rendimiento de los organismos o la viabilidad de un cultivo. La temperatura del agua puede afectar la tasa a la cual se utiliza la energía (Fry, 1971; Pörtner y Farrell, 2008), la capacidad fisiológica (Pörtner, 2001; Clark et al., 2013), la tasa de alimentación (Webster y Lim, 2002; Bureau et al., 2002), la supervivencia, la eficiencia nutricional, el crecimiento y la reproducción, (Jobling et al., 1993; Wedemeyer, 1996; Pulgar et al., 1999; Morgan y Metcalfe, 2001; Pulgar et al., 2003).

La primera respuesta de los peces a un aumento en la temperatura del agua es el incremento de la tasa metabólica, así como la ingesta y el tránsito del alimento en el tracto digestivo cuando el alimento no es una limitante (Fänge y Grove, 1979 en: Bureau et al., 2002), lo cual puede afectar la digestibilidad de la dieta y la cantidad de nutrientes absorbidos (Bureau et al., 2002). Este aumento normalmente llega a un máximo, después del cual, disminuye a pesar de que la temperatura siga aumentando (Jobling, 1997). Por el contrario, a bajas temperaturas el crecimiento disminuye, lo cual probablemente se debe a una reducción del apetito y de la ingesta de alimento (Webster y Lim, 2002), de la tasa metabólica y de un incremento de la energía invertida para el metabolismo de mantenimiento (Xiao-Jun y Ruyung 1992; Sun y Chen, 2014).

Diversos estudios han evaluado el efecto de la temperatura y la dieta en los peces bajo condiciones de cultivo. Deng et al. (2002), reportaron que la supervivencia y el crecimiento de *Pogonichthys macrolepidotus* en cultivo fue afectado positivamente por la calidad de la dieta, los mejores resultados se obtuvieron con la dieta comercial Biokyowa y con una dieta formulada con caseína purificada en la temperatura de 26°C. Person-Le et al. (2004), estudiaron el efecto de diferentes temperaturas (13, 16, 19, 22, 25 y 29°C) en *Dicentrarchus labrax* y encontraron una mayor ingesta de alimento, eficiencia alimenticia y ganancia en peso conforme la temperatura aumentó de 13 a 25°C. En *Polyprion oxygeneios*, la exposición a dos temperaturas de cultivo (18 y 22 °C) y tres dietas comerciales dieron como resultado que la tasa de crecimiento específica y el factor de condición aumentaran significativamente en los peces cultivados a 18 °C, por lo que las dietas tuvieron un efecto positivo en esta condición térmica, pero no en los organismos aclimatados a 22 °C. Los autores reportaron que estos resultados pudieron atribuirse a que *P. oxygeneios* prefiere temperaturas más bajas, lo cual ha sido observado en el medio natural en donde a medida que los organismos maduran y crecen, cambian de un ambiente pelágico a un hábitat demersal posiblemente buscando temperaturas menores y más estables (Tromp et al., 2016). Kamiński et al. (2017) evaluaron en juveniles de *Tinca tinca* (L) el efecto de diferentes dietas (1: alimento comercial para larvas de peces; 2: alimento congelado a base de insectos; y 3, una combinación de los dos alimentos en una proporción de 3:2) y temperaturas (20°C, 23°C y 26°C), y reportaron que las mayores tasas de crecimiento relativo se observaron con las dietas 1 y 3 a una temperatura de 26°C, mientras que los menores índices de conversión alimenticia se obtuvieron con la dieta 1 a 23 y 26 °C.

El conocimiento de las respuestas térmicas de una especie, permite establecer las condiciones de temperatura adecuadas para su cultivo, por lo anterior, lo más recomendable es hacerlo dentro del intervalo térmico que más favorezca su rendimiento biológico (Saoud et al., 2008), en este contexto, la cantidad y la calidad de la dieta son aspectos fundamentales. Considerando que los peces son organismos poiquiloterms (Beitinger y Lutterschmid, 2011), éstos mantienen una estrecha relación con las condiciones del ambiente, por lo cual están expuestos a cambios físicos y químicos que también influyen en sus componentes sanguíneos (Grant, 2015). La temperatura del agua afecta los parámetros hematológicos de los peces (Akbar, 2014; Grant, 2015), ya que modula la concentración de sus componentes sanguíneos (Konstantinov y Zdanovich, 2007).

1.6 Parámetros sanguíneos en peces

Comúnmente la salud de los peces se relaciona con el peso y la longitud (Ecoutin et al., 2005). Aunque esta relación aporta información relevante, es de gran importancia entender el concepto fisiológico de la salud de los peces en función de sus componentes sanguíneos (Onyia et al., 2013),

que pueden ser influenciados por la calidad del alimento consumido, así como de la interacción con otras variables ambientales, como la salinidad, el oxígeno, el pH y la temperatura del agua (Steinhagen et al., 1990).

La sangre de los peces comprende entre el 1.3 y 7% del peso corporal (Fazio et al., 2013) y el estudio de las variaciones en sus componentes es utilizado como indicador de la condición fisiológica y como un indicador de estrés (Cataldi et al., 1998; Cnaani et al., 2004). La ictiohematología es la disciplina que estudia la sangre de los peces y al igual que con otros vertebrados, su análisis permite evaluar las células sanguíneas a nivel morfológico, bioquímico y funcional, los órganos hematopoyéticos, las enfermedades relacionadas con ellos y cualquier fenómeno o patología que relacione las células y/o los órganos productores de sangre (Williams et al., 1991).

La hematología es una herramienta que permite evaluar la salud de los peces, debido a que los componentes sanguíneos responden rápidamente a cualquier factor que pueda alterar la homeostasis (Radoslav et al., 2013). Además, los parámetros hematológicos proveen información importante de la respuesta fisiológica de los peces a cambios ambientales, ya sea en su habitat natural (Radoslav et al., 2013) o en condiciones de cultivo (Fagbenro et al., 2005). Los peces mantienen sus componentes sanguíneos dentro de un intervalo determinado, mediante varios mecanismos de compensación fisiológicos (Onyia et al., 2013). La magnitud del cambio en sus componentes sanguíneos va a depender de factores como la especie, edad, etapa de vida, fase de madurez sexual, condición de salud y variables ambientales, entre otros (Blaxhall, 1972; Vosyliené, 1999; Hrubec et al., 2001).

Entre los componentes hematológicos más evaluados como indicadores de salud se encuentran los glóbulos rojos (Roberts y Ellis, 2001) cuya función principal es el transporte de oxígeno en la sangre; el Hematocrito (Hrubec *et al.*, 2001) que representa el porcentaje que ocupa la fracción sólida de una muestra de sangre; el volumen celular medio (medida del tamaño promedio de los eritrocitos) y los glóbulos blancos (Blaxhall, 1972) fundamentales en el sistema inmune.; Mientras que dentro de la química sanguínea algunos de los elementos más estudiados son la concentración total de proteínas (Stockham y Scott, 2013), las albúminas (Eckersall, 2008) que constituyen la mayor fracción de todas las proteínas individuales del suero en la mayoría de los animales; las Globulinas (utilizadas principalmente para combatir las infecciones y mejorar la coagulación de la sangre), los Triglicéridos (principales constituyentes de la grasa) y las enzimas aspartato aminotransferasa y alanina aminotransferasa (Stockham y Scott, 2013) que junto con otras transaminasas, intervienen en el catabolismo de aminoácidos y en el transporte de nitrógeno.

Entre las diversas enfermedades que pueden ser estudiadas mediante los componentes sanguíneos se encuentran la anemia, leucopenia, leucocitosis, trombocitopenia y otras anormalidades celulares (Clauss et al., 2008). Aunque estas enfermedades aportan información importante del estado de salud de los organismos, las anormalidades relacionadas con los eritrocitos, leucocitos, trombocitos y los factores de coagulación son consideradas como trastornos sanguíneos primarios (Clauss et al., 2008) razón por la cual, son usados como indicadores de contaminación o como indicadores fisiológicos de disfunción orgánica por estrés (Wedemeyer et al., 1990).

Es importante considerar que para evaluar la salud de los peces utilizando los parámetros sanguíneos, es necesario contar con valores de referencia, los cuales deben estar dentro del intervalo que presenta una población de organismos que se encuentra en un estado de homeostasis (Cataldi et al., 1998). En este sentido, cualquier cambio en la composición sanguínea puede ser usado para interpretar la salud de los peces (Vázquez y Guerrero, 2007; Onyia et al., 2013, Fazio et al., 2013).

Kader et al. (2012), reemplazaron la HP (70, 80 y 90%) por HS en la dieta de *Pagrus major* y observaron que a pesar de encontrar una gran variación en algunos de los parámetros sanguíneos y en la concentración de cortisol, las diferencias entre los peces de diferentes tratamientos no fueron significativas, a excepción del contenido de triglicéridos y de proteína total en el plasma, los cuales se incrementaron considerablemente con las dietas sin HP. En *Rachycentron canadum*, solo la concentración de glucosa fue afectada negativamente, ya que disminuyó con el reemplazo de la HP por dos variedades de HS cuando fueron incluidas a un porcentaje de 50 y 70% (para la variedad NPFI's 3010) y en 40 y 50 % para la variedad NPFI's 3032 (Watson et al., 2014).

La alimentación de *Platichthys stellatus* por un periodo de 10 semanas con una dieta en la que se sustituyó el 20, 40, 60, 80 y 100% de la HP por CPS ocasionó un incremento en las concentraciones de aspartato aminotransferasa, alanina transaminasa y gama-glutamil transferasa cuando la incorporación de CPS fue igual o mayor al 60% (Li et al., 2015). También el contenido de proteína total y de albumina en el suero disminuyeron cuando se reemplazó el 100 de la HP. El colesterol disminuyó sin importar el porcentaje de inclusión de CPS, por lo que la HP se puede reemplazar hasta en un 40% sin afectar el crecimiento y la salud de esta especie.

En *Totoaba macdonaldi*, son pocos los estudios desarrollados sobre su biología básica y principalmente han abordado aspectos nutricionales, mientras que la información sobre los componentes sanguíneos es aún escasa. Salcedo-Martín (2011) alimentó a juveniles de *T. macdonaldi* con dietas en las que adicionó cinco niveles de almidón (5, 10, 15, 20 y 25%). Los resultados mostraron que con 5 y 20% de almidón en la dieta, se incrementó la concentración de glóbulos rojos. No obstante, los valores se encontraron dentro del intervalo normal para peces con un estado de salud favorable, además de que el contenido de carbohidratos en la dieta tampoco afectó la concentración de proteína plasmática. Bañuelos-Vargas (2014) reemplazó el 30 y 60% de la HP por CPS y encontró una disminución significativa de la concentración de hemoglobina, de las proteínas plasmáticas (albúmina y globulinas), así como un aumento de la glucosa plasmática. Además, los cambios en los parámetros sanguíneos fueron más evidentes cuando el porcentaje de inclusión del concentrado de proteína de soya fue mayor. En otro estudio con juveniles de totoaba (Espinosa-Acevedo, 2014), se sustituyó la HP (0, 15, 30, 45, 60, 75, 90 y 100 %) por HS en la dieta y se encontró una variación en los parámetros hematológicos y de la química sanguínea. La concentración de eritrocitos, el hematocrito y la concentración de hemoglobina fueron afectados negativamente y el efecto fue mayor conforme se incrementó el porcentaje de HS en las dietas experimentales.

1.7 Justificación

En los últimos años se han obtenido altas producciones en la acuicultura, sin embargo, existe la preocupación de si el crecimiento de este sector continuará al mismo ritmo en un futuro cercano. Esta incertidumbre se debe a que las poblaciones de peces con las que se elabora la harina de pescado están en su máximo límite sostenible (FAO, 2014). Por lo anterior, las proteínas alternativas podrían ser usadas como la principal fuente proteica para elaborar alimentos acuícolas, mientras que la harina de pescado debería ser incluida solamente para complementar o añadir algún nutriente esencial (Hardy, 2006). Las proteínas vegetales son una opción cuando el porcentaje en el que se usan no afecta el rendimiento de los organismos, siendo una de las más utilizadas la harina de soya debido a que es considerada como una de las de mejor calidad, por su buen balance de aminoácidos y grasas insaturadas, lo que la convierte en una opción viable para el cultivo de peces y para la salud humana. Aunado a lo anterior,

se debe considerar el efecto de la temperatura del agua, ya que afecta el consumo y la asimilación de alimento por parte de los peces incidiendo en la tasa de crecimiento, por lo que es de gran importancia establecer el intervalo térmico que puede favorecer las condiciones de cultivo que permitan un crecimiento e índices productivos favorables. Este aspecto es fundamental debido a que grandes fluctuaciones de temperatura también ocasionan estrés en los peces, lo cual altera su comportamiento, aspecto que puede reflejarse en los componentes sanguíneos.

Tomando en cuenta que la temperatura del agua y la calidad del alimento pueden afectar el crecimiento de los peces en condiciones de cultivo (Morgan y Metcalfe, 2001), es importante el desarrollo de estudios en *T. macdonaldi* en los que se evalúe el efecto sinérgico de estos dos factores, ya que con ello se obtendrá información complementaria que permita establecer de manera integrada las condiciones de cultivo más favorables para el desempeño biológico de esta especie. En la actualidad los estudios realizados en esta especie no han tomado en cuenta el efecto sinérgico de la temperatura y la calidad de la dieta en el desempeño biológico de totoaba. En este contexto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la interacción de la inclusión de harina de soya en la dieta y diferentes temperaturas de aclimatación en el crecimiento, índices productivos, parámetros sanguíneos, perfil de ácidos grasos del músculo y respuestas de comportamiento térmico de juveniles de *Totoaba macdonaldi*.

1.8 Objetivos General

Evaluar el efecto de diferentes temperaturas de aclimatación y porcentajes de sustitución de la harina de pescado por harina de soya en la dieta en los parámetros de crecimiento, perfil de ácidos grasos del músculo, parámetros hematológicos, química sanguínea, temperatura preferida y resistencia térmica de juveniles de *Totoaba macdonaldi*.

Para cumplir con el objetivo general, el estudio se desarrolló en tres etapas, las cuales se describen a continuación.

Capítulo 2. ETAPA 1

2.1 Efecto de la temperatura de aclimatación y la dieta sobre la supervivencia, los parámetros de crecimiento, índices productivos y la composición de ácidos grasos en el músculo de juveniles de *Totoaba macdonaldi*.

2.2 Hipótesis

El cultivo de juveniles *Totoaba macdonaldi* a una temperatura de 26 °C y alimentados con una dieta en la que se reemplaza un 32% de la harina de pescado por harina de soya, no afecta la eficiencia alimenticia ni la composición de ácidos grasos del músculo de los peces y favorece una supervivencia y rendimiento en crecimiento similar a la de juveniles aclimatados a 26°C y alimentados con una dieta sin inclusión de harina de soya.

2.3 Objetivos

1. Evaluar el efecto de tres porcentajes de sustitución (32, 43 y 56 %) de la harina de pescado por harina de soya sobre la supervivencia, el crecimiento y los índices productivos de juveniles de *T. macdonaldi* aclimatados a tres temperaturas (23, 26 y 29° C).
2. Evaluar el perfil de ácidos grasos de la dieta y del músculo de juveniles de *T. macdonaldi* aclimatados a tres temperaturas (23, 26 y 29 °C) y alimentados con tres porcentajes de sustitución de la harina de pescado (32, 43 y 56 %) por harina de soya.

2.4 Materiales y métodos

2.4.1 Dietas Experimentales

Se elaboraron cuatro dietas isoproteicas (50%) e isolípidas (10%) con base en los requerimientos nutricionales descritos para *T. macdonaldi* (Rueda-Lopez et al., 2011). En tres de las dietas, la harina de pescado (HP), la principal fuente de proteínas, se reemplazó por harina de soya (HS) en las siguientes proporciones: Dieta 1, 32% (D32%: 68%HP-32%HS); Dieta 2, 43% (D43%: 57%HP-43%HS); y Dieta 3, 56% (D3: 44%HP-56%HS). La concentración de lípidos en estas tres dietas se ajustó agregando un volumen de aceite de pescado en relación con el porcentaje de sustitución de HP. La cuarta dieta fue el control (CD: 100%HP) (Tabla 1).

Tabla 1. Composición de las dietas experimentales y la dieta Control (g kg⁻¹) para el cultivo de juveniles de *Totoaba macdonaldi*.

Ingredientes	D0%	D32%	D43%	D56%
	(100%HP)	(68%HP-32%HS)	(57%HP-43%HS)	(44%HP-56%HS)
Harina Pescado (HP)	620.5	424.9	355.0	272.1
Concentrado de Soya	0.0	100.0	100.0	100.0
Harina de Soya	0.0	128.8	255	405.3
Harina de Maíz	171.5	117.9	53.6	0.0
Harina de Trigo	44.9	45.0	45.0	22.6
Lisina	0.0	1.2	1.3	1.3
Metionina	0.0	1.5	1.9	2.4
Aceite de Pescado	35.4	53.0	60.5	68.6
Taurina	10.0	10.0	10.0	10.0
Gelatina	50.0	50.0	50.0	50.0
Almidón Nativo	40.0	40.0	40.0	40.0
Rovimix	25.0	25.0	25.0	25
Stay C	0.5	0.5	0.5	0.5
Benzoato de Sodio	2.0	2.0	2.0	2.0
BHT	0.1	0.1	0.1	0.1
cloruro de colina	0.1	0.1	0.1	0.1
TOTAL (%)	1000	1000	1000	1000
Composición Proximal Teórica				
Proteína Cruda	500.05	500.14	500.18	500.20
Lípidos Totales	100.02	99.97	99.99	100.04
ELN*	350.6	352.0	350.3	347.8
% Cenizas	49.3	47.9	49.5	51.9
Energía (kJ/gr)	18.0	17.98	17.97	17.93
Relación P:E (mg proteína/ KJ)	27.8	27.8	27.8	27.9
Lisina	3.21	3.21	3.21	3.21
Metionina	1.05	1.05	1.05	1.05

*ELN, Extracto libre de nitrógeno.

D0%: Dieta control; D32%: Dieta 1; D43%: Dieta 2; D56%: Dieta 3; HP: Harina de pescado; HS: Harina de soya.

* Rovimix®; Mezcla de vitaminas y minerales (g kg⁻¹): ácido p-aminobenzoico 1,45; biotina 0,02; mioinositol 14,5; ácido nicotínico 2,9; Capantotenato 1.0; piridoxina-HCl 0,17; riboflavina 0,73; tiamina-HCl 0,22; menadiona 0,17; α-tocoferol 1,45; cianocobalamina 0,0003; calciferol 0,03; L-ascorbil-2-fosfato-Mg 0,25; ácido fólico 0,05; cloruro de colina 29,65; retinol 0,015; NaCl 1,838; MgSO₄ · 7H₂O 6,85; NaH₂PO₄ · 2H₂O 4,36; KH₂PO₄ 11,99; Ca (H₂PO₄)₂ · 2H₂O 6,79; Fe-citrato 1,48; Ca-lactato 16,35; AlCl₃ · 6H₂O 0,009; ZnSO₄ · 7H₂O 0,17; CuCl₂ 0,0005; MnSO₄ · 4H₂O 0,04; KI 0,008; CoCl₂ 0.05 y Stay – C (vitamina C) donados por DSM, Nutritional Products Guadalajara, México.

Las dietas experimentales se elaboraron en el Laboratorio de Investigación y Desarrollo de Alimentos para Acuicultura (LINDEAACUA) del Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la Universidad Autónoma de Baja California (IIO-UABC), en Ensenada, B. C., México. Las dietas fueron extruidas mediante un extrusor (EXTRUTECH-E325) con una configuración de tornillo para dietas flotantes (Extrutech Inc. item screw 325: 222-

001,105-003, 106-001, 107-001, 108-003). Las dietas se secaron en un horno de convección horizontal (EXTRUTECH), se enfriaron y se almacenaron a 4 °C. Después de elaborar las dietas se tomó una muestra representativa de cada una y se realizaron los análisis proximales (apartado 5.4.1) con la finalidad de corroborar que correspondían a los valores teóricos propuestos.

2.4.2 Análisis proximales

La composición proximal, expresada en base al contenido de materia seca, se determinó en todas las dietas (control y las dietas experimentales), de acuerdo a los estándares propuestos por la AOAC (1990).

2.4.2.1 Proteína

El contenido de proteína cruda se cuantificó con el método micro-kjendal, que mide la cantidad de nitrógeno total en la muestra (AOAC, 1995). Primero se realizó la digestión de la muestra con H₂SO₄ (ácido sulfúrico), después la muestra se destiló sobre una solución de ácido bórico y finalmente se realizó una titulación con HCl (0.02 N) hasta que la muestra cambió de color verde claro a púrpura. Para determinar el valor final del porcentaje de nitrógeno, se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de nitrógeno} = \left(\frac{\text{HCl(ml)} - \text{ml de Blanco} \times \text{N}}{\text{muestra (g)}} \right) \quad (2)$$

N= normalidad de HCl

Mientras que para el cálculo del porcentaje de proteína, se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de proteína} = \% \text{ de nitrógeno} \times 6.25 \quad (3)$$

2.4.2.2 Lípidos

El contenido de lípidos de las diferentes muestras se extrajo por el método Soxhlet, utilizando como solvente éter de petróleo por un periodo de 4 horas. La grasa disuelta se secó y se cuantificó gravimétricamente con una balanza analítica (A&D serie 7704852), con una precisión de 0.1 mg. Para el cálculo del porcentaje de lípidos se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de lípidos} = \left(\frac{\text{peso del extracto de lípidos}}{\text{peso de la muestra}} \right) \times 100 \quad (4)$$

2.4.2.3 Extracto libre de nitrógeno (ELN)

Se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{ELN (\%)} = 100 - (\% \text{ Proteína} + \% \text{ Lípidos} + \% \text{ Ceniza} + \% \text{ Humedad}) \quad (5)$$

2.4.2.4 Cenizas

Las cenizas se determinaron por la incineración de la materia orgánica a 500 °C durante 24 horas en una mufla (Lindberg/Blue modelo BF51842PBFMC-1).

2.4.2.5 Humedad

El contenido de humedad se determinó por diferencia de peso (en una balanza analítica A&D serie 7704852) a partir de muestras de 1.0 g colocadas en charolas de aluminio, previamente incineradas. Las charolas con las muestras se secaron a peso constante en una mufla (Lindberg/Blue modelo BF51842PBFMC-1) a 70 °C por 24 horas. Para el cálculo del porcentaje de humedad se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de humedad} = 100 - \left(\frac{\text{peso seco} \times 100}{\text{peso húmedo}} \right) \quad (1)$$

2.4.3 Origen de los peces

Un lote de huevos fertilizados, donado por el Centro de Reproducción de Especies Marinas (CREMES) operado por el Instituto de Acuicultura del Estado de Sonora, México, se transportaron en una bolsa de plástico (con agua de mar saturada con oxígeno) al laboratorio de cultivo de peces marinos del Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada, México (CICESE), donde se incubaron a 24 °C y eclosionaron en un tanque de 2 m³. En este laboratorio, los huevos se aclimataron mediante un aumento gradual de temperatura (aumento de 2°C cada hora) de

15 a 23°C. Una vez alcanzada ésta última temperatura, los huevos se sembraron a una densidad de 50 por litro en una incubadora cilíndrica de fondo cónico de 2000 L de capacidad. En estas condiciones se inició la primera etapa del cultivo larvario comprendida de los 0 a los 23 días después de la eclosión (DDE). A partir los 2 DDE y hasta los 17 DDE, las larvas se alimentaron tres veces al día con rotíferos *Brachionus plicatilis* (5 rotíferos por mililitro). A partir del día 18 DDE y hasta el día 23 DDE, las larvas de *T. macdonaldi* se alimentaron con una combinación de rotíferos y nauplios de *Artemia* previamente enriquecidos con ORI-GREEN (SKRETTING) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. El suministro de rotíferos disminuyó diariamente de manera gradual mientras que la cantidad de nauplios aumentó (a una proporción de 4.1; 3:2; 2:3; 1:4 y 0:5 organismos por mL). Este cultivo larvario se llevó a cabo en un fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad, a una temperatura de 23.4 ± 0.4 °C, a una concentración de oxígeno de 5.4 ± 0.4 mg/L, a una saturación de oxígeno de 79.4 ± 4.9 %, a un pH de 8.1 ± 0.2 , a una salinidad de 34.4 ± 0.4 UPS y a una concentración de amonio de 0.6 ± 0.3 mg/L.

A partir del día 24 y hasta el día 30 dde, se alimentaron con una combinación de nauplios de *Artemia* enriquecidos (Ori-Green ORI-N3, Skretting®) y una dieta formulada para larvas de peces marinos Otohime A (Otohime, Tokio, Japón). Desde el día 31 dde y hasta que alcanzaron un peso aproximado de 10 g, se alimentaron con las dietas formuladas Otohime B1, B2, C1 y C2. Durante el periodo de incubación y eclosión de los huevos así como del mantenimiento de las larvas hasta los 10 g, las condiciones de cultivo fueron: 23 ± 1 °C; 7.4 ± 1 mg L⁻¹ de oxígeno disuelto; 32 ± 1 UPS; pH de 8.0 ± 0.3 y un fotoperiodo de 12:12 luz:oscuridad). Después de alcanzar los 10 g los juveniles fueron transferidos a un tanque de 10 m³ para su mantenimiento (en condiciones de cultivo similares a las antes mencionadas) hasta que tuvieron un peso cercano a los 80 g.

2.4.4 Sistema experimental

Cuando los juveniles alcanzaron un peso promedio de 83 ± 4.2 g se transportaron a las instalaciones del Instituto de Investigaciones Oceanológicas (IIO-UABC) y se distribuyeron aleatoriamente en tres sistemas de recirculación. Cada sistema consistió de 12 tanques de 550 L (unidades experimentales), un tanque de compensación de 1.2 m³, dentro del cual se instaló un calentador de titanio de 7.500 watts (Process Technologies) para el control de la temperatura; una motobomba de 1/3 Hp (Sweetwater Modelo SHE3.0), la cual impulsó el agua hacia un biofiltro de 6 pies cúbicos de medio filtrante (PolyGeyser®; Pneumatic Drop Bead Filter model PG7 International Filter Solutions, TX, USA) y a un fraccionador de espuma de 113.5 L (Protein Skimmer). Posteriormente, el agua pasó a un cabezal de distribución que la repartió a los doce tanques de experimentación. Después, el agua de los tanques se recambió por medio de un tubo central de nivel, por el cual se llevó a un tubo de sedimentación (tubo de PVC ced 40 de 0.10 m de diámetro), con el fin de atrapar los sólidos suspendidos (heces, alimento no consumido, etc). Finalmente, el agua del sedimentador salió de este por sobre-nivel y se canalizó por una tubería de PVC (Ced 40) de 0.10 m de diámetro hasta llegar nuevamente al tanque de compensación para reiniciar el proceso.

2.4.5 Condiciones de cultivo

Todos los procedimientos realizados en este estudio para el cultivo experimental de *T. macdonaldi* siguieron las recomendaciones establecidas para investigaciones éticas y responsables aprobadas por NRC (2011b).

A cada sistema de recirculación se le asignó una de las temperaturas de aclimatación (23, 26 o 29 °C) las cuales fueron seleccionadas con base en la temperatura preferida por los juveniles de *T. macdonaldi* (Talamás, 2001 datos no publicados) y tomando en cuenta los trabajos en los que las totoabas fueron aclimatadas a 23 °C (Bañuelos-Vargas et al. 2014; López et al. 2015; Trejo-Escamilla et al. 2016 y Fuentes-Quesada et al. 2018) y 26 °C (Badillo-Zapata et al.; 2016 Barreto-Curiel et al. 2018 y Mata-Sotres et al. 2018). En cada tanque de cultivo se colocaron 12 juveniles con un peso promedio de 83 ± 4.2 g. La temperatura inicial del agua fue de 23 ± 0.8 °C; la concentración de oxígeno de 7.8 ± 0.4 mg•L⁻¹ la salinidad de 32 ± 1 UPS y el pH de 7.8 ± 0.2 .

Para los sistemas en los que se evaluaron las temperaturas de 26 y 29 °C, la temperatura incrementó a razón de 1°C por día. Entonces los peces permanecieron por un periodo de aclimatación de 2 semanas en las temperaturas de aclimatación programadas. Después de este periodo, la fase de experimentación tuvo una duración de 61 días, en los cuales el cultivo se desarrolló en condiciones controladas de oxígeno disuelto (7.4 ± 0.8 mg•L⁻¹), salinidad (34 ± 1 UPS), pH (8.1 ± 0.3) y fotoperiodo natural (época de otoño). La temperatura, el oxígeno disuelto y la salinidad se midieron diariamente con un analizador multiparámetros (YSI modelo 85-10), el pH con un potenciómetro (Hanna HI98130), mientras que el amonio, los nitritos y los nitratos se cuantificaron cada tres días con un kit comercial (API® Test Kit).

2.4.6 Protocolo de alimentación

Durante la primer semana de aclimatación los peces se alimentaron tres veces al día con una dieta comercial (Europa-Skretting 2.0 mm con 50% de proteínas y 8% de lípidos), con una ración equivalente al 3% del peso corporal. Para la segunda semana, la dieta comercial se reemplazó gradualmente por las dietas experimentales (20% por día), hasta que se suministró el 100% de las dietas experimentales (D0%, D32%, D43% y D56%). Durante las dos semanas de acondicionamiento, los juveniles de *T. macdonaldi* se aclimataron a la nueva dieta y en este tiempo, alcanzaron un peso promedio de 100.6 ± 0.21 g. A partir de este peso comenzaron los ensayos donde se evaluó la combinación de *temperatura-dieta*. Desde el día uno hasta el día 61 de cultivo, los peces fueron alimentados con las dietas experimentales a saciedad aparente tres veces al día (8:00 a.m., 12:00 p.m. y 4:00 p.m.). Cualquier alimento no consumido se eliminó después de 5 minutos de permanecer en la columna de agua. Las heces generadas se eliminaron diariamente con un sifón, antes de la primera alimentación y media hora después de la última ración del día.

2.4.7 Biometrías

Previo al inicio de cada biometría, los peces fueron anestesiados con tricáina metanosulfonato MS-222 (9 g de anestésico en 120 L de agua) para facilitar su manejo y evitar producirles algún daño físico o situación de estrés. Todos los peces se midieron (longitud total, cm) y se pesaron (g) al comienzo de la prueba de alimentación y cada mes durante dos meses. Para evaluar el rendimiento en crecimiento y los índices productivos se utilizaron las siguientes ecuaciones:

2.4.7.1 Supervivencia

Se determinó al final del experimento con la siguiente ecuación:

$$\text{Supervivencia} = \frac{\text{número de peces al final}}{\text{número de peces al inicio}} \times 100 \quad (6)$$

2.4.7.2 Parámetros de Crecimiento

2.4.7.2.1 Peso promedio (g)

Los 12 peces de cada tanque fueron pesados con una báscula digital de plataforma (TORREY EQB-100-200) y la longitud total (cm) se registró con un ictiómetro. Después de realizar la biometría, los organismos fueron regresados al tanque correspondiente. El peso promedio se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Peso promedio} = \frac{\text{peso total (humedo) de los peces}}{\text{número de peces}} \quad (7)$$

2.4.7.2.2 Tasa de crecimiento específica (TCE)

$$\text{TCE} = \frac{\ln \text{Peso final} - \ln \text{Peso inicial}}{\text{tiempo (días)}} \times 100 \quad (8)$$

2.4.7.2.3 Ganancia en peso (GP %)

$$\text{GP (\%)} = \frac{(\text{Peso final} - \text{Peso inicial})}{\text{Peso inicial}} \times 100 \quad (9)$$

2.4.7.2.4 Coeficiente de crecimiento térmico (CCT)

Se determinó con la siguiente formula:

$$\text{CCT} = \frac{W_f^{(1/3)} - W_i^{(1/3)}}{T \times \Delta t} \times 1000 \quad (10)$$

Dónde: W_f : peso final (g); W_i : peso inicial (g); T :

temperatura del agua (°C); Δt : tiempo del cultivo ($T \times \Delta t$ representa la suma térmica en grados-días)

El CCT utiliza una función de potencia ($W_t^{1/3}$) debido a que este arreglo matemático proporciona un mejor ajuste de acuerdo al patrón de crecimiento actual de los peces (Strand, 2005).

2.4.7.3 Índices productivos

2.4.7.3.1 Factor de conversión alimenticia (FCA)

El FCA refleja la conversión de alimento consumido respecto a la ganancia en peso del pez (Tacon, 1989). Para evaluar la cantidad de alimento consumido por los peces en cada tanque de cultivo, se verificó que todo el alimento suministrado fuera consumido. El FCA se calculó para cada tratamiento con la siguiente ecuación:

$$\text{FCA} = \frac{\text{alimento ingerido (g)}}{\text{peso corporal ganado (g)}} \quad (11)$$

2.4.7.3.2 Tasa de Eficiencia proteica (TEP)

La TEP definida como los gramos de peso ganado por gramo de proteína consumida, expresa el crecimiento del organismo como consecuencia de la proteína ingerida (Tacon, 1989). Esta tasa aporta información sobre el grado en que la proteína provee los aminoácidos esenciales requeridos por los organismos. La TEP se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{TEP} = \frac{\text{Peso húmedo ganado por el pez (g)}}{\text{Peso seco de la proteína en el alimento consumido (g)}} \quad (12)$$

2.4.7.3.3 Factor de condición (K)

Se determinó el factor de condición de Fulton (Bagenal y Tesch, 1978, en: Froese, 2006) con la siguiente fórmula:

$$K = \frac{\text{Peso total (g)}}{(\text{Longitud total en centímetros})^3} \times 100 \quad (13)$$

2.4.8 Efecto de la temperatura de aclimatación y la calidad de la dieta sobre el perfil de ácidos grasos del músculo de los peces

Para conocer la composición química proximal del músculo de juveniles de *T. macdonaldi*, se analizaron tres peces de cada tanque (9 peces por tratamiento). A estos organismos se les disecó el músculo de la región dorso-lateral y se preservó en ultracongelación a -80°C hasta su análisis. La metodología que se utilizó para cuantificar la composición de los AG del músculo de los peces (antes y después del experimento) y de las dietas experimentales fue la siguiente:

2.4.8.1 Cuantificación del perfil de ácidos grasos (AG)

Previo al análisis de los ácidos grasos (AG) se realizó la extracción de los lípidos con el método propuesto por Folch et al. (1957). La extracción se realizó con una solución de diclorometano-metanol (2:1), más BHT (butilhidroxitolueno) al 0.01% como antioxidante. La saponificación se hizo con una solución metanólica (al 90%) de KOH (0.3N) y para la metilación se utilizó trifluoruro de boro al 14% en metanol ($\text{BF}_3\text{-CH}_3\text{OH}$) (Metcalfe et al., 1966).

Para la identificación y cuantificación de los ácidos grasos por medio de cromatografía de gases se siguió la metodología descrita por Vizcaíno-Ochoa et al. (2010). Los metil-ésteres se disolvieron en hexano grado cromatográfico en una relación de $100 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ y se analizaron en un cromatógrafo de gases Agilent 7890A con una columna capilar (DB-FFAP, de 30 m de longitud; 0.320 mm diámetro y 0.25 μm de espesor de película; Agilent J&W, GC columns) y un detector de iones de flama. Como gas de acarreo se usó nitrógeno a un flujo de 3 mL min^{-1} . El volumen de inyección utilizado fue de $1 \mu\text{L}$, con una dilución de 1:50. La rampa de temperatura para este método fue de $9^{\circ}\text{C min}^{-1}$ con una temperatura inicial de 120°C , hasta alcanzar 190°C . Luego, se incrementó la temperatura a una tasa de $3^{\circ}\text{C min}^{-1}$ hasta alcanzar una temperatura de 230°C por 4 minutos.

La identificación de los ácidos grasos se realizó por comparación entre los tiempos de retención del estándar comercial 37 Component FAME Mix, Supelco (Sigma Cat. 47885-U) y los tiempos de retención de los ésteres extraídos de cada una de las muestras. El porcentaje de cada uno de los ácidos grasos se calculó con base en el total de ácidos grasos identificados, con el programa Chem Station versión B.04.01 (Agilent, USA).

2.4.9 Análisis estadísticos

Los valores obtenidos en los análisis proximales de las dietas experimentales y de los ácidos grasos, así como los datos de supervivencia, la ganancia de peso y la tasa de crecimiento específica fueron expresados en porcentaje, razón por la cual, fueron previamente transformados mediante la función arcoseno para su evaluación estadística (Zar, 2010).

A los valores antes mencionados, así como al peso promedio, la tasa de conversión alimenticia, tasa de eficiencia proteica, tasa de consumo aparente, factor de condición, índice hepatosomático, coeficiente de crecimiento térmico y los del perfil de ácidos grasos (de las dietas experimentales y del músculo de peces) se les aplicó las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y de Lilliefors para evaluar la normalidad, y la prueba de Levene para determinar la homogeneidad de las varianzas (Zar, 2010; Montgomery, 2017). Una vez que cumplieron con los supuestos, se aplicó un análisis de varianza de dos vías con el objetivo de evaluar el efecto de la temperatura de aclimatación, de la inclusión de soya en la dieta y de la interacción de ambos factores sobre la supervivencia, el crecimiento, los índices productivos y la composición de ácidos grasos en el músculo de juveniles de *Totoaba macdonaldi*. Para identificar cuales tratamientos difirieron estadísticamente entre sí con respecto a la dieta control se aplicó la prueba de Dunnett. Para identificar las diferencias estadísticas entre las medias de las dietas experimentales (dietas en las que se reemplazó la HP por HS), se aplicó la prueba *a posteriori* de LSD de Fisher (Zar, 2010; Montgomery, 2017). Todos los análisis se realizaron con un nivel de significancia de $P < 0.05$ y con el software STATISTICA 10®.

2.5 Resultados

2.5.1 Análisis proximales

No se encontraron diferencias en el porcentaje de proteína cruda y de lípidos totales, pero si en el contenido de humedad y de cenizas (Tabla 2).

Tabla 2. Valores promedio de los principales componentes de las dietas experimentales utilizadas para alimentar a los juveniles de *Totoaba macdonaldi*.

Componente	Dietas experimentales				Valor de P
	D0%	D32%	D43%	D56%	
	(100%HP)	(68%HP-32%HS)	(57%HP-43%HS)	(44%HP-56%HS)	
Proteína Cruda (g 100 g ⁻¹)	48.4±0.2	48.6±0.3	49.0±0.3	48.8±0.3	0.07
Lípidos Totales (g 100 g ⁻¹)	9.13±0.1	9.35±0.1	9.3±0.0	9.4±0.0	0.06
ELN*	21.52	23.48	23.76	25.50	0.05
% Cenizas (g 100 g ⁻¹)	13.7±0.4 ^a	11.8±0.5 ^b	10.5±0.3 ^c	9.6±0.4 ^d	0.002
Humedad (%)	7.20±0.1 ^b	6.61±0.1 ^a	7.36±0.5 ^{ab}	6.7±0.1 ^a	< 0.0001

*ELN, extracto libre de nitrógeno.

D0%: Dieta control; D32%: Dieta 1; D43%: Dieta 2; D56%: Dieta 3; HP: Harina de pescado; HS: Harina de soya.

2.5.2 Supervivencia, Parámetros de crecimiento e índices productivos

Es importante mencionar que a las dos semanas de iniciar la aclimatación de los peces, se presentó una falla en la energía eléctrica que duró más de seis horas, lo que ocasionó que se dañara el soplador (suministro de aire) y el calentador de titanio de 7.500 watts que mantenía constante la temperatura del agua del sistema de recirculación. Esta situación derivó en la muerte del 100% de los organismos que se mantenían a 29 °C en las siguientes 72 h. Debido a esto, sólo se realizó la aclimatación de *Totoaba macdonaldi* a 23 y 26 °C durante los meses de agosto a diciembre de 2016. La aclimatación de los peces a 29 °C se efectuó en los mismos meses pero del año 2017. Por lo anterior, los análisis estadísticos realizados para evaluar el efecto de la *interacción de estos dos factores* se llevó a cabo solamente con la información generada a 23 y 26 °C. El análisis de los datos obtenidos a 29 °C, se efectuó por separado.

2.5.2.1 Supervivencia

La supervivencia de los organismos aclimatados a 23 y 26 °C no fue afectada por la temperatura de aclimatación (P: 0.091), las dietas experimentales (P: 0.0505) o la interacción de estos factores. (P: 0.0503). En la mayoría de los tratamientos se registró un 100% de supervivencia excepto en los organismos alimentados con D32% y aclimatados a 23 °C en los cuales se registró un 97% (Figura 1).

Para los peces aclimatados a 29 °C, la supervivencia tampoco fue afectada por las dietas experimentales (P: 0.37). Se registró un 100% de supervivencia en los peces alimentados con D0%, D32% y D43% y un 92% en los alimentados con D56% (Figura 1).

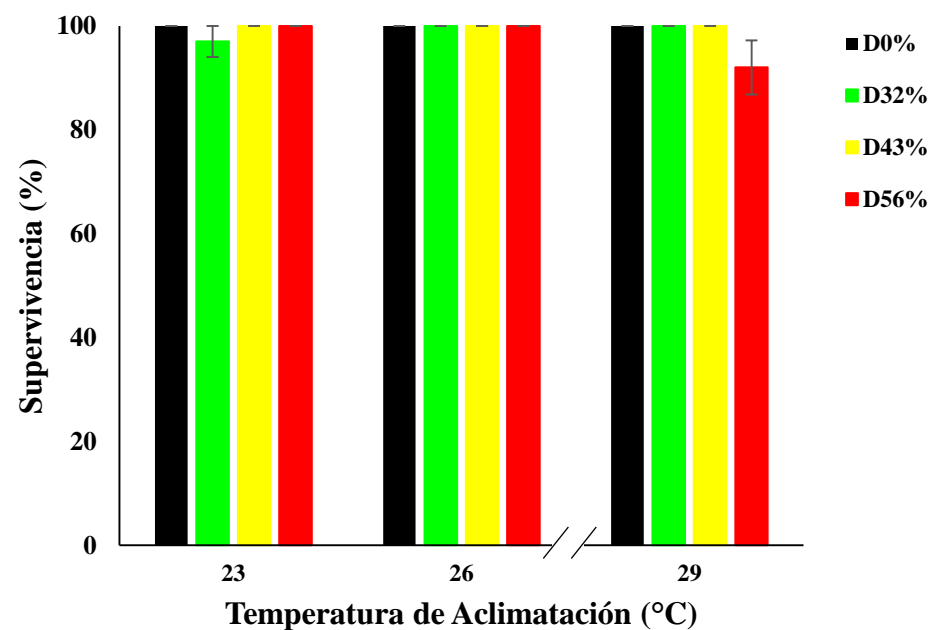


Figura 1. Supervivencia de los juveniles (promedio \pm desviación estándar) de *Totoaba macdonaldi* aclimatados a tres temperaturas y alimentados con dietas con distintos porcentajes de inclusión de harina de soya. Dieta control (D0%: 100%HP); Dieta 1 (D32%: 68%HP-32%HS); Dieta 2 (D43%: 57%HP-43%HS); Dieta 3 (D56%: 44%HP-56%HS). La interrupción en el eje de las x significa que los datos para la temperatura de 29 °C fueron alzados en un tiempo diferente respecto a la temperatura de 23 y 26 °C.

2.5.2.2 Parámetros de Crecimiento

2.5.2.2.1 Peso promedio (g), Ganancia en peso (GP%), Tasa de Crecimiento específico (TCE) y Coeficiente de crecimiento térmico (CCT)

Para los peces aclimatados a 23 y 26 °C, estas respuestas fueron influenciadas por la temperatura de aclimatación (peso promedio: $P= 0.0009$; GP%: $P= 0.001$; TCE: $P= 0.001$) pero no por la dieta, ni por la interacción de estos factores. Tampoco se presentaron diferencias entre el peso promedio, la ganancia en peso y la TCE de los peces alimentados con la D0% (sin HS) en ambas temperaturas de aclimatación (23 y 26 °C).

El mayor peso promedio (264.2 ± 7.9 g) y la mayor TCE (1.5 ± 0.0 % peso corporal/día) se registró a 26 °C en los peces alimentados con la D43% mientras que la mayor ganancia en peso (155.9 ± 30.3 %) se presentó en esta misma temperatura (26 °C) pero en los peces alimentados con la D56%. Estos promedios fueron diferentes del peso (promedio), la TCE y la GP% registrado en las totoabas aclimatadas a 23 °C y alimentadas con las D32%, (peso promedio: $P= 0.016$; TCE: $P= 0.021$; GP%: $P=0.024$) D43% (peso promedio: $P= 0.004$; TCE: $P= 0.005$; GP%: $P= 0.003$) y D56% (peso promedio: $P= 0.034$; TCE: $P= 0.035$; GP%: $P= 0.027$). El CCT no fue afectado por la temperatura de aclimatación ($P= 0.61$), la dieta ($P= 0.97$) ni la interacción de estos dos factores ($P= 0.41$) (Figura 2, Tabla 3).

En la temperatura de aclimatación de 29 °C, a diferencia de las temperaturas anteriores (23 y 26 °C) las dietas con HS propiciaron un incremento del peso promedio ($P < 0.05$), la GP% ($P < 0.05$) y la TCE ($P < 0.05$), en comparación con el control. El mayor peso promedio (275.1 ± 38.5 g), la mayor GP% (255.8 ± 5.4 %) y la TCE más elevada (2.2 ± 0.2 % día⁻¹) también se presentaron en los peces alimentados con la D43% los cuales sólo difirieron con respecto a los peces alimentados con la D0% (peso promedio: $P < 0.0001$; GP%: $P= 0.002$; TCE: $P= 0.01$) (Figura 2, Tabla 3).

Respecto al CCT, este índice sólo fue diferente significativamente por la dieta experimental para los peces aclimatados a 29 °C. En esta temperatura, el menor promedio (1.9 ± 0.1) se registró con la D0% y fue estadísticamente diferente del registrado con la D32% ($P= 0.003$), D43% ($P= 0.003$) y D56% ($P= 0.006$) (Tabla 3). En las condiciones de 23° y 26 °C este coeficiente no fue afectado por la temperatura de aclimatación, la dieta ni la interacción de estos dos factores.

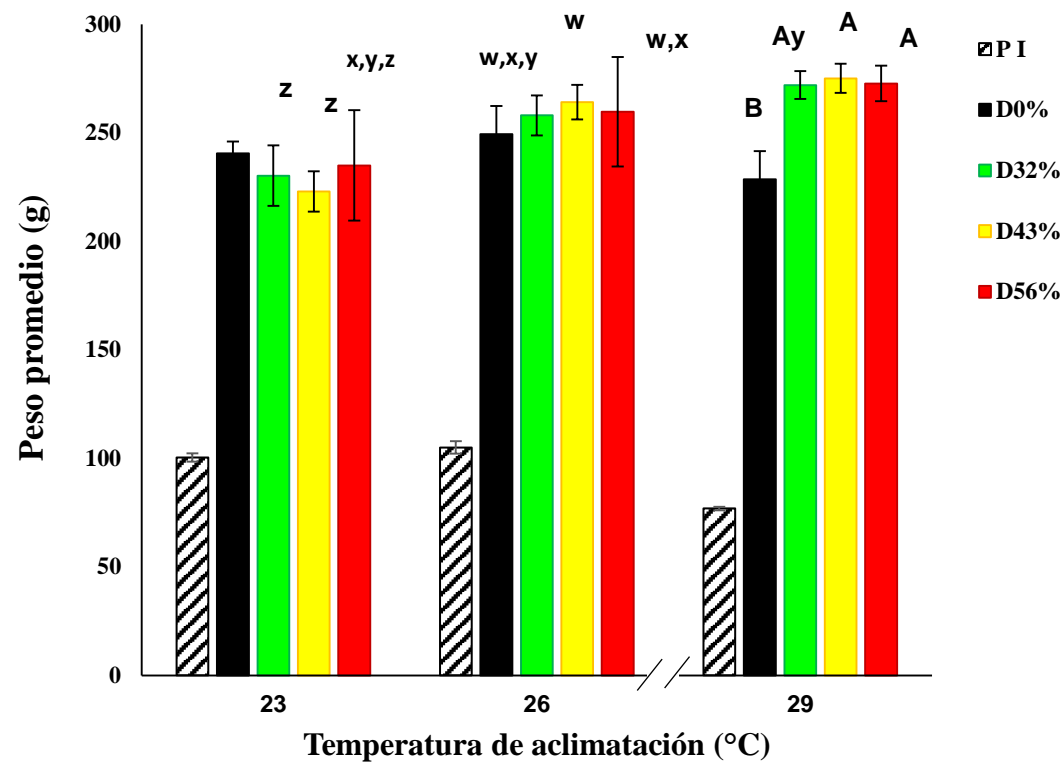


Figura 2. Peso promedio (\pm desviación estándar) de juveniles de *Totoaba macdonaldi* aclimatados a tres temperaturas y alimentados con distintos porcentajes de inclusión de harina de soya en la dieta durante 61 días de cultivo. PI: Peso inicial (g); Dieta control (D0%: 100%HP); Dieta 1 (D32%: 68%HP-32%HS); Dieta 2 (D43%: 57%HP-43%HS); Dieta 3 (D56%: 44%HP-56%HS). Las letras w, x, y denotan diferencias significativas entre los tratamientos (dietas con HS) a 23 y 26 °C. Las letras A, B indican diferencias significativas entre las dietas a 29 °C. La interrupción en el eje de las x significa que los datos para la temperatura de 29 °C fueron alzaizados en un tiempo diferente respecto a la temperatura de 23 y 26 °C.

2.5.2.3 Índices productivos

2.5.2.3.1 Factor de conversión alimenticia (FCA)

El FCA fue influenciado por las dietas experimentales ($P: 0.02$) pero no por la temperatura de aclimatación ni por la interacción entre estos factores. Al comparar la D0% con las dietas experimentales, se encontró que el FCA registrado con la dieta sin HS (0.99 ± 0.02 y 1.03 ± 0.03) en 23 y 26°C, fue diferente del encontrado con la D56% a 23 °C ($P: 0.023$).

Entre las dietas con remplazo de HP, el menor FCA (1.03 ± 0.02) se presentó a 26 °C con la D43% y fue diferente ($P: 0.031$) del FCA más alto (1.13 ± 0.09) encontrado a 23 °C con la D56%. A diferencia de las temperaturas anteriores, para los peces aclimatados a 29 °C el FCA no fue influenciado significativamente por las dietas evaluadas ($P: 0.20$) (Tabla 3).

2.5.2.3.2 Tasa de eficiencia proteica (TEP)

Para los peces aclimatados a 23 y 26 °C, la TEP fue afectada por la temperatura de aclimatación (P: 0.01), pero no por la dieta. Tampoco se encontró interacción *temperatura-dieta* sobre esta variable de respuesta.

El menor promedio de la TEP (2.1 ± 0.2) se registró a 23 °C (D43%) y fue diferente estadísticamente de los registrados a 26 °C pero no de la TEP encontrada a 23 °C con las D32% (P: 0.35) y D56% (P: 0.32). Por el contrario el mayor promedio (3.1 ± 0.6) se registró a 26 °C (D56%) y fue diferente de las encontradas a 23 °C (D32%: P= 0.024; D43%: P= 0.003; D56%: P= 0.02).

La TEP de los peces alimentados con la D0% (2.8 ± 0.2 a 23 °C y 2.7 ± 0.3 a 26°C) no fueron diferentes (P > 0.05) de las encontrada con las dietas experimentales. Respecto a las dietas con HS, el menor promedio (2.1 ± 0.2) se registró a 23 °C con la D43% y fue diferente de todos los tratamientos excepto de los registrados con la D32%, (P: 0.35) y D56% (P: 0.32) a 23 °C.

La mayor TEP (3.1 ± 0.6) se registró a 26 °C con la D56% y fue diferente de la encontrada con la D32% (P: 0.024), D43% (P: 0.003) y D56% (P: 0.02) a 23 °C. La TEP de los juveniles aclimatados a 29 °C fue influenciada por la inclusión de HS en la dieta. El menor promedio (3.9 ± 0.3) se registró con la D0% y fue diferente del registrado con el resto de las dietas (D32%: P: 0.002; D43%: P: 0.002; y D56% (P: 0.005) (Tabla 3).

2.5.2.3.3 Factor de condición (K)

Esta variable fue afectada por las dietas experimentales cuando los peces se aclimataron a 29 °C, pero en aquellos acondicionados a 23 y 26 °C, la temperatura de aclimatación, la dieta o la interacción de estos factores no tuvieron ningún efecto.

En los peces aclimatados a 29 °C, el mayor promedio de K lo presentaron los peces alimentados con la D32% el cual solamente fue diferente (P: 0.02) de la D43% (Tabla 3).

2.5.3 Ácidos grasos del músculo de los peces

Los resultados mostraron que no hubo efecto de la temperatura de aclimatación (P > 0.05), de las dietas experimentales (P > 0.05) o de la interacción de ambos factores (P > 0.05) sobre el perfil de ácidos grasos del músculo de juveniles de *Totoaba macdoaldi* aclimatados a 23, 26 y 29 °C (Tablas 4-6).

Tabla 3. Valores promedio (\pm desviación estándar) de los parámetros de crecimiento e índices productivos de juveniles de *Totaba macdonaldi* aclimatados a tres temperaturas y alimentados con dietas con distintos porcentajes de inclusión de harina de soya. Dieta control (D0%: 100%HP); Dieta 1 (D32%: 68%HP-32%HS); Dieta 2 (D43%: 57%HP-43%HS); Dieta 3 (D56%: 44%HP-56%HS).

Índice	23 °C				26 °C				Valor de P		
	D0%	D32%	D43%	D56%	D0%	D32%	D43%	D56%	T	D	T-D
	PI (g)	100.4 \pm 2.0	104.4 \pm 2.0	107.7 \pm 2.0	106.0 \pm 0.4	105.0 \pm 3.0	104.0 \pm 0.3	104.2 \pm 1.4	101.7 \pm 0.5	---	
Pf (PP g)	240.6 \pm 5.0	230.3 \pm 14.0 ^y	223.0 \pm 9.0 ^y	235.0 \pm 25.0 ^{x,y}	249.4 \pm 12.0	258.0 \pm 9.2 ^{w,x}	264.2 \pm 7.9 ^w	259.7 \pm 25.0 ^{w,x}	<0.001	0.97	0.37
GP (%)	139.6 \pm 9.0	120.7 \pm 15.0 ^{x,y}	107.2 \pm 12.2 ^y	121.6 \pm 23.7 ^{x,y}	137.8 \pm 16.6	146.7 \pm 8.8 ^{w,x}	153.6 \pm 10.0 ^w	155.9 \pm 30.3 ^w	0.001	0.80	0.13
TCE (% día ⁻¹)	1.37 \pm 0.04	1.3 \pm 0.1 ^{x,y}	1.2 \pm 0.0 ^y	1.3 \pm 0.1 ^{x,y}	1.4 \pm 0.0	1.5 \pm 0.0 ^{w,x}	1.5 \pm 0.0 ^w	1.5 \pm 0.1 ^w	0.001	0.98	0.43
FCA	0.99 \pm 0.02 ^a	1.07 \pm 0.04 ^{a,b,w,x}	1.10 \pm 0.05 ^{a,b,w,x}	1.13 \pm 0.09 ^{b,x}	1.03 \pm 0.03 ^{a,b}	1.04 \pm 0.03 ^{a,b,w}	1.03 \pm 0.02 ^{a,b,w}	1.10 \pm 0.07 ^{a,b,w,x}	0.32	0.02	0.34
TEP	2.8 \pm 0.2	2.4 \pm 0.3 ^{w,x}	2.0.1 \pm 0.2 ^x	2.4 \pm 0.5 ^{w,x}	2.7 \pm 0.3	2.9 \pm 0.2 ^{v,w}	3.0 \pm 0.2 ^v	3.1 \pm 0.6 ^v	0.01	0.74	0.11
K	1.04 \pm 0.02	1.03 \pm 0.02	0.99 \pm 0.02	1.03 \pm 0.05	0.98 \pm 0.01	1.02 \pm 0.04	0.99 \pm 0.04	1.05 \pm 0.12	0.58	0.45	0.53
CCT	1.12 \pm 0.05	1.01 \pm 0.10	0.93 \pm 0.08	1.02 \pm 0.16	0.99 \pm 0.09	1.04 \pm 0.051	1.08 \pm 0.05	1.08 \pm 0.15	0.61	0.97	0.41

Índice	29 °C				Valor de P
	D0%	D32%	D43%	D56%	
PI (g)	76.8 \pm 0.8	77.5 \pm 1.6	73.2 \pm 6.5	78.6 \pm 1.2	---
Pf (PP g)	228.6 \pm 32.8 ^B	272.0 \pm 38.9 ^A	275.1 \pm 38.5 ^A	265.0 \pm 55.5 ^A	0.03
GP (%)	197.3 \pm 13.7 ^B	250.9 \pm 3.3 ^A	255.8 \pm 5.4 ^A	247.2 \pm 8.5 ^A	0.02
TCE (% día ⁻¹)	1.8 \pm 0.08 ^B	2.06 \pm 0.02 ^A	2.2 \pm 0.2 ^A	2.04 \pm 0.04 ^A	0.04
FCA	1.02 \pm 0.09	1.05 \pm 0.01	1.07 \pm 0.05	1.11 \pm 0.04	0.11
TEP	3.9 \pm 0.3 ^B	5.0 \pm 0.0 ^A	5.1 \pm 0.1 ^A	4.9 \pm 0.2 ^A	0.04
K	1.02 \pm 0.02 ^{AB}	1.05 \pm 0.01 ^A	1.00 \pm 0.02 ^B	1.04 \pm 0.01 ^{AB}	0.04
CCT	1.9 \pm 0.1 ^B	2.3 \pm 0.0 ^A	2.4 \pm 0.0 ^A	2.3 \pm 0.0 ^A	0.03

Peso promedio (PP) = peso total húmedo de los peces/número de peces; Ganancia en peso (GP)= ((Peso final - Peso inicial) / (Peso inicial)) x 100; Tasa de crecimiento específico (TCE % peso corporal/día) = ((ln Peso final-ln Peso inicial) / (tiempo en días)) x 100; Factor de conversión alimenticia (FCA)= alimento ingerido (g)/peso corporal ganado (g); Tasa de eficiencia proteica (TEP)= Peso húmedo ganado por el pez (g)/Peso seco de la proteína en el alimento consumido (g); Factor de condición= (Peso total en g) / (Longitud total en cm³) x (100); Coeficiente de crecimiento térmico (CCT)= [(peso final^{1/3} - peso inicial^{1/3}) / (T ° C x días)] x 1000; T: temperatura de aclimatación, D: dieta; T-D: Interacción temperatura-Dieta. Las letras a, b denotan diferencias singinifactivas ($P < 0.05$) entre la D0% y los tratamienos (dietas con HS). Las letras w, x, y, z denotan diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos a 23 y 26 °C. Las letras A, B indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos a 29 °C.

Tabla 4. Perfil de ácidos grasos (mg/100 g) de las dietas utilizadas para la alimentación de juveniles de *Totoaba macdonaldi* aclimatados a 23, 26 y 29 °C. Dieta control (D0%: 100%HP); Dieta 1 (D32%: 68%HP-32%HS); Dieta 2 (D43%: 57%HP-43%HS); Dieta 3 (D56%: 44%HP-56%HS).

Ac. Graso	Dietas experimentales				Kruskal-Wallis		ANOVA Paramétrico	
	D0%	D32%	D43%	D56%	C-S	P	F	P
C18:1n9	812.74±185.17	816.34±96.36	804.32±47.36	798.66±70.33			0.30	0.99
C18:2n6	201.16±4.40	208.94±7.48	209.78±4.99	207.59±5.80			2.74	0.11
C18:3n3	32.20±2.48	31.51±2.72	30.02±2.34	32.15±5.21			1.29	0.34
C20:4n6	10.68±0.11	10.36±0.43	9.73±0.69	10.36±0.53			2.67	0.11
C20:5n3	233.33±13.08	217.86±11.88	237.52±9.02	220.62±7.94			3.05	0.09
C22:6n3	412.67±9.39	424.00±8.57	429.20±12.72	409.31±20.40			3.42	0.07
∑ Mono	1044.56±191.4	1048.6±105.64	1037.3±63.24	1017.61±75.36	1.73	0.72		
∑ Saturados	1389.6±160.53	1354.12±140.0	1344.16±111.0	1378.64±152.96	6.6	0.08		
∑ PUFAS n-6	388.89±20.55	373.63±5.24	386.35±33.03	382.17±10.23			0.65	0.60
∑ PUFAS n-3	678.20±24.94	673.37±14.59	696.75±17.71	662.09±22.88			3.41	0.07
∑ n3/n6	1.74±0.03	1.80±0.03	1.81±0.11	1.73±0.01			2.11	1.17
∑ DHA/EPA	1.86±0.06	1.90±0.15	1.81±0.03	1.85±0.07			1.56	0.27
∑ EPA/ARA	21.85±1.46	21.08±2.02	24.45±1.45	21.31±0.80			1.54	0.27
∑ PUFAS 20C≥3	661.47±22.78	657.89±1.98	681.38±15.21	645.41±24.07			3.97	0.05

Saturados: C:140, C:160, C:180, C:20, C: 220, C150, C170, C20, C230; Monoenoicos (Mono): C:141; C:151; C:161; C:171; C:181n9; C:201n9; C:221n9; Otros n6: C:183n6, C:203n6; PUFAS n-6: C:182n6; C:182n6t; C:183n6; C:203n6; C:204n6; PUFAS n-3: C:183n3, C:205n3, C:226n3; PUFAS 18C: C:181n9, C:182n6, C182n6t, C18:0, C:183n6, C:183n3; PUFAS 20C≥3: C:203n6, C:204n6, C:205n3, C:226n3. Se aplicó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) para evaluar el perfil de ácidos grasos de las dietas experimentales.

Tabla 5. Perfiles de ácidos grasos (mg/100 g de tejido) del músculo de juveniles de *Totoaba macdonaldi*, después de 61 días de aclimatación a dos temperaturas (23 y 26 °C) y alimentación con dietas experimentales con distintos porcentajes de remplazo de harina de pescado (HP) por harina de soya (HS). Dieta control (D0%: 100%HP); Dieta 1 (D32%: 68%HP-32%HS); Dieta 2 (D43%: 57%HP-43%HS); Dieta 3 (D56%: 44%HP-56%HS).

Ac. Graso	Peces inicial	Interaccion Temperatura de aclimatación (°C)-Dietas experimentales								ANOVA de 2 vías (F; P)		
		23 °C				26 °C				T	D	T X D
		Dietas experimentales				Dietas experimentales						
D0%	D32%	D43%	D56%	D0%	D32%	D43%	D56%					
C18:1n9	874.7±18.3	810.4±2	831.6±45.5	835.8±49.9	815.6±13.3	847.2±24.4	862.7±15.3	844.4±11.8	831.9±6.1	4.26; 0.055	0.90; 0.46	0.34; 0.79
C18:2n6	204.5±3.0	201.0±11.56	200.5±15.5	203.2±8.4	196.8±7.9	201.3±16.9	200.7±12.9	203.9±15.3	202.0±13.7	0.10; 0.75	0.73; 0.55	0.57; 0.64
C18:3n3	30.2±1.7	30.9±3.1	30.9±2.5	30.5±4.9	29.7±3.2	29.5±3.6	30.5±4.4	29.5±3.2	30.6±2.9	0.60; 0.44	0.15; 0.92	0.54; 0.66
C20:4n6	9.9±0.1	9.5±0.5	10.2±0.2	10.0±0.5	9.5±0.6	10.1±0.4	9.9±0.5	9.7±0.9	10.1±0.4	0.35; 0.56	0.21; 0.88	1.26; 0.32
C20:5n3	239.2±13.3	238.1±13.9	225.3±11.9	226.6±23.8	222.8±16.3	219.6±13.7	232.1±6.7	229.1±20.4	226.6±9.1	0.04; 0.82	0.09; 0.96	0.84; 0.48
C22:6n3	407.3±14.2	420.8±5.4	411.6±16.9	426.4±11.0	421.6±10.8	408.4±13.6	408.4±15.9	412.9±20.7	419.2±17.0	0.90; 0.35	1.67; 0.21	0.37; 0.77
ΣMono	1072.0±51.8	1089.6±57.4	1047.9±44.1	1048.5±56.9	1023.6±20.5	1067.8±41.2	1072.7±38.7	1055.3±49.6	1060.0±56.0	3.66; 0.07	0.33; 0.80	0.25; 0.86
ΣSaturados	1375.7±10.0	1440.5±208.0	226.5±114.6	1436.6±123.5	1396.9±110.3	1420.6±79.8	1456.9±80.3	1389.9±44.6	1431.5±17.3	0.08; 0.78	0.88; 0.47	1.62; 0.22
ΣPUFAS n-6	369.6±10.8	369.4±11.5	363.5±14.7	366.1±25.9	365.3±10.1	363.2±19.7	356.3±5.9	348.8±4.1	357.6±14.0	2.60; 0.12	0.37; 0.77	0.21; 0.88
ΣPUFAS n-3	667.3±24.9	700.9±27.7	667.8±18.7	683.6±16.0	674.2±21.5	657.6±55.5	671.0±47.3	671.6±68.8	676.5±62.3	1.13; 0.30	0.55; 0.65	0.82; 0.50
Σn3/n6	1.86±0.07	1.84±0.05	1.84±0.05	1.87±0.11	1.85±0.10	1.81±0.11	1.88±0.04	1.93±0.04	1.89±0.08	0.90; 0.35	0.88; 0.47	0.33; 0.80
ΣDHA/EPA	1.82±0.06	1.81±0.15	1.83±0.12	1.90±0.23	1.90±0.14	1.86±0.11	1.76±0.06	1.82±0.26	1.85±0.10	0.03; 0.85	0.48; 0.69	0.74; 0.53
ΣEPA/ARA	22.7±1.4	25.0±2.0	22.1±2.7	22.5±3.4	23.4±1.4	21.7±2.4	23.4±2.6	23.8±4.2	22.4±2.8	0.20; 0.66	0.06; 0.97	1.38; 0.28
Σ PUFAS 20C≥3	665.8±29.7	661.7±24.2	654.3±20.9	669.7±15.6	660.4±22.6	643.9±65.6	656.7±47.1	658.2±57.8	661.9±51.7	0.90; 0.3	0.59; 0.63	0.55; 0.65

Saturados: C:140, C:160, C:180, C:20, C: 220, C150, C170, C20, C230; Monoenoicos (Mono): C:141; C:151; C:161; C:171; C:181n9; C:201n9; C:221n9; Otros n6: C:183n6, C:203n6; PUFAS n-6: C:182n6; C:182n6t; C:183n6; C:203n6; C:204n6; PUFAS n-3: C:183n3, C:205n3, C:226n3; PUFAS 18C: C:181n9, C:182n6, C182n6t, C18:0, C:183n6, C:183n3; PUFAS 20C≥3: C:203n6, C:204n6, C:205n3, C:226n3. T: temperatura de aclimatación, D: dieta; T-D: Interaccion temperatura-Dieta. Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías para evaluar el perfil de ácidos grasos del músculo de los peces en relación a la temperatura de aclimatación, las dietas experimentales y la interacción de estos dos factores.

Tabla 6. Perfiles de ácidos grasos (mg/100 g de tejido) del músculo de juveniles de *Totoaba macdonaldi* después de 61 días de aclimatación a 29 °C y alimentación con 4 dietas experimentales con distintos porcentajes de remplazo de harina de pescado (HP) por harina de soya (HS). Dieta control (D0%: 100%HP); Dieta 1 (D32%: 68%HP-32%HS); Dieta 2 (D43%: 57%HP-43%HS); Dieta 3 (D56%: 44%HP-56%HS).

Ac. Graso	Peces iniciales	Dietas experimentales				Kruskal-Wallis		ANOVA Paramétrico	
		D0%	D32%	D43%	D56%	Chi-Sq	P	F	P
C18:1n9	826.9±20.2	846.3±14.1	910.3±29.7	899.8±36.4	852.7±12.9	8.66	0.19		
C18:2n6	207.70±2.31	203.91±3.22	203.47±2.71	205.54±7.17	202.77±9.63	12.66	0.05		
C18:3n3	29.5±0.6	30.8±2.3	29.6±1.0	29.8±1.8	28.9±1.5			0.97	0.47
C20:4n6	10.±0.1	10.4±0.2	9.5±0.3	9.7±0.9	9.6±0.3			1.87	0.14
C20:5n3	230.4±1.8	229.6±3.4	215.7±2.6	219.5±9.2	216.0±4.6			1.78	0.16
C22:6n3	429.2±9.2	401.9±6.4	415.6±6.3	414.2±7.2	408.1±5.1			1.45	0.25
∑ Mono	1106.3±9.6	1058.5±22.3	1124.7±29.9	1112.6±43.6	1063.4±12.2			1.09	0.40
∑ Saturados	1305.8±25.2	1464.4±129.0	1430.9±34.9	1436.8±5.0	1428.6±36.0			1.99	0.11
∑ PUFAS n-6	382.8±10.0	364.8±3.4	363.7±3.2	360.7±3.2	357.0±18.8			2.68	0.05
∑ PUFAS n-3	656.9±21.1	662.5±7.0	660.9±6.8	663.5±16.9	653.3±8.6			0.82	0.57
∑ n3/n6	1.86±0.07	1.82±0.04	1.82±0.03	1.84±0.04	1.83±0.11			2.11	0.10
∑ DHA/EPA	1.76±0.17	1.84±0.03	1.93±0.03	1.89±0.05	1.89±0.04			1.05	0.42
∑ EPA/ARA	22.9±1.1	21.9±4.5	22.6±0.4	22.6±1.9	22.4±0.8			0.46	0.82
∑ PUFAS 20C≥3	658.9±22.3	648.8±8.0	644.4±7.3	650.0±17.0	639.6±6.8			1.21	0.35

Saturados: C:140, C:160, C:180, C:20, C: 220, C150, C170, C20, C230; Monoenoicos (Mono): C:141; C:151; C:161; C:171; C:181n9; C:201n9; C:221n9; Otros n6: C:183n6, C:203n6; PUFAS n-6: C:182n6; C:182n6t; C:183n6; C:203n6; C:204n6; PUFAS n-3: C:183n3, C:205n3, C:226n3; PUFAS 18C: C:181n9, C:182n6, C182n6t, C18:0, C:183n6, C:183n3; PUFAS 20C≥3: C:203n6, C:204n6, C:205n3, C:226n3. Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para evaluar el perfil de ácidos grasos del músculo de los peces en relación a las dietas experimentales.

2.6 Discusión

2.6.1 Supervivencia, Rendimiento en crecimiento e índices productivos

La supervivencia de juveniles de *T. macdonaldi* aclimatados a 23, 26 y 29°C no fue afectada por la temperatura de aclimatación ni por las dietas experimentales. En los tratamientos de 23 °C-D32% y 29 °C-D56% la mortalidad se debió a que los organismos saltaron fuera del tanque. Porcentajes de supervivencia similares han sido reportados para la misma especie a 23 °C y con dietas en las que la harina de pescado (HP) se reemplazó de un 15% a un 100% por concentrado de proteína de soya (CPS) suplementado o no con 1% de taurina (Bañuelos et al., 2014; López et al., 2015; Trejo-Escamilla et al., 2016) o cuando la HP se reemplazó en un 24, 44 o 64% por harina de soya (HS) con 1% de taurina (Fuentes-Quesada et al., 2018). En otras especies de la familia *Sciaenidae*, como *Nibeia miichthioides* (Wang et al., 2006), *Argyrosomus regius* (Velazco-Vargas et al., 2013), *Sciaenops ocellatus* y *Cynoscion parvipinnis* (Minjarez-Osorio et al., 2016), se han reportado porcentajes de supervivencia similares a los del presente trabajo, cuando la HP ha sido reemplazada en la dieta por diferentes porcentajes de HS (15% a 100%) o CPS (25 a 75%), sin embargo, aunque en los estudios antes citados, no se evaluó el efecto sinérgico de la temperatura con la calidad de la dieta, los resultados del presente trabajo con juveniles de totoaba, indican que la temperatura no influye en los efectos que la adición de soya en la dieta ocasiona en la supervivencia.

En relación al peso promedio, la TCE y el porcentaje de GP de los peces aclimatados a 23 y 26 °C, se demostró que estas variables solamente fueron influenciadas por la temperatura de aclimatación, mientras que las dietas experimentales tuvieron un efecto cuando los peces se aclimataron a 29 °C. El intervalo del peso promedio se registró entre los 223.0 a 275.1 g; la GP entre un 155.9 a 255.8%, mientras que la TCE entre 1.2 a 2.2. Estos intervalos son mayores que los reportados en esta misma especie por Espinosa-Chaurand et al. (2015); Pérez-Velázquez et al. (2016), Trejo-Escamilla et al. (2016); Satriyo et al. (2017); González-Félix et al. (2018) y Madrid et al. (2019). Las posibles diferencias con los autores antes citados pudiera deberse a que en sus estudios usaron dietas sin HS (o con un porcentaje de inclusión muy bajo de HS) o que realizaron el cultivo en una condición térmica diferente.

Los mayores promedios del peso, la TCE y el porcentaje de GP de los peces, se registraron en las temperaturas de aclimatación de 26 y 29 °C. Tomando en cuenta que una de estas temperaturas es similar a la temperatura preferida (26.3 °C) por los juveniles de *T. macdonaldi* de dos meses (Talamás, 2001, datos no publicados) y a que estos valores térmicos son frecuentes en el hábitat en el que comúnmente se encuentran los juveniles en aguas superficiales (25 a 29 °C) del medio natural (Flanagan, y Hendrickson, 1976), es probable que en estas temperaturas (26 y 29 °C) los peces estuvieron en una condición térmica favorable y fueron más eficientes en sus procesos bioquímicos y metabólicos (Beitinger y Fitzpatrick, 1979), por lo que quizás aprovecharon de mejor manera la energía obtenida de la dieta, lo que derivó en un buen rendimiento fisiológico (Brett, 1956; Schram et al., 2013).

En cuanto a la eficiencia en el aprovechamiento de las proteínas de soya, se ha reportado que varía entre las especies de peces y depende de factores como el desequilibrio de aminoácidos, la palatabilidad, el porcentaje de digestibilidad o la presencia de factores antinutricionales. La variación de estas características de la soya dependen del tipo de producto obtenido de la soya (Hernández et al., 2007). Tomando en cuenta que el alimento es el factor económico más importante en acuicultura, es de gran importancia alimentar a los peces de una manera eficiente (Lekang, 2015). El FCA es un índice que refleja la conversión de alimento consumido respecto a la ganancia en peso del organismo (Tacon, 1989) y es comúnmente utilizado para evaluar la viabilidad económica del cultivo (NRC, 2011a).

Las dietas experimentales utilizadas con los juveniles de totoaba, fue el único factor que tuvo un efecto significativo sobre el FCA. Este índice sólo fue afectado cuando los peces fueron aclimatados a 23 y 26 °C. El menor FCA (0.99 ± 0.02) se presentó con la dieta sin HS (D0%) y el mayor (1.13 ± 0.09) con la dieta que contenía 56% de HS. El intervalo del FCA es similar al reportado para esta especie por Fuentes-Quesada et al. (2018) de 0.82 ± 0.03 a 1.11 ± 0.07 , pero menor que el reportado por Madrid et al. (2019) de 1.11 ± 0.09 a 1.34 ± 0.03 .

En el presente estudio y en particular en los peces aclimatados a 23 y 29 °C, el FCA mostró una tendencia al aumento conforme el remplazo de la HP fue mayor, un comportamiento similar al reportado para juveniles de esta especie por Fuentes-Quesada et al. (2018). La posible razón por la que el FCA aumentó cuando el remplazo de la HP fue mayor, se puede deber a una menor digestibilidad de la dieta sobre todo cuando la HS se incluyó en porcentajes de 43 y 56%, o quizás también a la presencia de altos niveles de carbohidratos, específicamente una mayor cantidad de polisacáridos sin almidón en las dietas con un elevado remplazo de la HP (43 y 56%). En los peces que son alimentados con dietas con una baja digestibilidad o con dietas con baja densidad de nutrientes (los alimentos de baja densidad de nutrientes son fuentes de micronutrientes o de proteína de baja calidad; Latham, 2002), se ha demostrado que requieren más alimento para lograr la misma ganancia en peso, situación que da como resultado un FCA elevado (NRC, 2011a).

En el presente trabajo la TEP de los peces aclimatados a 23 y 26 °C fue afectada por la temperatura de aclimatación mientras que la de los juveniles aclimatados a 29 °C fue influenciada por las dietas evaluadas. El menor promedio de este índice (2.1 ± 0.2) se registró a 23 °C y cuando el remplazo de la HP fue del 43% (D43%), promedio que está dentro del intervalo de 1.7 ± 0.04 a 2.5 ± 0.09 publicado en los trabajos de Satriyo et al. (2017); Barreto Curiel et al. (2018a,b); Fuentes-Quesada et al. (2018) y Madrid et al. (2019) para *T. macdonaldi*, pero los valores reportados por los autores, son menores al mayor promedio (5.1 ± 0.1) obtenido en este estudio a 29 °C con la D43%.

Para lograr un buen crecimiento es necesario que el organismo consuma una dieta que le permita cubrir sus requerimientos protéicos (Wilson, 2002). Para varias especies de peces se ha reportado que cuando consumen elevadas cantidades de alimento (elaborado con proteínas de calidad), la probabilidad de que tengan disponible el nivel de proteína requerido para el crecimiento aumenta, con lo cual, también se obtiene una mayor tasa de eficiencia proteica (Olu y Adediran, 2015). Tomando en cuenta que en el presente trabajo la TEP de los peces fue mayor en la temperatura de 29 °C, y que al igual que en el FCA, mostró una tendencia al aumento cuando el remplazo de la HP fue mayor (aunque entre estas dietas con HS no se presentaron diferencias significativas), es posible suponer que la cantidad de alimento consumido a esta temperatura haya contribuido para que los valores de este índice también aumentaran y fueron más altos con respecto a las temperaturas de 23 y 26 °C.

Existen otros parámetros que se utilizan para evaluar el efecto de las dietas o la temperatura en los peces, como el factor de condición y el coeficiente térmico de crecimiento. El Factor de condición es utilizado para comparar la robustez o bienestar de un pez basado en la hipótesis de que los peces pesados o robustos se encuentran en condiciones fisiológicas y ambientales favorables (Bagenal, 1978; Blackwell et al., 2000), mientras que para los peces delgados se argumenta lo contrario (Blackwell et al., 2000). El intervalo de K en las tres temperaturas evaluadas se encontró entre 0.99 ± 0.02 (23°C-D43%) a 1.05 ± 0.12 (26°C-D56%), estos valores son similares al intervalo (0.97 ± 0.02 a 1.05 ± 0.0) reportado por Madrid et al. (2019) para esta misma especie. Los peces que fueron aclimatados a 29 °C alcanzaron un peso final ligeramente mayor que las totoabas de 23 y 26 °C, además de que los valores de K fueron cercanos a 1. Tomando en cuenta lo anterior, se podría asumir que los juveniles de *T. macdonaldi* presentaron un buen estado fisiológico y que las condiciones ambientales en las que se cultivaron no fueron desfavorables (Blackwell et al., 2000).

En relación con el CCT, es un índice que permite predecir el crecimiento de los organismos cultivados a diferentes temperaturas a partir del peso conocido de animales aclimatados a una temperatura conocida (Jobling, 2003). El CCT de los juveniles de *T. macdonaldi* no fue influenciado por la temperatura de aclimatación ni por las dietas experimentales, y se encontró entre un intervalo de 0.93 ± 0.08 (23°C-D43%) a 1.12 ± 0.05 (23°C-D0%), el cual es mayor que el intervalo de 0.018 ± 0.009 a 0.071 ± 0.024 reportado por Pérez-Velázquez et al. (2016) para juveniles de esta misma especie (128.3 ± 9.9 g) aclimatados a 28.3 °C, así como del intervalo (0.04 ± 0.0 a 0.05 ± 0.008) reportado por González-Félix et al. (2018) para totoabas (215.6 ± 9 g) aclimatadas a 27.67 °C. Los valores del CCT del presente estudio son similares a los intervalos (0.5 ± 0.1 a 1.1 ± 0.2) reportados por Badillo-Zapata et al. (2016) para juveniles (2.7 ± 0.1 g) aclimatados a 26.0 °C y alimentados con dietas elaboradas con harina de subproductos de ave, y también coinciden (0.90 ± 0.02 a 0.93 ± 0.05) con el estudio de Mata-Sotres et al. (2018) para juveniles de *T. macdonaldi* (9.5 ± 0.1 g) aclimatados a 26 ± 1 °C, en los que evaluaron la inclusión de DHA en dietas elaboradas con harina de subproductos de ave y sebo como fuente de lípidos. La posible razón de la similitud con los dos estudios antes citados, podría deberse a que en ambas investigaciones se utilizó una proteína alternativa a la harina de pescado, lo cual quizás influyó en el estado nutricional de los peces, además de que ambos estudios fueron realizados en una temperatura similar a la preferida por esta especie.

Fuentes-Quesada et al. (2018) encontraron un intervalo de CCT de 1.21 ± 0.2 a 1.61 ± 0.1 y reportaron que el aumento de la HS en la dieta afectó el coeficiente de crecimiento térmico de *T. macdonaldi* aclimatada a 23.3 ± 1.1 °C, ya que los valores de este índice aumentaron a medida que la inclusión de HS fue menor (22% de HS). Esta tendencia es opuesta a la encontrada en el presente trabajo para los juveniles aclimatados a 29 °C. En esta temperatura los valores del CCT (1.89 ± 0.12 : D0% a 2.37 ± 0.05 : D43%) fueron mayores que a 23 y 26 °C, además de que fueron influenciados por las dietas experimentales. Tomando en cuenta que en la temperatura de 29 °C el peso final de los peces fue ligeramente mayor que a 23 y 26 °C, es posible suponer que quizás la temperatura de 29 °C influyó para que el CCT fuera mayor, ya que este índice suele incrementar cuando el peso de los peces también aumenta (Alanärä, 2000).

En general, las dietas experimentales no afectaron la supervivencia, el rendimiento en crecimiento (peso promedio, TCE, %GP) la K, el CCT ni la TEP de los peces aclimatados a 23 y 26 °C, pero sí el de las totoabas aclimatadas a 29 °C. En esta última temperatura a excepción del factor de condición, los mejores promedios se presentaron con las dietas en las que la HP se reemplazó por HS, lo cual hace suponer que la inclusión de esta proteína alternativa no representó un aspecto negativo en estos índices cuando los peces fueron aclimatados en las temperaturas evaluadas (23, 26 y 29 °C). Probablemente lo anterior se puede deber a que las dietas experimentales fueron elaboradas mediante el proceso de extrusión, el cual implica un tratamiento térmico que mejora el valor nutricional de muchos ingredientes vegetales (Allan y Booth, 2004) como la HS (Pongmaneerat y Watanabe, 1992), ya que aumenta la digestibilidad del almidón debido a su gelatinización (Peres y Oliva Teles, 2002; Kroghdahl et al., 2005; NRC, 2011a), y destruye una gran cantidad de factores antinutricionales presentes en las plantas, lo que mejora su utilización por los peces (Tacon, 1997; Francis et al., 2001).

2.6.2 Perfil de ácidos grasos (AG) del músculo de *T. macdonaldi*

La temperatura ambiental tiene un efecto sobre el metabolismo de lípidos (Hazel, 1984; Tocher, 2003), ya que puede modificar algunas vías metabólicas mediante la alteración de la actividad enzimática (Sandersfeld et al., 2015; Truzzi et al., 2018), puede afectar la composición lipídica (Constable et al., 2014; Hixson y Arts, 2016) y variar el perfil de los ácidos grasos del tejido de peces (Truzzi et al., 2018).

Los AG han sido reconocidos como importantes marcadores biológicos ya que pueden variar en respuesta a la temperatura y al tipo de alimento consumido (Antonucci et al., 2019). En el presente trabajo, el perfil de AG del músculo de juveniles de *T. macdonaldi* no fue modificado por la temperatura de aclimatación ni por las dietas experimentales. Es posible que las temperaturas de aclimatación (23, 26 y 29 °C) no influyeran porque las condiciones térmicas no representaron un ambiente de estrés para los peces. Cuando los organismos son expuestos a temperaturas fuera de su intervalo óptimo, lo cual no experimentaron los juveniles de *T. macdonaldi* en el presente trabajo, el contenido de algunos AG (p.ej. algunos ácidos grasos monoinsaturados: MUFAS por sus siglas en inglés) pueden ser modificados tal y como ha sido reportado para especies como *Trematomus bernacchii* (Truzzi et al., 2018). La modificación del contenido lipídico y del perfil de AG en respuesta a la exposición a altas temperaturas, podría deberse a un aumento de la tasa metabólica (Seebacher et al., 2005; Pörtner et al., 2007), lo cual implica un incremento en la demanda de energía que generalmente es cubierta por los triglicéridos almacenados en el músculo, proceso que conduce a una disminución en el contenido total de lípidos y de AG (Brodte et al., 2008; Truzzi et al., 2018).

La posible razón por la que el perfil de AG del músculo de *T. macdonaldi* no fue modificado por la dieta, es que en todas las dietas la concentración de lípidos fue la misma, debido a que se agregó un volumen específico de aceite de pescado (AP) en relación al porcentaje de remplazo de la HP por HS. En este sentido, cuando el AP es reemplazado por AV, se reduce en la dieta el contenido de los ácidos grasos altamente insaturados (HUFAs por sus siglas en inglés) de la serie *n-3* como el eicosapentaenoico (EPA: 20:5 *n-3*) y docosahexaenoico (DHA: 22:6 *n-3*) y se incrementa el contenido de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs por sus siglas en inglés) de 18 carbonos como el linoleico (AL; 18:2 *n-6*), α -linolenico (AAL; 18:3 *n-3*) y oleico (AO; 18:1 *n-9*) (Turchini et al., 2009). En este sentido, la modificación más notable en el perfil de AG del músculo de los peces, es la disminución del EPA y DHA; el aumento de PUFAs, particularmente de 18:2 *n-6* y una modificación en la composición de los MUFAs, específicamente por la disminución de MUFAS de 20 y 22 carbonos y el aumento de MUFAS de 18 carbonos. Por estas razones, cuando se pretende remplazar el AP por AVs es de suma importancia considerar al contenido de 18:2 *n-6* ya que este ácido afecta negativamente el perfil de AG del músculo de los peces (Turchini et al., 2009). Es probable que si en las dietas proporcionadas a las totoabas en lugar de compensar los lípidos de la harina de pescado con aceite de pescado se hubieran compensado con aceite de soya (AS), o de otra fuente de aceite vegetal (AV), se habría modificado el contenido de lípidos y el perfil de AG del alimento y del músculo de *T. macdonaldi*.

Capítulo 3. ETAPA 2

3.1 Efecto de la temperatura y la dieta sobre los parámetros hematológicos y química sanguínea de juveniles de *Totoaba macdonaldi*

3.2 Hipótesis

La hematología y química sanguínea de los juveniles de *Totoaba macdonaldi* aclimatados a 26 °C y alimentados con las dietas con 100% harina de pescado y con 32% de inclusión de harina de soya, serán diferentes a los parámetros sanguíneos de los peces que recibirán las dietas con mayores porcentajes de soya (43 y 56%) a 23 y 29 °C.

3.3 Objetivo

Determinar el efecto de la temperatura de aclimatación y la dieta sobre la salud de los juveniles de *Totoaba macdonaldi* con base en los parámetros hematológicos (hematocrito, glóbulos rojos, glóbulos blancos y volumen corpuscular medio) y la química sanguínea (proteínas totales, albumina, globulinas, relación albumina:globulinas, triglicéridos, glucosa, alanina y aspartato aminotransferasas).

3.4 Materiales y métodos

3.4.1 Análisis hematológicos

Para estudiar los parámetros hematológicos, al finalizar los 61 días de cultivo se tomó una muestra ocho juveniles de *T. macdonaldi*, en forma aleatoria, de cada unidad experimental (interacción temperatura de 23, 26 y 29 °C con D0%, D32%, D43% y D56%). A los peces previamente anestesiados con Tricaína Metanosulfonato MS-222 (1 g en 10 L de agua) se les extrajo una muestra de sangre por punción caudal con jeringas de 3 ml (aguja de calibre 21). Una parte de la sangre extraída se utilizó para evaluar el perfil hematológico. Estas muestras fueron colocadas en tubo de plásticos de 0.5 ml con anticoagulante K₂EDTA (BD Microtainer®) y almacenadas en refrigeración hasta su procesamiento para determinar el porcentaje del hematocrito y realizar el recuento celular (concentración de glóbulos rojos y glóbulos blancos).

La otra parte de la muestra de sangre se colocó en viales de 1.5 ml (eppendorf®) sin anticoagulante y se utilizó para evaluar la química sanguínea. Para ello, los viales se refrigeraron previamente durante 1 h (Stockham y Scott, 2013) a 4 °C, y para separar el suero de las células sanguíneas, los viales de 1.5 ml se centrifugaron durante 10 minutos a 7.000 RPM (5040 X g) en una centrifuga (VWR® Micro 1207). Posteriormente el suero se extrajo con una pipeta (eppendorf® 2100) y se colocó en un vial de plástico de 1.5 ml (eppendorf®) y se almacenó a -80 °C en un ultra congelador (Revco ExF) hasta su análisis.

La metodología que se siguió para determinar los parámetros hematológicos fue la siguiente:

3.4.1.1 Hematocrito Hct (%)

El Hematocrito representa el volumen ocupado por los eritrocitos en un volumen dado de sangre y es expresado en porcentaje. Para determinar el Hct, se utilizaron tubos capilares de Micro-hematocrito (Corning®) los cuales se llenaron hasta 3/4 de su capacidad con la sangre almacenada en los viales con anticoagulante K₂EDTA (BD Microtainer®). Después de sellar con plastilina uno de los extremos de los tubos capilares para prevenir la pérdida de la muestra, se colocaron en una centrifuga de microhematocrito (Adams CT-2900; Clay Adams®) durante 10 minutos a 7,000 RPM (5117.1 X g). Finalmente, los tubos capilares se colocaron en un lector de microhematocrito (Adams A-2970; Clay Adams®) para determinar la proporción del paquete celular.

3.4.1.2 Conteo de glóbulos rojos (GR) y glóbulos blancos (GB)

La muestra de sangre con anticoagulante se mezcló con una solución de Natt-Herrick en una proporción 1:200 (Natt y Herrick, 1952) y se dejó reposar por 30 minutos para la tinción de las células sanguíneas. Posteriormente, se tomó una muestra y se colocó en cada cámara de un hematocitómetro (Hausser Scientific®; Figura 3) y se dejó reposar por 10 minutos antes de ser analizada bajo un microscopio Axio Scope.A1 (Zeiss®) en un aumento de 400X.

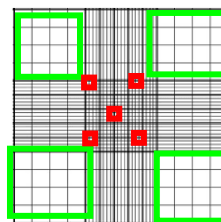


Figura 3. Esquema de una cámara del hematocitómetro utilizado para el recuento de células sanguíneas de juveniles de *T. macdonaldi*. Los cuadrantes considerados para el conteo de eritrocitos se muestran en color rojo, mientras que la cuadrícula de color verde se utilizó para el conteo de leucocitos.

El número de glóbulos rojos se calculó a través de la siguiente formula:

$$\text{GR (Cel.} \times 10^6 \text{ células}/\mu\text{L}) = \left(\frac{\text{número total de GR}}{0.020 \text{ mm}^3} \right) \times 200 \quad (14)$$

Mientras que el número de glóbulos blancos se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{GB (cel} \times 10^3 \text{ células}/\mu\text{L}) = \left(\frac{\text{número total de Gb contados}}{8} \right) \times 200 \quad (15)$$

3.4.1.3 Volumen corpuscular medio (VCM)

El VCM se expresa en femtolitro (1 fL = 1.0E⁻¹² ml) y representa el tamaño de los eritrocitos. Para el cálculo del VCM se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{VCM} = \left(\frac{\text{hematocrito} \times 10}{\text{número de glóbulos rojos}} \right) \quad (16)$$

3.4.1.4 Química sanguínea

La evaluación de las proteínas totales (PT), albumina (ALB), triglicéridos (TG), glucosa (GLU), alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST) se realizó siguiendo la metodología especificada en los kits comerciales de la empresa RANDOX. Las PT se leyeron a una longitud de onda de 546 nm (530 - 570 nm), la ALB a 578 nm, los TG a 500 nm (Hg 546 nm), la GLU a 500 nm (Hg 546 nm) y las enzimas aminotransferasas a 340 nm (Hg 334 nm o Hg 365 nm). Todos los análisis fueron realizados en un lector de microplaca VarioskanFlash 4.00.53 (Thermo Scientific®). Para cada indicador de química sanguínea se realizó una curva de calibración con base en la concentración especificada en la solución de calibración de cada kit comercial.

3.5 Análisis estadísticos

A los datos se les aplicó la prueba de Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors y Shapiro-Wilk para evaluar la normalidad y una prueba de Levene para determinar la homogeneidad de las varianzas (Zar, 2010; Montgomery, 2017). Los valores que cumplieron con estos supuestos (hematocrito, glóbulos rojos, glóbulos blancos, volumen corpuscular medio, proteínas totales, glucosa y alanina aminotransferasa) se analizaron con un análisis de varianza de dos vías con el fin de evaluar el efecto de la temperatura de aclimatación, las dietas experimentales y la interacción de ambos factores en los parámetros hematológicos y la química sanguínea de los juveniles de *Totoaba macdonaldi*. Para identificar las posibles diferencias

estadísticas entre la dieta control y los demás tratamientos se aplicó la prueba de Dunnett. Para determinar las diferencias estadísticas entre las dietas experimentales (dietas en las que se reemplazó la HP por HS), se aplicó la prueba *a posteriori* de LSD de Fisher (Zar, 2010; Montgomery, 2017). Todos los análisis se realizaron con un nivel de significancia de $P < 0.05$ y con el software STATISTICA 10®.

Para el caso de los datos que no cumplieron con la normalidad y/o la homogeneidad de varianzas (albumina, relación albúmina:globulinas; triglicéridos y aspartato aminotransferasa), fueron transformados con el logaritmo o la raíz cuadrada de su valor, para analizarlos con un análisis de varianza paramétrico de dos vías. Todos los análisis estadísticos se realizaron con un nivel de significación de $p < 0.05$ y con el programa STATISTICA 10®.

3.6 Resultados

3.6.1 Análisis hematológicos

3.6.1.1 Hematocrito (Hct), Glóbulos rojos (GR) y Volumen corpuscular medio (VCM)

El Hct (25.98 ± 1.7 a 28.48 ± 2.2 %), la concentración de GR (2.06 ± 0.03 a $2.44 \pm 0.17 \times 10^6$ cels/ μ L) y el VCM (113.74 ± 10.2 a 126.4 ± 9.15 fL) no fueron afectados por la temperatura de aclimatación, las dietas experimentales, ni por la interacción temperatura de aclimatación-dieta cuando los peces fueron aclimatados a 23 y 26 °C (Tabla 7).

Para los peces aclimatados a 29 °C, la concentración de GR no fue influenciada por las dietas experimentales (P: 0.76), pero si afectaron el Hct y el VCM. El porcentaje más alto de Hct (30.92 ± 1.09 %) se registró con la D56% (44%HP-56%HS) y fue diferente (P: 0.003) del valor de Hct más bajo (26.67 ± 0.52 %) registrado con la D32% (68%HP-32%HS). En cuanto al VCM, el valor más alto (83.39 ± 6.25 fL) se registró con la D56% y fue diferente (P: 0.04) al obtenido en los peces que recibieron la D43% (69.0 ± 6.55 fL) (Tabla 7).

3.6.1.2 Glóbulos blancos (GB)

La concentración de GB de los peces aclimatados a 23 y 26 °C, no fue afectada por la temperatura pero si por las dietas experimentales y por la interacción *temperatura-dieta*. En cuanto a la D0%, la concentración de GB de los peces aclimatados a 26 °C ($0.54 \pm 0.15 \times 10^3$ células/ μ L) fue diferente de la encontrada con la D43% (P: 0.001) y D56% (P: 0.0002) en ambas temperaturas (23 y 26°C) y de la D32% a 23 °C (P: 0.001). En general, la mayor concentración de GB ($1.10 \pm 0.15 \times 10^3$ células/ μ L) se registró en los peces aclimatados a 26 °C y alimentados con la D56% y fue diferente de la concentración más baja, la cual fue registrada a esta misma temperatura con la D0% (Tabla 7). En el caso de los peces aclimatados a 29°C, la concentración de GB no fue afectada significativamente por las dietas experimentales (Tabla 7).

Tabla 7. Valores promedio (\pm desviación estándar) de los parámetros hematológicos de juveniles de *Totaba macdonaldi* aclimatada a tres temperaturas (23, 26 y 29) °C y alimentadas con distintos porcentajes de inclusión de harina de soya en la dieta. Dieta control (D0%: 100%HP); Dieta 1 (D32%: 68%HP-32%HS); Dieta 2 (D43%: 57%HP-43%HS); Dieta 3 (D56%: 44%HP-56%HS).

Índice	23 °C				26 °C				Valor de P		
	D0%	D32%	D43%	D56%	D0%	D32%	D43%	D56%	T	D	T-D
Hct (%)	25.98 \pm 1.7	27.74 \pm 0.9	27.33 \pm 0.2	26.71 \pm 1.1	28.48 \pm 2.2	27.73 \pm 2.3	28.04 \pm 2.3	28.29 \pm 0.6	0.08	0.94	0.56
GR (Cel.x10 ⁶ células/ μ L)	2.06 \pm 0.03	2.40 \pm 0.13	2.35 \pm 0.11	2.20 \pm 0.04	2.26 \pm 0.23	2.44 \pm 0.17	2.26 \pm 0.08	2.33 \pm 0.33	0.32	0.10	0.50
GB (cel/10 ³ células/ μ L)	0.83 \pm 0.08 ^{a,b}	1.02 \pm 0.14 ^{b,w,x}	0.93 \pm 0.09 ^{b,w,x}	1.01 \pm 0.02 ^{b,w,x}	0.54 \pm 0.15 ^a	0.82 \pm 0.18 ^{a,b,x}	1.08 \pm 0.09 ^{b,w}	1.10 \pm 0.15 ^{b,w}	0.25	0.004	0.014
VCM (fL)	126.4 \pm 9.15	115.58 \pm 2.74	116.64 \pm 5.63	121.60 \pm 4.1	126.10 \pm 5.2	113.74 \pm 10.2	124.31 \pm 11.2	123.11 \pm 16.2	0.63	0.21	0.81

Índice	29 °C				Valor de P
	D0%	D32%	D43%	D56%	
Hct (%)	27.54 \pm 1.97 ^{AB}	26.67 \pm 0.52 ^B	28.33 \pm 1.81 ^{AB}	30.92 \pm 1.09 ^A	0.76
GR (Cel.x10 ⁶ células/ μ L)	3.71 \pm 0.38	3.79 \pm 0.23	4.14 \pm 0.59	3.72 \pm 0.21	0.03
GB (cel/10 ³ células/ μ L)	0.45 \pm 0.15	0.57 \pm 0.18	0.56 \pm 0.12	0.61 \pm 0.08	0.41
VCM (fL)	74.38 \pm 4.37 ^{AB}	70.46 \pm 4.18 ^{AB}	69.0 \pm 6.55 ^B	83.39 \pm 6.25 ^A	0.04

Hct: Hematocrito; GR: Glóbulos rojos; GB: Glóbulos blancos; VCM: Volumen Corpuscular medio. Las letras a, b denotan diferencias singinifactivas ($P < 0.05$) entre la D0% y lo stratamienos (dietas con HS). T: temperatura de aclimatación, D: dieta; T-D: Interaccion temperatuua-Dieta. Las letras w, x, denotan diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos a 23 y 26 °C. Las letras A, B indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos a 29 °C.

3.6.2 Química sanguínea

3.6.2.1 Proteínas totales (PT), Albúmina (ALB), Globulinas (GLOB) y Albumina:Globulina (ALB:GLOB)

Para los peces aclimatados a 23 y 26 °C, la temperatura de aclimatación tuvo un efecto significativo en la concentración de ALB y en la relación ALB:GLOB. El remplazo de HP por HS en la dieta afectó significativamente la concentración de PT, de ALB, de GLOB y la relación ALB:GLOB las cuales mostraron una tendencia el aumento cuando el porcentaje de HS fue mayor, mientras que la interacción *Temperatura-Dieta* sólo afectó la concentración de ALB (Tabla 8).

En los peces que recibieron la D0%, las concentraciones de PT registradas a 23 °C ($2.69 \pm 0.2 \text{ g dL}^{-1}$) y 26 °C ($2.66 \pm 0.1 \text{ g dL}^{-1}$) fueron menores y difieren estadísticamente de las encontradas con la D56% a 23°C ($3.29 \pm 0.0 \text{ g dL}^{-1}$; P: 0.005 y P: 0.001) y 26 °C ($3.66 \pm 0.3 \text{ g dL}^{-1}$; P: 0.003 y P: 0.001). La concentración de ALB encontrada a 23 °C ($0.59 \pm 0.09 \text{ g dL}^{-1}$) con D0% fue menor que la registrada con la D56% y fue diferente en ambas temperaturas de aclimatación (P: 0.049 y P: 0.001) y de la D43% (P: 0.0001) a 26 °C, mientras que las ALB registradas a 26 °C ($0.63 \pm 0.08 \text{ g dL}^{-1}$) fueron menores y difirieron de la D43% y D56% (P: 0.0001) a esta temperatura y de la D32% a 23 °C (P: 0.010). La concentración de GLOB registrada a 23 °C ($2.10 \pm 0.2 \text{ g dL}^{-1}$) y 26 °C ($2.03 \pm 0.2 \text{ g dL}^{-1}$) con la D0% fueron menores y difirieron de la D56% ($2.57 \pm 0.2 \text{ g dL}^{-1}$) a 23 °C (P: 0.02 y P: 0.008). La relación ALB:GLOB encontrada a 23 °C ($0.28 \pm 0.06 \text{ g dL}^{-1}$) con la D0% fue menor y diferente de la D43% (P: 0.0002) y D56% (P: 0.005) a 26°C, mientras que la relación encontrada a esta última temperatura (26 °C) con la D0% fue mayor que con la D32% a 23 °C y menor que con la D43% a 26 °C, con la cuales si hubo diferencias estadísticas (P: 0.005 y P: 0.008) (Tabla 8).

En relación con las dietas experimentales (con reemplazo de HP), la mayor concentración de PT ($3.66 \pm 0.3 \text{ g dL}^{-1}$) y de ALB ($0.93 \pm 0.11 \text{ g dL}^{-1}$) se registró con 56% de HS (D56%) a 26 °C; la mayor concentración de GLOB ($2.57 \pm .2 \text{ g dL}^{-1}$) se presentó con esta misma dieta (D56%) pero a 23 °C, mientras que la mayor relación ALB:GLOB (0.42 ± 0.07) se encontró con la D43% (43% de HS) a 26°C. La concentración de PT antes reportada fue diferente de la D32% (68%HP-32%HS) a 23 °C (P: 0.0001) y 26 °C (P: 0.02), y de la D43% (P: 0.02) a 23°C. Se encontraron diferencias en la concentración de ALB excepto (P: 0.39) con la D43% ($0.89 \pm 0.12 \text{ g dL}^{-1}$; P: 0.39) a 26 °C. La concentración de GLOB fue diferente de la D32% ($2.20 \pm 0.2 \text{ g dL}^{-1}$; P: 0.02) a 23 °C y de la D43% ($2.15 \pm 0.2 \text{ g dL}^{-1}$; P: 0.01) a 26 °C, mientras que la relación ALB:GLOB fue diferente del resto de los tratamientos (P < 0.05), excepto de la D56% (0.39 ± 0.05 ; P: 0.30) a 26 °C (Tabla 8).

La menor concentración de PT ($2.68 \pm 0.0 \text{ g dL}^{-1}$), de ALB ($0.46 \pm 0.05 \text{ g dL}^{-1}$) y la menor relación ALB:GLOB (0.21 ± 0.06) se presentó a 23 °C y con un 32% de HS (D32%) mientras que la menor concentración de GLOB ($2.15 \pm 0.2 \text{ g dL}^{-1}$) se presentó a 26 °C con un 43% de HS (D2) en la dieta. La concentración de PT difiere de la registrada con la D56% en ambas temperaturas de aclimatación (P: 0.0005 y P:0.0001) y de la D43% (P: 0.029) a 26 °C; La concentración de ALB fue diferente del resto de los tratamientos (P < 0.001); la relación ALB:GLOB fue diferente de la D56% a ambas temperaturas de aclimatación (P: 0.02 y P < 0.0001) y de la D43% (P < 0.0001) a 26 °C mientras que la concentración de GLOB difirió sólo de la D56% (P: 0.011) a 23 °C (Tabla 8).

En los peces aclimatados a 29 °C, la HS en la dieta afectó significativamente la concentración de PT, ALB, GLOB y en la relación ALB:GLOB, ya que estas aumentaron cuando incrementó el porcentaje de HS en la dieta. El mayor promedio de PT ($4.17 \pm 0.79 \text{ g dL}^{-1}$), de ALB ($1.02 \pm 0.20 \text{ g dL}^{-1}$) y la

mayor relación ALB:GLOB (0.33 ± 0.07) se registró con la D56%, mientras que la mayor concentración de GLOB ($3.18 \pm 0.68 \text{ g dL}^{-1}$) se registró con la D0%. La concentración de PT fue mayor y estadísticamente diferente ($P: 0.012$) del valor obtenido con la D32%. Del mismo modo la concentración de ALB fue más elevada y fue diferente de la D0% ($P: 0.0002$) y la D32% ($P: 0.01$). Se encontraron diferencias en la relación ALB:GLOB con la D0% ($P: 0.0004$), mientras que la concentración de GLOB fue mayor y estadísticamente diferente ($P: 0.02$) de la D32% (Tabla 8).

3.6.2.2 Glucosa (GLU) y Triglicéridos (TG)

La HS también afectó significativamente la concentración de GLUC y de TG, mientras que la temperatura de aclimatación y la interacción *Temperatura-Dieta* sólo afectaron los niveles TG. Ambas concentraciones (GLUC a 23 y 26 °C, y TG a 23 °C) fueron más elevadas cuando la inclusión de soya en la dieta aumentó.

La concentración de GLUC en los peces de 23 °C ($48.2 \pm 6.73 \text{ g dL}^{-1}$) y de 26 °C ($46.7 \pm 4.51 \text{ g dL}^{-1}$) alimentados con la D0% fue menor y diferente de la D56% tanto a 23 °C ($P: 0.005$; $p: 0.002$) como a 26 °C ($P: 0.01$; $P: 0.005$). La concentración de GLUC de la D0% a 23 °C también fue menor y diferente de la D43% ($P: 0.03$) en la misma temperatura, mientras que la GLUC con la D0% a 26 °C fue también menor de la D32% y D43% ($P: 0.04$; $P: 0.01$) a 23 °C. La concentración de TG en las totoabas aclimatadas a 23 °C ($75.3 \pm 12.4 \text{ g dL}^{-1}$) y 26 °C ($72.5 \pm 17.8 \text{ g dL}^{-1}$) con la dieta sin HS fueron menores y difirieron de la D43% ($P: 0.004$; $P: 0.001$) y D56% ($P < 0.00001$) a 23 °C.

En las totoabas que recibieron las dietas con HS, la mayor concentración de GLUC ($63.9 \pm 4.43 \text{ g dL}^{-1}$) y de TG ($128.4 \pm 15.5 \text{ g dL}^{-1}$) en los peces se presentó a 23 °C y con 56% de HS (D56%). Esta concentración de GLUC fue diferente de la D32% a 26 °C ($P: 0.001$) mientras que la concentración de TG difirió del resto de las dietas tanto a 23 como a 26 °C ($P < 0.001$). Por el contrario, la menor concentración de GLUC ($49.3 \pm 7.92 \text{ g dL}^{-1}$) en los peces alimentados con HS se presentó a 26 °C con la D32% (32% HS) y la menor concentración de TG ($64.0 \pm 17.9 \text{ g dL}^{-1}$) se presentó con esta misma dieta (D32%) pero a 23 °C. Esta concentración de GLUC fue diferente de todas las concentraciones ($P < 0.05$), excepto en el tratamiento con 43% de HS ($57.5 \pm 5.52 \text{ g dL}^{-1}$; $P: 0.068$) a 26 °C, mientras que la concentración de TG fue diferente de la D56% en ambas temperaturas ($P < 0.001$; $P: 0.04$), de la D43% a 23 °C ($P < 0.001$) y de la D32% a 26 °C ($P: 0.03$) (Tabla 8).

En los peces aclimatados a 29 °C, la concentración de GLU y de TG fue influenciada por las dietas ($P < 0.0001$), y ambos índices incrementaron cuando la inclusión de harina de soya aumentó. La mayor concentración de GLUC ($85.71 \pm 8.07 \text{ g dL}^{-1}$) y de TG ($156.43 \pm 19.04 \text{ g dL}^{-1}$) en los peces se registró con la D56% y ambas fueron diferentes de las concentraciones obtenidas con la D0% (GLUG; $P: 0.000012$ y TG; $P: 0.00009$) y con la D32% (GLUG; $P: 0.00057$ y TG; $P: 0.0001$).

Por el contrario, la menor concentración de GLUC ($63.66 \pm 6.30 \text{ g dL}^{-1}$) y de TG ($94.71 \pm 1.48 \text{ g dL}^{-1}$) se presentó con la D0%. Esta concentración de GLUC fue diferente de la D43% ($P: 0.00075$) y D56% ($P: 0.000012$), mientras que la de TG fue diferente del resto de las dietas (Tabla 8).

3.6.2.3 Alanina Aminotransferasa (ALT) y Aspartato Aminotransferasa (AST)

Al igual que con la *GLUC* y los *TG*, la concentración de las enzimas aminotransferasas aumentó con la inclusión de soya en la dieta. Ambas enzimas (ALT y AST) fueron afectadas por la temperatura de aclimatación ($P < 0.0001$) y las dietas experimentales ($P < 0.001$), pero no por la interacción *temperatura-dieta*.

La concentración de ALT y AST obtenida con la D0% en ambas temperaturas de aclimatación fueron más bajas y diferentes ($P < 0.001$) de la D56% a 23 y 26 °C. La concentración de ALT con la D0% a 23 °C también fue mayor y difirió de la D0% ($P: 0.001$) y D32% ($P: 0.002$) a 26 °C, mientras que la concentración de AST con la D0% a 23 °C también fue menor y diferente del resto de las concentraciones excepto de la D0% ($P: 0.05$) y D32% ($P: 0.44$) a 26 °C. En esta última temperatura de aclimatación (26 °C), la concentración de ALT de las totoabas alimentadas con la D0% solamente fue diferente de la D32% a 26 °C, mientras que la concentración de AST con la D0% fue menor y diferente en todas las dietas con HS ($P < 0.001$).

En relación a las dietas con remplazo de HS, la concentración más alta de ALT ($17.29 \pm 1.97 \text{ g dL}^{-1}$) y de AST ($100.43 \pm 2.14 \text{ g dL}^{-1}$) en los peces se presentó a 23 °C y con la dieta del 56% de HS. Estas concentraciones fueron estadísticamente diferentes de las registradas en el resto de los tratamientos tanto a 23 °C como a 26 °C ($P < 0.05$). Por el contrario, la menor concentración de ALT ($4.05 \pm 1.02 \text{ g dL}^{-1}$) y AST ($52.92 \pm 2.24 \text{ g dL}^{-1}$) se encontró a 26 °C con la D32% (y ambas difirieron estadísticamente ($P < 0.05$) de las concentraciones encontradas en los peces del resto de los tratamientos (Tabla 8).

En cuanto a los peces aclimatados a 29°C, la concentración de ALT ($P < 0.0009$) y AST ($P < 0.00001$) fue influenciada por las dietas experimentales. En ambas enzimas el mayor promedio se presentó con la D56%, los cuales difirieron ($P < 0.01$ y $P: 0.00009$) del resto de las concentraciones encontradas para las dietas evaluadas (Tabla 8).

Tabla 8. Valores promedio (\pm desviación estándar) de los indicadores de la bioquímica sanguínea de *Totoaba macdonaldi* aclimatada a 23, 26 y 29 °C y alimentada con distintos porcentajes de harina de soya. Dieta control: D0% (Dieta de control: 100%HP); D32% (Dieta 1: 68%HP-32%HS); D43% (Dieta 2: 57%HP-43%HS); D56% (Dieta 3: 44%HP-56%HS). T: temperatura de aclimatación, D: dieta.

Índice	23 °C				26 °C				Valor de P		
	D0%	D32%	D43%	D56%	D0%	D32%	D43%	D56%	T	D	T-D
PT (g dL ⁻¹)	2.69 \pm 0.2 ^a	2.68 \pm 0.0 ^{a,y}	2.95 \pm 0.2 ^{a,x,y}	3.29 \pm 0.0 ^{b,w}	2.66 \pm 0.1 ^a	2.91 \pm 0.06 ^{a,x,y}	3.04 \pm 0.02 ^{a,w,x}	3.36 \pm 0.3 ^{b,w}	0.26	0.0001	0.70
ALB (g dL ⁻¹)	0.59 \pm 0.09 ^{a,b}	0.46 \pm 0.05 ^{a,z}	0.62 \pm 0.05 ^{a,b,y}	0.73 \pm 0.08 ^{b,x}	0.63 \pm 0.08 ^b	0.57 \pm 0.09 ^{a,b,y}	0.89 \pm 0.12 ^{c,w}	0.93 \pm 0.11 ^{c,w}	<0.0001	<0.0001	0.01
GLOB (g dL ⁻¹)	2.10 \pm 0.2 ^a	2.20 \pm 0.2 ^{a,y}	2.34 \pm 0.2 ^{a,w,x,y}	2.57 \pm 0.2 ^{a,w}	2.03 \pm 0.2 ^a	2.35 \pm 0.6 ^{a,w,x,y}	2.15 \pm 0.2 ^{a,x,y}	2.43 \pm 0.2 ^{b,w,x,y}	0.42	0.004	0.44
ALB: GLOB (g dL ⁻¹)	0.28 \pm 0.06 ^{a,b}	0.21 \pm 0.06 ^{a,z}	0.26 \pm 0.02 ^{a,b,x,y,z}	0.28 \pm 0.02 ^{a,b,x,y}	0.32 \pm 0.06 ^b	0.25 \pm 0.07 ^{a,b,x,y,z}	0.42 \pm 0.07 ^{c,w}	0.39 \pm 0.05 ^{b,w}	<0.001	<0.001	0.20
GLU (g dL ⁻¹)	48.2 \pm 6.73 ^{a,b}	58.9 \pm 11.28 ^{a,w}	60.9 \pm 7.87 ^{c,w}	63.9 \pm 4.43 ^{c,w}	46.7 \pm 4.51 ^b	49.3 \pm 7.92 ^{a,b,x}	57.5 \pm 5.52 ^{a,b,w,x}	62.40 \pm 9.74 ^{c,w}	0.07	<0.0001	0.52
TG (g dL ⁻¹)	75.3 \pm 12.4 ^a	64.0 \pm 17.9 ^{b,z}	103.7 \pm 5.7 ^{b,x}	128.4 \pm 15.5 ^{b,w}	72.5 \pm 17.8 ^a	80.7 \pm 10.3 ^{a,y}	70.6 \pm 3.9 ^{a,y,z}	79.8 \pm 15.0 ^{a,y}	0.001	<0.0001	0.001
ALT (g dL ⁻¹)	7.91 \pm 1.31 ^a	7.70 \pm 2.18 ^{a,y}	10.16 \pm 1.25 ^{a,x}	17.29 \pm 1.97 ^{c,v}	3.94 \pm 1.41 ^b	4.05 \pm 1.02 ^{b,z}	8.85 \pm 1.63 ^{a,c,x,y}	14.79 \pm 2.35 ^{c,w}	<0.0001	<0.0001	0.22
AST (g dL ⁻¹)	49.51 \pm 4.58 ^a	62.10 \pm 3.44 ^{c,y}	70.17 \pm 2.45 ^{c,x}	100.43 \pm 2.14 ^{c,v}	43.87 \pm 1.76 ^{a,b}	52.92 \pm 2.24 ^{a,z}	65.16 \pm 2.70 ^{c,y}	92.54 \pm 6.96 ^{c,w}	<0.0001	<0.0001	0.47

Índice	29 °C				Valor de P
	D0%	D32%	D43%	D56%	
PT (g dL ⁻¹)	3.83 \pm 0.71 ^{AB}	3.09 \pm 0.69 ^B	3.59 \pm 0.82 ^{AB}	4.17 \pm 0.79 ^A	0.003
ALB (g dL ⁻¹)	0.65 \pm 0.15 ^C	0.76 \pm 0.18 ^B	0.84 \pm 0.17 ^{AB}	1.02 \pm 0.20 ^A	0.0009
GLOB (g dL ⁻¹)	3.18 \pm 0.68 ^A	2.32 \pm 0.53 ^C	2.75 \pm 0.68 ^{ABC}	3.14 \pm 0.67 ^{AB}	0.02
ALB: GLOB (g dL ⁻¹)	0.21 \pm 0.06 ^B	0.33 \pm 0.03 ^A	0.31 \pm 0.05 ^A	0.33 \pm 0.07 ^A	0.0001
GLU (g dL ⁻¹)	63.66 \pm 6.30 ^C	70.44 \pm 7.02 ^{BC}	78.56 \pm 9.11 ^{AB}	85.71 \pm 8.07 ^A	<0.0001
TG (g dL ⁻¹)	94.71 \pm 1.48 ^D	119.62 \pm 14 ^C	145.67 \pm 19.74 ^{AB}	156.43 \pm 19.04 ^A	<0.0001
ALT (g dL ⁻¹)	6.22 \pm 0.52 ^B	6.08 \pm 1.13 ^B	5.61 \pm 0.69 ^C	7.44 \pm 1.05 ^A	<0.0001
AST (g dL ⁻¹)	63.66 \pm 6.30 ^C	70.44 \pm 7.02 ^{BC}	78.56 \pm 9.11 ^B	85.71 \pm 8.07 ^A	<0.0001

PT: Proteínas totales; ALB: Albumina; GLOB: Globulinas; ALB:GLOB: Globulinas:Albumina; GLU: Glucosa; TG: Triglicéridos; ALT: Alanina Aminotransferasa; AST: Aspartato Aminotransferasa. Las letras a, b denotan diferencias singinifactivas (P < 0.05) entre la D0% y los tratamienos (dietas con HS). Las letras w, x, y, z denotan diferencias significativas (P < 0.05) entre los tratamientos a 23 y 26 °C. Las letras A, B, C indican diferencias significativas (P < 0.05) entre los tratamientos a 29 °C.

3.7 Discusión

3.7.1 Parámetros hematológicos

En los últimos años la tendencia dentro del sector acuícola ha sido el desarrollo de organismos bajo condiciones de cultivo intensivo (Jobling, 2010). Estos cultivos se caracterizan, entre otras cosas, por el incremento en la densidad de cultivo (Southgate y Lucas, 2019), condiciones bajo las cuales aumenta la probabilidad de que los organismos se puedan enfermar (Pulkkinen et al., 2009; Secombes y Wang, 2012).

Los análisis hematológicos son una de las herramientas de diagnóstico menos invasivas y cada vez más común para evaluar el estado de salud de los animales acuáticos (Fazio, 2019; Artacho et al., 2007). Entre las que destacan los componentes sanguíneos (*glóbulos rojos, glóbulos blancos, el contenido de hemoglobina o el hematocrito*; Martins et al., 2006; Jamalzadeh et al., 2009; Peng et al., 2018) y la química sanguínea (*p. ej. concentración de proteínas, enzimas y electrolitos*; Newman et al., 1997; Tabares-Dias y Moares, 2007; Abimorad et al., 2007).

El Hematocrito (Hct), puede variar entre y en las especies, y es afectado por factores como la etapa de vida de los organismos, el estado reproductivo, el fotoperíodo, la concentración de oxígeno disuelto y la temperatura del agua (Hrubec et al., 2010). Se ha establecido que los peces con un Hct \geq de 45% presentan un estado de policitemia (aumento anormal de la cantidad de glóbulos rojos) debido a una deshidratación, mientras que un porcentaje \leq de 20% suele estar asociado con una anemia (Campbell, 2015), la cual puede ser hemorrágica (pérdida de sangre), hemolítica (destrucción de eritrocitos) o hipoplásica (eritropoyesis deficiente) (Clauss et al., 2008).

En el presente trabajo, el Hct de los juveniles de *T. maldonaldi* aclimatados a 23 y 26 °C, no fue afectado ni por la temperatura ni por las dietas experimentales, mientras que en los peces acondicionados a 29 °C, las dietas experimentales si afectaron esta respuesta. El valor del Hct tuvo un intervalo entre $26.0 \pm 1.7\%$ (23°C-D0%) y $30.9 \pm 1.1\%$ (29°C-D56%), estos valores hacen suponer que los peces no presentaban policitemia o anemia (Campbell, 2015). Este intervalo fue mayor que los reportados para juveniles de 10 g aclimatados a 23 °C y alimentados con niveles de taurina de 18.85 a 19.96% (Satriyo et al., 2017), y para juveniles de 9.5 g aclimatados a 26 °C y alimentados con harina de subproductos de ave y sebo (21.0 a 22.33%) (Mata-Sotres et al., 2018), y es muy cercano a los intervalos de Hct reportados para otras especies de peces marinos como *Argyrosomus regius*, *Sparidentex hasta* y *Sciaenops ocellatus* cuando han sido alimentados con dietas en las que la HP ha sido remplazada parcialmente por HS, concentrados de soya o aislados de soya (Ribeiro et al., 2015; Rossi et al., 2015; Yaghoubi et al., 2016).

Con respecto a la concentración y el tamaño de glóbulos rojos (GR), se ha documentado que son diferentes entre los grupos de peces y entre las especies; el intervalo de estas células para la mayoría de estos organismos está entre 1.0 a 3.0×10^6 células/ μ L (Roberts y Ellis, 2001), y puede ser afectado por factores como el estrés o la temperatura del agua (Hrubec et al., 2001; Roberts y Ellis, 2001). En el presente trabajo, la temperatura de aclimatación, la dieta o la interacción de estos factores no influyeron significativamente en la concentración de GR de los juveniles de *T. maldonaldi* aclimatados a 23, 26 y 29 °C. El intervalo para estas células estuvo entre $2.06 \pm 0.03 \times 10^6$ (23°C-D0%) a $4.14 \pm 0.59 \times 10^6$ (29°C-D43%) células/ μ L, el cual fue similar a los intervalos reportados por López et al. (2015) y Mata-Sotres et al. (2018) para juveniles de esta misma especie, y es muy cercano al intervalo considerado como normal para organismos aparentemente saludables (Roberts y Ellis, 2001).

La glóbulos blancos (GB) tienen un papel importante en el sistema inmune de los organismos (Weiss et al., 2010). La concentración de este tipo celular es generalmente mayor en peces que en mamíferos (Hrubec y Smith, 2010) y puede variar en respuesta al estrés, a enfermedades inflamatorias e infecciosas (Silveira-Coffigni et al., 2004; Grant, 2015), a trastornos nutricionales (Blaxhall, 1972) y con la temperatura del agua (Hrubec et al., 2007). Un aumento en el número de GB puede estar relacionado con la estimulación del sistema inmune (Groff y Zinkl, 1999), en respuesta a un proceso inflamatorio (Campbell, 2015).

En el presente estudio la concentración de GB de los juveniles de *T. macdonaldi* aclimatados a 23 y 26 °C fue afectada por la dieta y por la interacción *temperatura-dieta*, mientras que la concentración de este tipo celular de las totoabas aclimatadas a 29 °C fue afectada sólo por la dieta. El intervalo de GB fue de 0.54 ± 0.15 a $1.10 \pm 0.15 \times 10^3$ cels/ μ L, el cual es menor que el registrado por Mata-Sotres et al. (2018) de 17.53 a 19.93×10^3 cels/ μ L para esta misma especie. Independientemente de la temperatura de aclimatación la concentración de GB aumentó cuando el porcentaje de sustitución de la HP por HS fue mayor. Este tendencia también ya ha sido reportada para *T. macdonaldi* (Fuentes-Quesada et al., 2018) y en otras especies de peces marinos como el salmón común *Salmo salar* (Baeverfjord y Krogdahl, 1996; Bakke-McKellep et al., 2000); el salmón real *Oncorhynchus tshawytscha* y el salmón rosado *Oncorhynchus gorbuscha* (Booman et al., 2018).

Aunque en este trabajo no se realizó la caracterización del tipo de GB, es probable que las células del tipo leucocitos se incrementaran, debido a que se ha reportado que en algunas especies de peces alimentados con dietas que tienen porcentajes mayores al 30% de inclusión de soya, presentan procesos inflamatorios o trastornos nutricionales (Bakke-McKellep et al., 2000; Krogdahl et al., 2003; Krogdahl et al., 2010; Krogdahl et al., 2015; Fuentes-Quesada et al., 2018), lo cual podría explicar que en este estudio se incrementó la concentración de GB en relación directa con el contenido de HS en la dieta.

El volumen corpuscular medio (VCM), es el índice que estima el tamaño promedio de los eritrocitos (Campbell, 2015) y varía entre especies y grupos de peces, aunque puede encontrarse entre un intervalo de 81 a 106 fL en peces como la lubina híbrida (Hrubec et al., 1996) y hasta 192 a 420 fL en truchas (Miller et al., 1983). El VCM de las totoabas aclimatadas a 23 y 26 °C, no fue afectado por la temperatura ni por las dietas. La temperatura de aclimatación de 29 °C tuvo una influencia sobre el VCM de los peces. El promedio más bajo del VCM en *T. macdonaldi* fue de 69.0 ± 6.55 fL y se registró en los peces alimentados con 43% de HS en la dieta y aclimatados a 29 °C, mientras que el valor más alto (126.4 ± 9.15 fL) se obtuvo en los juveniles alimentados sin HS en las temperaturas de aclimatación de 23 y 26 °C. El intervalo del VCM en este estudio fue similar al registrado por López et al. (2015) de 93.7 a 129 fL y menor que el encontrado por Mata-Sotres et al. (2018) para *T. macdonaldi*. Tomando en cuenta que el VCM de los peces aclimatados a 23 y 26 °C no fue afectado por la temperatura de aclimatación ni por las dietas evaluadas y considerando que los porcentajes de Hct están dentro de los intervalos reportados para peces saludables (Campbell, 2015), estos resultados podrían indicar que el tamaño de los eritrocitos de *T. macdonaldi* no eran eritrocitos microcíticos (glóbulos rojos más pequeños que las células normales), los cuales son comunes en peces con anemia por deficiencia de hierro (Campbell, 2015).

3.7.2 Química sanguínea

El análisis del suero sanguíneo es uno de los elementos utilizados para la evaluación del estado de salud de los peces, ya que refleja su condición fisiológica (Seong et al., 2018). En el presente trabajo la concentración de proteínas totales del suero de juveniles de *T. macdonaldi* aclimatados a

23, 26 y 29 °C fue afectada sólo por las dietas experimentales. La mayor concentración ($4.17 \pm 0.79 \text{ g dL}^{-1}$) se presentó a 29 °C y con un 56% de HS en la dieta y la menor ($2.66 \pm 0.1 \text{ g dL}^{-1}$) a 26 °C con la dieta control. Estos valores de PT están dentro del intervalo de 2 a 8 g dL^{-1} registrado para un gran número de especies de peces (Miller et al., 1983; Sandnes et al., 1988; Hunn y Greer, 1990) y fue ligeramente mayor a los intervalos (2.54 a 2.69 g dL^{-1} y 2.55 a 3.0 g dL^{-1}) registrados por Satriyo et al. (2017) y Mata et al. (2018) para juveniles de esta misma especie. En general, la concentración de PT de *T. macdonaldi* en el presente estudio aumentó cuando el porcentaje de HS en la dieta se incrementó, lo cual coincide con lo encontrado en otras especies como *Pagrus major* (Kader et al., 2012; Kader y Koshio, 2012), *Platichthys stellatus* (Li et al., 2015) y *Trachinotus carolinus* (Novriadi et al., 2017), así como en juveniles de totoaba (2.66 ± 0.1 : a $3.66 \pm 0.3 \text{ g dL}^{-1}$) cuando la HP ha sido remplazada por derivados de la soya.

Los cambios en la concentración de las proteínas se puede deber a la presencia de proteínas con estructura anormal (discrasia) o a una concentración de proteínas normales en una concentración anormal (disproteïnemia). La disproteïnemia puede presentarse cuando la concentración de PT incrementa por igual (hiperproteïnemia no selectiva), cuando un tipo aumentó más que otro (hiperproteïnemia selectiva), y cuando la concentración se redujo porque disminuyeron por igual todas las proteínas (hipoproteïnemia no selectiva) o cuando algún tipo decreció más que otro (hipoproteïnemia selectiva) (Stockham y Scott, 2013).

Debido a que los peces marinos tienen una capacidad limitada para la digestión y el metabolismo de los carbohidratos (NRC, 2011a; Molina-Poveda, 2016), la ingesta excesiva de estos nutrientes puede ocasionar problemas nutricionales (Krogdahl et al., 2010; Glencross, 2016). Tomando en cuenta que sólo la dieta influyó en la concentración de PT, quizás un alto contenido de carbohidratos en la HS (principalmente cuando el porcentaje de remplazo de la HP fue del 43 y 56%) pudo ocasionar una hiperproteïnemia selectiva en los juveniles de *T. macdonaldi*, ya que la concentración de GLOB aumentó con el incremento en el contenido de HS en la dieta, y fue mayor que la concentración de ALB, lo cual posiblemente fue en respuesta a un proceso inflamatorio por el consumo elevado de soya (Krogdahl et al., 2010; 2015).

En relación a la albúmina (ALB), se ha reportado que representan entre el 35 al 50% de las proteínas totales en la mayoría de los animales (Eckersall, 2008) y son las proteínas principales en la actividad osmótico coloidal del suero (Faye y Bengoumi, 2018). En cambio las globulinas (GLOB) actúan como enzimas o proteínas transportadoras de hormonas, tienen una función importante en el combate de las infecciones y ayudan a mejorar el proceso de coagulación de la sangre (Stockham y Scott, 2013). Además la determinación de la concentración de ambas proteínas se utiliza para conocer la relación ALB:GLOB, que es un indicador de procesos inflamatorios o de trastornos inmunológicos (Faye y Bengoumi, 2018).

En el presente trabajo la concentración de ALB y la relación ALB:GLOB de *T. macdonaldi* aclimatada a 23 y 26 °C fueron afectadas por la temperatura de aclimatación y las dietas experimentales. Las GLOB sólo fueron afectadas por la dieta mientras que la interacción *temperatura-dieta* sólo afectó la concentración de ALB. Respecto a los juveniles aclimatados a 29 °C, la concentración de ALB, GLOB y la relación ALB:GLOB fueron afectados por las dietas experimentales. La concentración de ALB tuvo un intervalo de 0.46 ± 0.05 (23°C-D32%) a $1.02 \pm 0.20 \text{ g dL}^{-1}$ (29°C-D56%) y la de GLOB de 2.03 ± 0.17 (26°C-D0%) a 3.18 ± 0.68 (29°C-D0%), mientras que el intervalo de la relación ALB:GLOB fue de 0.21 ± 0.06 (23°C-D32%) a 0.42 ± 0.07 (26°C-D43%). El intervalo de la concentración de ALB fue mayor al reportado para esta misma especie por López et al. (2015), y similar al encontrado por Satriyo et al. (2017) y Mata-Sotres et al. (2018). El intervalo de las GLOB fue mayor al establecido por López et al. (2015) y Mata-Sotres et al. (2018), mientras que la relación ALB:GLOB fue muy similar a la documentada por López et al. (2015).

El aumento en la concentración de ALB puede estar relacionado con una alteración en la presión osmótica coloidal (Evans, 2002), con deshidratación (Tothova et al., 2016) o con enfermedades infecciosas o inflamatorias (Whalan, 2015). En cambio el incremento en la concentración de GLOB mayor al valor basal (hiperglobulinemia) está relacionado con una hemoconcentración (mayor viscosidad del plasma por una disminución en su volumen), con un proceso inflamatorio (Whalan, 2015; Tothova et al., 2016) o a una neoplasia de linfocitos B (Stockham y Scott, 2013). Generalmente la concentración de ALB supera al de GLOB, y la relación ALB:GLOB es de 0.5 a 1.5 en un gran número de especies (Sirois, 2011). La presencia de hiperglobulinemia debida a una alta concentración de GLOB, ocasiona que la relación ALB:GLOB disminuya, por lo que valores menores a 0.5 en esta relación pueden estar asociados con alteraciones del sistema inmune (Patriche et al., 2011), inflamación intestinal (Faye y Bengoumi, 2018) o daño hepático (Osmani et al., 2009; Campbell, y Grant, 2010).

En las totabas aclimatadas a 23, 26 y 29 °C, se observó que cuando la inclusión de HS en la dieta fue mayor, la concentración de ALB y en mayor medida la de GLOB, incrementó. Esta situación permite suponer que los peces desarrollaron un posible proceso inflamatorio causado por algunos factores antinutricionales presentes en la soya (Francis et al., 2001; Krogdahl et al., 2010) como respuesta a una probable patología intestinal (Krogdahl et al., 2015; Fuentes-Quesada et al., 2018). Este efecto pudo ser mayor cuando los porcentajes de remplazo de la HP por HS fueron elevados (D43% y D56%). Respecto a la relación ALB:GLOB de *T. macdonaldi* se encontró que en las tres temperaturas de aclimatación (23, 26 y 29 °C) los valores estuvieron dentro de un intervalo de 0.21 ± 0.06 a 0.42 ± 0.07 . Estos resultados reafirmarían lo antes señalado y podrían indicar que los peces posiblemente desarrollaron una inflamación intestinal ya que valores menores a 0.5 en la relación ALB:GLOB están asociados con esta patología del tejido (Faye y Bengoumi, 2018) o con un daño hepático (Giannini et al., 2005; Osmani et al., 2009; Campbell, y Grant, 2010; Faye y Bengoumi, 2018) causado por consumo elevado de HS.

La glucosa es normalmente suministrada por la absorción intestinal de la glucosa contenida en el alimento o por la producción de glucosa hepática a partir de sus precursores, por ejemplo, los carbohidratos (glucógeno, fructosa, galactosa) y aminoácidos (gluconeogénesis) (Kaneko, 2008), mientras que los triglicéridos son los principales constituyentes de la grasa corporal y en los animales se utilizan como indicador de movilización de grasa cuando la alimentación no puede cubrir las necesidades energéticas (Faye y Bengoumi, 2018).

La concentración de GLUC y TG de los peces aclimatados a 23, 26 y 29 °C fueron afectados por las dietas experimentales, mientras que la temperatura y la interacción *temperatura-dieta* solamente afectaron a los TG de las totabas aclimatadas a 23 y 26 °C. Tanto la GLUC como los TG aumentaron conforme se incrementó la inclusión de HS en la dieta, situación que fue más notable en las dietas con 43 y 56 % de HS y en los peces mantenidos a 23 y 29 °C. Esta tendencia en el aumento de GLUC por consumo de altos porcentajes de soya coincide con lo reportado en *T. macdonaldi* por Bañuelos-Vargas et al. (2014) cuando reemplazó la HP (en 30 y 60%) por proteína de soya y en *Trachinotus carolinus* por Novriadi et al. (2017), cuando evaluaron dos variedades de HS extraída con solvente y tratada con enzimas. Además, Kader et al. (2012) y Dawood et al. (2015), encontraron que los TG aumentaron considerablemente en *Pagrus major* y *Seriola dumerili* cuando el reemplazó de la HP por HS fue mayor.

El aumento en la concentración de GLUC y TG en los juveniles de *T. macdonaldi* cuando el porcentaje de reemplazo de la HP por HS fue mayor, quizás se debe a los altos niveles de carbohidratos en la dieta, en especial en los porcentajes de inclusión de HS más elevados (43 y 56%), ya que altos niveles de carbohidratos pueden inducir el aumento de glucosa y triglicéridos en la sangre de los peces (Peres y Oliva-Teles, 2002; Enes et al., 2010).

La enzima ALT cataliza la transaminación reversible de L-alanina y 2 oxoglutarato a piruvato y L-glutamato, y junto con otras transaminasas, juega un papel en el catabolismo de aminoácidos y en el transporte de nitrógeno. Por su parte, la enzima AST cataliza la transferencia de grupos amino (NH_2) de α -aminoácido (glutamato) a α -ketoácido (oxaloacetato) para dar otro aminoácido α (aspartato) y otro ácido α -keto (α ketoglutarato) (Faye y Bengoumi, 2018). Además estas enzimas se utilizan como indicadoras de daño celular, de enfermedades inflamatorias, infecciosas y lesiones hepáticas (Allison, 2012; Stockham y Scott, 2013; Hyder et al., 2013).

En el presente trabajo, la concentración de ALT y AST de las totoabas aclimatadas a 23, 26 y 29 °C, fue influenciada por las dietas experimentales, mientras que la temperatura de aclimatación afectó la concentración de ambas enzimas cuando los juveniles fueron aclimatados a 23 y 26 °C. Los niveles más altos de ALT y AST se presentaron a 23 y 29 °C y cuando los peces fueron alimentados con 56% de HS en la dieta, mientras que los niveles más bajos de ambas enzimas, se presentaron a 26 °C y con la dieta sin HS (D0%).

El aumento de ALT y AST en respuesta a una mayor inclusión de HS en la dieta, coincide con lo encontrado para la concentración de leucocitos, ALB y GLOB. Con base en estas tendencias, es posible suponer que *T. macdonaldi* presenta una alta sensibilidad a elevados porcentajes de HS (> 32%) en la dieta y que la inclusión de porcentajes mayores podría representar un riesgo para su salud ya que el aumento en la concentración de ALB y GLOB están relacionados con enfermedades infecciosas o con un proceso inflamatorio (Whalan, 2015; Tothova et al., 2016). En cambio, elevados niveles de ALT y AST son indicativo de disfunción de órganos (Yuangsoi et al., 2014) y trastornos metabólicos (lipidosis), nutricionales, enfermedades inflamatorias, infecciosas y lesiones hepáticas (Allison, 2012; Stockham y Scott, 2013; Hyder et al., 2013). Para poder complementar la información sobre el comportamiento de las concentraciones de las enzimas aminotransferasas, es fundamental profundizar en los aspectos de la fisiología de la totoaba relacionados con aspectos metabólicos, lesiones hepáticas y estado nutricional, entre otros.

En conclusión el remplazo de la HP por HS mayor de 32% y la interacción *temperatura-dieta* tuvieron un mayor efecto en la hematología (concentración de glóbulos blancos) y la química sanguínea (concentración de proteínas totales, albuminas, globulinas, relación ALB:GLOB, glucosa, triglicéridos y aspartato y alanina aminotrasferasas). Independientemente de la temperatura de aclimatación, estos índices fueron más bajos en los peces alimentados con la dieta control y aumentaron cuando el remplazo de la HP por HS fue mayor (43 o 56%), lo que podría indicar que *T. macdonaldi* tiene alta sensibilidad a elevados porcentajes de carbohidratos y una inclusión mayor de 32% de HS en la dieta podría afectar su salud. Por tal motivo, es importante continuar generando conocimiento sobre otros indicadores como el perfil de aminoácidos del músculo, digestibilidad de las dietas, calidad del músculo cómo alimento y de fisiología energética, entre otras, con el fin de generar información que permitan establecer la viabilidad del uso de harina de soya en la dieta de juveniles de *T. macdonaldi* bajo diferentes condiciones térmicas.

Capítulo 4. ETAPA 3

4.1 Efecto de la temperatura y la dieta sobre la preferencia y resistencia térmica de juveniles de *Totoaba macdonaldi*

4.2 Hipótesis

La temperatura preferida (26 °C) y la respuesta a la resistencia térmica de juveniles de *Totoaba macdonaldi* no serán afectadas por las dietas con 100% harina de pescado y 32% de inclusión de harina de soya, y estas respuestas serán diferentes a la de los peces alimentados con 43 y 56% de soya en la dieta y aclimatados a 23 y 29 °C.

4.3 Objetivo

Evaluar el efecto de la dieta y la temperatura sobre el comportamiento termorregulador y la resistencia térmica de juveniles de *Totoaba macdonaldi*.

4.4 Materiales y métodos

4.4.1 Temperatura Preferida

Para el estudio del comportamiento termorregulador, se utilizó el sistema diseñado y construido por Bückle-Ramírez et al. (2003), el cual consta de un canal de acrílico de 26 cm de alto, 31 cm de ancho y 365 cm de longitud, con una capacidad total de 220 litros. El canal está dividido en 15 cámaras virtuales (cada cámara de 20.33 cm de longitud), las cuales tienen en el centro un sensor térmico que envía la señal a un termógrafo multicanales (Standfor Research Systems, modelo SR630) para el registro de temperatura. El termógrafo está conectado a una impresora (Panasonic KX-P3696 Multi-mode), a la cual se envían los registros de temperatura por cámara cada 10 minutos.

A lo largo del canal de acrílico está colocada horizontalmente una manguera difusora de aire, la cual contiene pequeños poros que permiten mantener homogénea la columna de agua y los niveles adecuados de oxígeno disuelto (Bückle-Ramírez et al., 2003). En cada extremo del canal de acrílico se encuentra una cámara de tubo PVC de 29 cm de largo y 20.3 cm de diámetro.

Para formar el gradiente térmico, en un extremo del canal se elevó la temperatura del agua con dos calentadores de titanio (de 1000 W cada uno) y en el extremo opuesto, la temperatura se disminuyó con un enfriador (Neslab Merlin M150). El gradiente térmico formado tuvo un intervalo de 20 a 33 °C.

El experimento para evaluar la temperatura preferida inició después de 61 días de aclimatar a los peces a 23, 26 y 29 °C y de ser alimentados durante ese periodo con las dietas experimentales (dietas con soya). De cada tanque de cultivo se evaluaron cuatro peces, los cuales se colocaron de dos en dos (de forma independiente) dentro del canal de acrílico, en la cámara que tenía el valor más cercano a la temperatura de aclimatación. Después de 30 minutos, inició el registro cada 10 min del lugar ocupado por los peces dentro del canal.

El experimento duró 2.5 horas y se realizó por triplicado y por separado para cada tratamiento (combinación dieta-temperatura). Los peces evaluados no se alimentaron 24 horas antes del inicio del experimento para evitar la influencia de los procesos postprandiales. Además, se inyectó agua constantemente en un extremo del canal ($80 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$) para reemplazar aproximadamente el 50% del volumen en 24 horas, y evitar con esto la acumulación de metabolitos (Bückle-Ramírez et al., 2003).

4.4.2 Resistencia térmica (temperatura crítica máxima, TCM_{Max})

Para evaluar la resistencia térmica se utilizaron cuatro peces de cada tanque. Cada pez se colocó por separado y de manera independiente en un tanque de plástico de 150 L con un volumen efectivo de 60 L. La temperatura del agua se aumentó a una tasa constante de $1^\circ\text{C} \text{ min}^{-1}$ (Joblin, 1981; Lutterschmidt & Hutchison, 1997) con tres calentadores de titanio de 1000 W, a los cuales se les sujetó una piedra difusora para mantener un suministro continuo de aire, lograr una temperatura homogénea y evitar una estratificación en la columna de agua.

Durante el incremento de la temperatura del agua, la resistencia térmica se evaluó a partir de las siguientes respuestas de comportamiento observadas en los peces:

1.- *Espasmos musculares* (EM): definidos como movimientos espasmódicos no controlados, y

2.- *Pérdida del equilibrio* (PE): definida como la falta de capacidad para mantener la posición horizontal del cuerpo.

Para determinar la resistencia térmica de los juveniles de *T. macdonaldi*, tanto los EM como la PE se registraron en el valor térmico en el que se observaron por al menos un minuto (Lutterschmidt y Hutchison, 1997; Beitinger et al., 2000), debido a que ambas respuestas pueden caracterizar a la TCM_{Max} (Lutterschmidt y Hutchison, 1997). Los peces evaluados no fueron alimentados 24 horas antes al inicio de cada prueba, con el fin de evitar la influencia de los procesos postprandiales. Los experimentos de temperatura preferida y resistencia térmica se hicieron después de 61 días de cultivo (aclimatación a la temperatura y dieta) y los peces utilizados para estos experimentos registraron un peso de 223 a 275 gramos, dependiendo de la unidad experimental y tratamiento a ensayar.

4.4.3 Análisis estadísticos

A los valores obtenidos en las pruebas de temperatura preferida y de resistencia térmica se les aplicó una prueba de Kolmogorov-Smirnov y de Lilliefors para evaluar la normalidad y una prueba de Levene para evaluar la homogeneidad de las varianzas (Zar, 2010; Montgomery, 2017). Los valores que cumplieron con estos supuestos se analizaron con un análisis de varianza de dos vías con el fin de evaluar el efecto de la temperatura de aclimatación, las dietas experimentales y la interacción de ambos factores sobre la preferencia y resistencia térmica de juveniles de *Totoaba macdonaldi*. Para identificar las posibles diferencias estadísticas entre la Dieta control y los demás tratamientos se aplicó la prueba de Dunnett. Para determinar las diferencias estadísticas entre las dietas experimentales (dietas en las que se reemplazó la HP por HS), se aplicó la prueba LSD de Fisher (Zar, 2010; Montgomery, 2017). Todos los análisis se realizaron con un nivel de significancia de $P < 0.05$ y con el software STATISTICA 10®.

4.5 Resultados

4.5.1 Temperatura preferida

La temperatura preferida por los peces, hace referencia a la temperatura que visitaron con mayor frecuencia. Para las totoabas aclimatados a 23 y 26 °C se encontró que la temperatura preferida fue influenciada por la temperatura de aclimatación ($P: 0.001$) pero no por la dieta ($P: 0.999$) ni por la interacción entre estos dos factores ($P: 0.087$).

Los peces aclimatados a 23 °C y alimentados con la D0% seleccionaron el valor más alto de temperatura preferida (27.72 °C) y fue estadísticamente diferente ($P < 0.05$) de la temperatura preferida por los peces alimentados con estamisma dieta D0% (26.45 °C) pero en la temperatura de climatación de 26 °C (Figura 4).

En los peces aclimatados a 29 °C, la temperatura preferida fue influenciada por la dieta consumida ($P: 0.03$). El valor térmico elegido por los organismos fue disminuyendo conforme el porcentaje de inclusión de soya en la dieta aumentó. El valor más alto (27.36 °C) fue registrado en los peces alimentados con la D0%, el cual sólo fue estadísticamente diferente ($P: 0.01$) de la temperatura preferida por los peces alimentados con la D56% (26.84 °C).

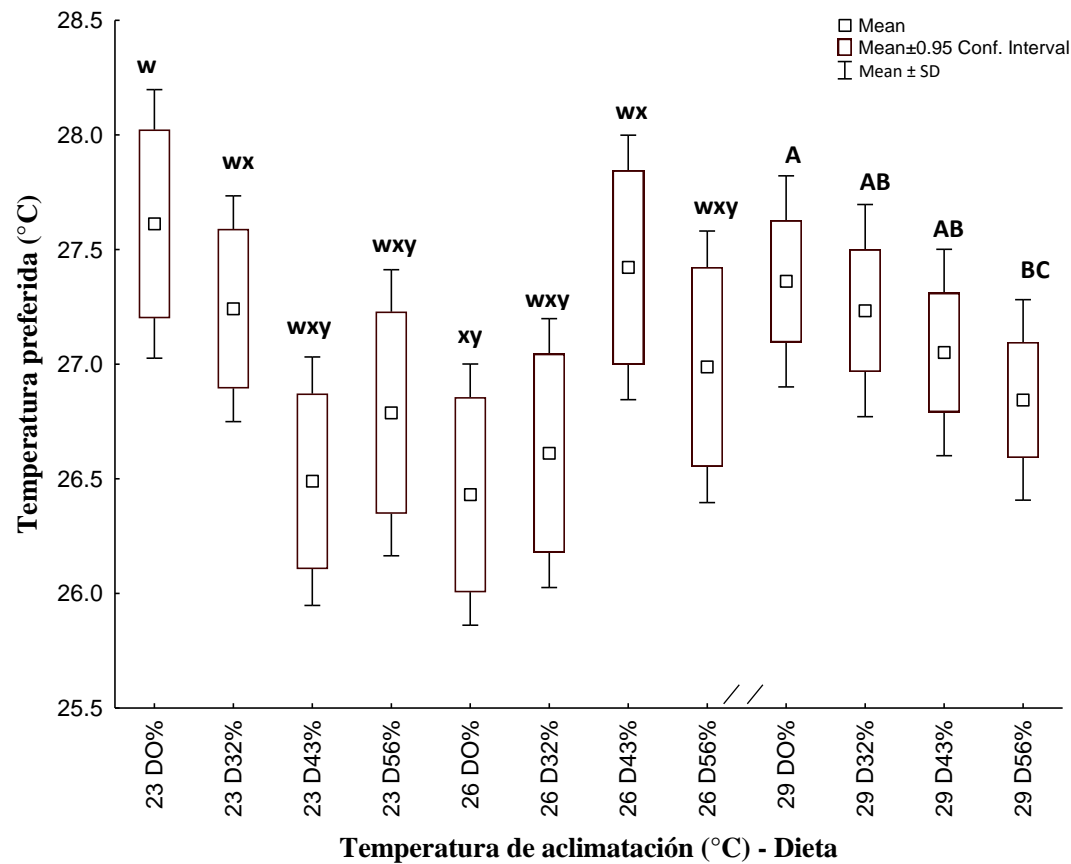


Figura 4. Temperatura preferida por los juveniles de *Totoaba macdonaldi* aclimatados a tres temperaturas (23 °C, 26 °C y 29 °C) y alimentados con dietas con distintos porcentajes de inclusión de harina de soya. Dieta control: D0% (Dieta de control: 100%HP); D32% (Dieta 1: 68%HP-32%HS); D43% (Dieta 2: 57%HP-43%HS); D56% (Dieta 3: 44%HP-56%HS). T: temperatura de aclimatación, D: dieta. Las letras w, x, y, xy, wx, wxy, A, B, C indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos a 23 y 26 °C. Las letras A, B, C indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos a 29 °C.

4.5.2 Resistencia térmica (TCMax)

Previo al registro de los espasmos musculares (EM) y la pérdida del equilibrio (PE), los peces presentaron un aumento en su actividad (AA), el cual fue definido como *un incremento sostenido en la velocidad de natación*. Este comportamiento está relacionado con la respuesta de los organismos ante el incremento gradual de la temperatura del agua.

Los datos del aumento de actividad de los peces aclimatados a 23 y 26 °C no pasaron las pruebas de homogeneidad de varianza (Levene: F: 262; g.l. 7.8; P: 0.01), por lo cual la información fue analizada con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

El AA fue afectado por la temperatura de aclimatación ($P < 0.001$) pero no por las dietas experimentales ($P < 0.06$). El mayor promedio (33.3 ± 0.9 °C) se registró a 26 °C con la D0% y fue estadísticamente diferente de los promedios registrados a 23 °C con la D0% (P: 0.04), D32% (P: 0.01), D43%

($P < 0.0001$) y D56% ($P < 0.005$). Por el contrario, el menor promedio (30.6 ± 0.9 °C) se registró a 23 °C y fue diferente significativamente de la D0% ($P < 0.0001$), D32% ($P: 0.001$) y D43% ($P: 0.006$) de los peces de la temperatura de aclimatación de 26 °C (Tabla 6).

En los peces aclimatados a 29 °C las dietas experimentales no tuvieron un efecto significativo sobre la respuesta de aumento en la actividad ($P: 0.317$). El intervalo del AA en estos organismos se presentó entre los 34.1 ± 0.8 a 34.6 ± 0.06 °C (Tabla 6).

4.5.2.1 Espasmos Musculares (EM)

Los datos de EM obtenidos de los peces aclimatados a 23 y 26 °C, no pasaron las pruebas de normalidad (K-S:0.23; $P < 0.01$; Lilliefors $P < 0.01$, Shapiro-Wilk $W: 0.60$, $P: < 0.0001$) ni de homogeneidad de varianza (Hartley F-max: 192.49; Cochran C: 0.79, Bartlett Chi-Sqr. 67.06, g.l. 7, $P < 0.0001$), por lo cual la información se analizó con la prueba de Kruskal-Wallis.

Los EM fueron influenciados por la temperatura de aclimatación ($P: 0.002$) pero no por las dietas ($P: 0.61$). El mayor promedio (37.7 °C) se registró a 26 °C con la D0% y fue diferente estadísticamente de los promedios registrados a 23 °C con la D0% ($P: 0.03$) y D56% ($P: 0.002$). El menor promedio (36.3 °C) se registró en los peces de 23 °C con la D56% y fue diferente de la D0% ($P < 0.0001$), D32% ($P: 0.001$) y D43% ($P: 0.006$) en la temperatura de aclimatación de 26 °C (Tabla 9).

Tabla 9. Respuestas de comportamiento de juveniles de *T. macdonaldi* aclimatados a tres temperaturas, alimentados con dietas con distintos porcentajes de inclusión de soya y expuestos a un incremento de la temperatura del agua ($1^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$).

Temperatura de aclimatación (°C)	Dieta	Temperatura promedio en la que se registró el Aumento de Actividad (AA)	Valor de P		Temperatura promedio en la que se registraron los Espasmos musculares (EM)	Valor de P	
			T	D		T	D
23	D0%	$31.9 \pm 1.7^{\text{wx}}$			$36.7 \pm 0.7^{\text{xy}}$		
	D32%	$31.8 \pm 0.4^{\text{wx}}$			$37.2 \pm 0.5^{\text{vwxy}}$		
	D43%	$30.6 \pm 0.9^{\text{x}}$			$36.8 \pm 0.2^{\text{wx}}$		
	D56%	$31.5 \pm 0.9^{\text{wx}}$	0.01	0.06	$36.3 \pm 2.4^{\text{y}}$	0.002	0.06
26	D0%	$33.3 \pm 0.9^{\text{v}}$			$37.7 \pm 0.5^{\text{v}}$		
	D32%	$32.6 \pm 1.5^{\text{vw}}$			$37.7 \pm 0.5^{\text{vwxx}}$		
	D43%	$32.2 \pm 0.9^{\text{vww}}$			$37.6 \pm 0.3^{\text{vwxx}}$		
	D56%	$32.2 \pm 0.2^{\text{vwxx}}$			$37.55 \pm 0.5^{\text{vwxx}}$		
29	D0%	34.6 ± 0.06	----		39.6 ± 0.4	----	
	D32%	34.1 ± 0.8	----		38.0 ± 0.2	----	
	D43%	34.2 ± 0.5	----	0.317	39.6 ± 0.2	----	
	D56%	34.3 ± 0.5	----		39.7 ± 0.2	----	

AA: Aumento de Actividad; Espasmos Musculares: EM; Dieta control: D0% (Dieta de control: 100%HP); D32% (Dieta 1: 68%HP-32%HS); D43% (Dieta 2: 57%HP-43%HS); D56% (Dieta 3: 44%HP-56%HS). T: temperatura de aclimatación, D: dieta. Las letras a, b denotan diferencias singinifactivas ($P < 0.05$) entre la D0% y lo stratamienos (dietas con HS). Las letras v, w, x, y denotan diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos a 23 y 26 °C.

En la temperatura de aclimatación de 29 °C, los EM se presentaron en un porcentaje muy bajo de los peces evaluados (16.7 % con la D0% y D56%; 33% con la D32% y 25% con la D43%), por la cual no fue posible realizar un análisis estadístico. Sin embargo, los EM en estos organismos se presentaron entre los 38.0 ± 0.2 a 39.7 ± 0.2 °C (Tabla 9).

4.5.2.2 Pérdida del Equilibrio (PE)

A diferencia del AA y los EM, la pérdida del equilibrio se presentó en el 100% de los peces evaluados, razón por la cual, fue considerada como la respuesta de comportamiento para determinar la resistencia térmica de los juveniles de *T. macdonaldi* ya que caracteriza la temperatura crítica máxima de la especie.

La resistencia térmica (TCMax) de los peces aclimatados a 23 y 26 °C fue influenciada significativamente por la temperatura de aclimatación ($P < 0.001$) y la dieta ($P < 0.047$) pero no por la interacción de estos factores ($P: 0.087$). Los resultados muestran que la resistencia térmica de *T. macdonaldi* disminuyó cuando el porcentaje de inclusión de HS en la dieta fue mayor (Figura 5).

Respecto a la D0% (sin HS), la TCMax registrada en los peces aclimatados a 23°C con esta dieta (37.3 °C) fue estadísticamente diferente ($P < 0.0001$) de la TCMax más alta (38.2 °C) la cual se encontró también con la D0% pero a 26 °C. Esta última (TCMax de la D0% a 26 °C) a su vez fue diferente del resto de los tratamientos ($P < 0.05$) excepto de la TCMax registrada en los peces alimentados con la D32% (37.8 °C; $P: 0.12$) y aclimatados también a 26 °C (Figura 5).

El valor térmico más bajo en el que se registró la PE fue a los 37.2 °C y corresponde a los peces aclimatados a 23°C y alimentados con la D56%, valor estadísticamente diferente de los registrados para los peces aclimatados a 26 °C y alimentados con la D0% ($P: < 0.001$) y D32% ($P: 0.021$). En contraste, el valor térmico más alto (38.2 °C) se registró a 26 °C con la D0% (sin HS) el cual no fue diferente del valor registrado con la D32% ($P: 0.125$) a esta misma temperatura de aclimatación (Figura 5).

La TCMax de los peces aclimatados a 29°C se registró entre los 39.51 °C (D43%) a 39.83 °C (D56%) y a diferencia de lo encontrado en la temperatura de 23 y 26 °C, no fue influenciada significativamente ($P: 0.13$) por las dietas experimentales (Figura 5).

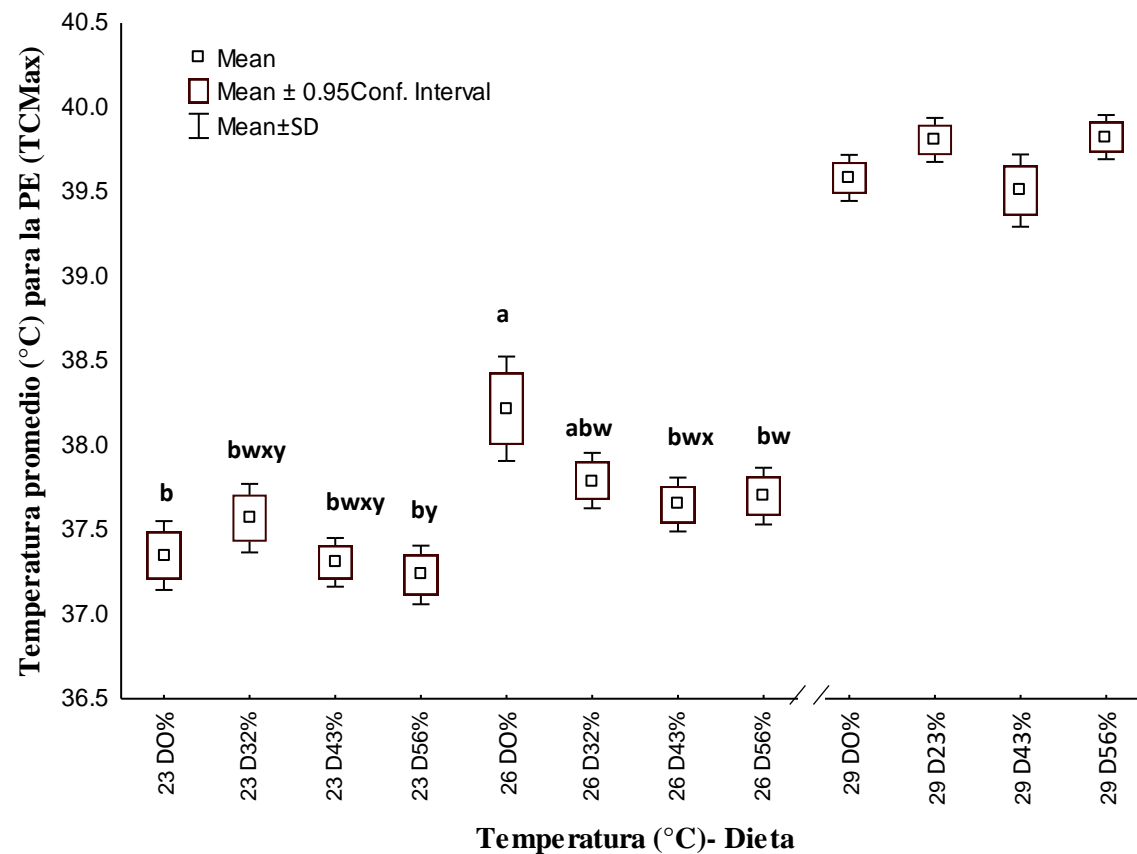


Figura 5. Temperatura en la que se registró la pérdida del equilibrio (Resistencia térmica: TCMax) en los juveniles de *T. macdonaldi* aclimatados a tres temperaturas y alimentados con dietas con distintos porcentajes de inclusión de harina de soya. D0% (Dieta de control: 100%HP-0%HS); D32% (Dieta 1: 68%HP-32%HS); D43% (Dieta 2: 57%HP-43%HS); D56% (Dieta 3: 44%HP-56%HS). Las letras a, b denotan diferencias singinifactivas ($P < 0.05$) entre la D0% y los tratamienos (dietas con HS). Las letras w, x, y denotan diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamienos a 23 y 26 °C.

4.6 Discusión

4.6.1 Preferencia y resistencia térmica de juveniles de *T. macdonaldi*

Los estudios para determinar la temperatura preferida de peces han sido realizados tanto con especies de agua dulce como *Amia calva*, *Carassius auratus* (Reynolds et al., 1978a, 1978b), *Coregonus clupeaformis* (Edsall, 1999), *Micropterus salmoides* (Díaz et al., 2007) y *Poecilia sphenops* (Hernández-Rodríguez y Bückle-Ramirez, 2010), como con especies marinas, como *Clupea pallasii*, *Sardinops melanostictus*, *Oncorhynchus keta*, *Pagrus major*, *Oplegnathus fasciatus*, *Trachurus japonicus*, *Pseudocaranx dentex* (Tsuchida, 1995), *Sardinops sagax* (Martínez-Porchas et al., 2009), *Paralichthys californicus* (Esquer-Mendez et al., 2009), hapuku *Polyprion oxygeneios* (Khan et al., 2014) y en juveniles de Dover sole *Solea solea* (Schram et al., 2013), entre otros. Estos trabajos han sido realizados con el fin de determinar el rango térmico elegido por los peces o para predecir la temperatura óptima para el crecimiento (Schram et al., 2013; Khan et al., 2014).

En relación a los trabajos de comportamiento termorregulador en totoaba, hasta ahora solamente se ha realizado un estudio para conocer su temperatura preferida (Talamás, 2001). En este trabajo, los juveniles de dos y tres meses de edad se aclimataron durante 30 días a 20, 24, 28 y 32 °C para después ser expuestos a un gradiente térmico. Los resultados de esta investigación mostraron que los juveniles de dos meses eligieron una temperatura final de 26.3 °C, mientras que la temperatura preferida por las totoabas de tres meses fue de 25.2 °C. Sin embargo, tanto en los estudios citados anteriormente como en el realizado por Talamás (2001), solamente se consideró el factor temperatura de aclimatación y en ninguno de estos trabajos se evaluó la calidad de la dieta, ni la interacción de ambos factores.

Otros estudios han evaluado el efecto de la temperatura de cultivo y de la dieta pero se han centrado en analizar el rendimiento biológico de los peces como el crecimiento en peso, por ejemplo, en hapuku *Polyprion oxygeneios* (Tromp et al., 2016) o la composición química corporal y la incidencia de deformidades en la tenca juvenil *Tinca tinca* (Kamiński et al., 2017). En el presente trabajo, se evaluó la interacción entre la temperatura de aclimatación y la calidad de la dieta sobre la temperatura preferida y la resistencia térmica de juveniles de *T. macdonaldi*.

Los resultados demostraron que la temperatura preferida por los juveniles de totoaba aclimatados a 23 y 26 °C fue influenciada sólo por la temperatura de aclimatación, mientras que la preferida por los peces aclimatados a 29 °C fue influenciada por las dietas experimentales. La temperatura preferida por los juveniles aclimatados a 23 y 26 °C se encontró entre los 26.42°C (26 °C-D0%) a 27.7 °C (23 °C-D0%), mientras que las totoabas aclimatadas a 29 °C prefirieron temperaturas entre los 26.8 °C (D56%) a 27.3 °C (D0%). La razón por la que los juveniles eligieron estas temperaturas se atribuye a su historia térmica de aclimatación, la cual tiene una gran influencia en la región térmica elegida (Fry, 1947), además las temperaturas seleccionadas por los juveniles de *T. macdonaldi* se encuentran en el intervalo entre los 25 a 29 °C que comúnmente se presenta en las aguas superficiales del ambiente natural de la especie (Flanagan y Hendrickson, 1976).

En relación a la dieta, este factor tuvo un efecto significativo en la temperatura preferida por los peces aclimatados a 29 °C, pero sólo cuando la HP se reemplazó en un 56% (D56%), en relación a la dieta control (sin HS). A pesar de este efecto, la temperatura preferida por los peces alimentados con la D56% (26.84 °C) estuvo dentro del intervalo de las temperaturas preferidas seleccionadas por los peces aclimatados a las temperaturas de 23 y 26 °C.

En el presente estudio, los juveniles de *T. macdonaldi* aclimatados a 23 y 26 °C eligieron temperaturas preferidas más altas que las de aclimatación, respuesta que fue más evidente en los peces aclimatados a 23 °C. Por el contrario, las totoabas aclimatadas a 29 °C prefirieron temperaturas menores en relación a su temperatura de aclimatación. En ambos casos, este comportamiento podría sugerir que entre la temperatura de aclimatación y la temperatura preferida se presentó una relación de adaptación, en la cual los peces eligieron nuevos valores térmicos que podrían maximizar diversas funciones fisiológicas, al menos a un nivel superior al alcanzado en la temperatura de aclimatación previa (Kelsch y Neill, 1990).

La interacción *temperatura de aclimatación-calidad de la dieta* específicamente relacionada con el remplazo de la HP por HS, debe ser considerado en trabajos posteriores sobre la evaluación del desempeño fisiológico de los peces, ya que este factor tuvo un efecto significativo en la temperatura preferida por *T. macdonaldi* cuando los peces se aclimataron en la temperatura (29 °C) más cercana al límite térmico superior de esta especie, por lo que que probablemente bajo estas condiciones térmicas, la cantidad y el tipo de carbohidratos presentes en la dieta tienen un papel más importante sobre esta variable de respuesta.

El estado fisiológico del pez es fundamental cuando se realizan pruebas de tolerancia y resistencia térmica (Paladino et al., 1980), las cuales pueden ser determinadas mediante el método estático o el método dinámico (Fry, 1947; Beitinger y Bennett, 2000) respectivamente. La prueba para establecer la resistencia térmica mediante la temperatura crítica máxima (TCMax) se utiliza con el fin de determinar la resistencia de los peces a la temperatura, ya que permite evaluar los requerimientos de estos organismos a nivel térmico, fisiológico y ecológico (Lutterschmidt y Hutchison, 1997).

En general cuando se evalúa la TCMax en peces, la tendencia es que la resistencia térmica aumente a medida que también aumenta la temperatura de aclimatación (Paladino et al., 1980). Esta respuesta ha sido observada en especies como *Sardinops sagax* (Martínez-Porchas y Hernández-Rodríguez, 2010), *Acipenser brevirostrum* (Zhang y Kieffer, 2014) y *Pseudocrenilabrus multicolor* (McDonnell y Chapman, 2015).

A diferencia de nuestro estudio, los trabajos realizados hasta el momento sobre la resistencia térmica de peces no han considerado el efecto de la calidad de la dieta y especialmente, cuando la harina de pescado se reemplaza por proteínas de origen vegetal. Durante la determinación de la TCMax de *T. macdonaldi* se observaron una serie de respuestas de comportamiento cuando fueron expuestos a un incremento gradual de la temperatura del agua. Primero mostraron un aumento en la actividad, seguido de espasmos musculares (EM) y finalmente la pérdida del equilibrio (PE). Estas respuestas se han registrado antes en una gran cantidad de especies como *Coryphoblennius galerita*, *Gobius paganellus*, *Lipophrys pholis* y *Paralipophrys trigloides* (Vinagre et al., 2013) y *Pseudocrenilabrus multicolor* (McDonnell y Chapman, 2015), entre otras, y son parte de un comportamiento natural de los organismos para escapar de las condiciones térmicas adversas para sus funciones vitales (Cowles y Bogert, 1944; Paladino et al., 1980).

Los EM y la PE se consideran excelentes indicadores del comportamiento térmico de los peces, ya que caracterizan el punto final de la TCMax siempre y cuando estas respuestas se observen en el 100% de los organismos evaluados (Lutterschmidt y Hutchison, 1997). En este estudio, el punto final para determinar la TCMax en los juveniles de *T. macdonaldi* fue la PE ya que esta respuesta se observó en el 100% de los peces.

La TCMax de los juveniles de *T. macdonaldi* aclimatados a 23 y 26 °C se registró entre los 37.2 °C (23°C-D56%) a 38.21 °C (26°C-D0%) y fue influenciada por la temperatura de aclimatación y la dieta, mientras que en los peces aclimatados a 29 °C se registró entre los 39.51 °C (D43%) a 39.83 °C (D56%) y no hubo un efecto de las dietas experimentales. Aunque un alto reemplazo de la HP por HS (> 32%) no tuvo un efecto significativo en la supervivencia y en algunos indicadores del rendimiento fisiológico de *T. macdonaldi* aclimatada a 23 y 26 °C, si lo tuvo en la resistencia térmica.

Es probable que con un alto nivel de HS en la dieta (43 y 56%) los polisacáridos sin almidón (NSP por sus siglas en inglés) en la dieta también fueran altos. Estos niveles de NSP podrían haber tenido efectos negativos debido a su capacidad para unir moléculas orgánicas e inorgánicas, lo que puede limitar el uso de otros nutrientes (NRC, 2011a). Además, los NSP representan una pobre fuente energética para los peces y afectan la digestibilidad de los lípidos (NRC, 2011a), lo que podría haber limitado la producción de energía y posiblemente haber influido en la capacidad energética de los peces (Jobling, 1997).

4.7 Síntesis de la discusión de las diferentes etapas del estudio

En el presente trabajo se evaluó el rendimiento en crecimiento, los índices productivos, el perfil de ácidos grasos del músculo, los parámetros hematológicos, la química sanguínea, la preferencia térmica y la resistencia térmica de juveniles de *Totoaba macdonaldi* en respuesta a la temperatura de aclimatación y al remplazo de la harina de pescado por harina de soya en la dieta. Después de 61 días de cultivo ninguno de estos dos factores ni la interacción *temperatura-dieta* tuvo un efecto significativo en el porcentaje de supervivencia, el perfil de ácidos grasos del músculo y la concentración de glóbulos rojos de los peces aclimatados en las tres temperaturas evaluadas.

La temperatura de aclimatación influyó significativamente en el peso promedio, la tasa de crecimiento específico, el porcentaje de ganancia en peso, la tasa de eficiencia proteica, en la concentración de las enzimas aspartato aminotransferasas y alanina aminotransferasas, en la temperatura preferida y la resistencia térmica cuando los peces fueron aclimatados a 23 y 26 °C.

La harina de soya en la dieta tuvo un efecto significativo en las tres temperaturas evaluadas. Para los peces aclimatados a 23 y 26 °C, este factor influyó en la tasa de conversión alimenticia, en algunos índices hematológicos (relación albuminas:globulinas, concentración de glóbulos blancos, globulinas, albuminas, glucosa, triglicéridos) y de la química sanguínea (concentración de aspartato aminotransferasas y alanina aminotransferasas) así como en la resistencia térmica. En los peces aclimatados a 29 °C, influyó en el peso promedio, la ganancia en peso, la tasa de crecimiento específico, la tasa de eficiencia proteica, el factor de condición, el coeficiente de crecimiento térmico, el porcentaje del hematocrito, el volumen corpuscular medio, la concentración de glóbulos blancos, proteínas totales, albumina, globulinas, la relación albumina:globulina y en la temperatura preferida.

Respecto a la interacción *temperatura-dieta* ésta afectó las concentraciones de glóbulos blancos, albuminas, triglicéridos y la relación albumina:globulinas en las temperaturas de aclimatación de 23 y 26 °C.

Independientemente de la temperatura de aclimatación, se encontró que la concentración de glóbulos blancos y algunos índices de la química sanguínea (PT, ALB, GLOB, GLUC, TG, AST y ALT) aumentaron mientras que la resistencia térmica disminuyó cuando el remplazo de la HP por la HS en la dieta fue mayor. Lo anterior podría indicar que al igual que en otras especies de peces marinos, *Totoaba macdonaldi* tiene alta sensibilidad a elevados porcentajes de carbohidratos y una inclusión mayor de 32% de harina de soya en la dieta podría representar un riesgo para su salud.

En este sentido, los resultados encontrados muestran las implicaciones que podría tener la inclusión de altos porcentajes de esta proteína de origen vegetal en la dieta de *Totoaba macdonaldi* y la necesidad de integrar estos resultados con los generados en la evaluación de nuevos aspectos sanguíneos y de fisiología energética con el objetivo de comprender el efecto del remplazo de la HP por HS en la salud y la resistencia térmica de esta especie bajo diferentes condiciones térmicas. En este contexto, la presente investigación proporciona la base para considerar otros indicadores fisiológicos que permitan establecer la viabilidad del uso de la harina de soya en la dieta de juveniles de *T. macdonaldi*.

6. Conclusiones

1. No hubo efecto significativo de la temperatura de aclimatación, la inclusión de harina de soya (HS) en la dieta ni de la interacción *temperatura-dieta* en la supervivencia, en el perfil de ácidos grasos del músculo, la concentración de glóbulos rojos (GR), el hematocrito (Htc) y el volumen corpuscular medio (VCM) de juveniles de *Totoaba macdoaldi* aclimatados a 23 y 26 °C. El porcentaje de supervivencia en las tres temperaturas fue del 92 al 100%.
2. La temperatura de aclimatación tuvo un efecto positivo para los peces aclimatados a 26 °C en el peso promedio, la ganancia en peso (GP), la tasa de crecimiento específico (TCE), la tasa de eficiencia proteica (TEP), en la concentración de las enzimas aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), la temperatura preferida y resistencia térmica.
3. El aumento en el remplazo de la harina de pescado (HP) por HS tuvo un efecto negativo en la concentración de proteínas totales (PT), albuminas (ALB), globulinas (GLOB), glucosa (GLU), triglicéridos (TG), la concentración de aspartato AST, ALT y en la relación albuminas:globulinas (ALB:GLOB) de los peces aclimatados en las tres temperaturas. A 23 y 26 °C la HS influyó negativamente en el factor de conversión alimenticia, la concentración de glóbulos blancos (GB), GLUC, TG, AST, ALT y en la resistencia térmica. En los peces aclimatados a 29 °C, afectó negativamente el Htc, el VCM y la temperatura preferida.
4. La interacción *temperatura de aclimatación-dieta* afectó la concentración de GB, ALB, TG y la relación ALB:GLOB de los peces aclimatados a 23 y 26 °C.
5. El mayor promedio del peso, la GP, la TCE y la TEP se registró en los peces aclimatados a 29 °C y alimentados con la dieta en la que la HP se remplazó en un 43% por HS. El promedio más bajo de estos índices se registró también con esta dieta pero en los peces aclimatados a 23 °C.
6. La mayor concentración de GB de *T. macdoaldi* se presentó a 26 °C con 56% de HS en la dieta y la menor concentración a 29 °C con la dieta control (sin HS).
7. El mayor porcentaje del Hct y la mayor concentración de PT, ALB, GLOB, GLUC y TG se registró a 29 °C y con un 56% de remplazo de la HP. La menor concentración de PT, ALB y TG se registró a 23 °C con un 32% de HS en la dieta, mientras que la menor concentración de GLOB y GLUC se registró con la dieta control a 23 y 26 °C respectivamente.
8. La mayor concentración de las AST y ALT se registró en los peces aclimatados a 23 °C y alimentados con la dieta en la que la HP se remplazó en un 56% por HS. La menor concentración de ambas enzimas se presentó en los peces aclimatados a 26 °C y alimentados con la dieta control.

9. La temperatura preferida por *T.macdonaldi* aclimatada a 23 y 29 °C y la resistencia térmica cuando fue aclimatada a 23 y 26 °C disminuyó cuando el porcentaje de remplazo de la HP por HS en la dieta fue mayor.

10. La temperatura preferida más alta y más baja la seleccionaron los peces alimentados con la dieta sin HS y aclimatados a 23 y 26 °C respectivamente. El valor térmico más alto y más bajo para la resistencia térmica se registró con la dieta en la que la HP se remplazó por HS en un 56% en las temperaturas de aclimatacion de 29 y 23 °C respectivamente.

11. Literatura citada

- Abimorad, E.G., Carneiro, D., Urbinati, E.C. 2007. Growth and metabolism of pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887) juveniles fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. *Aquaculture Research*. 38, 36-44.
- Aguilar, A.F.A. 2010. Modelos matemáticos no lineales como herramienta para evaluar el crecimiento de tilapia roja (*Oreochromis* spp.) y tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus* var. *chitralada*)" alimentadas con dietas peletizadas o extruidas. Tesis de maestría en Ciencias. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá D.C. 135 pp.
- Ahmad, M.H., Abdel-Tawwab, M., Khattab, A.E.Y. 2010. Effect of dietary protein levels on growth performance and protein utilization in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*.) with different initial body weights. *Aquaculture*. 298, 267-274.
- Akbary, P. 2014. Consideration of blood serum biochemical parameters of yellow fin Sea bream (*Acanthopagrus latus* Houttuyn, 1782) and Orange-Spotted Grouper (*Epinephelus coioides* Hamilton, 1822). *Advances in Biological Chemistry*. 4, 407-413.
- Alam, Md. S., Teshima, S., Koshio, S., Shikawa, M.I. 2002. Arginine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* estimated by growth and biochemical parameters. *Aquaculture*. 205, 127-140.
- Alanära, A. 2000. Optimering av utfodring vid kommersiell fiskodling. Rapport No. 21. Institutionen för Vattenbruk, Umeå, SLU: 32.
- Alanära A., Kadri S., Paspatis, M. 2001. Feeding Management. En: Houlihan, D., Boujard, T., Jobling, M. (Eds.), *Food Intake in Fish*. Blackwell Science Ltd. pp. 332-353.
- Allan, G.L., Booth, M.A. 2004. Effects of extrusion processing on digestibility of peas, lupins, canola meal and soybean meal in silver perch *Bidyanus bidyanus* (Mitchell) diets. *Aquaculture Research*, 35(10), 981-991.
- Allison, R.W. 2012. Laboratory Evaluation of the Liver. En: Thrall, M.A., Weiser, G., R., Allison, R.W., Campbell, T.W. (Eds.), *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry* (2da ed). Wiley-Blackwell. pp 401-424.
- Álvarez, A., Fontanillas, R., Hernández-Contreras, A., Hernández, M. D. 2020. Partial replacement of fish oil with vegetal oils in commercial diets: The effect on the quality of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Animal Feed Science and Technology*. 265, 114504.
- Antonucci, M., Belghit, I., Truzzi, C., Illuminati, S., Pedro Araujo, P. 2019. Modeling the influence of time and temperature on the levels of fatty acids in the liver of Antarctic fish *Trematomus bernacchii*. *Polar Biology*. 42, 2017-2030.
- AOAC (Official methods of analysis). 1990. Association of official analytical chemists. Arlington, VA, USA.
- AOAC (Official methods of analysis). 1995. Association of official analytical chemists. Washington DC, USA.
- Artacho, P., Soto-Gamboa, M., Verdugo, C., Nespolo, R.F. 2007. Using haematological parameters to infer the health and nutritional status of an endangered black-necked swan population. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 147(4), 1060-1066.
- Arvizu J., Chavez, H. 1972. Sinopsis sobre la biología de la Totoaba, *Cyoscion macdonaldi* (Gilbert, 1890). FAO Fisheries Synopsis. SAST-Totoaba. 1,70(37), 016, 08.
- Audesirk, T., Audesirk, G., Byers, B.E. 2017. Biological molecules. En: Autores, *Biology: Life on Earth with Physiology*. Pearson. New Jersey. pp 32-51.

- Ayodele, A.A. 2010. Replacement of Fishmeal with Alternative Protein Sources in Aquaculture Diets. Tesis de Maestría en Ciencias. North Carolina State University, Raleigh, North Carolina. 129 pp.
- Badillo-Zapata, D., Lazo, J.P., Herzka, S.Z., Viana, M.T. 2016. The effect of substituting fishmeal with poultry by-product meal in diets for *Totoaba macdonaldi* juveniles. *Aquaculture Research*. 47, 1778-1789.
- Baeverfjord, G., Krogdahl, A. 1996. Development and Regression of Soybean Meal Induced Enteritis in Atlantic Salmon, *Salmo salar* L., Distal Intestine: A Comparison with the Intestines of Fasted Fish. *Journal of Fish Diseases*. 19, 375-387.
- Bagenal, T.B. 1978. Methods for assessment of fish production in freshwaters (3ra Ed.), Blackwell Scientific Publication.
- Bakke-McKellep, A.M., Press, C. McL., Baeverfjord, G., Krogdahl, A., Landsverk, T. 2000. Changes in immune and enzyme histochemical phenotypes of cells in the intestinal mucosa of Atlantic salmon, *Salmo Salar*. *Journal of Fish Diseases*. 23, 115-127.
- Bañuelos-Vargas, I., López, L.M., Pérez-Jiménez, A., Peres, H. 2014. Effect of fishmeal replacement by soy protein concentrate with taurine supplementation on hepatic intermediary metabolism and antioxidant status of totoaba juveniles (*Totoaba macdonaldi*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*. 170, 18-25.
- Barreto-Curiel, F., Focken, U., D'Abramo, L.R., Cuarón, J.A., Viana, M.T. 2018a. Use of isotopic enrichment to assess the relationship among dietary protein levels, growth and nitrogen retention in juvenile *Totoaba macdonaldi*. *Aquaculture*. 495, 794-802.
- Barreto-Curiel, F., Ramirez-Puebla, S.T., Ringø, E., Escobar-Zepeda, A., Godoy-Lozano, E., Vazquez-Duhalt, R., Sanchez-Flores, A., Viana, M.T. 2018b. Effects of extruded aquafeed on growth performance and gut microbiome of juvenile *Totoaba macdonaldi*. *Animal Feed Science and Technology*. 245, 91-103.
- Blaxhall, P. C. 1972. The haematological assessment of the health of freshwater fish. *Journal of Fish Biology*. 4, 593-604.
- Blackwell, B.G., Brown, M.L., Willis, D.W. 2000. Relative Weight (W_r) Status and Current Use in Fisheries Assessment and Management. *Reviews in Fisheries Science*. 8(1), 1-44.
- Beitinger, T., Fitzpatrick, L. 1979. Physiological and Ecological Correlates of Preferred Temperature in Fish. *American Zoologist*. 19, 319-329.
- Beitinger, T.L., Bennett, W.A. 2000. Quantification of the role of acclimation temperature in temperature tolerance of fishes. *Environmental Biology of Fishes*. 58, 277-288.
- Beitinger, T.L., Lutterschmidt, W.I. 2011. Measures of Thermal Tolerance. En: Farrell, A.P. (Editor in Chief), *Encyclopedia of Fish physiology: from genome to environment*. Academic Press. Elsevier. pp 1695-1702.
- Bennett, W.A., Currie, R., Wagner, P.F., Beitinger, T.L. 1997. Cold tolerance and potential overwintering of redbodied piranha, *Pygocentrus nattereri*, in the United States. *Transactions of the American Fisheries Society*. 126, 841-849.
- Booman, M., Forster, I., Vederas, J.C., Groman, D.B., Jones, S.M.R. 2018. Soybean meal-induced enteritis in Atlantic salmon (*Salmo salar*) and Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) but not in pink salmon (*O. gorbuscha*). *Aquaculture*. 483, 238-243.
- Brett, J.R. 1956. Some principles in the thermal requirements of fishes. *The Quarterly Review Biology*. 31, 75-86.
- Brodte, E., Graeve, M., Jacob, U., Knust, R., Pörtner, H.-O. 2008. Temperature-dependent lipid levels and components in polar and temperate eelpout (Zoarcidae). *Fish Physiology and Biochemistry*. 34, 261-274.

- Bückle-Ramírez, L.F., Barón, S.B., Hernández-Rodríguez, M., Ledo, M.A., Solís, A.R., Pérez, E.B., Hernández, S.A. 2003. Sistema de temperatura, oxígeno y salinidad para la experimentación en ecofisiología. *Hidrobiológica*. 13(4), 277-287.
- Buentello, A., Jirsa, D., Barrows, F.T., Drawbridg, M. 2015. Minimizing fishmeal use in juvenile California yellowtail, *Seriola lalandi*, diets using non-GM soybeans selectively bred for aquafeeds. *Aquaculture*. 435, 403-411.
- Bureau, D.P., Kaushik, S.J., Cho, C.Y. 2002. Bioenergetics. En: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), *Fish Nutrition* (3ra Ed.), Academic Press, New York. pp. 1-60.
- Burel, C., Person-Le Ruyet, J., Gaumet, F., Le Roux, A., Sévère, A., Boeuf, G. 1996. Effects of temperature on growth and metabolism in juvenile turbot. *Journal of Fish Biology*. 49, 678-692.
- Campbell, T.W. 2015. 1. Peripheral Blood of Mammals. *Exotic Animal Hematology and Cytology*, (4ta Ed.), Wiley Blackwell. pp. 3-36.
- Carpio-Ramírez, A.E. 2013. Efecto de la substitución de harina de pescado por harina de subproducto de ave en el perfil de ácidos grasos y crecimiento en juveniles de *Totoaba macdonaldi*. Tesis de licenciatura. Instituto de Investigaciones Oceanológicas. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California. 39 pp.
- Cataldi, E., Di Marco, P., Mandich, A., Cataudella, S. 1998. Serum parameters of Adriatic Sturgeon *Acipenser naccarii* (Pisces: Acipenseriformes): Effects of temperature and stress. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 120, 273-278.
- Centro Mexicano de Derecho Ambiental, A.C. (CEMDA). 2017. Consultado el 10 de febrero de 2019, de <http://www.cemda.org.mx/alertan-de-riesgos-por-posible-autorizacion-de-pesca-de-totoaba/>
- Cisneros-Mata, M.A., Montemayor-López, G., Román-Rodríguez, M.J. 1995. Life History and Conservation of *Totoaba macdonaldi*. *Conservation Biology*. 9(4), 806-814.
- CITES (Convención Sobre El Comercio Internacional de e Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres). 2016. Decimoséptima reunión de la Conferencia de las Partes Johannesburgo (Sudáfrica), 24 de septiembre-5 de octubre de 2016. CoP17 Doc. 74 (Rev.) 1.
- Clark, T.D., Sandblom, E., Jutfelt, F. 2013. Aerobic scope measurements of fishes in an era of climate change: respirometry, relevance and recommendations. *Journal of Experimental Biology*. 216, 2771-2782.
- Clauss, T.M., Dove, A.D.M., Arnold, J.E. 2008. Hematologic Disorders of Fish. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*. 11, 445-462.
- Campbell, T.W., Grant, K.R. 2010. *Clinical Cases in Avian and Exotic Animal Hematology and Cytology*. Wiley-Blackwell. Ames, Iowa.
- Cnaani, A., Tinman, S., Avidar, Y., Ron, M., Hulata, G. 2004. Comparative study of biochemical parameters in response to stress in *Oreochromis aureus*, *O. mossambicus* and two strains of *O. niloticus*. *Aquaculture Research*. 35, 1434-1440.
- Cho, C.Y., Bureau, D.P. 1998. Development of bioenergetic models and the Fish-PrFEQ software to estimate production, feeding ration and waste output in aquaculture. *Aquatic Living Resources*. 11, 199-210.
- Constable, A.J., Melbourne-Thomas, J., Corney, S.P., Arrigo, K.R., Barbraud, C., Barnes, D.K.A., Bindoff, N.L., Boyd, P.W., Brandt, A., Costa, D.P., Davidson, A.T., Ducklow, H.W., Emmerson, L., Fukuchi, M., Gutt, J., Hindell, M.A., Hofmann, E.E., Hosie, G.W., Iida, T., Jacob, S., Johnston, N.M., Kawaguchi, S., Kokubun, N., Koubbi, P., Lea, M.-A., Makhado, A., Massom, R.A., Meiners, K., Meredith, M.P., Murphy, E.J., Nicol, S., Reid, K., Richerson, K., Riddle, M.J., Rintoul, S.R., Smith, W.O., Southwell, C., Stark, J.S., Sumner, M., Swadling, K.M., Takahashi, K.T., Trathan, P.N., Welsford, D.C., Weimerskirch, H., Westwood, K.J., Wienecke, B.C., Wolf-Gladrow, D., Wright, S.W., Xavier, J.C., Ziegler, P., 2014.

- Climate change and Southern Ocean ecosystems I: how changes in physical habitats directly affect marine biota. *Global Change Biology*. 20, 3004-3025.
- Cook, A.M., Duston, J., Bradford, R.G. 2006 .Thermal tolerance of a northern population of striped bass *Morone saxatilis*. *Journal of Fish Biology*. 69, 1482-1490.
- Conceição, L.E.C., Grasdalen, H.Y. Rønnestad, I. 2003. Amino acid requirements of fish larvae and post-larvae: new tools and recent findings. *Aquaculture*. 227(1-4), 221-232.
- Craig, S. 2009. Understanding Fish Nutrition, Feeds, and Feeding. Virginia Cooperative Extension. Publication. 420-256.
- Cromwell, G.L. 2012. Soybean Meal - An Exceptional Protein Source. Animal and Food Sciences Department. University of Kentucky. Consultado el 14 de marzo de 2017, de <http://www.soymeal.org/ReviewPapers/SBMExceptionalProteinSource.pdf>.
- Cowles, R.B., Bogert, C.M. 1944. A preliminary study of the thermal requirements of desert reptiles. *Bulletin of American Museum of Natural History*. 83 (5), 261-296.
- Currie, S., Schulte, P.M. 2014. Thermal Stress. En: Evans, D.H., Claiborne, J.B., Currie, S. (Eds.). *The physiology of fishes (4ta Ed.)*, CRC Marine Biology Series, Boca Raton, FL. pp. 257-288.
- Das, T., Pal, A.K., Chakraborty, S.K., Manush, S.M., Chatterjee, N., Mukherje, S.C. 2004. Thermal tolerance and oxygen consumption of Indian Major Carps acclimated to four temperatures. *Journal of Thermal Biology*. 29, 157-163.
- Davis, D. 2015. Feed and Feeding Practices in Aquaculture. Woodhead Publishing, Series in Food Science, Technology and Nutrition, 287. Elsevier.
- Davies, S.J., Gouveia, A. 2010. Response of common carp fry fed diets containing a pea seed meal (*Pisum sativum*) subjected to different thermal processing methods. *Aquaculture*. 305 (1-4), 117-123.
- Dawood, M.A.O., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S. 2015. Effects of Partial Substitution of Fish Meal by Soybean Meal with or without Heat-Killed *Lactobacillus plantarum* (LP20) on growth performance, digestibility, and immune response of Amberjack, *Seriola dumerili* Juveniles. *BioMed Research International*. 11 pp.
- Deng, D.F., Teh, S.J., Teh, F.C., Hung, S.S.O. 2002. Effect of Diets and Water Temperatures on Growth Performance of Splittail Larvae. *North American Journal of Aquaculture*. 64,242-247.
- Dent, L., Lutterschmidt, W.I. 2003. Comparative thermal physiology of two sympatric sunfishes (Centrarchidae: Perciformes) with a discussion of microhabitat utilization. *Journal of Thermal Biology*. 28, 67-74.
- Dersjant-Li, Y., 2002. The use of soy protein in aquafeeds. En: *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México
- Diario Oficial de la Federación. 1975. Acuerdo que establece veda total para la totoaba. 1o. de agosto de 1975. Secretaría de Gobernación. Consultado el 08 de agosto de 2016, de: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4786520&fecha=01/08/1975.
- Díaz, F., Bückle-Ramírez, L.F. 1993. Thermoregulatory behaviour of *Macrobrachium rosenbergii* (Crustacea: Palaemonidae). *Tropical Ecology*. 34:199-203.
- Díaz-Herrera, F., Gutiérrez-Morales, P., Garrido-Mora, A. 1993. Temperatura preferida y óptima para el crecimiento de postlarvas y juveniles de *Macrobrachium rosenbergii* (Crustacea: Palaemonidae). *Revista de Biología Tropical*. 41 (1), 153-155.

- Díaz-Iglesias E., Díaz-Herrera F., Re-Araujo A.D., Báez-Hidalgo M., López-Zenteno M., Valdés-Sánchez, G., López-Murillo A.K. 2004. Temperatura preferida y consumo de oxígeno circadiano de la Langosta Roja, *Panulirus interruptus* (Randall, 1842). *Ciencias Marinas*. 30 (1B), 169-178.
- Díaz, F., Re, A.D., González, R.A., Sánchez, L.N., Leyva, G., Valenzuela, F. 2007. Temperature preference and oxygen consumption of the largemouth bass *Micropterus salmoides* (Lacépède) acclimated to different temperatures. *Aquaculture Research*. 38 (13), 1387-1394.
- D'Mello, J.P.F. 2003. Amino Acids as Multifunctional Molecules. En: Autor, *Amino Acids in Animal Nutrition* (2da Ed.), CAB International. London. pp. 1-14.
- Deng, D-F., Teh, F.C., Teh, S.J., Hung, S.S.O. 2002. Effect of Diets and Water Temperatures on Growth Performance of Splittail Larvae. *North American Journal of Aquaculture*. 64(4), 242-247.
- Dumas, A., De Lange, C.F.M., France, J., Bureau, D.P. 2007. Quantitative description of body composition and rates of nutrient deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 273, 165-181.
- Eckersall, P.D. 2008. Proteins, Proteomics, and the Dysproteinemias. En: Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Michael L.B. (Eds.), *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* (6ta Ed.), Academic Press. pp. 117-155.
- Ecoutin, J.M., Albaret, J.J., Trape, S. 2005. Length–weight relationships for fish populations of a relatively undisturbed tropical estuary: The Gambia. *Fisheries Research*. 72 (2–3), 347-351.
- Edsall, T.A. (1999). Preferred Temperatures of Juvenile Lake Whitefish. *Journal of Great Lakes Research*. 25(3), 583-588.
- Eme, J., Bennett W.A. 2009. Critical thermal tolerance polygons of tropical marine fishes from Sulawesi, Indonesia. *Journal of Thermal Biology*. 34, 220-225.
- Enes, P., Peres, H., Couto, A., Oliva-Teles, A. 2010: Growth performance and metabolic utilization of diets including starch, dextrin, maltose or glucose as carbohydrate source by gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles. *Fish Physiology and Biochemistry*. 36, 903-910.
- Espinosa de los Monteros, J., Labarta U. (Eds.), *Nutrición en acuicultura II*. Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica. Madrid, España.
- Espinoza-Acevedo H.M. 2014. Efecto del contenido de proteína de soya en la dieta sobre la hematología y química sanguínea en Juveniles de Totoaba (*Totoaba macdonaldi*). Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California. 52 pp.
- Espinosa-Chaurand L.D., Silva-Loera, A., García-Esquivel, Z., López-Acuña, L.M. 2015. Uso de harina de cabeza de camarón como reemplazo proteico de harina de pescado en dietas balanceadas para juveniles de *Totoaba macdonaldi* (Gilbert, 1890). *Latin American Journal of Aquatic Research*. 43(3), 45-465.
- Esquer-Mendez, J.L., Hernández-Rodríguez, M., Bückle-Ramírez, L.F. 2009. Thermal tolerance and compatibility zones as a tool to establish the optimum culture condition of the halibut *Paralichthys californicus* (Ayres, 1859). *Aquaculture Research*. 41, 1015-1021.
- Evans, T.W. 2002. Review article: albumin as a drug-biological effects of albumin unrelated to oncotic pressure. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 16(5), 6-11.
- Fagbenro, O.A., Adebayo, O.T., Osho, B.A., Clement, B., Raji, A.A. 2005. Haematological profile of *Parachanna* (*Channa*) *obscura* (GUNTHER, 1861), *Malapterurus electricus* (GMELIN, 1789) and *Malapterurus minjiriya* (SAGUA, 1987). *Animal Research International*. 2(2), 297-300.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2014. *El estado mundial de la pesca y la acuicultura*. Roma. 253 pp.

- FAO (Food and Agriculture Organization). 2016. The State of World Fisheries and Aquaculture. Roma. 190 pp.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2018. The State of World Fisheries and Aquaculture. Roma. 210 pp.
- Faye, C., Bengoumi, M. 2018. Nitrogen and Protein Parameters. En: Autores; Camel Clinical Biochemistry and Hematology. Springer International Publishing AG. Cham, Switzerland. pp 81-122.
- Fazio, F., Marafioti, S., Arfuso, F., Piccione, G., Faggio, C. 2013. Comparative study of the biochemical and haematological parameters of four wild Tyrrhenian fish species. *Veterinari Medicina*. 58(11), 576-581.
- Fazio, F. 2019. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. *Aquaculture*. 500, 237-242.
- Flanagan, C.A., Hendrickson, R. 1976. Observations on the commercial fishery and reproductive biology of the *Totoaba Cynoscion macdonaldi* in the northern Gulf of California. *Fishery Bulletin*. 74, 531-544.
- Folch, J., Lees, M., Sloane, S.G.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal Biology and Chemistry*. 226, 497-509.
- Francis, G., Makkar, H.P.S., Becker, K. 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*. 199, 197-227.
- Fuentes-Quesada, J.P., Viana, M.T., Rombenso, A.N., Guerrero-Rentería, Y., Nomura-Solís, M., Gómez-Calle, V., Lazo, J.P., Mata-Sotres, J.A. 2018. Enteritis induction by soybean meal in *Totoaba macdonaldi* diets: Effects on growth performance, digestive capacity, immune response and distal intestine integrity. *Aquaculture*. 495, 78-89.
- Froese, R. 2006. Cube law, condition factor and weight-length relationships: history, meta-analysis and recommendations. *Journal of Applied Ichthyology*. 22, 241-253.
- Fry, F.E.J. 1947. Effects of the environment on animal activity. *Univ. Toronto Stud. Biol. Ser.* 55, Publications of the Ontario Fisheries Research Laboratory. 68, 1-62.
- Fry, F.E.J. 1971. The effect on environmental factors on the physiology of fish, En: Hoar, W.S., Randall, D.J. (Eds.), *Fish Physiology* (4ta ed). Academic Press, New York, pp. 1-98.
- García-Ortega, A., Kissinger, R.K., Trushenski, T.J. 2016. Evaluation of fish meal and fish oil replacement by soybean protein and algal meal from *Schizochytrium limacinum* in diets for giant grouper *Epinephelus lanceolatus*. *Aquaculture*. 452, 1-8.
- Gatlin III, D.M., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K.G.G.T., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G., Kroghdahl, A., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., Souza, J.E., Stone, D., Wilson, R., Wurtele, E. 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research*. 38, 551-579.
- Giannini, E.G., Testa, R., Savarino, V. 2005. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *Canadian Medical Association journal*. 172(3), 367-379.
- Giattina, J.D., Garton, R.R. 1982 Graphical model of thermoregulatory behavior by fishes with a new measure of eurythermalithy. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 39, 524-528.
- Gelbach, F.R., Bryan, C.L., Reno, H.A., 1978. Thermal ecological features of *Cyprinodon elegans* and *Gambusia nobilis*, endangered Texas fishes. *Texas Journal of Science*. 30, 99-100.

- Glencross, B.D., Carter, C.G., Duijster, N., Evans, D.E., Dods, K., McCafferty, P. 2004. A comparison of the digestive capacity of Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) when fed a range of plant protein products. *Aquaculture*. 237, 333-346.
- Glencross, B.D., Booth, M., Allan, G.L. 2007. A feed is only as good as its ingredients – a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. *Aquaculture Nutrition*. 13, 1-34.
- Glencross, B., Blyth, D., Simon, I., Bourne, N., Campet, M., Boisot, P., Wade M.N. 2016. An evaluation of the complete replacement of both fishmeal and fishoil in diets for juvenile Asian seabass, *Lates calcarifer*. *Aquaculture*. 451, 298-309.
- González-Acevedo, D. 2011. Respuesta en crecimiento de juveniles de *Totoaba macdonali* alimentados con dietas con diferentes niveles de almidón y lípidos y adicionadas con un probiótico. Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California. 46 pp.
- González-Félix, M.L., Gatlin III, D.M., Urquidez-Bejarano, P., De la Reé-Rodríguez, C., Duarte-Rodríguez, L., Sánchez, F., Casas-Reyes, A., Yamamoto, F. Y., Ochoa-Leyva, A., Perez-Velazquez, M. 2018. Effects of commercial dietary prebiotic and probiotic supplements on growth, innate immune responses, and intestinal microbiota and histology of *Totoaba macdonaldi*. *Aquaculture*. 491, 239-251.
- Grant. K.R. 2015. Fish Hematology and Associated Disorders. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*. 18, 83-103.
- Groff, J.M., Zinkl, J.G. 1999. Hematology and clinical chemistry of cyprinid fish. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*. 2(3), 741-776.
- Hahn-Von-Hessberg, C.M., Grajales-Quintero, A., Gutiérrez-Jaramillo A.V. 2011. Parámetros hematológicos de Tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1757) con peso entre 250 g y 350 g, en el Centro Experimental Piscícola de la Universidad de Caldas. *Veterinaria Y Zootecnia*. 5(1), 47-61.
- Hardy, R.W., Barrows, F.T. 2002. Diet Formulation and Manufacture. En: Halver, J.E., Hardy, R. (Eds.), *Fish Nutrition* (3ra Ed.), Academic Press, New York. pp. 506-596.
- Hardy, R.W., Tacon, A.G.J. 2002. Fish meal: historical uses, production trends and future outlook for sustainable supplies. En: Srickney, R.R. (Ed.), *Sustainable Aquaculture*. Ney York: CABI. pp 311-325.
- Hardy, R.W. 2006. Worldwide Fish Meal Production Outlook and the Use of Alternative Protein Meal for Aquaculture. En: *Avances en Nutrición Acuicola VIII. Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*. 15- Noviembre. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México.
- Hazel, J.R. 1984. Effects of temperature on the structure and metabolism of cell membranes in *American Journal of Physiology*. 246, R460-R470.
- Hernández, M.D., Martínez, F.J., Jover, M., García, B.G. 2007. Effects of partial replacement of fish meal by soybean meal in sharpnose seabream (*Diplodus puntazzo*) diet. *Aquaculture*. 263 (1–4), 159-167.
- Hernández-Sandoval, P., Díaz, F., Re-Araujo, A. D., López-Sánchez, J. A., Martínez-Valenzuela, M. del C., García-Guerrero, M. y Rosas, C. 2018. Thermal preference, critical thermal limits, oxygen routine consumption and active metabolic scope of *Macrobrachium tenellum* (Smith, 1871) maintained at different acclimation temperatures. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 46(3): 558-569.
- Hernández-Rodríguez, M., Bückle-Ramírez, L.F. 2002. Temperature tolerance polygon of *Poecilia sphenops* Valenciennes (Pisces: Poeciliidae). *Journal of Thermal Biology*. 27, 1-5.

- Hernández-Rodríguez, M., Bückle-Ramírez, L.F. 2010. Preference, tolerance and resistance response of *Poecilia sphenops* Valenciennes, 1846 (Pisces: Poeciliidae) to thermal fluctuations. *Latin American Journal of Aquatic Research*. 38(3), 427-437.
- Hepher, B. 2009. Supplementary feed and its utilization. En: Autor, *Nutrition of pond fishes*. Cambridge University Press, Cambridge. pp. 209-306.
- Hixson, S.M., Arts, M.T. 2016. Climate warming is predicted to reduce omega-3, longchain, polyunsaturated fatty acid production in phytoplankton. *Global Change Biology*. 22, 2744–2755.
- Hochachka, P.W. Somero, G.N. 2002. *Biochemical adaptation: mechanism and process in physiological evolution*. Oxford University Press, Oxford New, York.
- Houston, A.H. 1979. Components of the hematological response of fishes to environmental temperature change: A Review. En: Ali, M.A. (Ed.), *Environmental Physiology of Fishes*. Springer Science+Business Media, LLC. New York. pp. 241-298.
- Hrubec, T.C., Smith, S.A., Robertson, J.L. 1996. Comparison of hematological reference intervals between culture system and type of hybrid striped bass. *American Journal of Veterinary Resear.* 57, 618-623.
- Hrubec, T.C., Smith, S.A., Robertson, J.L. 2001. Age related in haematology and chemistry values of hybrid striped bass chrysops *Morone saxatilis*. *Veterinary Clinical Pathology*. 30 (1), 8-15.
- Hrubec, T.C., Robertson, J.L., Smith, S.A. 2007. Effects of temperature on hematologic and serum biochemical profiles of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*). *American Journal of Veterinary Research*. 58, 126-130.
- Hrubec, T.C., Smith, S.A. 2010. Hematology of fishes. En: Weiss, D.J., Wardrop, K.J. (Eds.), *Schalm's veterinary hematology (6ta Ed.)*, Wiley-Blackwell. Iowa. pp. 994-1003.
- Hunn, J.B., Greer, I.E. 1990. Colorimetric and refractometric estimates of total plasma protein in striped bass, *Morone saxatilis* (Walbaum). *Journal of Fish Biology*. 36, 617-618.
- Hutchison, V.H., Maness, J.D. 1979. The role of behavior in temperature acclimation and tolerance in ectotherms. *American Zoologist*. 19, 367-384.
- Hyder, M.A., Hasan, M., Mohieldein, A. H., 2013. Comparative levels of ALT, AST, ALP and GGT in liver associated diseases. *European Journal of Experimental Biology*. 3 (2), 280–284.
- Jamalzadeh, Hr., Keyvan, A., Ghomi, Mr., Gherardi, F. 2009. Comparison of blood indices in healthy and fungal infected Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*). *African Journal of Biotechnology*. 8(2), 319-322.
- Jobling, M. 1981. Temperature tolerance y the final preferendum-rapid methods for the assessment of optimum growth temperatures. *Journal of Fish Biology*. 19, 439-455.
- Jobling, M., Jørgensen, E.H., Arnesen, A.M., Ringø, E. 1993. Feeding, growth and environmental requirements of Arctic charr: a review of aquaculture potential. *Aquaculture International*. 1, 20-46.
- Jobling, M. 1997. Temperature and growth: modulation of growth rate via temperature change. En: Wood, C.M., McDonald, D.G. (Eds.), *Global warming: implications for freshwater and marine fish*. Cambridge University Press. Cambridge, UK. pp 225-254.
- Jobling, M. 2003. The thermal growth coefficient (TGC) model of fish growth: a cautionary note. Short communication. *Aquaculture Research*. 34, 581-584.

- Jobling, M. 2010. Fish Culture: I Aquaculture Diversification: an Introduction, En: Le François, N.R., Jobling, M., Carter, C., Blier, P.U., Savoie, A. (Eds.), *Finfish Aquaculture Diversification*, CAB International. Oxfordshire, UK. pp. 1-32.
- Johnston, I.A., Dunn, J. 1987. Temperature acclimation and metabolism in ectotherms with particular reference to teleost fish. *Symposia of the Society for Experimental Biology*.41, 67-93.
- Kader, Md.A., Bulbul, M., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Nguyen, B.T., Komilus, C.F. 2012. Effect of complete replacement of fishmeal by dehulled soybean meal with crude attractants supplementation in diets for red sea bream, *Pagrus major*. *Aquaculture*. 350-353, 109-116.
- Kader, Md. A., Koshio, S. 2012. Effect of composite mixture of seafood by-products and soybean proteins in replacement of fishmeal on the performance of red sea bream, *Pagrus major*. *Aquaculture*. 368-369, 95-102.
- Kamiński R., Sikorska J., Polak-Juszczak, L., Wolnicki, J. 2017. Effects of temperature on body chemical composition and incidence of deformities in juvenile tench, *Tinca tinca* (Actinopterygii: Cypriniformes: Cyprinidae), fed a commercial dry diet and/or natural food. *Acta Ichthyologica Et Piscatoria*. 47 (1), 63-71.
- Kaneko, J. J., Harvey, J.W., Bruss, M.L. 2008. *Clinical biochemistry of domestic animals* (6ta Ed.), Elsevier, New York.
- Karalazos, V., Treasurer, J., Cutts, C. J., Alderson, R., Galloway, T. F., Albrektsen, S., Arnason, J., Macdonald, N., Pike, I. Bell, J. G. 2007. Effects of Fish Meal Replacement with Full-Fat Soy Meal on Growth and Tissue Fatty Acid Composition in Atlantic Cod (*Gadus morhua*). *J. Agric. Food Chem*. 55, 5788-5795.
- Kaushik, S. J., Cove `s, D., Dutto, G., Blanc, D. 2004. Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*. 230, 391-404.
- Kelsch, S.W., Neill, W.H. 1990. Temperature Preference versus Acclimation in Fishes: Selection for Changing Metabolic Optima. *Transactions of the American Fisheries Society*. 119(4), 601-610.
- Kelsch, S.W. 1996. Temperature selection and performance by Bluegills: evidence for selection in response to available power. *Transactions of the American Fisheries Society*. 125, 948-955.
- Khan, J.R., Pether, S., Bruce, M., Walker, S.P., Herberta, N.A. 2014. Optimum temperatures for growth and feed conversion in cultured hapuku (*Polyprion oxygeneios*) — Is there a link to aerobic metabolic scope and final temperature preference?. *Aquaculture*. 430, 107-113.
- Killen, S.S. 2014. Growth trajectory influences temperature preference in fish through an effect on metabolic rate. *Journal of Animal Ecology*. 83, 1513-1522.
- Konstantinov, A.S., Zdanovich, V.V. 2007. Influence of Temperature Oscillations on Some Hematological Values and Metabolism of Fish. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*. 62(2), 59-64.
- Krogdahl, Å., Bakke-McKellep, A.M., Baeverfjord, G. 2003. Effects of graded levels of standard soybean meal on intestinal structure, mucosal enzyme activities, and pancreatic response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture Nutrition*. 9, 361-371.
- Krogdahl, Å., Hemre, G.I., Mommsen, T.P. 2005. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. *Aquaculture Nutrition*. 11, 103-122.
- Krogdahl, Å., Penn, M., Thorsen, J., Refstie, S., Bakke, A.M. 2010. Important antinutrients in plant feedstuffs for aquaculture: an update on recent findings regarding responses in salmonids. *Aquaculture Research*. 41(3), 333-344.

- Krogdahl, Å., Bakke-McKellep, A.M. 2015. Antinutrients. En: Lee, C.S., Lim, C., Gatlin III, D. M, Webster, C. (Eds.), Dietary Nutrients, Additives, and Fish Health. Wiley-Blackwell. Hoboken, New Jersey. pp. 211–235.
- Krogdahl, Å., Gajardo, K., Kortner, T.M., Penn, M., Gu, M., Berge, G.M., Bakke, A.M. 2015. Soya Saponins Induce Enteritis in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 63, 3887-3902.
- Lands, B., 2014. Historical perspectives on the impact of n-3 and n-6 nutrients on health. Prog. Lipid Res. 55, 17–29.
- Latham, M. C. 2002. Anexo 4 Densidades relevantes de nutrientes para el desarrollo y evaluación de guías dietéticas basadas en alimentos, En: Nutrición Humana en el Mundo en Desarrollo. Colección FAO: Alimentación y nutrición N° 29. Roma. Disponible en: <http://www.fao.org/3/w0073s/w0073s00.htm#Contents>.
- Lekang, O.I. 2015. Feeding equipment. En: Davis, D. A. (ed.), Feed and Feeding Practices in Aquaculture. Woodhead Publishing. Elsevier. Cambridge, UK. pp 349-367,
- Li P.-Y., Wang, J.-Y., Song, Z.-D., Zhang, L.-M., Zhang, H., Li, X.-X., Pan, Q. 2015. Evaluation of soy protein concentrate as a substitute for fishmeal in diets for juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*). Aquaculture. 448, 578-585.
- López, L.M., Durazo, E., Rodríguez-Gómez, A., True, C.D., Viana, M.T. 2006. Composición proximal y perfil de ácidos grasos de juveniles silvestres y cultivados de *Totoaba macdonaldi*. Ciencias Marinas. 32(2), 303-309.
- López, L.M., Flores-Ibarra, M., Bañuelos-Vargas, I., Galaviz, M.A., True, C.D. 2015. Effect of fishmeal replacement by soy protein concentrate with taurine supplementation on growth performance, hematological and biochemical status, and liver histology of totoaba juveniles (*Totoaba macdonaldi*). Fish Physiology and Biochemistry. 41(4), 921-36.
- Lovell, T.R. 2002. Diet and Fish Husbandry. En: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), Fish Nutrition (3ra Ed.), Academic Press, New York. pp. 704-753.
- Luna-Figueroa, J., Díaz, F., Espina, S. 2003. Preferred temperature of the Mexican native cichlid *Cichlasoma istlanum* (Jordan and Snyder, 1899). Hidrobiológica. 13(4), 271-275.
- Lutterschmidt, W.I., Hutchison, V.H. 1997. The critical thermal maximum: history and critique. Canadian Journal of Zoology. 75, 1561-1574.
- Madrid, J., Pohlenz, C., Viana, M.T., Lazo, J.P. 2018. Dietary lysine requirement for Juvenile, *Totoaba macdonaldi*. Aquaculture. 500, 92-98.
- Olu, M., Adediran, A.E. 2015. Protein Evaluation of Foods. International Journal of Nutrition and Food Sciences. 4(6), 700-706.
- Martin, W. F. 1998. Soybean. Echo technical note. Consultado el 216 de abril de 2017, de http://members.echocommunity.org/?page=TN_SZ.
- Martins, M.L., Moraes, F.R., Fujimoto, R.Y., Onaka, E.M., Bozzo, F.R., Moraes, J.R.E. 2006. Carrageenin induced inflammation in *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes:Characidae) cultured in Brazil. Boletim do Instituto de Pesca. 32, 31-39.
- Martínez-Lagos, R., Gracia-López, V. 2009. Morphological development and growth patterns of the leopard grouper *Mycteroperca rosacea* during larval development. Aquaculture Research. 41 (1), 120-128.
- Martínez-Porchas, M., Hernández-Rodríguez, M., Bückle-Ramírez, L.F. 2009. Thermal behavior of the Pacific sardine (*Sardinops sagax*) acclimated to different thermal cycles. Journal of Thermal Biology. 34, 372-376.
- Martínez-Porchas, M., Hernández-Rodríguez, M. 2010. Critical thermal maxima and minima of *Sardinops sagax caeruleus* Girard 1854 and the analyses of behavioral responses to establish adequate endpoints. Tropical Zoology. 23, 9-20.

- Martínez-Porchas, M., Hernández-Rodríguez, M., Dávila-Ortiz, J., Villa-Cruz, V., Ramos-Enríquez, J. R. 2011. A preliminary study about the effect of benzo[a]pyrene (BaP) injection on the thermal behavior and plasmatic parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) acclimated to different temperatures. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*. 6(1), 76-85.
- Mata-Sotres, J.A., Lazo, J.P., Baron-Sevilla, B. 2015. Effect of age on weaning success in totoaba (*Totoaba macdonaldi*) larval culture. *Aquaculture*. 437, 292-296.
- Mata-Sotres, J.A., Tinajero-Chavez, A., Barreto-Curiel, F., Pares-Sierra, G., Del Rio-Zaragoza, O.B., Viana, M.T., Rombenso, A.N. 2018. DHA (22:6n-3) supplementation is valuable in *Totoaba macdonaldi* fish oilfree feeds containing poultry by-product meal and beef tallow. *Aquaculture*. 497, 440-451.
- McDonnell, L.H., Chapman, L. J. 2015. At the edge of the thermal window: effects of elevated temperature on the resting metabolism, hypoxia tolerance and upper critical thermal limit of a widespread African cichlid. *Conservation Physiology*, 3(1). doi:10.1093/conphys/cov050.
- McGoogan, B.B., Gatlin III, D.M. 1997. Effects of replacing fish meal with soybean meal in diets for red drum *Sciaenops ocellatus*. *Journal of the World Aquaculture Society*. 28, 374-385.
- Metcalfe, L., Schmitz, A., Pelka, J. 1966. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Analytical Chemistry*. 38, 514-515.
- Merican, Z., Sanchez, D. 2016. Overview of the aquaculture feed industry. En: Nates, S.F. (Ed.), *Aquafeed Formulation*. Elsevier Inc. Oxford. pp. 1-20.
- Merrifield, D.L., Olsen, R.E., Myklebust, R., Ringø, E. 2011. Dietary Effect of Soybean (Glycine max) Products on Gut Histology and Microbiota of Fish. En: El-Shemy, H. (Ed.), *Soybean and Nutrition*. InTech. Rijeka, Croatia. pp. 231-250.
- Miller, W.R., Hendricks, A.C., Cairns, J. 1983. Normal ranges for diagnostically important hematological and blood chemistry characteristics of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 40, 420-425.
- Minjarez-Osorio, C., Castillo-Alvarado, S., Gatlin III, D.M., González-Félix, M.L., Perez-Velazquez, M., Rossi Jr., W. 2016. Plant protein sources in the diets of the sciaenids red drum (*Sciaenops ocellatus*) and shortfin corvina (*Cynoscion parvipinnis*): A comparative study. *Aquaculture*. 453, 122-129.
- Molina-Poveda, C. 2016. Nutrient requirements. En: Nates, S.F. (Ed.), *Aquafeed Formulation*. Elsevier Inc. Oxford. pp. 75-164.
- Montgomery, D.C. 2017. *Design and analysis of experiments* (9na Ed.). John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, New Jersey.
- Mora, C., Ospína, A.F. 2001. Tolerance to high temperatures and potential impact of sea warming on reef fishes of Gorgona Island (tropical eastern Pacific). *Marine Biology*. 139, 765-769.
- Morgan, I.J., Metcalfe, N.B. 2001. The influence of energetic requirements on the preferred temperature of overwintering juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 58, 762-768.
- Murillo-Gurrea, D.O.P., Coloso, R.M., Borlongan, I.G., Serrano, A. E. 2001. Lysine and arginine requirements of juvenile Asian sea bass (*Lates calcarifer*). *Journal of Applied Ichthyology*. 17, 49-53.
- Nates, S. F. 2016. Introduction. En: Autor, *Aquafeed Formulation*. Elsevier Inc., Oxford.
- Natt, M.P., Herrick, C.A. 1952. A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. *Poultry Science*. 31(4), 735-738.

- National Research Council (NRC) 2011a. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. Washington, DC: The National Academies Press.
- National Research Council (NRC) 2011b. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition. Washington, DC: The National Academies Press.
- Nelson, D.L., Cox, M.M. 2017. Lehninger Principles of Biochemistry (7ma Ed.), W. H. Freeman and Company. New York.
- Newman, S.H., Piatt, J.F., White, J. 1997. Hematological and plasma biochemical reference ranges of Alaskan seabirds: their ecological significance and clinical importance. *Waterbirds*. 20, 492-504.
- Norzagaray-Campos, M., Muñoz-Sevilla, P., Sánchez-Velasco, L., Capurro-Filigrasso, L., Llánes-Cárdenas, O. 2012. Acuicultura: estado actual y retos de la investigación en México. *Revista AquaTIC*, nº 37, pp. 20-25.
- Novriadi, R., Spangler, E., Rhodes, M., Hanson, T., Davis, D.A. 2017. Effects of various levels of squid hydrolysate and squid meal supplementation with enzyme-treated soy on growth performance, body composition, serum biochemistry and histology of Florida pompano *Trachinotus carolinus*. *Aquaculture*. 481, 85-93.
- Ofori-Mensah, S., Yıldız, M., Arslan, M., Eldem, V. 2020. Fish oil replacement with different vegetable oils in gilthead seabream, *Sparus aurata* diets: Effects on fatty acid metabolism based on whole-body fatty acid balance method and genes expression. *Aquaculture*. 529, 735609.
- Olsen, R.L., Hasan, R.M. 2012. A limited supply of fishmeal: Impact on future increases in global aquaculture production. *Trends in Food Science & Technology*. 27(2), 120-128.
- Olu, M., Adediran, A.E. 2015. Protein Evaluation of Foods. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*. 4 (6), 700-706.
- Onyia, L.U., Michael, K.G., Ekoto, B. 2013. Haematological profile, blood group and genotype of *Heterobranchus bidorsalis*. *Net Journal of Agricultural Science*. 1(2), 69-72.
- Osmani, H.A., Fadel, N.G., Ali, A.T. 2009. Biochemical and histopathological alternations in catfish *Clarias gariepinus* infected with trypanosomiasis with special reference to immunization. *Egyptian Journal Comparative Pathology and Chemistry*. 22(3), 164-181.
- Paladino, F.V., Spotila, J.R., Schubauer, J.P., Kowalski, K.T. 1980. The critical thermal maximum: a technique used to elucidate physiological stress and adaptation in fishes. *Review of Canadian Biology*. 39, 115-122.
- Pagano, M.C., Miransari, M. 2016. The importance of soybean production worldwide. En: Miransari, M. (Ed.), *Abiotic and Biotic Stresses in Soybean Production*. Elsevier Inc. London.
- Patriche T., Patriche, N., Bocioc, E. 2011, Determination of some normal serum parameters in juvenile Sevruga sturgeons *Acipenser stellatus* (Pallas, 1771). *Archiva Zootechnica*. 14(1), 49-54.
- Peng, F., Chen, X., Meng, T., Li, E., Zhou, Y., Zhang, S. 2018. Hematology and serum biochemistry parameters of captive Chinese alligators (*Alligator sinensis*) during the active and hibernating periods. *Tissue and Cell*. 51, 8-13.
- Peres, H., Oliva-Teles, A. 2002: Utilization of raw and gelatinized starch by European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture*. 205, 287-299.
- Peres, H., Costas, B., Perez-Jimenez, A., Guerreiro, I., Oliva-Teles, A. 2015. Reference values for selected hematological and serum biochemical parameters of Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) juveniles under intensive aquaculture conditions. *Journal of Applied Ichthyology*. 31, 65-71.

- Pérez-Arvizu, M. de L. 2015. Efecto de dietas formuladas con diferentes niveles de harina y aceite de soya sobre la actividad de enzimas digestivas, parámetros productivos y hematológicos en juveniles de *Totoaba macdonaldi*. Tesis de Doctorado en Ciencias. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California. 157 pp.
- Pérez-Velázquez, M., Minjarez-Osorio, C., González-Félix, M.L. 2016. Effect of dietary lipid level on growth performance, feed utilization and body composition of totoaba, *Totoaba macdonaldi* (Gilbert, 1890). *Aquaculture Research*. 1-11.
- Person-Le Ruyet, J., Mahé, K., Le Bayon, N., Le Delliou, H. 2004. Effects of temperature on growth and metabolism in a Mediterranean population of European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*. 237 (1-4), 269-280.
- Pirozzi, I., Booth, M.A., Allan G.L. 2010. The interactive effects of dietary protein and energy on feed intake, growth and protein utilization of juvenile mulloway (*Argyrosomus japonicus*). *Aquaculture Nutrition*. 16, 61-71.
- Pongmaneerat, J., Watanabe, T., 1992. Utilization of soybean meal as protein source in diets for rainbow trout. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 58, 1983-1990.
- Pörtner, H.P., 2001. Climate change and temperature-dependent biogeography: oxygen limitation of thermal tolerance in animals. *Naturwissenschaften*. 88, 137-146.
- Pörtner, H.O., Peck, L., Somero, G. 2007. Thermal limits and adaptation in marine Antarctic ectotherms: an integrative view. *Philosophical Transactions of The Royal Society Biological Sciences*. 362(1488), 2233-2258.
- Pörtner, H.O., Farrell, A.P., 2008. Physiology and climate change. *Science*. 322, 690-691.
- Pulgar, J., Bozinovic, F., Ojeda, F.P. 1999. Behavioral thermoregulation in the intertidal fish *Girella laevis* (Kyphosidae): the effect of starvation. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*. 32, 27-38.
- Pulkkinen, K., Suomalainen, L.-R., Read, A.F., Ebert, D., Rintamaki, P., Valtonen, E. T. 2009. Intensive fish farming and the evolution of pathogen virulence: the case of columnaris disease in Finland. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 277(1681), 593-600.
- Radoslav, D., Aleksandar, I., Rajko, G., Goran, T., Danijela, Č., Svjetlana, L. 2013. Effect of thermal stress of short duration on the red blood cell parameters of *Barbus balcanicus* Kotlik, Tsigenopoulos, Rab, Berrebi, 2002. *African Journal of Biotechnology*. 12(18), 2484-2491.
- Ranzani-Paiva, M.J.T., Ishikawa, C.M., Eiras, A.C. das, Silveira, V.R. da. 2004. Effects of an experimental challenge with *Mycobacterium marinum* on the blood parameters of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757). *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 47, 945-953.
- Re, A.D., Díaz, F., Valdez, G. 2006. Effect of salinity on the thermoregulatory behavior of juvenile blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* Stimpson. *Journal of Thermal Biology*. 31, 506-513.
- Reece, J.B., Urry, L.A., Cain, M.L., Wasserman, S.A., Minorsky, P.V., Jackson, R., Campbell, N.A. 2017. *Campbell biology* (11va Ed.), Pearson. New York.
- Reyes, I., Díaz, F., Re, A.D., Pérez, J. 2011. Behavioral thermoregulation, temperature tolerance and oxygen consumption in the Mexican bullseye puffer fish, *Sphoeroides annulatus* Jenyns (1842), acclimated to different temperatures. *Journal of Thermal Biology*. 36, 200-205.
- Reynolds, W.W., Casterlin, M.E., Millington, S.T. 1978a. Circadian rhythm of preferred temperature in the bowfin *Amia calva*, a primitive holostean fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*. 60(1), 107-109.

- Reynolds, W.W., Casterlin, M.E., Matthey, J.K., Millington, S.T., Ostrowski, A.C. 1978b. Diel patterns of preferred temperature and locomotor activity in the goldfish *Carassius auratus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*. 59(2), 225-227.
- Reynolds, W.W., Casterlin, M.E. 1979. Behavioral thermoregulation and the final preferendum paradigm. *American Zoologist*. 19, 211-224.
- Ribeiro, L., Moura, J., Santos, M., Colen, R., Rodrigues, V., Bandarra, N., Florbela, S., Ramalho, P., Barata, M., Moura, P., Pousão-Ferreira, P., Dias, J. 2015. Effect of vegetable based diets on growth, intestinal morphology, activity of intestinal enzymes and haematological stress indicators in meagre (*Argyrosomus regius*). *Aquaculture*. 447, 116-128.
- Roberts, R. J., Ellis, A.E. 2001. The anatomy and physiology of teleosts. En: Roberts, R. J. (Ed.), *Fish Pathology (4ta Ed.)*, Wiley-Blacwell. Philadelphia.
- Rosas-Servín, A. 2006. Absorción in vitro de aminoácidos en el intestino proximal de peces carnívoros de agua dulce: trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) y agua salada: atún aleta azul (*Thunnus orientalis*) y totoaba (*Totoaba macdonaldi*). Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California.
- Román-Rodríguez, M.J., Hammann, M.G. 1997. Age and growth of totoaba, *Totoaba macdonaldi*, (Sciaenidae), in the upper Gulf of California. *Fishery Bulletin*. 95, 620-628.
- Rosales-Juárez, F., Ramírez-González, E. 1987. Estado actual sobre el conocimiento de la Totoaba (*Cynoscion macdonaldi* Gilbert 1980). Secretaria de Pesca, México. 42 pp.
- Rossi, W., Tomasso, J.R., Gatlin III, D.M. 2015. Production performance and non-specific immunity of cage-raised red drum, *Sciaenops ocellatus*, fed soybean-based diets. *Aquaculture*. 443, 84-89.
- Rueda-López, S., Lazo, J.P., Correa-Reyes, J.G., Viana, M.T. 2011. Effect of dietary protein and energy levels on growth, survival and body composition of juvenile *Totoaba macdonaldi*. *Aquaculture*. 319, 385-390.
- SAGARPA.2001-2006. Programa sectorial de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación. México. 104 pp.
- Sandersfeld, T., Davison, W., Lamare, M.D., Knust, R., Richter, C., 2015. Elevated temperature causes metabolic trade-offs at the whole-organism level in the Antarctic fish *Trematomus bernacchii*. *Journal of Experimental Biology*. 218, 2373-2381.
- Sandnes, K., Lie, Ø., Waagbø, R. 1988. Normal ranges of some blood chemistry parameters in adult farmed Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Journal of Fish Biology*. 32, 129-136.
- Salas, A., Diaz, F., Re, A.D., Galindo-Sanches, C.E., Sanchez-Castrejon, E., Gonzalez, M., Licea, A., Sanchez-Zamora, A., Rosas, C. 2014. Preferred temperature, thermal tolerance and metabolic response of *Tegula regina* (Stearns, 1892). *Journal of Shellfish Research*. 33 (1), 239-246
- Salcedo-Martín, J.L. 2011. Evaluación del efecto de dietas con diferentes niveles de almidón suplementadas con probiótico sobre las variables hematológicas de juveniles de *Totoaba macdonaldi*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California. 58 pp.
- Salgado, J. M., Donado-Pestana, C.M. 2011. Soy as a Functional Food. En: El-Shemy, H. (Ed.), *Soybean and Nutrition*. InTech. Rijeka, Croatia. pp. 1-44.
- Sargent, J.R., Tocher, D.R., Bell, J.G. 2002. The Lipids. En: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), *Fish Nutrition (3ra Ed.)*, Academic Press, New York. pp. 182-259.

- Satriyo, T.B., Galaviz, M.A., Salze, G., López, L.M. 2017. Assessment of dietary taurine essentiality on the physiological state of juvenile *Totoaba macdonaldi*. *Aquaculture Research*. 48, 5677-5689.
- Saoud, I.P., Mohanna, C., Ghanawi, J. 2008. Effects of temperature on survival and growth of juvenile spinefoot rabbitfish (*Siganus rivulatus*). *Aquaculture Research*. 39, 491-497.
- Schulte, P.M. 2011. Effects of Temperature: An Introduction. En: Farrell, A.P. (Ed. in chief), *Encyclopedia of Fish physiology: from genome to environment*. Academic Press. Elsevier. London. pp. 1689-1694.
- Schram, E., Bierman, S., Teal, L.R., Haenen, O., Van de Vis, H., Rijnsdorp. A.D. 2013. Thermal preference of juvenile dover sole (*Solea solea*) in relation to thermal acclimation and optimal growth temperature. *PLoS ONE* 8(4), e61357, 1-15.
- Secombes, C.J. Wang, T. 2012. The innate and adaptive immune system of fish. En: Austin, B. (Ed.), *Infectious Disease in Aquaculture: Prevention and Control*. Woodhead Publishing. pp. 3-68.
- Seebacher, F., Davison, W., Lowe, C.J., Franklin, C.E. 2005. A falsification of the thermal specialization paradigm: compensation for elevated temperatures in Antarctic fishes. *Biology Letters*. 1(2), 151-154.
- Seong, M., Lee, S., Lee, S., Song, Y., Bae, J., Chang, K., Baia, S.C. 2018. The effects of different levels of dietary fermented plant-based protein concentrate on growth, hematology and non-specific immune responses in juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*. 483, 196-202.
- Silveira-Coffigni, R., Prieto-Trujillo, A., Ascenciovalle, F. 2004. Effects of different stressors in haematological variables in cultured *Oreochromis aureus* S. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 139, 245-250.
- Sirois M., 2011. Clinical chemistry an serology, En: Autor., *Principles and Practice of Veterinary Technology (3rd Ed.)*, Mosby. pp. 154-178.
- Sirois, M. 2015. Protein assays and hepatobiliary functions tests, 32, *Clinical chemistry*, En: Autor, *Laboratory Procedures for Veterinary Technicians (6ta Ed.)*, Elsevier. pp. 177-214.
- Solórzano-Salazar, Y. 2006. Efecto de niveles de alimentación sobre el crecimiento y composición química de juveniles de *Totoaba macdonaldi*. Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California. pp 44.
- Southgate, P.C., Lucas, J.S. 2019. Principles of Aquaculture, En: Lucas, J.S., Southgate, P.C., Tucker, C.S. (Eds.), *Aquaculture: Farming Aquatic Animals and Plants (3ra Ed.)*, Wiley-Blackwell. pp 19-62
- Statistica, 2018. Worldwide oilseed production in 2018/2019, Consultado el 18 de enero de 2019, de <https://www.statista.com/statistics/267271/worldwide-oilseed-production-since-2008/>.
- Steinhagen D., Kruse, P., Körting, W. 1990. Some haematological observations on carp *Cyprinus carpio* L., experimentally infected with *Trypanoplasma borelli* Laveran & Mesnil, 1901 (Protozoa: Kitenoplastida). *Journal of Fish Diseases*. 14,157-162.
- Stockham, S.L., M.A. Scott. 2013. *Fundamentals of veterinary clinical pathology (2da Ed.)*, Blacwell Publishing. Iowa.
- Strand, Å. 2005. Growth- and Bioenergetic Models and their Application in Aquaculture of Perch (*Perca fluviatilis*). Vattenbruksinstitutionen. Rapport 42.
- Sugiyama, A., Ueda, Y., Takase, H., Yazaki, K. 2015. Do soybeans select specific species of *Bradyrhizobium* during growth?. *Communicative & Integrative Biology*. 4;8(1):e992734.

- Sun, L., Chen, H. 2014. Effects of water temperature and fish size on growth and bioenergetics of cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*. 426-427, 172–180.
- Swick, R.A., Akiyama, D.M., Boonyaratpalin, M., Creswell, D.C. 1995. Use of soybean meal and synthetic methionine in shrimp feed. American Soybean Association. Technical Bulletin. 11 pp
- Tavares-Días, M., Moraes, F.R. 2007. Haematological and biochemical reference intervals for farmed channel catfish. *Journal of Fish Biology*. 71, 383-388.
- Tacon, A.G.J. 1997. Fish Meal Replacers: Review of antinutrients within Oilseeds and Pulses-A limiting factor for the aquafeed green revolution? En: Tacon, A., Basurco, B. (Eds.), *Feeding Tomorrow's Fish*. Zaragoza, Spain, pp. 153-182.
- Tacon, A.G.J., 1989. *Nutrición y Alimentación de Peces y Camarones Cultivados*. Manual de Capacitación. Brasilia, Brasil.
- Tacon, A.G.J., 1990. *Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp*. Argent Laboratories Press. Redmond, Washington. 208 pp.
- Tacon, A.G.J., Hasan, M.R., Metian, M., 2011. Demand and supply of feed ingredients for farmed fish and crustaceans: trends and prospects. *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 564*. Roma.
- Talamás, R.E. 2001. Efecto de la temperatura sobre la preferencia térmica y el metabolismo de juveniles de *Totoaba macdonaldi* (Gilbert, 1890) (Pisces:Sciaenidae). Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. 63 pp.
- Tidwell J.H., Coyle, S.D., Bright, L.A., VanArnum, A., Yasharian, D. 2003. Effect of water temperature on growth, survival and biochemical composition of largemouth bass *Micropterus salmoides*. *Journal of the World Aquaculture Society*. 34, 175-183.
- Tocher, D.R. 2003. Metabolism and Functions of Lipids and Fatty Acids in Teleost Fish. *Reviews in Fisheries Science*. 11:2, 107-184.
- Tocher D.R., Glencross, B.D. 2015. Lipids and Fatty Acids. En: C-Sheng, L., Chhorn, L., Gatlin III, D.M., Webster, C.D. (Eds.), *Dietary Nutrients, Additives, and Fish Health*. Wiley-Blackwell. Hoboken, New Jersey. pp. 47-94.
- Tocher, D.R., 2015. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and aquaculture in perspective. *Aquaculture* 449, 94–107.
- Torstensen, B.E., Espe, M., Sanden, M., Stubhaug, I., Waagbø, R., Hemre, G. I., Fontanillas, R., Nordgarden, U., Hevrøy, E.M., Olsvik, P., Berntssen, M.H.G. 2008. Fish oil replacement with different vegetable oils in gilthead seabream, *Sparus aurata* diets: Effects on fatty acid metabolism based on whole-body fatty acid balance method and genes expression. *Aquaculture*. 285, 1–4.
- Torres-Castro, D. 2012. Evaluación de coeficientes de digestibilidad aparente en juveniles de *Totoaba macdonaldi* mediante el uso de tres marcadores. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California. 45 pp.
- Tothova, C., Nagy, O., Kovac G. 2016. Serum proteins and their diagnostic utility in veterinary medicine: a review. *Veterinarni Medicina*. 61, (9), 475-496.
- Trejo-Escamilla, I., Galaviz, M.A., Flores-Ibarra, M., Álvarez-González, C.A., López, L.M. 2016. Replacement of fishmeal by soy protein concentrate in the diets of *Totoaba macdonaldi* (Gilbert, 1890) juveniles: effect on the growth performance, in vitro digestibility, digestive enzymes and the haematological and biochemistry parameters. *Aquaculture Research*. 1-20.

- Tromp, J.J., Jones P.L., Symonds, J.E., Walker, S.P., Pope, A., Pether, S.M.J., Afonso, L.O.B. 2016. Effects of commercial diets and temperature on the growth performance and stress response of hapuku (*Polyprion oxygeneios*). *Aquaculture*. 452, 128-133.
- True, C.D. 2012. Desarrollo de la biotecnia de cultivo de *Totoaba macdonaldi*. Tesis de Doctorado en Ciencias. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California. 121 pp.
- Truzzi, C., Illuminati, S., Antonucci, M., Scarponi, G., Annibaldi, A. 2018. Heat shock influences the fatty acid composition of the muscle of the Antarctic fish *Trematomus bernacchii*. *Marine Environmental Research*. 139, 122-128.
- Tsuchida, S. 1995. The relationship between upper temperature tolerance and final preferendum of Japanese marine fish. *Journal of Thermal Biology*. 20 (1-2), 35-41.
- Tulli, F., Messina, M., Calligaris, M., Tibaldi, E. 2010. Response of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) to graded levels of methionine (total sulfur aminoacids) in soya protein-based semi-purified diets. *British Journal of Nutrition*. 104, 664-673.
- Turchini, G.M., Torstensen, B.E., Ng, W-K. 2009. Fish oil replacement in finfish nutrition. *Reviews in Aquaculture*. 1(1), 10-57.
- Turchini, G.M., Ng, W.-K., Tocher, D.R. (Eds.). 2011. *Fish Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feeds*. Taylor & Francis, CRC Press, Boca Raton, FL, United States, p. 533.
- Valdez-Muñoz C. 2010. Distribución y Abundancia de Totoaba (*Totoaba macdonaldi*; Gilbert, 1981) en relación con las variables ambientales en el Alto Golfo de California y del Delta del Río Colorado. Tesis de Doctorado en Ciencias en el Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. 63 pp.
- Valenzuela, A., Oyarzún, C., Silva, V. 2003. Blood cells of the *Schroederichthys chilensis* (Guichenot 1848): The leukocytes (Elasmobranchii, Scyliorhinidae). *Gayana* 67(1), 130-136.
- Valenzuela-Quiñonez, F., Arreguín-Sánchez, F., Salas-Márquez, S., García-De León, F.J., Garza, J.C., Román-Rodríguez, M.J., De-Anda-Montañez, J.A. 2015. Critically Endangered totoaba *Totoaba macdonaldi*: signs of recovery and potential threats after a population collapse. *Endangered Species Research*. 29, 1-11.
- Vázquez, G.R., Guerrero, G.A. 2007. Characterization of blood cells and hematological parameters in *Cichlasoma dimerus* (Teleostei, Perciformes). *Tissue and Cell*. 39, 151-160.
- Velazco-Vargas, J., Martínez-Llorens, S., Jover-Cerda, M., Tomás-Vidal, A. 2013. Evaluation of soybean meal as protein source for *Argyrosomus Regius* (Asso, 1801) (Sciaenidae). *International Journal of Fisheries and Aquaculture*. 5(3), 35-44.
- Vinagre, C., Dias, M., Roma, J., Silva, A., Madeira, D., Diniz, M.S. 2013. Critical thermal maxima of common rocky intertidal fish and shrimps—A preliminary assessment. *Journal of sea research*. 81, 10-12.
- Vizcaíno-Ochoa, V., Lazo, J.P., Barón-Sevilla, B., Drawbridge, M.A. 2010. The effect of dietary docosahexaenoic acid (DHA) on growth, survival and pigmentation of California halibut *Paralichthys californicus* larvae (Ayres, 1810). *Aquaculture*. 302, 228-234.
- Vizcaíno-Pérez, E. 2012. Efecto de la concentración de aceite de linaza y maíz en la dieta, sobre el crecimiento, composición proximal, respuesta hematológica y química sanguínea en juveniles de corvina blanca *Atractoscion nobilis*. Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California. 83 pp.
- Vosyliénė, M.Z., 1999. The effect of heavy metals on haematological indices of fish. *Acta zoologica Lituanica*. 9 (2), 76-82.

- Whalan, J. E. 2015. Species Specifics, En: Autor, A Toxicologist's Guide to Clinical Pathology in Animals. Springer International. Washington, DC.
- Wang, Y., Ling-Jun K., Li C., Bureau, D.P. 2006. Effect of replacing fish meal with soybean meal on growth, feed utilization and carcass composition of cuneate drum (*Nibea miichthioides*). Aquaculture. 261, 1307-1313.
- Watanabe, T. 2002. Strategies for further development of aquatic feeds. Fisheries Science. 68, 242-252.
- Watson, M.A., Buentello, A., Place, R.A. 2014. Partial replacement of fishmeal, poultry by-product meal and soy protein concentrate with two non-genetically modified soybean cultivars in diets for juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. Aquaculture. 43, 129-136.
- Webster, C.D., Lim, C. 2002. Introduction to Fish Nutrition. En: Autor, Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture. CAB Internacional. New York. pp. 1-27.
- Wedemeyer, G.A., Barton, B.A., McLeay, D.J. 1990. Stress and acclimation. En: Schreck C.B., Moyle, P.B. (Eds.), Methods for fish biology. American Fisheries Society. Maryland. pp 451-489.
- Wedemeyer, G.A. 1996. Physiology of Fish in Intensive Culture Systems. Springer, Boston, MA.
- Weiss, D.J., Ramaiah, S.K., Walcheck, B. 2010. Neutrophil Distribution and Function, En: Weiss, D.J., Wardrop, K.J. (Eds.), Schalm' Veterinary Hematology (6ta Ed.), Wiley-Blackwell. Iowa. pp. 268-274
- Willmer, P., Stone, G., Johnston, I. 2005. Temperature and its Effects. En: Autores, Environmental Physiology of Animals (2da Ed.) Blackwell Publishing.
- Williams, W., Beutler. E., Erslev, A., Lichtman, M. 1991. Hematology (4ta Ed.), McGraw-hill. New York.
- Wilson, R.P. 2002. Amino Acids and Proteins. En: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), Fish Nutrition (3ra Ed.), Academic Press, New York. pp. 144-175.
- Xiao-Jun X., Ruyung, S. 1992. The bioenergetics of the southern catfish (*Silurus meridionalis* Chen): growth rate as a function of ration level and temperature. Journal of Fish Biology. 40, 719-730.
- Yaghoubi, M., Mozanzadeh, M.T., Marammazi, J.G., Safari, O., Gisbert, E. 2016. Dietary replacement of fish meal by soy products (soybean meal and isolated soy protein) in silvery-black porgy juveniles (*Sparidentex hasta*). Aquaculture, 464, 50-59.
- Yeşilayer, N., Kaymak, I.E. 2020. Effect of partial replacement of dietary fish meal by soybean meal with betaine attractant supplementation on growth performance and fatty acid profiles of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Research. 00:1-9.
- Yuangsoi, B., Klahan, R., Charoenwattanasak, S. 2014. Partial replacement of protein in soybean meal by moringa seed cake (*Moringa oleifera*) in bocourti's catfish (*Pangasius bocourti*). Songklanakarin Journal of Science and Technology 36(2), 125-135.
- Zar, J. H. 2010. Biostatistical Analysis (5ta Ed.), Pearson. New Jersey.
- Zhang, Y., Kieffer, J.D. 2014. Critical thermal maximum (CTMax) and hematology of shortnose sturgeons (*Acipenser brevirostrum*) acclimated to three temperatures. Canadian Journal of Zoology. 92, 215-221.
- Zhou, Q-C., Wu, Z-H; Tan, B-P., Chi, S-Y., Yang, Q-H. 2006. Optimal dietary methionine requirement for Juvenile Cobia (*Rachycentron canadum*). Aquaculture. 258, 551-557.

Zhou, F., Shao, J., Xu, R. Ma, J., Xu, Z. 2010. Quantitative l-lysine requirement of juvenile black sea bream (*Sparus macrocephalus*). Aquaculture Nutrition. 16, 194-204.