

La investigación reportada en esta tesis es parte de los programas de investigación del CICESE (Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, B.C.).

La investigación fue financiada por el CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología).

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de lo Estados Unidos Mexicanos (México). El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo o titular de los Derechos Autor.

CICESE@ 2022. Todos los derechos reservados

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



**Maestría en Ciencias
en Acuicultura**

**Efecto de la temperatura de aclimatación en el crecimiento,
perfil sanguíneo y composición de ácidos grasos de la trucha
arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*)**

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

Presenta:

Jesús Salvador Olivier Guirado Flores

Ensenada, Baja California, México
2022

Tesis defendida por
Jesús Salvador Olivier Guirado Flores

y aprobada por el siguiente Comité

Dra. Mónica Hernández Rodríguez
Directora de tesis

Dra. Beatriz Cordero Esquivel

Dra. Ma. Elena Solana Arellano



Dr. Roberto Cruz Flores
Coordinador del Posgrado en Ciencias en Acuicultura

Dr. Pedro Negrete Regagnon
Director de Estudios de Posgrado

Resumen de la tesis que presenta **Jesús Salvador Olivier Guirado Flores** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Acuicultura

Efecto de la temperatura de aclimatación en el crecimiento, perfil sanguíneo y composición de ácidos grasos de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*)

Resumen aprobado por:

Dra. Mónica Hernández Rodríguez
Directora de tesis

La temperatura es una variable fisicoquímica que afecta los procesos fisiológicos de los peces, lo que incide en su crecimiento, supervivencia y reproducción. Los peces tienen la capacidad de adaptarse a los cambios en el ambiente, lo que permite que los procesos celulares operen con normalidad después de un periodo de aclimatización o aclimatación. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el crecimiento, el perfil sanguíneo y la composición de ácidos grasos de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) aclimatada a diferentes temperaturas (16, 19 y 22 °C). La aclimatación a las diferentes temperaturas tuvo una duración de cinco semanas, se utilizaron truchas con un peso promedio de 49.45 ± 9.79 g. En los peces se evaluaron los parámetros de crecimiento, relacionados con la ganancia en peso, la tasa de crecimiento específico y la tasa de conversión alimenticia. En los parámetros hematológicos se consideró el recuento de leucocitos y eritrocitos, los diferentes tipos de células blancas, el hematocrito, la concentración de hemoglobina y los índices eritrocitarios. En relación con la química sanguínea, se determinó la concentración de glucosa, lactato, proteínas totales, albumina, globulina, alanina y aspartato aminotransferasa, concentración iónica, presión osmótica y presión parcial de gases en sangre. No se observaron diferencias en los parámetros de crecimiento entre tratamientos. Se encontraron diferencias significativas en la hematología ($p < 0.05$) en el número de eritrocitos, el volumen corpuscular medio (VCM) y la hemoglobina corpuscular media (HCM) en los tratamientos de 16 y 22 °C, donde se determinó que la mayor temperatura ocasionó un aumento en el número de eritrocitos, una disminución en el VCM y HCM. En la química sanguínea se encontró un aumento en la concentración de la enzima aspartato aminotransferasa (AST) por el incremento de temperatura. En relación con la composición de ácidos grasos, se presentó un aumento de los ácidos grasos C17:0 y C18:3n3 en la temperatura de 16 °C con respecto a la de 22 °C. En el presente estudio se establecieron los valores de parámetros hematológicos, química sanguínea y composición de ácidos grasos de la trucha arcoíris para el intervalo de temperaturas de 16 a 22 °C.

Palabras clave: Trucha arcoíris, *Oncorhynchus mykiss*, temperatura, crecimiento, química sanguínea, ácidos grasos

Abstract of the thesis presented by **Jesús Salvador Olivier Guirado Flores** as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Aquaculture

Effect of acclimation temperature on the growth, blood profile and fatty acids composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Abstract approved by:

Dra. Mónica Hernández Rodríguez
Thesis Director

Temperature is a physicochemical variable that affects the physiological processes of fish, such as their growth, survival and reproduction. Fish have the ability to adapt to changes in the environment, allowing cellular processes to operate normally after a period of acclimatization or acclimatization. The objective of the present work was to evaluate the growth, blood profile and fatty acid composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) acclimated to different temperatures (16, 19 and 22 °C). The acclimation to the different temperatures lasted five weeks, trout with an average weight of 49.45 ± 9.79 g were used. Growth parameters related to weight gain, specific growth rate and feed conversion rate were evaluated in rainbow trout. In the hematological parameters, the count of leukocytes and erythrocytes, the different types of white cells, hematocrit, concentration of hemoglobin and erythrocyte indices was evaluated. In relation to blood chemistry, the concentration of glucose, lactate, total proteins, albumin, globulin, alanine and aspartate aminotransferase, ionic concentration, osmotic pressure and partial pressure gases was evaluated. No differences were observed in growth parameters between treatments. Significant differences were found in hematology ($p < 0.05$) in the number of erythrocytes, the mean corpuscular volume (MCV) and the mean corpuscular hemoglobin (MCH) in the 16 and 22 °C treatments, where highest temperature caused an increase in the number of erythrocytes, a decrease in the MCV and MCH. In the blood chemistry, an increase in the concentration of the enzyme aspartate aminotransferase (AST) was found due to the increase in temperature. Regarding the composition of fatty acids, there was an increase in C17:0 and C18:3n3 fatty acids at 16 °C compared to 22 °C. In the present study, the values of hematological parameters, blood chemistry and fatty acid composition of rainbow trout were established for the temperature range of 16 to 22 °C.

Keywords: Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, temperature, growth, hematology, blood chemistry, fatty acids

Dedicatoria

*A mis padres y hermana por su amor y apoyo incondicional
que me han brindado*

Agradecimientos

Al Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada, Baja California (CICESE) y al Departamento de Acuicultura por permitirme ingresar al posgrado, darme la oportunidad de adquirir los conocimientos, y brindarme las herramientas e instalaciones para poder desarrollar mi trabajo de tesis.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por otorgarme la beca que me permitió realizar mis estudios de posgrado

A la Dra. Mónica Hernández Rodríguez por aceptarme como estudiante, permitirme realizar y desarrollar el trabajo de tesis, brindarme conocimientos, herramientas y equipos necesarios para llevar a cabo el experimento, darme su apoyo, consejos y recomendaciones durante el transcurso del proyecto. Le agradezco su ayuda para adentrarme más al mundo de la ciencia.

A la Dra. Beatriz Cordero Esquivel por haber aceptado formar parte de mi comité de tesis. Le agradezco por impartirme consejos, las recomendaciones y observaciones que ayudaron a mejorar el desarrollo del proyecto.

A la Dra. Ma. Elena Solana Arellano por haber aceptado formar parte de mi comité tesis, por los conocimientos de estadística brindados, y por sus consejos y recomendaciones durante el desarrollo de la tesis.

Al técnico Luis Murillo Valenzuela por su disposición y apoyo en el desarrollo de mi experimento, ayudarme a comprender y brindarme conocimientos del funcionamiento de los sistemas, y por sus consejos que fueron de gran ayuda para el proyecto

Al M. en C. Abelardo Campos Espinoza por su ayuda en brindarme los conocimientos y enseñanzas necesarias para la realización de técnicas de laboratorio para el desarrollo de la tesis. Le agradezco su disposición, apoyo y consejos.

A los docentes de la maestría por todos sus conocimientos y experiencias brindadas para crecer como estudiante.

A Dalila Mercado por su apoyo en las cuestiones administrativas.

A mi hermano de laboratorio Marco Antonio Ontiveros Córdova por su apoyo en el mantenimiento de organismos, en el transporte de los peces y cualquier situación que surgiera.

A mis amigos Karen, Fernanda y Ramiro que me apoyaron durante el transcurso de la maestría, por su cariño y motivación.

A mi familia que sin ellos no pudiera haber llegado a donde estoy, por todo su cariño y amor incondicional.

Tabla de contenido

	Página
Resumen en español.....	ii
Resumen en inglés.....	iii
Dedicatorias.....	iv
Agradecimientos.....	v
Lista de figuras.....	viii
Lista de tablas.....	ix
• Capítulo 1. Introducción.....	1
1.1 Generalidades y ciclo de vida de la trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).....	2
1.2 Producción total y acuícola de la trucha arcoíris.....	2
1.3 Antecedentes.....	3
1.3.1 Importancia de los parámetros fisicoquímicos en la fisiología de peces.....	3
1.3.2 Efecto de la temperatura en el desempeño de los peces.....	7
1.3.3 Efecto de la temperatura en la composición de los ácidos grasos en peces.....	9
1.4 Justificación.....	11
1.5 Hipótesis.....	11
1.6 Objetivos.....	11
1.6.1 Objetivos generales.....	12
1.6.2 Objetivos específicos.....	12
Capítulo 2. Metodología.....	13
2.1 Obtención de huevos	13
2.2 Diseño experimental.....	13
2.3 Crecimiento.....	15
2.4 Hematología.....	15
2.5 Química sanguínea.....	18
2.6 Composición de ácidos grasos en el musculo de trucha arcoíris.....	19
2.7 Análisis estadísticos.....	20
Capítulo 3. Resultados.....	22
3.1 Crecimiento de trucha arcoíris a diferentes temperaturas de aclimatación.....	22
3.2 Hematología.....	22

3.3	Química sanguínea.....	23
3.4	Ácidos grasos.....	24
Capítulo 4. Discusión.....		26
Capítulo 5. Conclusiones.....		34
Literatura citada.....		35

Lista de figuras

Figura		Página
1	Producción total de trucha durante los años 2009-2018 (CONAPESCA, 2018).....	3
2	Concentración de la enzima aspartato aminotransferasa en la trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) aclimatada a diferentes temperaturas. Las letras indican las diferencias significativas entre tratamientos con $\alpha = 0.05$	24

Lista de tablas

Tabla		Página
1	Temperatura, salinidad, oxígeno disuelto y saturación de oxígeno del agua en los diferentes tratamientos (16, 19 y 22 °C) durante la aclimatación de la trucha arcoíris.....	14
2	Crecimiento y supervivencia de la trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) aclimatada a diferentes temperaturas.	21
3	Parámetros hematológicos de la trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) aclimatada a diferentes temperaturas.....	22
4	Leucograma de la trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) aclimatada a diferentes temperaturas.....	22
5	Parámetros de química sanguínea de la trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) aclimatada a diferentes temperaturas.....	23
6	Composición de ácidos grasos de la trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) aclimatada a diferentes temperaturas.....	25

Capítulo 1. Introducción

La temperatura es uno de los parámetros físicos que influyen en la distribución espacial y temporal de los peces (Reyes et al., 2011), las variaciones de este factor pueden tener efectos en diversas variables fisiológicas, como la supervivencia, el crecimiento, la reproducción (Azaza et al., 2008; Cussac et al., 2009; Pörtner y Peck, 2010; Reyes et al., 2011), los parámetros sanguíneos (Houde, 2008), y en la estructura genética (Bradbury et al., 2010), entre otros. También puede incrementar o limitar la presencia de los organismos en una zona determinada, debido a que, al ser de naturaleza ectotérmica, su temperatura corporal cambia con la temperatura ambiente, haciéndolos vulnerables y alterando sus procesos fisiológicos (Cussac et al., 2009; Pang et al., 2011).

Por ser poiquiloterms (Evans y Claiborne, 2006), la capacidad de adaptación de los organismos a los cambios de temperatura es considerada un mecanismo para la supervivencia, y es fundamental en los peces (Farkas et al., 1980). La exposición constante de los peces a los cambios térmicos resulta en un ajuste fisiológico adaptativo denominado aclimatización (Kamal et al., 1962; Johnson et al., 1963). El objetivo de este proceso es para poder realizar sus funciones en un extenso rango térmico (Einum et al., 2019), por ejemplo, los salmónidos son considerados animales heterotermes, en el cual su temperatura corporal puede cambiar desde los 6 °C en invierno hasta los 20-22 °C en verano (Calabretti et al., 2003).

La temperatura es uno de los factores que tiene un efecto tanto en el metabolismo como en la composición de los ácidos grasos en peces (Farkas et al., 1978), además, este factor modula los lípidos y la fluidez de la membrana para que conserve sus funciones y propiedades, este tipo de modificación en la membrana se le conoce como adaptación homeoviscosa, la cual se presenta en organismos poiquiloterms (Hazel y Williams, 1990). Este factor fisicoquímico, también afecta la respuesta inmunológica en animales ectotérmicos como los peces (Klyachko y Ozernyuk, 1998) y tiene un efecto en las características fisiológicas y bioquímicas de la sangre, las cuales son utilizadas como indicadores de estrés, por lo que estos parámetros se utilizan para monitorear la salud de los peces (Adams, 1990; Maceda-Veiga et al., 2010; Ferguson et al., 2010; Fazio et al., 2013). Además, estos organismos tienen la capacidad de adaptarse a los cambios en el ambiente, lo que permite que los procesos celulares operen con normalidad después de un periodo de aclimatización (Gerlach et al., 1990).

1.1 Generalidades y ciclo de vida de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*)

La trucha arcoíris (*O. mykiss*), es una especie que pertenece a la familia Salmonidae, su origen reside en las costas del Pacífico de América del Norte, al oeste de las Montañas Rocosas. Las características morfológicas de esta especie son cuerpo fusiforme, de color azulado y flancos laterales de color plateado iridiscente, la parte ventral es blanco cremoso, el dorso y los flancos con lunares negros y marrones (Blanco, 1999). Esta especie es carnívora, tiene afinidad hacia crustáceos e insectos (quironómidos, coleópteros, dípteros, simúlidos, tricópteros y hemípteros), restos vegetales, así como presas secundarias que incluyen arácnidos, anuros, bivalvos, huevos de peces y peces pequeños, incluso de otras truchas (Ferriz, 1993 en Tovar *et al.*, 2008), sin embargo, la alimentación en estadio juvenil es de zooplancton (Gall, 1992 en Tovar *et al.*, 2008).

El ciclo de vida de la trucha arcoíris está compuesto de diversas etapas: huevo, alevín, cría, juvenil, adulto y reproductor. El desarrollo embrionario tiene una duración de 30 días aproximadamente, y una vez que eclosiona el alevín, este se alimenta de reservas nutricionales que se encuentran dentro del saco vitelino. La fase de cría se presenta una vez que las reservas se terminan, y los peces con tallas de entre 7 a 18 cm se les denominan juvenil. A los nueve meses puede llegar a su talla comercial de 250 g, la cual es considerada la fase adulta (Sánchez, 2011). La especie alcanza la maduración sexual a los 18 meses de edad, esta se presenta en función de la temperatura del agua y la latitud. En México, el desove se produce en el momento que la temperatura del agua desciende a rangos de 8 a 13 °C, en los meses de noviembre a febrero (Gallego *et al.*, 2007).

1.2 Producción total y acuícola de la trucha arcoíris

La trucha arcoíris es un pez de agua dulce de importancia acuícola en México, la producción total a partir de 2009 (7,969 t) se ha incrementado y el año de mayor producción fue en 2014 con 19,123 t, y al siguiente año (2015) se registró una disminución del 40.7 % hasta 11,527 t (Figura 1). En 2018 la producción total fue de 13,454 t, de las cuales 10,440 t provienen de la actividad pesquera y 3,014 t de la actividad acuícola, lo que representó el 22.4% de la producción. En ese año el volumen de trucha se posicionó en el lugar 21 de la producción pesquera en México y por su valor económico se ubicó en el lugar 10. Estos datos resaltan la importancia de la trucha como un pez de alto valor comercial (CONAPESCA, 2018).

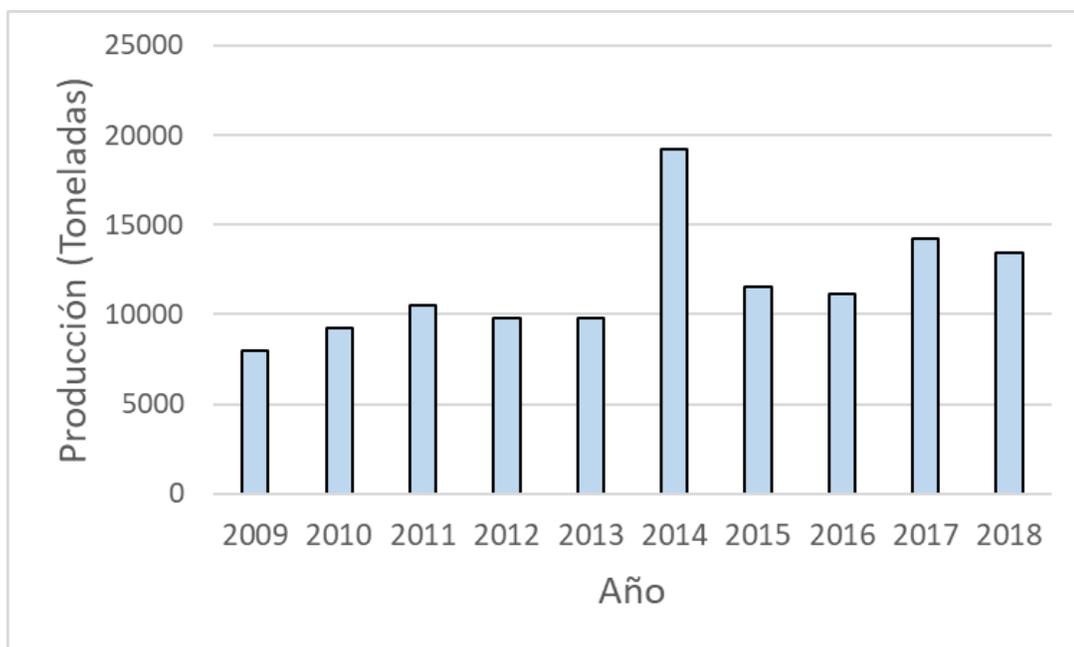


Figura 1. Producción total de trucha durante los años 2009-2018 (CONAPESCA, 2018).

1.3 Antecedentes

1.3.1 Importancia de los parámetros fisicoquímicos en la fisiología de peces

La hematología es la ciencia que se encarga del estudio de la sangre y de los elementos que la conforman, así como de los trastornos estructurales y bioquímicos que puedan conducir a enfermedades en los organismos (Jaramillo-Schadebrodt, 2005). La sangre está conformada por células especializadas que varían en forma, tamaño y función, estos componentes celulares son los eritrocitos o glóbulos rojos, encargados del transporte de oxígeno; los trombocitos con actividad coagulante y los leucocitos o glóbulos blancos encargados de la respuesta inmune. La morfología, presencia y/o ausencia de algunos tipos de células blancas (leucocitos) dependerá de la especie (Leeson *et al.*, 1990; Jaramillo-Schadebrodt, 2005).

El estudio hematológico incluye determinaciones cuantitativas como el hematocrito, la concentración de hemoglobina, el recuento de glóbulos rojos, el recuento diferencial de glóbulos blancos y trombocitos, y la velocidad de sedimentación, entre otros (Carrillo-Farga, 2000). La aplicación de la biometría hemática en la piscicultura ha permitido comprobar experimentalmente que las variaciones en la salinidad, la concentración de oxígeno en el agua y la temperatura, entre otros, pueden ocasionar efectos en algunos parámetros sanguíneos (Valenzuela *et al.*, 2007). Además, los cambios en los parámetros hematológicos

como el hematocrito, la concentración de hemoglobina, el recuento de leucocitos y la fórmula leucocitaria, se han utilizado como indicadores de contaminación (Haider, 1975; Hontela, 1998; Wahli, 2002) y a nivel fisiológicos de disfunción orgánica por estrés (Wedemeyer *et al.*, 1990), también en diversos estudios se han evaluado los efectos de diferentes factores ambientales en las respuestas sanguíneas de los peces, debido a la información que proporcionan sobre su condición fisiológica (Caldwell y Hinshaw, 1994; Martínez *et al.*, 1994; Valenzuela *et al.*, 2007; Keleştemur y Özdemir, 2010; Docan *et al.*, 2011; Hosseini *et al.*, 2012; Elarabany *et al.*, 2017; Jafaryan *et al.*, 2020).

Los parámetros fisicoquímicos del agua, principalmente la salinidad, la concentración de oxígeno disuelto y la temperatura, son importantes para el desarrollo y la fisiología de los peces, ya que pueden llegar a afectar su desempeño (Alabaster y Lloyd, 1982; Castillo-Vargasmachuca *et al.*, 2013). Se han realizado estudios sobre el efecto de la concentración de oxígeno disuelto en la fisiología de diferentes especies de agua dulce. En *Oncorhynchus kisutch*, *Oncorhynchus nerka*, *Micropterus salmoides* y *Cyprinus carpio*, se vio afectado el crecimiento cuando las concentraciones de oxígeno disuelto fueron menores a 4-5 mg / L (Brett, 1979; Brett y Blackburn, 1981).

En relación con la salinidad, Elarabany *et al.* (2017), hicieron un estudio con tilapia (*Oreochromus niloticus*), donde determinaron que el hematocrito y la concentración de hemoglobina fueron significativamente más altos en 4g NaCl/L con respecto a 8 y 12g NaCl/L. En cuanto a las proteínas totales, recuento de glóbulos rojos y la actividad de la catalasa, los valores fueron significativamente menores en 4, 8 y 12g NaCl/L, respectivamente, en comparación con el grupo control. Los autores asocian estos resultados a una disfunción osmorreguladora, la cual fue incitada por elevados niveles de salinidad, así también, porcentajes bajos de hematocrito en peces bajo estrés, puede deberse a un volumen reducido de glóbulos rojos como consecuencia a cambios osmóticos causados por la fuga de iones del plasma.

En trucha arcoíris *O. mykiss* se han realizado diversos estudios del efecto de estos parámetros sobre su perfil sanguíneo. Hosseini *et al.* (2012), evaluaron el efecto de la salinidad en trucha arcoíris con un peso promedio de 20.0 ± 1.3 g, expuestos a 7 y 11 ppm, y un grupo permaneció en agua dulce. Los análisis de sangre se realizaron a las 0, 24, 48, 72 y 240 horas después del comienzo del experimento. La exposición de los peces a 11 ppm redujo el porcentaje de hematocrito a las 24 y 240 h respecto al control (agua dulce). El número de glóbulos blancos a las 24 h y 11 ppm de salinidad tuvo una reducción significativa en comparación con el tiempo cero, y a las 240 h alcanzó su nivel más bajo en 11 ppm durante el experimento. Los autores determinaron que con base en los resultados se puede afirmar que existe una relación entre el hematocrito y la osmolaridad del plasma sanguíneo, la cual es una relación inversa. En la misma especie

con un peso promedio de 50 g y expuesta a 0.5, 3.0 y 18.2 ups, se documentó que los eritrocitos, la hemoglobina, el hematocrito, el volumen corpuscular medio y la hemoglobina corpuscular media, disminuyeron en los peces cultivados en la condición de 3.0 ups (Jafaryan *et al.*, 2020). Sin embargo, estos índices no mostraron diferencias significativas entre los peces cultivados en 0.5 y 18.2 ups. Los autores concluyeron que el cultivo de *O. mykiss* en agua con salinidad de ~ 18 ups es más deseable debido a que los índices evaluados fueron similares al grupo control (peces de agua dulce) y resultaron menos afectados por el estrés.

La concentración de oxígeno disuelto también tiene un efecto sobre los parámetros sanguíneos en trucha arcoíris. Caldwell y Hinshaw (1994), realizaron un estudio en el cual se cultivaron a truchas arcoíris en tres tratamientos con diferentes concentraciones de oxígeno disuelto: normoxia (8.8 a 10.2 mg/l), hipoxia (5.8 a 7.2 mg/l) e hiperoxia (11.9 a 13.3 mg/l). Los autores mencionan que la aclimatación a sobresaturación de oxígeno disuelto resultó en una menor concentración de hemoglobina, hematocrito y glóbulos rojos en sangre. Los peces aclimatados en condiciones de hiperoxia e hipoxia manifestaron respuestas de estrés semejantes, con valores más altos en duración y magnitud en la concentración de cortisol, glucosa, osmolalidad y lactato en el plasma sanguíneo, en comparación con los peces en condiciones de normoxia. Además, los animales expuestos a hiperoxia e hipoxia desarrollaron inflamación celular, lo que se vio reflejado en el aumento del volumen corpuscular medio. En el estudio de Keleştemur y Özdemir (2010), donde expusieron a truchas arcoíris a dos concentraciones de oxígeno (4.5 ± 0.3 y 7.7 ± 0.1 mg/l), reportaron que los valores de cortisol, glucosa, colesterol, urea, ácido úrico y nitrógeno ureico de los alevines expuestos a concentración de oxígeno disuelto de 4.5 ± 0.3 mg/l fueron significativamente mayores al grupo expuesto a la concentración de oxígeno de 7.7 ± 0.1 mg/l. Los autores concluyen que estos resultados se deben al estrés producido por la baja concentración de oxígeno, la cual puede generar trastornos funcionales en tejidos y órganos.

En trucha arcoíris (*O. mykiss*) se han realizado diversos estudios referentes al efecto de la temperatura en los parámetros sanguíneos. Valenzuela *et al.* (2007), evaluaron tres regímenes de temperatura (9, 11 y 18 °C) y dos regímenes de fotoperiodo (12:12 y 24:0) durante 30 días, y encontraron que a una temperatura de 18 °C disminuyó el número total de leucocitos, linfocitos y trombocitos; en el estudio se determinó que la temperatura fue el factor principal en la determinación del aumento del hematocrito, la concentración de hemoglobina y el recuento de eritrocitos, así también, se observó que los peces expuestos a un fotoperíodo de 24:0 resultó en una mayor concentración de hematocrito y un mayor conteo de eritrocitos, lo que fue relacionado con el efecto del estrés. Docan *et al.* (2011), expusieron a las truchas a un aumento de temperatura de 18 a 26 °C en un cultivo con una duración de 75 días. En este estudio, el estrés fisiológico

se reflejó en los índices hematológicos, debido a un aumento significativo del recuento de glóbulos rojos, hemoglobina, hematocrito y volumen corpuscular medio. Sin embargo, registraron en los peces la disminución de la hemoglobina corpuscular media y de la concentración de hemoglobina corpuscular media. En esta misma especie expuesta a una variación natural de 15 °C en invierno a 20 °C en primavera, se observó que el hematocrito, la hemoglobina y el recuento de glóbulos rojos aumentaron a mayor temperatura (Martínez *et al.*, 1994).

Con relación a la química sanguínea, se considera un indicador para conocer el estado nutricional y de salud de los peces, debido a que permite detectar desórdenes fisiológicos y enfermedades causadas por diversos factores como las condiciones ambientales, nutricionales, infecciones bacterianas y la época del año (Congleton y Wagner, 2006). La evaluación comparativa de parámetros de química sanguínea depende de la disponibilidad de valores de referencia normales o estándar para cada especie (Vásquez-Torres *et al.*, 2012), los cuales son escasos y es donde deberían centrarse los esfuerzos que permitan establecer parámetros dentro de un rango que se consideren normales o basales para la especie e indiquen un estado de salud favorable.

El análisis de variables bioquímicas es importante para realizar un diagnóstico, entre ellas se encuentra la alanina aminotransferasa (ALT), la cual es una enzima catalítica que tiene actividad en el catabolismo de aminoácidos y en el transporte de nitrógeno entre órganos (Kaneko *et al.*, 2008), por lo cual esta enzima puede indicar lesiones musculares y hepáticas. También existen otros metabolitos que se consideran importantes como los niveles de proteína total, albumina y globulina, las cuales pueden estar presentes en la respuesta inflamatoria (Abdel-Fattah *et al.*, 2008; Abbas *et al.*, 2011). El cortisol, así como otros parámetros fisiológicos (concentración de lactato, entre otros) han demostrado ser excelentes indicadores en una gran variedad de animales, permitiendo determinar el grado de estrés al que están expuestos (Campbell, 2008; Abreu *et al.*, 2009). Estas variables bioquímicas que se encuentran en el plasma sanguíneo pueden ser utilizadas para evaluar la salud y el estado de estrés de los peces (Sadler *et al.*, 2000; Campbell, 2004; Wagner y Congleton, 2004). Los efectos del estrés se pueden evidenciar en un menor crecimiento en los peces, un aumento en la mortalidad (Akinrotimi, 2006), así como la susceptibilidad a enfermedades (Maule *et al.*, 1989). El estrés también ocasiona el incremento en la concentración de glucosa (Silbergeld, 1974; Wedemeyer y Yasutake, 1977, David *et al.*, 2005). La concentración de lactato también se considera un indicador de estrés, debido a que aumenta en situaciones adversas (Thomas *et al.*, 1999; Grutter y Pankhurst, 2000).

El efecto de la temperatura en la concentración iónica del plasma también se ha investigado en peces. Lulijwa *et al.* (2021), expusieron a un aumento gradual de 17 a 20 °C a *Oncorhynchus tshawytscha*, donde observaron un aumento en la concentración de Cl^- , Na^+ , K^+ y Mg^{2+} en el plasma de los peces aclimatados a 20 °C, lo cual indica un ajuste en la osmorregulación. Los autores mencionan que el estrés térmico crónico generó que los niveles plasmáticos de Cl^- y Na^+ aumentaran. En *Chitala ornata*, expuesta a cuatro temperaturas (25, 30, 33 y 36 °C) durante 2 días, se determinó que la concentración de Na^+ , K^+ , Cl^- y la osmolalidad plasmática no se vieron afectadas por los cambios de temperatura (Hong *et al.*, 2020).

Adeyemo *et al.* (2003), realizaron un trabajo con *Clarias gariepinus* con peso de 400 g y aclimatadas a cuatro temperaturas (23, 29, 35 y 41 °C), y determinaron que la concentración de HCO_3^- , Na^+ , K^+ y Cl^- eran independientes de la temperatura ya que no hubo cambios en las concentraciones. Trong (2015), realizó un estudio con *Pangasianodon hypophthalmus*, el cual fue expuesto a seis temperaturas (24, 27, 30, 32, 34 y 36 °C) y no se encontraron diferencias significativas en la presión osmótica, el autor menciona que este resultado se ha observado en otros estudios de peces de agua dulce como la tilapia de Mozambique *Oreochromis mossambicus* (Fiess *et al.*, 2007) y los híbridos de tilapia de Mozambique *O. mossambicus* x *O. urolepis hornorum* (Sardella *et al.*, 2004) donde los resultados han mostrado que la temperatura tiene poco efecto sobre la presión osmótica de los peces.

1.3.2 Efecto de la temperatura en el desempeño de los peces

El preferendum final es la temperatura que corresponde al punto donde coinciden las temperaturas de aclimatación y la preferida (Cherry *et al.*, 1975), se relaciona con la temperatura óptima donde se asume que algunos procesos fisiológicos se desarrollan eficientemente (Brett, 1964). Para trucha arcoíris se han realizado diversos estudios en los cuales determinaron su preferendum final, el cual ha sido variable: Saga y Román (1995), mencionan que fue de 13 y 18 °C. McCauley *et al.* (1977), resultó en 11.6 °C con truchas de 205 g de peso, las cuales fueron obtenidas de cultivos con temperatura de 8-10 °C. En Garside y Tait (1958), se determinó en 13 °C con truchas de talla de 10.16-15.24 cm, las cuales fueron obtenidas de un cultivo con temperatura de 9 °C. Schurmann *et al.* (1991), reportan que fue de 16.1 °C para truchas de 100-220 g y aclimatadas a 18 °C. McCaurry y Pond (1971), la documentaron en 17-20 °C para truchas de 4.5 cm de largo, obtenidas de un cultivo con temperaturas que fluctuaron de 15 a 20 °C y Cherry *et al.* (1975), determinaron el preferendum final en 18 °C con truchas de 5-12 cm y aclimatadas a 6 °C.

Los estudios antes mencionados son fundamentales para establecer las condiciones de aclimatación que pueden utilizarse cuando se quieren estudiar otras respuestas fisiológicas en los peces, como son los parámetros sanguíneos, el crecimiento y los cambios en la composición de ácidos grasos, entre otras.

La temperatura determina las propiedades del equilibrio energético, las tasas de digestión, las demandas metabólicas y la eficiencia de asimilación (Werner, 1994; Jobling, 1995; Persson *et al.*, 1998; Byström *et al.*, 2006; Englund *et al.*, 2011). Además, la variación de la temperatura está relacionada con las tasas de crecimiento de los peces, así como con las tasas de consumo de alimento. Se ha observado que el aumento de la temperatura genera un incremento en las tasas de crecimiento hasta alcanzar el límite crítico de temperatura de la especie, lo que ocasiona una disminución de esta respuesta (Brett, 1979; Elliot, 1994; Jobling, 1995).

En *Labeo rohita* expuesta a tres intervalos de temperaturas (20-22, 22-24 y 24-26 °C), se obtuvo el mayor peso corporal (11.65 ± 0.21 g) en las temperaturas del agua de 24 - 26 °C, y el menor peso (10.35 ± 0.06 g) en el tratamiento de 20 - 22 °C (Kausar y Salim, 2006). Estos resultados reafirmaron que el crecimiento de los peces es óptimo dentro de una temperatura definida, como se concluyó en el estudio de Gadowaski y Caddell (1991), en el cual trabajaron con *Paralichthys californicus*, y determinaron que la tasa de crecimiento aumentó con el incremento de la temperatura. Shcherbina y Kazlauskene (1971) observaron que temperaturas más altas generan un aumento en la actividad de las enzimas digestivas, este efecto puede acelerar la digestión de los nutrientes, lo que resulta en un mayor crecimiento, sin embargo, se debe tomar en cuenta los límites de tolerancia térmica de la especie, los cuales si son sobrepasados se presenta la disminución de la tasa de crecimiento. Lobón-Cerviá y Rincón (1998), determinaron que el principal factor que regula el crecimiento de trucha café del sur (*Salmo trutta*) es la temperatura, otro factor considerado relevante es el tipo de alimentación, ya que se han encontrado diferencias en las tasas de crecimiento entre localidades con la misma temperatura y diferente alimentación.

Yoo y Lee (2016), realizaron un estudio con *Takifugu obscurus*, en donde se criaron peces de 10 y 40 g de peso corporal inicial expuestos a temperaturas de 15, 20, 25 y 30 °C durante 8 semanas. El incremento de peso de los peces aumentó con el incremento de la temperatura del agua hasta 25 °C y disminuyó a 30 °C para ambos tamaños. Con base en estos resultados, los autores indican que la temperatura de 25 °C es la óptima para la especie. Se han realizado diversos estudios en relación con el efecto de la temperatura en los parámetros de crecimiento de la trucha *O. mykiss*, donde se ha observado una mayor tasa de crecimiento específica a una temperatura de 17 °C con respecto a 13 y 21 °C, también se ha determinado un menor crecimiento, el nivel de proteína disminuido y un aumento en mortalidad en la temperatura más

alta ($>18\text{ }^{\circ}\text{C}$) en comparación a las temperaturas de $12\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $14\text{ }^{\circ}\text{C}$, y se ha obtenido como resultado un mayor consumo de alimento, un crecimiento más lento y una menor tasa de conversión alimenticia en la temperatura de $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ con respecto a la de $14\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Janhunen *et al.*, 2016; Jiang *et al.*, 2021; Mishra *et al.*, 2021).

1.3.3 Efecto de la temperatura en la composición de los ácidos grasos en peces

Los principales factores que pueden influir en el metabolismo y composición de los ácidos grasos de los peces son la temperatura y la dieta (Farkas, 1978). Los organismos poiquiloterms pueden modificar la composición lipídica de la membrana como consecuencia de una variación en la temperatura predominante para que las características de la membrana y su función sean adecuadas. Para esta remodelación en la membrana se toma en cuenta la composición del grupo de la cabeza de los fosfolípidos (Hazel y Landrey, 1988), la insaturación de la cadena de acilo (Hazel y Williams, 1990; Tocher y Sargent, 1990), la composición de especies moleculares (Hazel *et al.*, 1991; Farkas *et al.*, 1994; Buda *et al.*, 1994) y el contenido de colesterol (Robertson y Hazel, 1995). Estos cambios funcionan para que el estado físico de los lípidos de la membrana se mantenga dentro del rango de las temperaturas de aclimatación (Cuculescu, 1999).

Los ácidos grasos pueden ser saturados, monoinsaturados o poliinsaturados, los saturados son aquellos que no poseen dobles enlaces en su cadena, los lípidos que tienen una mayor proporción de ese tipo de ácidos grasos se caracterizan por ser sólidos a temperatura ambiente (Golbitz, 2000). Los monoinsaturados tienen solo un enlace insaturado unido a la cadena de carbono (Kirk, 1998). Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga son constituyentes de la dieta y participan en diversos procesos fisiológicos, en este tipo de ácidos grasos los principales grupos son los ácidos grasos omega-3 (ω -3) y omega-6 (ω -6), los cuales son importantes para la producción de eicosanoides (prostaglandinas, tromboxanos, prostaciclina y leukotrienos), debido a que participan en distintas funciones, como son la modulación de la respuesta inflamatoria e inmune, el crecimiento celular, la diferenciación celular y la agregación plaquetaria (Comba *et al.*, 2010; Corsetto *et al.*, 2011). Estudios previos han demostrado que estos ácidos grasos son mediadores de distintas funciones biológicas en respuesta a los estímulos (Sargent *et al.*, 2002; Wall *et al.*, 2010). El ácido docosahexaenoico (DHA), es un ácido graso poliinsaturado y es importante en la función sináptica, su bajo contenido en las membranas de las neuronas propicia el descenso de la transmisión de impulsos nerviosos (Jackson *et al.*, 2012). Los ácidos grasos esenciales en peces tienen importancia similar a otros vertebrados, las principales funciones son energía en forma de

ATP por la vía de la β -oxidación (Sargent *et al.*, 2002), y mantener la estructura y la fluidez de las membranas (Sargent *et al.*, 1999; Tocher, 2003).

Los peces tienen diferentes estrategias para enfrentar los cambios térmicos, a temperaturas bajas estos organismos tienen la capacidad de modificar la composición de la membrana (Snyder y Hennessey, 2003). Hazel y Landrey (1988), determinaron que la trucha arcoíris, para enfrentar los efectos de temperaturas bajas, reestructura las especies moleculares, lo cual conlleva a la redistribución de los ácidos grasos que están presentes en la posición 1 y 2 de las moléculas de fosfolípidos de membrana. El cambio que más se ha observado cuando los peces son aclimatados a temperaturas bajas, es una mayor proporción relativa de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) y una menor cantidad de ácidos grasos saturados. A diferencia de los ácidos grasos saturados, los insaturados se empaquetan de manera menos eficiente debido a que los dobles enlaces generan dobleces en las cadenas de acilo. Consecuentemente, es posible adquirir una mejor tolerancia al frío al tener una mayor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados al aumentar la fluidez (Hazel y Prosser, 1974; Hazel y Williams 1990; Hazel, 1993).

En *O. mykiss* aclimatada a 5° y 20 °C, se observó que las proporciones relativas de ácidos grasos n-3 fue mayor a temperaturas bajas, con menos frecuencia de ácidos grasos n-6, mientras que las proporciones relativas de ácidos grasos n-9 disminuyeron, lo que sugiere una incorporación preferencial de ácidos grasos que pertenecen a la familia del ácido linolénico a bajas temperaturas (Hazel, 1979). En *Paralabrax humeralis*, se observó que la concentración de ácido linolénico presentó una tendencia creciente significativa cuando fue aclimatada a 12° y 17 °C, al aumentar de 3.12 y 4.35 mg•g⁻¹ a 10.02 y 7.51 mg•g⁻¹, lo que representó un incremento del 321 y 172%, respectivamente. En el caso de los peces que fueron aclimatados a 22 °C, la concentración del ácido linolénico disminuyó de 5.55 a 4.73 mg•g⁻¹, lo que significó una disminución del 23% (Rosado-Salazar *et al.*, 2018).

En *Carassius auratus* también se observó un comportamiento similar de los ácidos grasos, en donde la tendencia general fue a un mayor grado de insaturación a temperaturas de aclimatación más bajas (5° y 15 °C) que en 25° y 30 °C. Las mayores diferencias se observaron en el ácido esteárico (18:0), araquidónico (20:4) y docosapenta (o hexa) enoico (22:5 o 6) (Johnston y Roots, 1964). En este estudio los autores argumentan que, al ser un organismo poiquiloterma, debe adaptarse a una disminución o aumento de la temperatura ambiental del agua, en consecuencia, se modifica el grado de insaturación de los lípidos celulares.

En larvas de *Acipenser baerii* expuestas a temperaturas de 16, 19 y 22 °C, la composición de ácidos grasos se vio afectada por la temperatura. Las larvas cultivadas a 16 °C tuvieron la menor cantidad de ácidos grasos saturados, principalmente debido a un menor contenido de ácido palmítico, que fue compensado por un mayor nivel de ácido linolénico y linoleico, en comparación con las larvas expuestas a 19 ° y 22 °C (Vasconi *et al.*, 2019).

Los estudios mencionados anteriormente demuestran que la temperatura no solo afecta las propiedades de la membrana celular, sus efectos inciden en diferentes respuestas fisiológicas de los organismos, tales como el metabolismo, el crecimiento, el perfil de ácidos grasos y los parámetros sanguíneos, entre otras.

1.4 Justificación

La trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) es un recurso acuícola importante en México debido a su producción pesquera y acuícola. Esta especie es considerada un producto que posee un alto valor comercial, por lo cual es fundamental continuar generando información sobre su biología que permita conocer su capacidad de adaptación a diferentes condiciones térmicas en relación a su perfil sanguíneo y composición de ácidos grasos, para integrar estas respuestas a su mejor desempeño cuando se evalúa el crecimiento de los peces. Determinar estos parámetros ayudara a comprender procesos fisiológicos de la especie, lo cual es fundamental si se quiere aplicar este conocimiento en mejoras de su cultivo y como una herramienta para conocer su estado de salud.

1.5 Hipótesis

El crecimiento, la composición de ácidos grasos, la hematología y química sanguínea de la trucha arcoíris aclimatadas a 16 °C serán diferentes al intervalo estimado para los peces de la condición térmica de 19 y 22 °C.

1.6 Objetivos

1.6.1 Objetivo general

Evaluar el crecimiento, el perfil sanguíneo y la composición de ácidos grasos de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) aclimatada a diferentes temperaturas.

1.6.2 Objetivos específicos

Determinar el efecto de la temperatura de aclimatación (16, 19 y 22 °C) en el crecimiento y supervivencia de la trucha arcoíris.

Evaluar el efecto de la temperatura en la hematología (recuento de eritrocitos y leucocitos, recuento diferencial de leucocitos, hemoglobina, hematocrito e índices eritrocitarios) y química sanguínea (glucosa, lactato, proteínas, totales, albumina, alanina aminotransferasa, aspartato aminotransferasa, globulina, concentración iónica y presión osmótica) en la trucha arcoíris.

Evaluar la concentración de gases en sangre de la trucha arcoíris aclimatada a las diferentes temperaturas.

Evaluar el efecto de la temperatura de aclimatación (16, 19 y 22 °C) en la composición de ácidos grasos del musculo de la trucha arcoíris.

Capítulo 2. Metodología

2.1 Obtención de huevos

Se obtuvieron 10,000 huevos de trucha arcoíris (*O. mykiss*) de la empresa Truchas de Matzinga del Estado de México, importados de la empresa Troutlodge de Estados Unidos. Los huevos fueron colocados en una incubadora tipo McDonald de 6 L durante 7 días, con agua a 15 °C y 1 unidad práctica de salinidad (ups) adaptada a un sistema de recirculación, además el agua pasaba por un filtro de luz ultravioleta (Lifegard de 25 watts) para evitar el crecimiento de bacterias. El sistema tenía instalado un filtro biológico para la remoción de compuestos nitrogenados, un segundo filtro con cuentas de plástico para la retención y remoción de sólidos, un fraccionador de proteínas y una bomba de calor “Aqua Logic” de 2 Hp programada a 15 ± 1 °C para mantener la temperatura del agua.

Una vez que eclosionaron los alevines, se colocaron en dos jaulas de 95 cm² de área y una profundidad de 57 cm, las cuales fueron instaladas dentro de un tanque de 7000 L con las mismas condiciones de temperatura y salinidad. El alimento proporcionado a los peces fue una dieta formulada (“Silver Cup El Pedregal”, alimento inmunopotenciado) de 1.5 mm, con una composición proximal de 40% de proteína, 12% lípidos, 2.5% fibra, 12.5% ceniza y 12% humedad. Una vez que los peces alcanzaron una talla de 2 g fueron liberados en el tanque, al cual diariamente se le dio mantenimiento para retirar heces y alimento sobrante, además se realizaron mediciones de la temperatura, salinidad y oxígeno disuelto del agua con un multiparámetro YSI Pro 2030, también se determinó la concentración de nitrógeno amoniacal total, nitritos, nitratos y alcalinidad con kits API®. Los peces se mantuvieron en el tanque hasta alcanzar una talla promedio de 49.45 ± 9.79 g.

2.2 Diseño experimental

Los tanques experimentales tuvieron una capacidad de 400 L donde se establecieron las diferentes temperaturas de aclimatación de 16, 19 y 22 °C; cada tratamiento fue por triplicado para un total de nueve tanques. El tiempo de aclimatación tuvo una duración de cinco semanas.

Los tanques estuvieron conectados al sistema de red hidráulico de agua dulce del Departamento de Acuicultura y tuvieron una tasa de recambio de 743.56, 772.37 y 760.16% para los tratamientos de 16, 19 y 22°C respectivamente. Para aumentar la temperatura del agua de los tanques en los tratamientos de 19 y 22°C, se utilizaron calentadores de titanio de 1000 watts conectados a una caja electrónica que controlaba el encendido y apagado del calentador, y en la condición de 16 °C, se utilizó un sistema de enfriamiento de agua con enfriadores Aqualogic DeltaStar.

Un total de 20 truchas seleccionadas aleatoriamente fueron trasladadas a cada tanque experimental, los cuales tuvieron las mismas condiciones ambientales del tanque de mantenimiento. En este ambiente se mantuvieron en acondicionamiento durante una semana para posteriormente iniciar su aclimatación, la cual consistió en aumentar o disminuir 1 °C por día la temperatura del agua hasta alcanzar la condición térmica específica en cada tanque experimental. El alimento suministrado fue la misma dieta que se utilizó durante el acondicionamiento y se proporcionó tres veces al día el 2.5% de su peso (Quintero *et al.*, 2011).

Los parámetros fisicoquímicos fueron medidos diariamente. El oxígeno disuelto en los tanques de cada tratamiento (16, 19 y 22 °C) se mantuvo arriba de 7.8 mg/L, la salinidad en 0.8 ± 0 mg/L en todos los tratamientos y la temperatura en $15.79 \pm 0.29^\circ\text{C}$, $19.21 \pm 0.50^\circ\text{C}$ y 22.04 ± 0.24 °C (Tabla 1). El nitrógeno amoniacal total (NAT) y la concentración de nitritos (NO_2^-) y nitratos (NO_3^-) se midió tres veces por semana con un kit API® (Tabla 1).

Tabla 1. Promedios y desviación estándar de temperatura, salinidad, oxígeno disuelto y saturación de oxígeno del agua en los diferentes tratamientos (16, 19 y 22 °C) durante la aclimatación de la trucha arcoíris.

Tratamiento	Temperatura (°C)	Salinidad (mg/L)	Oxígeno disuelto (mg/L)	Saturación de oxígeno (%)
16 °C	15.79 ± 0.29	0.8 ± 0.0	9.13 ± 0.26	92.44 ± 2.37
19 °C	19.21 ± 0.50	0.8 ± 0.0	8.11 ± 0.36	88.53 ± 3.97
22 °C	22.04 ± 0.24	0.8 ± 0.0	7.84 ± 0.28	88.13 ± 1.86

El agua donde se encontraban los peces, en los diferentes tratamientos (16, 19 y 22 °C) durante el periodo de aclimatación, se mantuvieron por debajo de 0.5 mg/L de nitrógeno amoniacal total (NAT), mientras que los nitritos (NO_2^-) y nitratos (NO_3^-) se mantuvieron en 0.

Al concluir el tiempo de aclimatación, los peces se mantuvieron 24 horas sin alimento para tomar la muestra de sangre de 30 organismos por tratamiento, y para el análisis de ácidos grasos se tomaron seis peces por tratamiento que fueron pesados en una balanza Scout Pro® previo a disectar el musculo.

2.3 Crecimiento

Durante la fase experimental, se determinó la supervivencia, expresada en porcentaje y para evaluar los parámetros de crecimiento, los peces fueron pesados al inicio y al final del experimento. Posteriormente se calculó la ganancia en peso (GP) con la siguiente formula:

$$\text{Ganancia en peso (\%)} = \left(\frac{P_f - P_i}{P_i} \right) \times 100 \quad (1)$$

Donde: Pf = Peso final y Pi = Peso inicial

Para la obtención de la tasa de conversión alimenticia (TCA) se utilizó la siguiente formula:

$$TCA = \left(\frac{PSAO}{GP} \right) \times 100 \quad (2)$$

Donde: PSAO= peso seco del alimento ofrecido, y GP= ganancia en peso de los organismos

Para la obtención de la tasa de crecimiento específico (TCE) se utilizó la siguiente formula:

$$TCE = \left(\frac{\ln P_{final} - \ln P_{inicial}}{t} \right) \times 100 \quad (3)$$

Donde: ln Pfinal= logaritmo natural del peso final, ln Pinicial= logaritmo natural del peso inicial y t= tiempo del experimento

2.4 Hematología

Para llevar a cabo el muestreo, las truchas fueron colocadas en un tanque con una concentración de 60 mg/L de metasulfonato de tricaína (MS-222), una vez que los peces perdieron el equilibrio fueron extraídos y colocados en una charola de plástico, enseguida con papel secante se retiró la humedad del pedúnculo

caudal del pez y posteriormente se limpió con alcohol, inmediatamente se procedió a la toma de muestra de sangre realizando una punción hasta la vena caudal, con una jeringa de 3 cm³ y aguja de 22 x 32 mm. El volumen de sangre colectado por pez fue de aproximadamente 1 ml y la muestra se colocó en un tubo con anticoagulante K₂EDTA (BD Microtainer[®]) para los parámetros hematológicos. La sangre de un segundo pez se puso en un tubo de 1.5 ml marca Eppendorf, que posteriormente se centrifugó a 10,000 RPM en una centrifuga (VWR Galaxy 7D) para separar el suero, el cual fue ultracongelado (-80 °C) para su posterior análisis de química sanguínea.

Los parámetros hematológicos que fueron evaluados son el hematocrito (Hct), recuento de células rojas (RBC por sus siglas en inglés) y blancas (WBC por sus siglas en inglés), diferencial de células blancas, concentración de hemoglobina (Hb), índices eritrocitarios y la amplitud de distribución eritrocitaria.

Para determinación el hematocrito se utilizaron tubos capilares de Microhematocrito (Corning[®]) heparinizados, los cuales se llenaron hasta 3/4 partes con sangre, posteriormente se selló un extremo con plastilina. Los capilares fueron centrifugados por 10 min a 10,000 RPM (5117.1 X·g) en una centrifuga para hematocrito (Adams CT-2900; Clay Adams[®]). Finalmente, los capilares se colocaron en un lector de microhematocrito (Adams A-2970; Clay Adams[®]), para medir la proporción de suero y del paquete celular. Los resultados del Hct fueron expresados en porcentaje (%) del volumen total.

El recuento diferencial de leucocitos se realizó en frotis de sangre teñidos con la metodología Hemacolor. En portaobjetos de vidrio (Corning[®]) limpios y secos, se colocó una gota de sangre en uno de los extremos, extendiendo la muestra con la ayuda del borde de otro portaobjetos colocado con inclinación de 45°, se dejó secar a temperatura ambiente y posteriormente se procedió a fijarlo con metanol por 5 min. El frotis se sumergió en la solución 2 (reactivo color rojo) y 3 (reactivo color azul) del kit Hemacolor[®] por 1 min respectivamente, posteriormente se lavó con agua destilada para retirar los restos de colorante, se dejó secar y se cubrió con un portaobjetos de 24 x 50 mm (Corning[®]) sellado con resina Cytoseal[®]60. Las laminillas se observaron bajo el microscopio Axio Scope A1 (Zeiss[®]), con los objetivos de 63 y 100X, deslizando el frotis para revisar diferentes campos, hasta contar cien células blancas, para determinar la proporción de cada una de ellas (Blaxhall y Daisley, 1973); en el conteo se incluyeron los trombocitos (Tavares *et al.*, 2003).

Para el recuento de células rojas y blancas, la muestra de sangre se mezcló con la solución de Natt-Herrick (1952) en una proporción de 1:200 y se dejó en reposo, posteriormente se colocó una gota de la dilución en un hematocitómetro (Hausser Scientific, Horsham, PA), y se dejó en reposo por aproximadamente 2

min para permitir la sedimentación de las células sanguíneas presentes en la muestra. El hematocitómetro fue colocado en un microscopio Axio Scope A1 (Zeiss®). El conteo de los eritrocitos se realizó en la cuadrícula del centro en las subdivisiones de las cuatro esquinas y en la del centro. En el caso del recuento de los leucocitos, la evaluación se realizó en los cuatro cuadros grandes de las cuatro esquinas en ambos lados de la cámara con el objetivo 40x.

El número de leucocitos y eritrocitos fueron calculados con las siguientes formulas (Quezada, 2012):

$$\text{Número de leucocitos} = \left(\frac{\text{Número de leucocitos contados} \times 10}{8} \right) \times 200 \quad (4)$$

$$\text{Número de eritrocitos} = \left(\frac{\text{Número de eritrocitos contados} \times 10}{0.020} \right) \times 200 \quad (5)$$

La concentración de hemoglobina se midió en el equipo HemoCue® Hb 201+, el cual utiliza una microcubeta que tiene una sección en forma de gota por donde sube la muestra de sangre (10 µl) por capilaridad. La concentración de hemoglobina fue expresada en g/dL.

Para evaluar los índices eritrocitarios se utilizaron las siguientes formulas:

$$\text{Volumen corpuscular medio (VCM)} = \left(\frac{\text{Hematocrito (\%)}}{\text{No. total de eritrocitos}} \right) \times 10 \quad (6)$$

$$\text{Hemoglobina corpuscular media (HCM)} = \left(\frac{\text{Hemoglobina (g/dL)}}{\text{No. total de eritrocitos}} \right) \times 10 \quad (7)$$

$$\text{Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM)} = \left(\frac{\text{Hemoglobina (g/dL)}}{\text{Hematocrito (\%)}} \right) \times 100 \quad (8)$$

$$\text{Amplitud de distribución eritrocitaria (ADE)} = \left(\frac{\text{Desviación estandar del VCM}}{\text{Media del VCM}} \right) \times 100 \quad (9)$$

2.5 Química sanguínea

El suero previamente ultracongelado (-80 °C) se descongeló para analizar las concentraciones de proteínas totales, albumina y de las enzimas aspartato y alanina aminotransferasa.

Para la determinación de las proteínas totales se utilizó el método Biuret. Primero se realizó una curva de calibración haciendo diluciones, se utilizó la solución blanco y la solución calibradora contenida en el Kit Randox TP 245. La curva se obtuvo colocando y midiendo la absorbancia de las siguientes concentraciones de la solución calibradora en los pocillos de la microplaca (BRAND®) de 96 pocillos: 57.92, 28.96, 14.48, 7.24 y 2.62 g/L. Una vez que se realizó la curva de calibración, los datos fueron graficados y posteriormente se obtuvo la regresión lineal, la cual fue utilizada para obtener las concentraciones de las muestras. Después de realizar la curva de calibración, se colocaron 250 µl del reactivo Biuret y 5 µl del suero en los pocillos de la microplaca, enseguida se incubó por 30 min a 25 °C, a una longitud de onda de 546 nm. Una vez obtenida las lecturas de longitud de onda de las muestras, estas fueron sustituidas en la ecuación de la regresión para obtener su valor en concentración.

En la determinación de la albumina se utilizó la metodología del Kit Randox AB 362. Primero se realizó una curva de calibración haciendo diluciones con la solución blanco y solución calibradora contenidas en el Kit. La curva fue obtenida colocando y midiendo la absorbancia de las siguientes concentraciones: 48.10, 24.05, 12.03, 6.01, 3.05 g/L. Después de realizar la curva de calibración se hizo una regresión lineal la cual fue utilizada para obtener las concentraciones de la muestra. Después de realizar la curva de calibración se colocaron 300 µl del reactivo de BCG y 1 µl de suero en los pocillos de la microplaca, la cual se incubó por 10 min a 25 °C y se leyó a una longitud de onda de 578 nm. Posteriormente los valores fueron sustituidos en la ecuación de la regresión para obtener la concentración.

La concentración de globulinas se obtuvo con la diferencia entre proteínas totales y albúmina (Crivellini *et al.*, 2011).

Para determinar la concentración de la enzima aspartato aminotransferasa se utilizaron los reactivos contenidos en el Kit Randox AS1202. En un vial con la Enzima/Coenzima/ α -oxoglutarato se agregaron 2 ml de Tampon/Substrato. El fundamento es que se cataliza la reacción para la formación del piruvato y L-glutamato a partir de L-alanina y 2-oxoglutarato. El piruvato que se forma reacciona inmediatamente con la enzima lactato deshidrogenasa (LDH). Para su lectura en la microplaca se colocaron 200 µl del reactivo y 20 µl de suero en los pocillos de la microplaca. Se incubó por 3 min a 37 °C y se leyó a una longitud de

onda de 340 nm cada minuto durante 3 minutos. Una vez obtenida las lecturas de longitud de onda, los resultados fueron sustituidos en la siguiente formula $UL = 1746 \times \Delta A$ para obtener la concentración en U/L.

En la determinación de la enzima alanina aminotransferasa se utilizaron los reactivos del Kit Randox AL1200. A un vial, con la Enzima/Coenzima/ α -oxoglutarato-2, se le agregaron 2 mL de Tampon/Substrato. El fundamento es la transformación del oxalacetato a malato con la acción de la enzima malato deshidrogenasa (DH). Para su lectura en la microplaca se colocaron 200 μ L del reactivo y 20 μ l de la muestra en los pocillos de la microplaca. Se incubó por 3 min a 37 °C y se leyó a una longitud de onda de 340 nm cada minuto durante 3 min. Una vez obtenida las lecturas de longitud de onda, los resultados fueron sustituidos en la siguiente formula $UI = 1746 \times \Delta A$ para obtener la concentración en U/L.

En la determinación de pH, pCO_2 , pO_2 , Na^+ , Ca^{2+} , K^+ , glucosa y lactato se utilizó el equipo EPOC Host2, en el cual se colocó una tarjeta de análisis directamente en la ranura de inserción de tarjeta del lector. La inyección de la muestra se realizó con una jeringa sin aguja, la cual se colocó en posición vertical, la punta de la jeringa se colocó en el orificio de 4mm de diámetro localizado en la parte inferior y en el centro de la tarjeta de análisis para inyectar la muestra de sangre. Después de 2 min aproximadamente se obtuvieron los resultados de los diferentes parámetros.

Para la determinación de la presión osmótica, la muestra de sangre colocada en el tubo de plástico (marca Eppendorf) se centrifugó a 10,000 RPM en una centrifuga (VWR Galaxy 7D). Después con una micropipeta se colectó el suero sanguíneo, el cual fue separado en otro tubo de plástico de 1.5 mL. Posteriormente, con una micropipeta se tomaron 10 μ l del suero y se colocaron en una platina del osmómetro (Vapor Pressure Osmometer 5600) para su lectura. Los valores fueron expresados en $mmol \cdot kg^{-1}$.

2.6 Composición de ácidos grasos en el musculo de trucha arcoiris

La extracción de los lípidos totales de las muestras del tejido muscular se realizó con base en la metodología desarrollada por Folch *et al.* (1957), modificada por Cequier *et al.* (2008), en la cual se utilizó una solución extractora de diclorometano-metanol (2:1). Posteriormente se homogenizó con vortex durante 2 min y se centrifugó a 3000 rpm por 10 min a 4° C, después la capa superior fue transferida a otro tubo. A la solución se le adicionó 1 ml de agua y 50 μ L de ácido clorhídrico (0.6N HCl), se homogenizó con vortex por 30 segundos y se centrifugó a 3000 rpm por 10 min a 4° C. Después se separó y descarto la fase superior donde se encontraba el agua y se evaporó el solvente en atmósfera de N_2 . Posteriormente

se llevó a cabo la saponificación adicionando una solución 0.3N de KOH metanólica al 90%, después se colocaron en baño maría a 80°C por 60 min, inmediatamente se eliminó la capa de hexano y se acidificó con ácido clorhídrico 0.6N. La metilación se realizó adicionando el reactivo de esterificación trifluoruro de boro en metanol (BF₃/ CH₃ OH) al 14% en baño maría a 60°C por 15 min y se lavó con hexano (Morris, 1986). Posteriormente se evaporó el solvente bajo flujo de nitrógeno gaseoso y fueron almacenadas a -20°C.

Los esterios metilados obtenidos de la reacción de metanólisis fueron disueltos con hexano grado HPLC y se analizaron utilizando un cromatógrafo de gases (Agilent 7890A) equipado con una columna capilar (J&W123-3232 30m x 320µm grosor de película de 0.25µm, Agilent J&W GC columns) y un detector de flama ionizado. El gas transportador fue el nitrógeno a un flujo de 3 mL/min. Se utilizó 1 µL de volumen de inyección, con un Split de 50:1. La temperatura inicial fue de 120°C y después se incrementó a 190°C (9°C/min) y se mantuvo por 7 min. Posteriormente, la temperatura se incrementó a 230 °C a una tasa de 3°C/min. Los ácidos grasos se identificaron comparando con los tiempos de retención de los estándares. Para el cálculo de la concentración de ácidos grasos presentes en las muestras se utilizó el programa ChemStation versión B.04.01 (Agilent, USA) (López, 2014).

2.7 Análisis estadísticos

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software R. Los datos de crecimiento, parámetros sanguíneos y de ácidos grasos que cumplieron con los supuestos de normalidad, independencia y homocedasticidad de varianzas, se analizaron con un ANOVA de una vía ($\alpha = 0.05$), y para conocer la diferencia entre grupos se utilizó una prueba post hoc de Tukey. Para los datos que no cumplieron con los supuestos, se realizó una prueba de Kruskal-Wallis, posteriormente para ver las diferencias entre grupos se utilizó una prueba post hoc de Dunn. El nivel de significancia fue $\alpha = 0.05$.

Capítulo 3. Resultados

3.1 Crecimiento de trucha arcoíris a diferentes temperaturas de aclimatación

Durante el proceso de aclimatación, la supervivencia fue del 100% en todos los tratamientos. No hubo diferencias en el peso final, ganancia en peso y tasa de crecimiento específico de los peces aclimatados a las diferentes temperaturas (Tabla 2). La ganancia en peso se mantuvo en el intervalo de 48.61 a 57.49 %. La tasa de conversión alimenticia estuvo entre 1.39 y 1.67, sin diferencias significativas entre los tratamientos.

Tabla 2. Estadísticas básicas de crecimiento y supervivencia de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) aclimatada a diferentes temperaturas.

	16°C	19°C	22°C
Peso inicial (g)	49.45 ± 9.79	49.45 ± 9.79	49.45 ± 9.79
Peso final (g)	77.88 ± 11.29	75.03 ± 7.57	73.49 ± 10.17
Ganancia en peso (%)	57.49 ± 22.83	51.72 ± 15.31	48.61 ± 20.57
Tasa de conversión alimenticia	1.39 ± 0.67	1.50 ± 0.57	1.67 ± 0.89
Tasa de crecimiento específico	1.27 ± 0.43	1.17 ± 0.30	1.10 ± 0.41
Supervivencia (%)	100	100	100

3.2 Hematología

El número de glóbulos blancos, el hematocrito, la concentración de hemoglobina, la concentración de hemoglobina corpuscular media y la amplitud de distribución eritrocitaria no fueron afectados ($p > 0.05$) por la temperatura de aclimatación (Tabla 3).

El número de glóbulos rojos presentó un aumento significativo ($p = 0.004$) en el tratamiento de 22 °C ($4.16 \pm 1.48 \text{ cel} \times 10^6/\text{mm}^3$) con respecto a los peces de 16 °C ($2.78 \pm 0.82 \text{ cel} \times 10^6/\text{mm}^3$) (Tabla 3). Los valores

del volumen corpuscular medio (VCM) y la hemoglobina corpuscular media (HCM) fueron menores significativamente en el tratamiento de 22 °C con 123.14 ± 44.37 fL ($p = 0.013$) y 29.70 ± 10.94 pg/cel ($p = 0.007$), respectivamente, con respecto al obtenido en los peces aclimatados a 16 °C. En los peces aclimatados a 19 y 22°C, estas respuestas no fueron diferentes significativamente ($p > 0.05$) y los valores estuvieron en el intervalo de 123.14 a 145.6 fL para VCM y en HCM fueron de 29.70 a 35.37 pg/cel respectivamente.

Tabla 3. Promedios y desviación estándar de parámetros hematológicos de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) aclimatadas a diferentes temperaturas. Las letras indican las diferencias significativas entre tratamientos con $\alpha = 0.05$. RBC: glóbulos rojos, WBC: Glóbulos blancos, Hct: Hematocrito, Hb: hemoglobina, VCM: volumen corpuscular medio, HCM: hemoglobina corpuscular media, CHCM: Concentración de hemoglobina corpuscular media, ADE: amplitud de distribución eritrocitaria.

	16°C	19°C	22°C
RBC (cel x 10 ⁶ /mm ³)	2.78 ± 0.82 ^a	3.46 ± 0.92 ^{ab}	4.16 ± 1.48 ^b
WBC (cel x 10 ³ /mm ³)	21.39 ± 3.02	19.54 ± 1.89	19.64 ± 3.36
Hct (%)	45.86 ± 4.18	46.26 ± 3.89	46.06 ± 5.31
Hb (g/dL)	11.22 ± 1.408	11.60 ± 1.084	11.02 ± 0.98
VCM (fL)	176.09 ± 55.51 ^a	145.60 ± 34.96 ^{ab}	123.14 ± 44.37 ^b
HCM (pg/cel)	43.12 ± 13.09 ^a	35.37 ± 7.07 ^{ab}	29.70 ± 10.94 ^b
CHCM (g/dL)	24.77 ± 2.32	24.58 ± 2.15	24.09 ± 1.77
ADE (%)	32.16 ± 5.89	22.52 ± 4.63	26.56 ± 11.30

En el porcentaje de los diferentes tipos de leucocitos, donde se incluyen los linfocitos, neutrófilos, monocitos, basófilo y eosinófilos, así como los trombocitos, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) en los peces de las diferentes temperaturas de aclimatación (Tabla 4).

Tabla 4. Promedios y desviación estándar de leucograma de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) aclimatadas a diferentes temperaturas.

	16°C	19°C	22°C
Linfocitos (%)	67.19 ± 3.84	67.27 ± 2.51	67.56 ± 3.53
Neutrófilos (%)	4.57 ± 2.29	4.72 ± 1.77	5.56 ± 2.59
Monocitos (%)	1.76 ± 0.70	2.09 ± 0.81	2.00 ± 1.19
Basófilos (%)	0.28 ± 0.46	0.36 ± 0.58	0.32 ± 0.47
Eosinófilos (%)	0.14 ± 0.35	0.22 ± 0.42	0.16 ± 0.37
Trombocitos (%)	26.04 ± 3.41	25.31 ± 2.50	24.40 ± 4.07

3.3 Química sanguínea

La presión osmótica, el pH, la presión parcial de CO₂ (pCO₂), la presión parcial de oxígeno (pO₂), la concentración de Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺, glucosa y lactato no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los peces aclimatados a las diferentes temperaturas (Tabla 5). En relación con la presión parcial de oxígeno (pO₂), los resultados obtenidos fueron menores a 5 mmHg debido a que el rango de detección del equipo marca este dato como el valor mínimo de calibración, lo cual explica porque no se encontraron diferencias.

No se presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) en la concentración de proteínas totales, albumina, relación albumina/globulina, ni en la enzima alanina aminotransferasa en los peces aclimatados a las diferentes temperaturas (Tabla 5). Se registró un aumento de la enzima aspartato aminotransferasa (AST) conforme incrementó la temperatura de aclimatación (Figura 2), en donde la menor concentración (10.46 ± 3.43 U/L) se encontró en los peces del tratamiento de 16°C, mientras que la concentración más alta de AST (65.24 ± 10.05 U/L) se registró en los peces de la temperatura de 22°C ($p < 0.001$).

Tabla 5. Promedios y desviación estándar de parámetros de química sanguínea de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) aclimatada a diferentes temperaturas.

	16°C	19°C	22°C
Presión osmótica (mmol•kg ⁻¹)	317.5 ± 6.52	321.03 ± 5.29	322.9 ± 7.27
pH	6.98 ± 0.11	6.89 ± 0.09	6.89 ± 0.14
pCO ₂ (mmHg)	21.59 ± 2.75	20.96 ± 3.05	20.21 ± 2.16
pO ₂ (mmHg)	<5.0 ± 0.0	<5.0 ± 0.0	<5.0 ± 0.0
Na ⁺ (mmol/L)	157.16 ± 2.95	158.5 ± 2.43	160.0 ± 2.79
K ⁺ (mmol/L)	3.70 ± 0.49	3.25 ± 0.22	3.62 ± 0.65
Ca ⁺⁺ (mmol/L)	1.50 ± 0.07	1.46 ± 0.07	1.46 ± 0.05
Lactato (mmol/L)	2.66 ± 0.95	3.47 ± 1.52	3.42 ± 1.50
Glucosa (mg/dL)	128.58 ± 24.71	127.59 ± 36.83	101.91 ± 31.09
Proteínas totales (g/dL)	27.14 ± 5.55	27.71 ± 10.38	29.95 ± 9.01
Albumina (g/dL)	15.62 ± 6.67	16.08 ± 7.01	16.01 ± 7.02
ALB/GLOB(g/dL)	2.24 ± 0.78	2.33 ± 0.94	2.51 ± 1.06
ALT (U/L)	6.01 ± 2.05	8.46 ± 3.69	9.79 ± 3.97

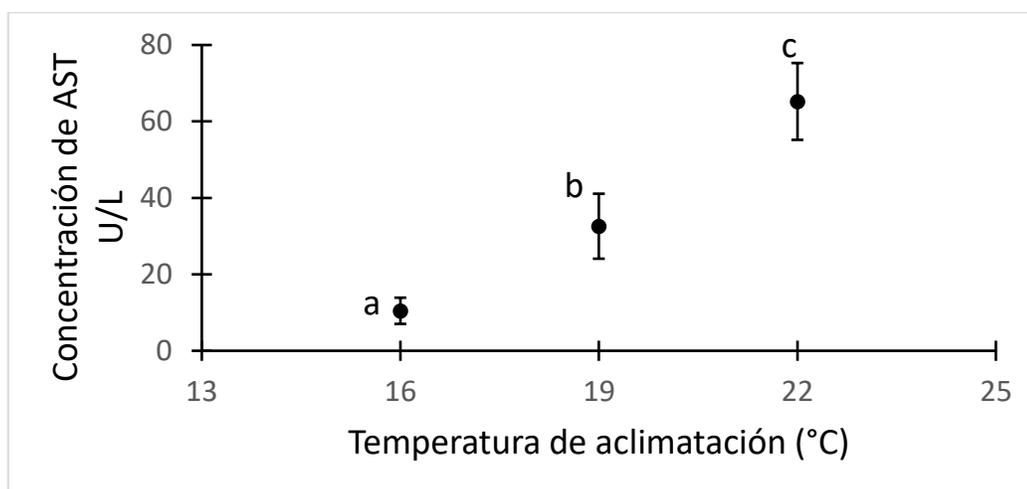


Figura 2. Concentración de la enzima aspartato aminotransferasa (AST) en la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) acclimatada a diferentes temperaturas. Las letras indican las diferencias significativas entre tratamientos con $\alpha = 0.05$.

3.4 Ácidos grasos

Se presentó un aumento en la concentración del ácido heptadecanoico (C17:0) en las truchas del tratamiento de 16 °C con respecto al de 22°C ($p = 0.040$). Así mismo, se determinó un aumento del ácido linolénico (C18:3n3) en el tratamiento de 16 °C (1.25 ± 0.03 %) con respecto al de 22°C (1.15 ± 0.04 %) ($p = 0.024$). En el resto de los ácidos grasos no se encontraron diferencias significativas, ni en las proporciones de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), monoinsaturados (MUFA) y saturados (SFA) (Tabla 6).

Tabla 6. Promedios y desviación estándar de la composición de ácidos grasos de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) acclimatada a diferentes temperaturas. Las letras indican las diferencias significativas entre tratamientos con $\alpha = 0.05$ a>b.

Ácido graso (%)	16°C	19°C	22°C
C12:0	0.05 ± 0.02	0.05 ± 0.01	0.03 ± 0.01
C13:0	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01
C14:0	2.58 ± 0.26	2.59 ± 0.29	2.30 ± 0.16
C14:1	0.06 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.07 ± 0.00
C15:0	0.28 ± 0.02	0.28 ± 0.01	0.27 ± 0.02
C16:0	21.11 ± 0.77	21.44 ± 0.99	21.03 ± 0.57
C16:1	5.79 ± 0.25	5.77 ± 0.15	5.63 ± 0.35
C17:0	0.48 ± 0.04 ^a	0.47 ± 0.03 ^{ab}	0.42 ± 0.03 ^b
C17:1	0.26 ± 0.01	0.25 ± 0.02	0.24 ± 0.01
C18:0	6.16 ± 0.63	6.51 ± 0.60	6.54 ± 0.66
C18:1n9	25.54 ± 1.08	25.66 ± 1.28	26.89 ± 0.55
C18:2n6c	0.14 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.14 ± 0.01
C18:2n6t	14.89 ± 1.18	14.90 ± 0.86	14.96 ± 0.62
C18:3n6	0.51 ± 0.10	0.56 ± 0.02	0.63 ± 0.07
C18:3n3	1.25 ± 0.03 ^a	1.19 ± 0.10 ^{ab}	1.15 ± 0.04 ^b
C20:0	0.19 ± 0.01	0.19 ± 0.01	0.18 ± 0.01

C20:1n9	1.31 ± 0.06	1.25 ± 0.12	1.31 ± 0.13
C20:2	0.77 ± 0.03	0.68 ± 0.07	0.76 ± 0.10
C20:3n6	0.57 ± 0.04	0.56 ± 0.04	0.56 ± 0.06
C20:4n6	1.33 ± 0.27	1.42 ± 0.12	1.40 ± 0.05
C20:5n3	3.98 ± 0.14	3.99 ± 0.34	3.64 ± 0.23
C22:0	0.24 ± 0.02	0.24 ± 0.03	0.21 ± 0.01
C22:2	0.24 ± 0.01	0.24 ± 0.03	0.24 ± 0.01
C22:6n3	1.03 ± 0.11	1.07 ± 0.13	1.02 ± 0.08
C24:0	11.05 ± 0.35	10.28 ± 2.32	10.12 ± 0.80
C20:1	0.19 ± 0.03	0.20 ± 0.07	0.25 ± 0.05
SFA	42.15 ± 1.74	42.07 ± 1.36	41.13 ± 0.95
MUFA	33.15 ± 1.21	33.19 ± 1.29	34.37 ± 0.43
PUFA	24.70 ± 1.20	24.73 ± 1.43	24.50 ± 0.73
DHA/EPA	0.26 ± 0.03	0.26 ± 0.01	0.28 ± 0.01
EPA/ARA	3.11 ± 0.82	2.82 ± 0.19	2.61 ± 0.23

En general, los resultados en las respuestas evaluadas en la trucha arcoíris, muestran que las diferencias se presentaron solamente en las temperaturas extremas del intervalo de aclimatación utilizado en este estudio, es decir, en 16 °C con respecto a 22 °C.

Capítulo 4. Discusión

El proceso de aclimatación térmica en los peces permite que sus procesos fisiológicos se ajusten ante los cambios de temperatura, lo que puede modificar su tolerancia térmica (Angilletta *et al.*, 2002; Lagerspetz, 2006). La aclimatización indica la acumulación de modificaciones que realizan los peces a largo plazo debido a los cambios en su ambiente, como son las variaciones de temperatura, cambios en la salinidad y concentraciones de oxígeno, entre otros factores (Gerlach *et al.*, 1990). Los ajustes que realizan los organismos para compensar los cambios en los factores abióticos involucran respuestas de comportamiento, vías metabólicas, ajuste de hormonas y enzimas, las cuales se producen en diferentes niveles funcionales, desde molecular y celular hasta el organismo (Volkoff y Rønnestad, 2020; Sua-Céspedes *et al.*, 2021). Además, las variaciones de la temperatura pueden tener un efecto en la inmunidad, eficiencia de crecimiento y la reproducción (Chatterjee *et al.*, 2004; Cheng *et al.*, 2013).

El incremento de temperatura acelera el metabolismo del pez, lo cual genera un aumento en la ingesta de alimento (Jobling, 1993; Van Ham *et al.*, 2003), que, a través de una serie de procesos fisiológicos, metabólicos y de comportamiento, resulta en la producción de energía necesaria para mantener en funcionamiento los diversos procesos, entre ellos el crecimiento (Evans, 1999). En el presente estudio los peces fueron alimentados con el 2.4 % de su peso con base en la recomendación de Quintero *et al.*, (2011) para trucha, donde no se observaron diferencias estadísticas entre tratamientos en la ganancia en peso ni en la tasa de conversión alimenticia, lo cual podría deberse a la mayor desviación de los datos de los tratamientos, lo que pudo enmascarar el efecto de la temperatura en estas respuestas.

La relación de la tasa de crecimiento y la temperatura se puede ver afectada por diversos factores, entre ellos se encuentran el régimen de alimentación, donde se incluye tanto la ración como la calidad de los alimentos suministrados. Mishra *et al.* (2021), concluyeron que la temperatura del agua entre 12 y 14 °C fueron consideradas las óptimas para el cultivo de juveniles de trucha arcoíris y que una temperatura más alta (>18 °C) da como resultado un crecimiento lento, reduce el nivel de proteína y aumenta el nivel de mortalidad. Jiang *et al.* (2021), cultivaron trucha arcoíris en un sistema de recirculación durante 4 semanas y las expusieron a tres temperaturas (13, 17 y 21 °C); encontrando que la tasa de crecimiento específica y el consumo de alimento fueron más altos a 17 °C y los más bajos a 21 °C. Janhunen *et al.* (2016), aclimataron a la trucha arcoíris a dos temperaturas (14 y 20 °C) y obtuvieron, en promedio, un menor consumo de alimento, un crecimiento más rápido y una mejor tasa de conversión alimenticia a la temperatura de cultivo de 14 °C. Con base en los resultados de este estudio y los reportados por los autores

antes mencionados, el mejor desempeño de la trucha arcoíris (*O. mykiss*) es en temperaturas menores a 18°C, debido a que se favorece la supervivencia, el crecimiento y la tasa de conversión alimenticia, entre otras respuestas.

En la trucha *Salvelinus alpinus*, Larsson y Berglund (1998), no encontraron diferencias en el crecimiento máximo de los peces por efecto de las temperaturas experimentales (5, 9, 13, 16, 18 y 20 °C) cuando fueron alimentados con pellets comerciales rentables energéticamente. Sin embargo, Elliott y Hurley (1999), observaron que los cambios en la ingesta diaria de energía posiblemente cambien la temperatura óptima para el crecimiento. Se ha demostrado que la trucha arcoíris se desarrolla bien a temperaturas entre 14 °C y 19 °C, y las temperaturas superiores a 20 °C pueden ocasionar una disminución en la tasa de crecimiento (Hokanson *et al.*, 1977; Wurtsbaugh y Davis, 1977; Jobling, 1981; Mäkinen, 1994). En la presente investigación, se utilizó una dieta comercial elaborada para trucha, la cual reúne sus requerimientos nutricionales, sin embargo, tomando en cuenta que las dietas con altos niveles de energía pueden modificar el óptimo térmico de los peces, sería importante evaluar este tipo de dietas en truchas que sean expuestas a temperaturas por arriba de los 19 °C y poder valorar con base en los parámetros productivos, si pudiera ser viable su cultivo en estas condiciones.

Los cambios de temperatura pueden tener un efecto en los parámetros hematológicos en los peces, entre los que se encuentran el número de glóbulos rojos y blancos, el hematocrito, la hemoglobina y los índices eritrocitarios. Estos parámetros sirven como indicadores para evaluar el manejo de la salud de los peces en diferentes condiciones (Chen *et al.*, 2004), lo cual se ha podido observar en algunos parámetros en el perfil sanguíneo de la trucha en este estudio, donde el número de glóbulos rojos aumentó en los peces del tratamiento de 22 °C con respecto al de 16 °C. Esta tendencia se ha observado en otros estudios con trucha, por ejemplo, Docan *et al.* (2011), observaron que las truchas expuestas a una temperatura de 26 °C tuvieron un aumento del número de glóbulos rojos ($1.42 \pm 0.07 \times 10^6/\text{mm}^3$) con respecto a la temperatura de 18 °C ($1.10 \pm 0.15 \times 10^6/\text{mm}^3$), los autores mencionan que la sangre tiene un papel homeostático, por lo cual tiene una relación con los procesos metabólicos, y en ella se pueden asociar los cambios en el organismo por efectos estresantes. Respuestas similares también se han observado con otras especies de agua dulce, como en la carpa común (*Cyprinus carpio*), al presentar un aumento significativo de RBC cuando fue aclimatada a 38 °C, comparado con el tratamiento de 25 °C (Amin y Khan, 2016). La explicación a este incremento en el número de glóbulos rojos conforme aumenta la temperatura del agua, se debe probablemente a que una mayor temperatura ocasiona la disminución en la solubilidad del oxígeno en el agua, lo cual disminuye su disponibilidad para los peces y aumenta el estrés (Cech y Brauner, 2011), principalmente con las temperaturas altas, lo cual aumenta la demanda metabólica ocasionando una

disminución de la absorción del oxígeno por los glóbulos rojos, por lo cual, para compensarlo, se producen una mayor cantidad de estos tipos celulares para aumentar la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre, suministrándolo a los principales órganos (Ruane *et al.*, 1999; De *et al.*, 2019). En el presente estudio, las truchas aclimatadas a 16 y 19 °C, probablemente no se encontraban bajo estrés, debido a que las temperaturas corresponden a las reportadas para la especie como favorables para ciertos procesos fisiológicos, en cambio, la condición de 22°C pudo haber ocasionado un aumento en el metabolismo de las truchas, lo cual se vio reflejado en el incremento de los glóbulos rojos.

Con relación al hematocrito y la concentración de hemoglobina en los peces, no se observaron diferencias entre las tres temperaturas de aclimatación. Estos parámetros hematológicos son utilizados para evaluar el estado fisiológico de los peces en condiciones de estrés (Mc Donald y Milligan, 1997; Wenderlaar Bonga, 1997; Wojtaszek *et al.*, 2002; Fernández y Mazon, 2003), así como de la capacidad para transportar oxígeno del torrente sanguíneo (Shah y Altindag, 2004). Hazel y Prosser (1974), mencionan que existe una correlación directa entre los glóbulos rojos, el hematocrito y la hemoglobina y la temperatura de aclimatación en la trucha arcoíris. Sin embargo, otros autores no han encontrado correlación entre el hematocrito y la temperatura (ej. Denton y Yousef, 1975; Parent y Vellas, 1981). En el presente trabajo, las temperaturas de 19 y 22 °C tuvieron un efecto en algunos parámetros hematológicos (glóbulos rojos, el volumen corpuscular medio y la hemoglobina corpuscular) de la trucha arcoíris, lo que puede indicar que estas temperaturas generan un aumento de la capacidad para transportar el oxígeno en la sangre de esta especie, como un mecanismo para compensar y poder responder ante la situación térmica que experimenta.

En este estudio también se obtuvo una disminución en el volumen corpuscular medio (VCM) y la hemoglobina corpuscular media (HCM) en la temperatura de 22 °C con respecto a los peces aclimatados a 16 °C. Esta tendencia en las respuestas, también se han observado en otros peces de agua dulce como *Garra rufa* en el estudio de Duman y Sahan (2017), en donde reportaron que el VCM y la HCM fueron menores en los peces expuestos a 31.6 ± 1.45 °C con respecto a los organismos que experimentaron 10.3 ± 0.60 °C. El comportamiento de los índices del VCM y HCM en la temperatura de 22 °C, indica un menor tamaño de los glóbulos rojos y la cantidad promedio de hemoglobina en los eritrocitos, por lo cual se podría determinar que no se está transportando suficiente oxígeno al cuerpo. Este mayor requerimiento de concentración de oxígeno ocasiona un aumento en el número de eritrocitos en circulación, como lo han determinado diversos autores (Hazel y Prosser, 1974; Martínez *et al.*, 1994).

La temperatura una vez que supera los límites de tolerancia para una especie en particular, afecta su capacidad inmunológica, por lo cual aumenta su exposición a enfermedades que afectan el crecimiento y la reproducción (Cnaani, 2006). En este estudio no se observó un efecto de la temperatura en el número de glóbulos blancos de las truchas el cual tuvo un intervalo de 19.54 a 21.39 cel x 10³/mm³. En otras especies de peces de agua dulce, se ha documentado un incremento en el número de glóbulos blancos con el aumento de la temperatura del agua (24 a 36 °C) en el bagre rayado (Islam *et al.*, 2019) y en la carpa común (Ahmad *et al.*, 2011) cuando se mantuvieron durante un mes en esas condiciones térmicas (20 a 32 °C). Sin embargo, se debe resaltar que estas especies son euritérmicas, es decir, que su tolerancia a la temperatura es más amplia, por ello pueden tolerar condiciones por arriba de los 23 °C, comparado con la trucha que es una especie de agua fría.

En los estudios mencionados anteriormente, la diferencia térmica que utilizaron los autores es de 12°C, sin embargo, con la trucha arcoíris se trabajó un intervalo de 6°C (16 a 22°C), lo cual probablemente indique que los mecanismos de compensación que utilizan los peces mantuvieron la concentración de células blancas dentro del valor basal, debido a que no se observaron signos de estrés o la posible presencia de un cuadro patológico que ocasionara un cambio en el número de estas células. El hecho de que el número de células blancas no fuera afectado por la temperatura, también se pudo verificar con el diferencial de leucocitos (linfocitos, neutrófilos, monocitos, basófilos, y eosinófilos) en las truchas aclimatadas a las diferentes temperaturas. Esta respuesta indicó que la exposición a diferentes temperaturas no ocasionó una reacción de defensa en el organismo. A diferencia del presente estudio, Mofizur Rahman *et al.* (2019), determinaron un aumento de neutrófilos y disminución de linfocitos en *Epinephelus akaara*, aclimatado a las temperaturas más altas (31 y 34 °C), lo cual indicó la alteración del sistema inmunológico, lo que podría propiciar enfermedades en el pez cuando es expuesto a estrés térmico. En *Pangasianodon hypophthalmus* expuesto a diferentes temperaturas de aclimatación (25, 28, 31 y 34 °C) durante seis semanas, se documentó un aumento en el número de neutrófilos y una disminución en el número de linfocitos debido al estrés térmico (Shahjahan *et al.*, 2018). Los neutrófilos son las células que se relacionan con los mecanismos de defensa inespecíficos, donde actúan ante la presencia de materiales extraños, y no contra antígenos específicos, donde destruyen a las partículas extrañas por fagocitosis o respuesta citotóxica y con una respuesta inflamatoria. En el caso de los eosinófilos y basófilos, su presencia está relacionada con las enfermedades inflamatorias o parasitarias, estas células en peces sanos están presentes en baja cantidad o en ciertos casos no están presentes (Fernández *et al.*, 2002). En el presente estudio, se elaboró el leucograma para trucha arcoíris en el intervalo de temperaturas de 16 a 22 °C, y debido a que no se encontraron diferencias en los diferentes tipos de leucocitos, esta información podría ser utilizada para establecer valores basales en la trucha para

el intervalo térmico utilizado, constituyendo uno de los primeros estudios que reporta el perfil hemático y el leucograma completo para la especie.

Existen diferentes mecanismos bioquímicos que por variaciones en la temperatura pueden modificar los parámetros de la química sanguínea (Adeyemo *et al.*, 2003; Subhadra *et al.*, 2006). En el presente estudio, la concentración de Sodio (Na^+), Potasio (K^+), Calcio (Ca^{2+}) y la presión osmótica de los peces no fueron afectadas por las temperaturas de aclimatación. Resultados similares se han observado en diversos trabajos, por ejemplo, Adeyemo *et al.* (2003), en *Clarias gariepinus* aclimatadas a cuatro temperaturas (29, 23, 35 y 41 °C), establecieron que la concentración de HCO_3^- , Na^+ , K^+ y Cl^- eran independientes de la temperatura. En *Pangasianodon hypophthalmus* expuesto a seis temperaturas (24, 27, 30, 32, 34 y 36 °C) no se encontraron diferencias en la presión osmótica de los peces (Trong, 2015). En el caso de la concentración de gases, Bockus *et al.* (2021), realizaron un estudio con trucha arcoíris en el cual trabajaron con dos tratamientos (15 y 18 °C), donde determinaron que la pCO_2 , fue menor en los peces a 18 °C que en los acondicionados a 15 °C. En el presente trabajo no se encontraron diferencias significativas en la concentración de gases (pO_2 y pCO_2). Es importante resaltar que la pO_2 en sangre de los peces, se determinó con un equipo el cual tiene un límite de medición que no permitió conocer la concentración exacta de este parámetro, por lo cual se propone medir esta respuesta de forma más exacta en los próximos estudios que se realicen, por ejemplo, con un medidor de oxígeno microx TX3 con un sensor óptico (PSt1), el cual ha sido usado en el salmón del Atlántico (Kristensen *et al.*, 2010).

Con relación al efecto de la temperatura de aclimatación en la química sanguínea de trucha arcoíris, se puede resaltar que, la concentración de glucosa y lactato no fueron afectados por la temperatura, los valores de glucosa se mantuvieron en el intervalo de 101.9 a 128.5 mg/dL y en 2.66 a 3.47 mmol/L para la concentración de lactato. La glucosa se ha utilizado como indicador de estrés en los peces (Pacheco y Santos, 2001), este parámetro al igual que la concentración de lactato pueden verse afectados por la temperatura, debido a que cambios en este factor durante el metabolismo aerobio de los carbohidratos tiene efecto en la cantidad de oxígeno disponible necesario para que se lleve a cabo el metabolismo. También se ha reportado que temperaturas elevadas tienen un efecto en las enzimas relacionadas al metabolismo de carbohidratos, como se ha observado en la disminución de la enzima lactato deshidrogenasa (Johnston y Dunn, 1987; Willmer *et al.*, 2000; Tarifeño, 2004). Por lo anterior, es importante incluir otras variables de la química sanguínea, como la enzima lactato deshidrogenasa y enzimas de estrés oxidativo para complementar la información relacionada con el efecto de la temperatura en la salud de los peces.

Las proteínas totales tampoco mostraron diferencias por efecto de la temperatura y se mantuvieron en el intervalo de 27.1 a 29.9 g/dL. En otros estudios se ha documentado que un aumento de las proteínas totales puede resultar por alteraciones estructurales del hígado, esto disminuye la actividad de las enzimas aminotransferasas, reduce la capacidad de desaminación y afecta el control del equilibrio de líquidos (Coz-Rakovac *et al.*, 2005). Las proteínas se producen principalmente en el hígado, sin embargo, también las producen las células plasmáticas. La proteína más relevante es la albumina (30-50% de la concentración total de proteínas séricas), las otras son conocidas como globulinas (Kaneko, 1997).

Meisner y Hickman (1962), realizaron un estudio con trucha arcoíris expuesta a dos temperaturas (8 y 16 °C), donde determinaron que la relación albúmina/globulina (A/G) fue mayor a 8 °C que a 16 °C. Este cambio resultó de un aumento en la albúmina y una disminución en las globulinas. El hecho de que en el presente estudio no se encontraran diferencias en la concentración de proteínas totales, albumina, globulina y relación A/G podría indicar que no fue necesario un gasto energético adicional por parte de los peces para sintetizar nuevas proteínas y compensar deficiencias fisiológicas. Esto debido a que el intervalo térmico utilizado (16, 19 y 22 °C) se encuentra dentro del límite de tolerancia de la especie, el cual ya ha sido establecido por Huysman *et al.* (2020), donde determinaron que la temperatura letal incipiente superior para esta especie es de 25 °C y la letal superior es de 26 °C. Esto permite entender la capacidad de compensación fisiológica que tiene la trucha arcoíris en las temperaturas a las cuales fueron expuestas en el presente estudio, y por lo cual no se encontraron diferencias en estas respuestas.

En relación con las enzimas aminotransferasas (AST y ALT), su función es relevante en el catabolismo de aminoácidos y son utilizadas para detectar daño hepático (Oruç y Üner, 1999; Poleksic y Karan, 1999; Gholami *et al.*, 2013). En este estudio, se observó que la enzima aspartato aminotransferasa (AST) aumentó en el suero de los peces en relación con el incremento de la temperatura. Esta enzima se encuentra en las mitocondrias y en el citoplasma de las células hepáticas, así como en el riñón, en tejido muscular esquelético, y en menor concentración en otros tejidos, además, es importante en el metabolismo de las proteínas (Center, 1989; LPCV, 2004; Sadauskas-Henrique *et al.*, 2011). La AST se encarga de catalizar la reacción de reordenamiento molecular que incluye a los aminoácidos ligados al ciclo del ácido cítrico en dos puntos (ácidos oxaloacético y cetoglutarico), el cual es el mecanismo más relevante para introducir equivalentes de reducción en las mitocondrias (Urich, 1994).

El incremento en la temperatura puede ocasionar una mayor actividad de la AST, debido a que hay una mayor utilización del producto del ciclo del ácido cítrico para producir energía (ATP), la cual se necesita para otras actividades fisiológicas (Ranjan *et al.*, 2020). En caso de que haya un aumento significativo de

AST con respecto a la alanina aminotransferasa (ALT) se puede deber a una enfermedad renal, falla cardíaca o alteración muscular (Center, 1989). En el presente estudio, la relación positiva de la concentración de AST con respecto a la temperatura podría indicar un mayor requerimiento energético por parte de los peces para realizar sus actividades fisiológicas, más que atribuirle una afectación a nivel renal, cardíaco o una alteración muscular, debido a que la temperatura más alta utilizada estuvo lejos del valor letal incipiente (25°C) reportado para la especie. Además, para poder establecer si existe daño hepático, se debe determinar la concentración de AST junto con otros análisis como la determinación de bilirrubina y ALT (Hastuti *et al.*, 2019) o incluir un análisis histológico. También se ha reportado que cuando el hígado de los peces se encuentra dañado, libera ALT a la sangre aumentando su concentración (Price & Wilson 1995). En este sentido, la concentración de ALT en la trucha arcoíris no fue afectada por la temperatura, por lo cual es probable que el hígado de los peces no estaba dañado. Por lo anterior, es importante poder contar con valores basales de los diferentes parámetros sanguíneos en peces, que permitan establecer las mejores condiciones ambientales, como por ejemplo la temperatura, para poder establecer la condición de salud y de bienestar de los peces en cultivo.

La temperatura no solo afecta los parámetros de crecimiento y la sangre, también incide en la composición de ácidos grasos de la membrana celular, lo que puede tener un efecto en las funciones biológicas y atributos físicos, como la permeabilidad y fluidez de la membrana, el grosor de la membrana y las enzimas relacionadas (Bell *et al.*, 2008; Tocher y Glencross, 2015). Se han realizado estudios previos con trucha arcoíris en donde se ha determinado el efecto de la temperatura en su composición de ácidos grasos. Hazel (1979), transfirió truchas de 20 a 5 ° C y observó que el contenido de ácidos grasos saturados de los fosfolípidos del hígado disminuyó de 28.7 a 25.8%, mientras que los niveles de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) aumentaron de 27.5 a 35.9%. Estos cambios en la composición de la membrana como resultado de la aclimatación al frío se deben a la composición de la cadena acilo en donde se reducen las proporciones de ácidos grasos saturados, incrementa la proporción de ácidos grasos insaturados y la proporción de n-3 y n-6, así como la longitud promedio de la cadena acilo (Hazel, 1984). Por ejemplo, el ácido graso DHA está relacionado con la aclimatación al frío de trucha arcoíris, ya que se ha observado un aumento de este ácido graso en los fosfolípidos mitocondriales (Guderley *et al.*, 1997).

En el presente estudio, del 100% de ácidos grasos identificados en el músculo de la trucha arcoíris, solamente en el C17:0 (ácido heptadecanoico) y el C18:3n3 (ácido linolénico) se encontraron diferencias asociadas a la temperatura de aclimatación. Se observó un aumento del ácido C18:3n3 en el tratamiento de 16 °C con respecto al de 22 °C, lo que podría indicar que al ser un ácido graso de tipo n3 y tener un punto de fusión bajo, su aumento puede deberse a una reestructuración de la bicapa lipídica en la

temperatura más fría. Liu *et al.* (2019), observaron una respuesta similar en *O. mykiss*, debido a que hubo un aumento de este ácido graso en las temperaturas 1, 2, 4, 6 y 8 °C en comparación a los peces que se expusieron a 16 °C, donde se observó un aumento en la concentración de C18:3n3 en relación con la disminución de la temperatura. Este tipo de cambios en la composición de los lípidos de la membrana pueden ser la estrategia para disminuir los efectos de los cambios de temperatura que experimentan los organismos en su ambiente (Farkas *et al.*, 1980) y que permiten que las funciones de transporte y adhesión celular operen eficientemente (Ueda, 1976). En el caso de la aclimatación de peces a temperaturas cálidas, se ha observado una disminución de MUFA y PUFA en los fosfolípidos del músculo en *Perca flavescens* (Fadhlaoui y Couture, 2016). El aumento en los ácidos grasos saturados ayuda a reducir la fluidez de la membrana y compensa los efectos del aumento de temperatura (Hazel, 1995). En el presente estudio, la trucha arcoíris no modificó la proporción de ácidos grasos en la composición de la membrana en temperaturas de 16, 19 y 22 °C, sin embargo, estudios previos muestran que es capaz de modificar esta composición cuando las temperaturas son más bajas, como lo determinó Hazel (1979), cuando transfirió truchas de 20 a 5 °C, dado que la diferencia térmica fue de 15°C, y los peces experimentaron una temperatura más fría (5°C).

La aclimatación de los peces puede establecerse dentro de un rango de temperatura en el cual tengan la capacidad de adaptarse y poder sobrevivir. La trucha arcoíris tiene un amplio rango de temperatura para establecerse hasta ciertos límites, esto debido a que los salmónidos son considerados animales heterotermes, en el cual su temperatura corporal puede cambiar desde los 6 °C en invierno hasta los 20-22 °C en verano (Calabretti *et al.*, 2003). Los estudios relacionados al intervalo óptimo de temperatura van desde 11.6 °C (McCauley *et al.*, 1977) hasta los 18 °C (Cherry *et al.*, 1975). Estos estudios relacionados a los intervalos de tolerancia de temperatura se ven reflejados en el presente estudio, debido a que la trucha fue capaz de mantener parámetros de crecimiento, hematología, química sanguínea y ácidos grasos estables, al no encontrar diferencias en la gran mayoría de estas respuestas evaluadas. Los resultados obtenidos indican que esta especie tiene la capacidad de aclimatarse a temperaturas de 19 y 22 °C, sin exponerse a grandes cambios fisiológicos, debido a que está por debajo de su temperatura letal. Además, con base en las respuestas evaluadas, el hemograma, el leucograma y la química sanguínea de la trucha arcoíris podrían constituir los valores basales de la especie, debido a que la mayoría de las respuestas no fueron afectadas por el intervalo térmico (16 a 22°C) utilizado en esta investigación. Por lo anterior, es importante resaltar que es el primer estudio que integra la mayor información en cuanto a las respuestas sanguíneas de la especie y que permiten conocer su estado de salud, debido a que en las observaciones de la morfología externa de los peces no se registró la presencia de bacterias.

Capítulo 5. Conclusiones

Los valores de parámetros hematológicos, química sanguínea y composición de ácidos grasos de la trucha arcoíris fueron establecidos para el intervalo de temperaturas de 16 a 22 °C.

La temperatura de aclimatación de 22 °C generó un aumento en el número de glóbulos rojos en la trucha arcoíris, mientras que el volumen corpuscular medio y la hemoglobina corpuscular media disminuyeron en los peces de esta misma condición térmica.

El crecimiento, la concentración de iones en el plasma y la presión de gases en sangre en la trucha aclimatada a las temperaturas de 16, 19 y 22 °C, no fueron afectados por este factor.

La concentración de la enzima aspartato aminotransferasa en el suero de las truchas incrementó en relación con el aumento de la temperatura de aclimatación, lo que podría indicar un mayor requerimiento energético por parte de los peces.

Las proporciones de ácidos grasos saturados e insaturados no se vieron afectados por las temperaturas de aclimatación de 16, 19 y 22 °C, sin embargo, se observó un aumento de los ácidos grasos C17:0 y C18:3n3 en las truchas en la condición de 16 °C con respecto a la de 22 °C.

El hemograma, el leucograma y la química sanguínea de la trucha arcoíris podrían constituir los valores basales para la especie en el intervalo térmico utilizado, debido a que la mayoría de las respuestas no fueron afectadas por este factor.

Literatura citada

- Abbas, R., Munawar, S., Manzoor, Z., Iqba, Z., Khan, M., Saleemi, M., Zia, M. y, Yousaf, A. 2011. Anticoccidial effects of acetic acid on performance and pathogenic parameters in broiler chickens challenged with *Eimeria tenella*. *Pesq. Vet. Bras*; 31(2):99-103.
- Abdel-Fattah, S., El-Sanhoury, M., El-Mednay NM, Abdel-Azeem F. 2008. Thyroid activity, some blood constituents, organs morphology and performance of broiler chicks fed supplemental organic acids. *Int. J. Poult Sci*; 7(2):215-222.
- Abreu, J., Takahashi, L., Hoshihara, M. y Urbinati, E. 2009. Biological indicators of stress in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) after capture. *Braz. J. Biol.* 69(2): 415-421.
- Adams, S. 1990. Status and use of biological indicators for evaluating the effects of stress on fish. *American Fisheries Society Symposium Series*, 8(1): 1–8.
- Adeyemo, O., Agbede, S., Olaniyan, A. y Shoaga, O. 2003. The haematological response of *Clarias gariepinus* to changes in acclimation temperature. *African Journal of Biomedical Research*, 6(2).
- Ahmad, S., Shah, F., Bhat, F., Bhat, J. y Balkhi, M. 2011. Thermal adaptability and disease association in common carp *Cyprinus carpio* communis acclimated to different (four) temperatures. *J. Therm. Biol.* 36:492–497.
- Akinrotimi O. 2006. Effects of Acclimation on Haematological Parameters of *S. melanotheron*. PGD project. Port-Harcourt: Rives State University of Science and Technology.
- Amin, S. y Khan, K. 2016. Effect of different levels of water temperature on blood parameters of common carp (*Cyprinus carpio*). *Res. Opin. Anim. Vet. Sci.*, 6(6): 178-180.
- Angilletta, M., Niewiarowski, P. y Navas, C. 2002. The evolution of thermal physiology in ectotherms. *Journal of Thermal Biology*. 27:249–268.
- Azaza, M., Dhraïef, M., Y Kraïem, M. 2008. Effects of water temperature on growth and sex ratio of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) reared in geothermal waters in southern Tunisia. *Journal of Thermal Biology*, 33(2), 98–105. doi:10.1016/j.jtherbio.2007.05.007
- Bell, M., Henderson, R., y Sargent, J., 2008. The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish. *Aquaculture*, 280 (4): 21-34.
- Blanco, C. 1999. La trucha cría industrial. Ediciones Mundi-Presa. Madrid, España.
- Blaxhall, P. y Daisley, K.W. 1973. Routine Haematological Methods for Use with Fish Blood. *J. Fish Biol.* 5,771–781.
- Bockus, A. B., Rawles, S. D., Sealey, W. M., Conley, Z. B., y Gaylord, T. G. 2021. Effects of elevated temperature and dietary additives Thermal Care™, Bio-Mos®, and GroBiotic® A on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) performance. *Aquaculture*, 544, 737084. doi:10.1016/j.aquaculture.2021.737084

- Bradford, M. 1979. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein, utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72,248-254.
- Bradbury, I. R., Hubert, S., Higgins, B., Borza, T., Bowman, S., Paterson, I. G., y Bentzen, P. 2010. Parallel adaptive evolution of Atlantic cod on both sides of the Atlantic Ocean in response to temperature. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277, 3725–3734.
- Breyer, J. 1964. The respiratory metabolism and swimming performance of young sockeye salmon. *J. Fisheries Res. Board Can.* 21:1183-1226.
- Brett, J. 1979. Environmental factors and growth. In: *Fish physiology*, vol. VIII. In: Hoar WS, Randall DJ, Brett JR (eds) Academic Press, New York, p 599–675.
- Brett, J. y Blackburn, J. 1981. Oxygen requirements for growth of young coho (*Oncorhynchus kisutch*) and sockeye (*O. nerka*) salmon at 15 °C. *Can. J. Fish Aquat Sci* 38:399–404.
- Buda, C., Dey, I., Balogh, N., Horvath, L., Maderspach, K., Juhasz, M., Yeo, K. y Farkas, T. 1994. Structural order of membranes and composition of phospholipids in fish brain cells during thermal acclimatization. *Proceedings of the National Academy of Sciences* Aug 91 (17) 8234-8238.
- Byström P., Anderson, A. Kiessling y L-O Eriksson 2006. Size and temperature dependent foraging capacities and metabolism: consequences for winter starvation mortality in fish. *OIKOS* 115: 43-52.
- Calabretti, A., Cateni, F., Procida, G. y Favretto, L. 2003. Influence of environmental temperature on composition of lipids in edible flesh of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) *J. Sci. Food Agric.*, 83, pp. 1493-1498.
- Caldwell, C. A., y Hinshaw, J. 1994. Physiological and hematological responses in rainbow trout subjected to supplemental dissolved oxygen in fish culture. *Aquaculture*, 126(1-2), 183–193. doi:10.1016/0044-8486(94)90259-3
- Campbell, T. 2004. Blood biochemistry in lower vertebrates. In: 55th Annual Meeting of the American College of Veterinary Pathologists (ACVP) & 39th Annual Meeting of the American Society of Clinical Pathology (ASVCP), ACVP and ASVCP (ed).
- Campbell, M. 2008. Characterization of the stress response of red snapper: Connecting individual responses to population dynamics. PhD Thesis. Texas Tech University. USA. 111 pp.
- Carrillo-Farga, J. 2000. Caso misterioso. *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*. 47(3):197.
- Castillo-Vargasmachuca, S., J.T. Ponce-Palafox, G. Rodríguez-Chávez, J.L. Arredondo-Figueroa, E. Chávez-Ortiz y A. Seidavi. 2013. Effects of temperature and salinity on growth and survival of the Pacific red snapper *Lutjanus peru* (Pisces: Lutjanidae) juvenile. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 41: 1013-1018.
- Cech, J. y Brauner, C. 2011. Respiration: An Introduction In: *Encyclopedia of fish physiology: from genome to environment*. Farrell AP (eds) Elsevier, pp. 791–795.
- Center, S. 1989. Pathophysiology and laboratory diagnosis of the liver disease, en textbook of Veterinary Internal Medicine, Filadelfia, 3. a ed. 1241-1478.

- Chatterjee, N., Pal, A., Manush, S., Das, T. y Mukherjee, S. 2004. Thermal tolerance and oxygen consumption of *Labeo rohita* and *Cyprinus carpio* early fingerlings acclimated to three different temperatures. *J. Therm. Biol.* 29:265–270.
- Chen, C., Wooster, G. y Bowser, P. 2004. Comparative blood chemistry and histopathology of tilapia infected with *Vibrio vulnificus* or *Streptococcus iniae* or exposed to carbon tetrachloride, gentamicin or copper sulfate. *Aquaculture*. 239:421–443.
- Cheng, S., Chen, C. y Chen, J. 2013. Salinity and temperature tolerance of brown-marbled grouper *Epinephelus fuscoguttatus*. *Fish Physiol. Biochem.* 39:277–286
- Cherry, D., Dickson, K., y Cairns Jr., J. 1975. Temperatures selected and avoided by fish at various acclimation temperatures. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 32(4), 485–491. doi:10.1139/f75-059.
- Cnaani A. 2006. Genetic perspective on stress response and disease resistance in aquaculture. *Isr. J. Aquaculture- Bamidgeh*. 58:375–383.
- Comba, A., Maestri, D., Berra, M., García, C., Das, U., Eynard, A. y Pasqualini, M. 2010. Effect of ω -3 and ω -9 fatty acid rich oils on lipoxygenases and cyclooxygenases enzymes and on the growth of a mammary adenocarcinoma model. *Lipids Health Dis.*
- Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca. 2018. Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca. Edición 2018. Mazatlán, Sinaloa.
- Congleton, J. y Wagner, T. 2006. Blood-chemistry indicators of nutritional status in juvenile salmonids. *Journal of Fish Biology*, 69(2), 473–490. doi:10.1111/j.1095-8649.2006.01114.x
- Coz-Rakovac, R., Strunjak-Perovic, I., Hacmanjek, M., Lipej, Z. y Sostaric, B. 2005. Blood chemistry and histological properties of wild and cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in the North Adriatic Sea. *Vet. Res. Com.*, 29 (8), pp. 677-687.
- Cuculescu, M., Pearson, T., Hyde, D. y Bowler, K. 1999. Heterothermal acclimation: An experimental paradigm for studying the control of thermal acclimation in crabs. *Proceedings of the National Academy of Sciences* May 96 (11) 6501-6505.
- Corsetto, P., Montorfano, G., Zava, S., Jovenitti, I., Cremona, A., Berra, B. y Rizzo, A. 2011. Effects of n-3 PUFAs on breast cancer cells through their incorporation in plasma membrane. *Lipids Health Dis.*
- Crivelenti, L. Z., Borín, S., Socha, J. J. M. y Mundim, A. V. 2011. Valores bioquímicos séricos de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) en cultivo intensivo. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru*, 22(4), 318–323.
- Cussac, V., Fernández, D., Gómez, S. y López, H. 2009. Fishes of southern South America: a story driven by temperature. *Fish Physiology Biochemistry*. 35:29–42.
- David, M., Shivakumar, R., Mushigeri, S. y Kuri, R. 2005. Blood glucose and glycogen levels as indicators of stress in the freshwater fish, *Labeo rohita* under fenvalerate intoxication. *Journal of Ecotoxicology and Environmental Monitoring*, 15: 1-5.

- De, M., Ghaffar, M. A., Bakar, Y., y Das, S. K. 2016. Effect of temperature and diet on growth and gastric emptying time of the hybrid, *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂. *Aquaculture Reports*, 4, 118–124. doi:10.1016/j.aqrep.2016.08.002
- Denton, J. E., y Yousef, M. K. 1975. Seasonal changes in hematology of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 51(1), 151–153. doi:10.1016/0300-9629(75)90428-4
- Docan, A., Cristea, V. y Dediu, L. 2011. Influence of thermal stress on the hematological profile of *Oncorhynchus mykiss* held in different stocking densities in recirculating aquaculture systems. *Lucrări Științifice - vol. 55, Seria Zootehnie*.
- Duman, S. y Sahan, A. 2017. Determination of some hematological parameters and non-specific immune responses in *Garra rufa* (Heckel, 1843) living in Kangal (Sivas) Balikli Cermik thermal hot spring and Topardıç Stream (Sivas).
- Einum, S., Ratikainen, I., Wright, J., Pelabon, C., Bech, C., Jutfelt, F., Stawski, C. y Burton, T. 2019. How to quantify thermal acclimation capacity? *Global Change Biology*, 25, 1893–1894.
- Elarabany, N., Bahnasawy, M., Edrees, G. y Alkazagli, R. 2017. Effects of Salinity on Some Hematological and Biochemical Parameters in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* Agriculture. *Forestry and Fisheries*. Vol. 6, No. 6, 2017, pp. 200-205. doi: 10.11648/j.aff.20170606.13
- Elliot J.M 1994. *Quantitative ecology and the Brown Trout* Oxford University Press, Oxford.
- Elliott, J. M., y Hurley, M. A. 1995. The Functional Relationship between Body Size and Growth Rate in Fish. *Functional Ecology*, 9(4), 625. doi:10.2307/2390153 Elliott J.M. y Hurley M.A. (1997) A functional model for maximum growth of Atlantic salmon parr, *Salmo salar* from two populations in north-west England. *Functional Ecology*, 11: 592–603.
- Elliott, J.M. y Hurley, M.A., 1999. A new energetics model for brown trout, *Salmo trutta*. *Freshwater Biol.* 42, 235–246.
- Englund G., G. Öhlund, C. Hein y S. Diehl 2011. Temperature dependence of the functional response. *Ecology Letters* 14: 914-921.
- Evans, D. 1998. *The physiology of fishes*. 2a Edicion. Washington, D.C. CRC Press.
- Evans, B. y Claiborne, J. 2006. *The Physiology of Fishes*, 3rd. ed., CRC Press, Boca Raton, Florida, 454 pp.
- Fadhlaoui, M, y Couture, P. 2016. Combined effects of temperature and metal exposure on the fatty acid composition of cell membranes, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in yellow perch (*Perca flavescens*). *Aquatic Toxicology* 180:45-55.
- Farkas, T., Csengeri, I., Majoros, F. y Olah, J. 1978. Metabolism of fatty acids in fish. II. Biosynthesis of fatty acids in relation to diet in the carp, *Cyprinus carpio* Linnaeus 1758. *Aquaculture*, 14: 57-65.
- Farkas, T., Csengeri, I., Majoros, F. y Olah, J. 1980. Metabolism of fatty acids in fish. Combined effect of environmental temperature and diet on formation and deposition of fatty acids in the carp, *Cyprinus carpio* Linnaeus 1758.

- Farkas, T., Dey, I., Buda, C. y Halver, J. 1994. Role of phospholipid molecular species in maintaining lipid membrane structure in response to temperature. *Biophys Chem.* May;50 (1-2):147-55.
- Fazio, F., Faggio, C., Marafioti, S., Torre, A., Sanfilippo, M. y Piccione, G. 2013. Effect of water quality on hematological and biochemical parameters of *Gobiusniger* caught in Faro Lake (Sicily). *Iran. J. Fish. Sci.* 12 (1), 219–231.
- Ferguson, R. M. W., Merrifield, D. L., Harper, G. M., Rawling, M. D., Mustafa, S., Picchiatti, S. y Davies, S. J. 2010. The effect of *Pediococcus acidilactici* on the gut microbiota and immune status of on-growing red tilapia (*Oreochromis niloticus*). *J. Appl. Microbiol.* 109 (3), 851–862.
- Fernández, A. B., de Blas, I. y Ruíz, I. 2002. El sistema inmune de los teleósteos (I): Células y órganos. *Revista AquaTIC*, nº 16, Abril 2002.
- Fernández, M. y Mazon, A. 2003. Environmental pollution and fish gill morphology. In: Val AL, Kappor BG, editors. *Fish Adaptations*. Enfield, NH: Scientific Publishers, Inc; pp. 203–231.
- Fiess, J.C., Kunkel-Patterson, A., Mathias, L., Riley, L.G., Yancey, P.H., Hirano, T. y Grau, E.G. 2007. Effects of environmental salinity and temperature on osmoregulatory ability, organic osmolytes, and plasma hormone profiles in the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 146, 252-264.
- Fry, F.E.J., 1971. The effect of environmental factors on the physiology of fish. In: Hoar, W.S., Randall, D.J. (Eds.), *Fish Physiology*, Vol. 6. Academic Press, New York, pp. 1–98.
- Gadowaski, D. M. y S. M. Caddell, 1991. Effects of temperature on early-life-history stages of California halibut *Paralichthys californicus*. *Fish Bull.*, 89: 567-576.
- Gallego, A. I., Carrillo, R., García, P., Sasso, L., Guerrero, J., García, M., Díaz, D., Fall, C., Burrola, A., White, O., Manjarrez, S., Zepeda, G., Aguilar, M., Legorreta, B. y Sánchez, R. 2007. Programa Maestro, Sistema producto trucha del Estado de México. UAEM. México. 135 pp.
- Garside, E. y Tait, J. 1958. Preferred temperature of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) and its unusual relationship to acclimation temperature. *Can. J. Zool.* 36, 563-567.
- Gerlach, G., Turay, L., Mailik, K., Lida, J., Scutt, A. y Goldspink, G. 1990. The mechanisms of seasonal temperature acclimation in carp: a combined physiological and molecular biology approach. *Am. J. Physiol.* 259, R237–R244.
- Gholami, S., Mirvaghefi, A., Farahmand, H. y Kosari, A. 2013. Effect of a glyphosate-based herbicide in *Cyprinus carpio*: Assessment of acetylcholinesterase activity, hematological responses, and serum biochemical parameters. *Ecotoxicol. Environ Saf* 98: 135-141.
- Golbitz, P. 2000. *Soya and Oilseed Blue Book*, Soyatech, Inc., Bar Harbor, Maine.
- Gopakumar, K. 1975. Fatty acid composition of three species of freshwater fishes. *Central Institute of Fisheries Technology*, Vol 12. N1., 23 pp.
- Grutter, A. y Pankhurst, N. 2000. The effects of capture, handling, confinement and ectoparasite load on plasma levels of cortisol, glucose and lactate in the coral reef fish *Hemigymnus melapterus*. *Journal of Fish Biology.* 57: 391–401.

- Guderley, H., Pierre, J., Couture, P. y Hulbert, A. 1997. Plasticity of the properties of mitochondria from rainbow trout red muscle with seasonal acclimatization. *Fish Physiology and Biochemistry* 16:531-541.
- Hagar, A. y Hazel, J. 1985. Changes in desaturase activity and the fatty acid composition of microsomal membranes from liver tissue of thermally-acclimating rainbow trout. *J. Comp. Physiol., B.* 156(1): 35–42.
- Hal, A. y El-Barbary, M. 2021. Comparative hepcidin gene expression of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) tissues during the therapy of bacterial infections. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*. Volume 47, Issue 4. Pages 409-415. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2021.09.003>.
- Halver, J. 1972. *Fish nutrition*. Academic Press. New York.
- Hastuti, S., Subandiyono, S. y Windarto, S. 2019. Blood performance of jaundice catfish *Clarias gariepinus*. *AACL Bioflux* 12(2):480-489.
- Hazel, J. y Prosser, C. 1974. Molecular mechanisms of temperature compensation in poikilotherms. *Physiol. Rev.* 54:620–627.
- Hazel, J. 1979. The influence of thermal acclimation on membrane lipid composition of rainbow trout liver. *Am. J. Physiol.* 236 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 5): R91-RI01, 1979.
- Hazel, J. R. 1984. Effects of temperature on the structure and metabolism of cell membranes in fish. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 246(4), R460–R470. Doi:10.1152/ajpregu.1984.246.4.r460
- Hazel, J. y Landrey, S. 1988. Time course of thermal adaptation in plasma membranes of trout kidney. I. Headgroup composition. *Am J Physiol.* 255(4 Pt 2): R622-7.
- Hazel, J. y Williams, E. 1990. The role of alterations in membrane lipid composition in enabling physiological adaptation of organisms to their physical environment. *Prog. Lipid Res.* 29(3):167-227.
- Hazel, J., Williams, E., Livermore, R. y Mazingo, N. 1991. Thermal adaptation in biological membranes: functional significance of changes in phospholipid molecular species composition. *Lipids*. Apr;26(4):277-82.
- Hazel, J. 1993. Thermal biology. In: *The Physiology of Fishes*. pp. 427–467. Edited by D.H. Evans. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Hazel J. 1995. Thermal adaptation in biological-membranes - is homeoviscous adaptation the explanation. *Annual Review of Physiology* 57:19-42.
- Haider, G. 1975. Modificaciones hematológicas en peces tratados con diferentes materiales pesados. En: *Trabajos sobre Histopatología de los peces*. Reinchebank-Klinke. Ed. Acricbia. Zaragoza, España, 99 p.
- Hilditch, T. y Williams, P. 1964. *The Chemical Condition of Natural Fat*. Chapman and Hall, London.

- Hokanson, K., Kleiner, C. y Thorslund, T. 1977. Effects of constant temperatures and diel temperature fluctuations on specific growth and mortality rates and yield of juvenile rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. Fish Res. Board Can. 34:639–48.
- Hong, L., Thanh, D., Diem, D., Thanh, N., Bo, F., Wang, T. y Bayley, M. 2020. Effects of temperature on acid–base regulation, gill ventilation and air breathing in the clown knifefish, *Chitala ornate*. Journal of Experimental Biology (2020) 223, jeb216481. doi:10.1242/jeb.216481
- Hontela, A. 1998. Interrenal disfunction in fish from contaminated sites: In vivo and in vitro assessment. Environmental Toxicology and Chemistry 17 (1): 44-48.
- Hosseini, P., Vahabzadeh, H., Sayyadbournani, M., Kazemi, R, y Zamini, A. 2012. Effects of Salinity increase on some Blood factors in juveniles Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). 3; 4 (2):45-56.
- Houde, E. D. 2008. Emerging from Hjort's shadow. Journal of Northwest Atlantic Fishery Science, 41, 53–70.
- Hochachka, P. y Somero, G. 2002. Biochemical Adaptation: Mechanism and process in Physiological Evolution. New York: Oxford University Press.
- Howerton R. 2001. Best management practices for Hawaiian aquaculture. Center for Tropical and Subtropical Aquaculture, Waimanalo, Publication No. 148.
- Huysman, N., Voorhees, J., Krebs, E. and Barnes, M. 2020. Thermal tempering does not impact rainbow trout and brown trout survival. Advances in Bioscience and Biotechnology, 11, 345-353. doi: 10.4236/abb.2020.117024.
- Islam, M., Uddin, M., Uddin, M., y Shahjahan, M. 2019. Temperature changes influenced the growth performance and physiological functions of Thai pangas *Pangasianodon hypophthalmus*. Aquaculture Reports, 13, 100179. doi:10.1016/j.aqrep.2019.100179
- Jackson, P., Reay, J., Scholey, A. y Kennedy, D. 2012. Docosahexaenoic acid rich fish oil modulates the cerebral hemodynamic response to cognitive tasks in healthy young adults. Biological Psychology 89(1):183-90.
- Jafaryan, S., Bivareh, M. y Jafaryan, H. 2020. Comparative survey of some hematological and immunity parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cultured in fresh, saline and brackish waters. Experimental animal Biology, 9(1), 89-101. doi: 10.30473/eab.2020.43864.1672
- Janhunen, M., Koskela, J. y Ninh, N.H. 2016. Thermal sensitivity of growth indicates heritable variation in 1-year-old rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Genet. Sel. Evol. 48, 94. <https://doi.org/10.1186/s12711-016-0272-3>
- Jaramillo-Schadebrodt, N. 2005. Estudio hematológico básico del puye (*Galaxias maculatus*) (Jenyns, 1842) en estado postlarval y adulto. Tesis Lic. Univ. Cat. Temuco. Chile. 86 pp.
- Jiang, X., Dong, S., Liu, R., Huang, M., Dong, K., Ge, J. y Zhou, Y. 2021. Effects of temperature, dissolved oxygen, and their interaction on the growth performance and condition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Thermal Biology, 98, 102928. Doi:10.1016/j.jtherbio.2021.102928

- Jobling, M. 1982. Temperature tolerance and the final preferendum-rapid methods for the assessment of optimum growth temperatures. *J Fish Biol.* 19:439–55.
- Jobling, M. 1993. Bioenergetics: feed intake and energy partitioning. En: Ranking, J. C. & Jensen, F. B. *Fish ecophysiology*. London, Chapman & Hall. pp.1-44.
- Jobling, M. 1995. *Fish bioenergetics*, Chapman and Hall, London.
- Johnson, H., Ragsdale, C., Berry, I. y Shanklin, D. 1963. Temperature-humidity effects including influence of acute heat elimination in feed and water consumption of Holstein cattle. University of Missouri Research Bulletin No. 846.
- Johnston P. y Roots B. 1964. Brain lipid fatty acids and temperature acclimation. *Comp. Biochem. Physiol.* 11, 303-309.
- Johnston A. y Dunn J. 1987. Temperature acclimation and metabolism in ectotherms with particular reference to teleost fish. *Society for Experimental Biology.* 41: 67-93.
- Kamal, T., Johnson, H y Ragsdale, R. 1962. Metabolic reactions during thermal stress (35 to 95 °F) in dairy animals acclimated at 50° and 80 °F. Missouri Agricultural Experimental Station, Research Bulletin No. 785, pp: 1-114.
- Kaneko, J. 1997. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5th ed., Academic Press, San Diego, California.
- Kaneko, J., Harvey, J. y Bruss, M. 2008. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6ed., Waltham, Academic Press; 928 p.
- Kausar, R. y Salim, M. 2006. Effect of water temperature on the growth performance and feed conversion ratio of *Labeo rohita*. *Pakistan Vet. J.*, 26(3): 105-108.
- Keleştemur, G. y Özdemir, Y. 2010. Effect of low oxygen level on some blood parameter levels of fry rainbow trouts (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792). *Journal of Fisheries Sciences*. doi:10.3153/jfscm.2010034
- Kirk, P. 1998. *Encyclopedia of Human Nutrition*. Elsevier, (Second Edition), Pages 198-205. doi:https://doi.org/10.1016/B0-12-226694-3/00118-6.
- Klyachko, O. y Ozernyuk, N. 1998. Functional and structural properties of lactate dehydrogenase form embryos of different fishes”. *Comp. Biochem. Physiol.* 119: 77-80.
- Kristensen, T., Rosseland, B. O., Kiessling, A., Djordevic, B., y Massabau, J. C. 2010. Lack of arterial PO₂ downregulation in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) during long-term normoxia and hyperoxia. *Fish Physiology and Biochemistry*, 36(4), 1087–1095. doi:10.1007/s10695-010-9386-7
- Lagerspetz K. 2006. What is thermal acclimation? *Journal of Thermal Biology.* 31, 332–336.
- Larsson, S. y Berglund, I. 1998. Growth and food consumption of 0+ Arctic charr fed pelleted or natural food at six different temperatures. *J. Fish Biol.* 52, 230–242.
- Leeson, T., Leeson, C. y Paparo, A. 1990. *Texto/Atlas de Histología*. Interamericana McGraw-Hill. México. 195-233 pp.

- Liu, X., He, X., Li, K., Li, J., Xie, J. y Yang, S. 2018. Effect of fasting time and transport temperature on the physiological stress of *Megalobrama amblycephala*. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 392, 052020.
- Liu, C., Dong, S., Zhou, Y., Shi, K., Pan, Z., Sun, D., y Gao, Q. 2019. Temperature-dependent fatty acid composition change of phospholipid in steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) Tissues. Journal of Ocean University of China, 18(2), 519–527.
- LPCV, 2004. Valores de referencia para salmón y trucha en fase de engorda. Boletín de difusión técnica, Valdivia, Chile.
- Lulijwa, R., Young, T., Symonds, J., Walker, S., Delorme, N., y Alfaro, A. 2021. Uncoupling Thermotolerance and Growth Performance in Chinook Salmon: Blood Biochemistry and Immune Capacity. Metabolites 11, 547.
- Martínez, F., García-Riera, M., Canteras, M., De Costa, J. y Zamora, S. 1994. Blood Parameters in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*): Simultaneous Influence of Various Factors Camp. Biochem. Physiol. Vol. 107A, No. 1, pp. 95-100.
- Maule, A., Tripp, R., Kaatari, S. y Schreck C. 1989. Stress alters immune function and disease resistance in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). J. Endocrinol. 120, 135–142. 10.1677/joe.0.1200135
- McCauley, R. y Pond, W. 1971. Temperature Selection of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) Fingerlings in Vertical and Horizontal Gradients. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 28(11), 1801–1804. doi:10.1139/f71-266
- McCauley, R., Elliott, J. y Read, L. 1977. Influence of acclimation temperature on preferred temperature in the rainbow trout *Salmo gairdneri*. Trans. Am. Fish. Soc. 106: 362-365.
- McDonald, G., Milligan, C. 1997. Ionic, osmotic and acid-base regulation in stress. In: Iwama, G., Pickering, A., Sumpter, J., Schreck CB. (Eds.), Fish stress and health in aquaculture. University Press, Cambridge, p.119-144.
- Maceda-Veiga, A., Monroy, M., Viscor, G. y De Sostoa, A. 2010. Changes in non-specific biomarkers in the Mediterranean barbel (*Barbus meridionalis*) exposed to sewage effluents in a Mediterranean stream (Catalonia, NE Spain). Aquat. Toxicol. 100 (3), 229–237.
- Martínez, F., García-Riera, M., Canteras, M., De Costa, J. y Zamora, S. 1994. Blood Parameters in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*): Simultaneous Influence of Various Factors Camp. Biochem. Physiol. Vol. 107A, No. 1, pp. 95-100.
- Martínez-Porchas, M., Martínez-Cordova, R. y Ramos-Enriquez, R. 2009. Dinámica de crecimiento de peces y crustáceos. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria. 10(10). Pp. 16.
- Meisner, H. M., y Hickman Jr., C. P. 1962. Effect of temperature and photoperiod on the serum proteins of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Canadian Journal of Zoology, 40(2), 127–130. doi:10.1139/z62-015

- Mishra, B., Khalid, M. y Labh S. 2021. Assessment of Water Temperature on Growth Performance and Protein Profile of Rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). *J. Aquac. Res. Dev.* 12:585.
- Mofizur Rahman, M., Bae Kim, H., y Ja Baek, H. 2019. Changes in Blood Cell Morphology and Number of Red Spotted Grouper, *Epinephelus akaara* in Response to Thermal Stress. *Development & reproduction*, 23(2), 139–148. <https://doi.org/10.12717/DR.2019.23.2.139>
- Morris, K. 1986. *Techniques of lipidology: isolation, analysis, and identification of lipids*. American Elsevier Pub. Co, Inc. N. Y. 345p.
- Natt M. y Herrick C. 1952. A new blood diluent for counting the erythrocytes and leukocytes of the chicken. *Poult Sci.* 31. 735–738 pp.
- Oruç, E. y Üner, N. 1999. Effects of 2,4-D on some biochemical parameters of protein and carbohydrate metabolisms in the serum, muscle, and liver tissues of *Cyprinus carpio* (L.). *Environ Pollut* 105: 267-272.
- Pacheco, M., y Santos, M. A. 2001. Biotransformation, Endocrine, and Genetic Responses of *Anguilla anguilla* L. to Petroleum Distillate Products and Environmentally Contaminated Waters. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 49(1), 64–75. doi:10.1006/eesa.2000.2025
- Pang, X., Cao, Z., y Fu, S. 2011. The effects of temperature on metabolic interaction between digestion and locomotion in juveniles of three cyprinid fish (*Carassius auratus*, *Cyprinus carpio*, and *Spinibarbus sinensis*). *Comparative Biochemistry and Physiology* 159:253-260.
- Parent J. P. y Vellas F. 1981. Effets de variations thermiques chez la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*, Rich.). *Cahiers Lab. Montereau* 11, 2940.
- Pelletier, D., Blier, P.U., Dutil, J.-D., Guderley, H., 1995. How should enzyme activities be used in fish growth studies? *J. Exp. Biol.* 198, 1493–1497.
- Persson, L., Leonardsson, A. De Roos, M. Gyllenberg, y B. Christensen 1998. Ontogenetic scaling of foraging rates and the dynamics of a size-structured consumer–resource model. *Theoretical Population Biology* 54:270–293.
- Poleksic, V. y Karan, V. 1999. Effects of trifluralin on carp: Biochemical and Histological Evaluation. *Ecotoxcol Environ Saf* 43: 213-221.
- Pörtner H. y Peck M. 2010. Climate change effects on fishes and fisheries: towards a cause and effect understanding. *Journal of Fish Biology.* 77: 1745–1779.
- Price, A. y Wilson, L. 1995. *Pathophysiology: clinical concepts of disease processes*. 4 th ed, EGC, Jakarta, Indonesia, 717 pp.
- Quezada, P. 2012. Efecto dietario del extracto de *Ulva clathrate* sobre parámetros hematológicos, inmunológicos y crecimiento de tilapia (*Oreochromis niloticus*). Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C. Mazatlán, México.
- Quintero, L., Pardo, G. y Quintero, A. 2011. *Manual técnico para la producción de peces de consumo a pequeña escala en el departamento de Cundinamarca*. Universidad Nacional de Colombia sede Bogota, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 100 pp.

- Ranjan, A., Srivastava, P., Jain, K. y Muralidhar, P. 2020. Comparative evaluation of metabolic enzymes activities in different tissues of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878) fingerlings reared at ambient and higher temperature. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 19(2) 893-903.
- Reyes, I., Díaz, F., Re, A. y 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.
- Robertson, J. y Hazel, J. 1995. Cholesterol content of trout plasma membranes varies with acclimation temperature. Am. J. Physiol. 269 (5 Pt 2): R1113-9.
- Rosado-Salazar, M., Dionicio-Acedo, J., Flores-Mego, J., Vásquez, F., Cosio, L., y Aguirre-Velarde, A. 2018. Perfil de ácidos grasos y contenido energético en músculo de juveniles de cabrilla (*Paralabrax humeralis*) acondicionados al cautiverio. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 29(1), 142-150.
- Ruane, N., Wendelaar, Bonga, S. y Balm, P. 1999. Differences between rainbow trout and brown trout in the regulation of the pituitary–interrenal axis and physiological performance during confinement. Gen. Comp. Endocrinol. 115:210–219.
- Sadauskas-Henrique, H., Sakuragui, M., Paulino, M., y Fernandes, M. 2011. Using condition factor and blood variable biomarkers in fish to assess water quality Environ. Monit. Asses., 181 (1–4), pp. 29-42.
- Sadler, J., Wells, R., Pankhurst, P. y Pankhurst, N. 2000. Blood oxygen transport, rheology and hematological responses to confinement stress in diploid and triploid Atlantic salmon, *Salmo salar*. Aquaculture, 184: 349-361.
- Saga, A. y Román, C. 1995. Piscicultura: sus bases, métodos y aplicaciones. Editorial Aebug. Armenia, Colombia. 86p.
- Sanchez, P. 2011. Organización de productores para la producción de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), una estrategia de desarrollo rural en la Sierra Nevada de Puebla. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. México. 148 pp.
- Sardella, B.A., Cooper, J., Gonzalez, R.J. y Brauner, C.J. 2004. The effect of temperatura on juvenile Mozambique tilapia hybrids (*Oreochromis mossambicus* x *O. urolepis hornorum*) exposed to full-strength and hypersaline seawater. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology 137, 621-629.
- Sargent, J., Bell, G., McEvoy, L., Tocher, D. y Estevez, A. 1999. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. Aquaculture 177(1-4), 191-199.
- Sargent, J., Tocher, D. y Bell, J. 2002. The lipids. p. 181-257. In J.E. Halver and R.W. Hardy (Eds.) Fish Nutrition, 3rd Edition, Ch.4, Academic Press, San Diego.
- Shah, S. y Altindag, A 2004. Hematological parameters of tench (*Tinca tinca* L.) after acute and chronic exposure to lethal and sublethal mercury treatment. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 73:911–918.

- Shcherbina, M. A. y O. P. Kazlauskene, 1971. Water temperature and digestibility of nutrient substances by carp. *Hydrobiologia*, 9: 40-44.
- Schmidt-Nielsen, K. 2007. *Animal physiology: Adaptation and environment*. Cambridge University Press. Fifth edition. 7th printing. England.
- Schurmann, H., Steffensen, F. y Lomholt, P. 1991. The influence of hypoxia on the preferred temperature of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* J. exp. Biol. 157, 75-86.
- Shahjahan, M., Uddin, M., Bain, V. y Haque, M. 2018. Increased water temperature altered hemato-biochemical parameters and structure of peripheral erythrocytes in striped *catfish Pangasianodon hypophthalmus*. *Fish Physiol. Biochem.* 44:1309–1318. doi: 10.1007/s10695-018-0522-0.
- Silbergeld, E. 1974. Blood glucose: A sensitive indicator of environmental stress in fish. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 11: 20-25.
- Snyder, R. y Hennessey, T. 2003. Cold tolerance and homeoviscous adaptation in freshwater alewives (*Alosa pseudoharengus*). *Fish Physiology and Biochemistry* 29: 117–126.
- Somero, G.N., E. Dahlhoff y Lin, J.J., 1996. Stenotherms and eurytherms: mechanisms establishing thermal optima and tolerance ranges. In: Johnston, I.A., Bennett, A.F. (Eds.), *Animals and Temperature. Phenotypic and Evolutionary Adaptation*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 53–78.
- Sua-Céspedes, D., Dantas, D., Souto-Neto, A., Gonçalves, O., Moraes, M., de Assis Leonardo, V. y Castrucci, A. 2021. Low Temperature Effect on the Endocrine and Circadian Systems of Adult *Danio rerio*. *Frontiers in Physiology*. Vol. 12.
- Subhadra, B., Lochmann, R., Rawles, S. y Chen, R. 2006. Effect of fish-meal replacement with poultry by-product meal on the growth, tissue composition and hematological parameters of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) fed diets containing different lipids. *Aquaculture*, 260 (1-4), 221–231. doi:10.1016/j.aquaculture.2006.06.029
- Tavares-Dias, M., Schalch, S. y Moraes, F. 2003. Hematological characteristics of Brazilian Teleosts. VII. Parameters of seven species collected in Guariba, São Paulo state, Brazil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 29, 109-115.
- Thomas, P., Pankhurst, N. y Bremner, H. 1999. The effect of stress and exercise on post-mortem biochemistry of Atlantic salmon and rainbow trout. *Journal of Fish Biology*, 54: 1177–1196.
- Tarifeño, E. 2004. Adaptaciones Fisiológicas de Animales Marinos. *Biología marina y oceanología: Conceptos y Procesos*. Capítulo 17: 363-390.
- Tocher, D., y Sargent, J. 1990. Effect of temperature on the incorporation into phospholipid classes and metabolism via desaturation and elongation of n– 3 and n– 6 polyunsaturated fatty acids in fish cells in culture. *Lipids*, 25(8), 435-442.
- Tocher, D. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science*. 11(2):107-184.
- Tocher, D., y Glencross, B., 2015. Lipids and fatty acids. In: *Dietary Nutrients, Additives and Fish Health*. Lee, C., ed., John Wiley & Sons, Inc., USA, 355 pp.

- Tovar, M; Contreras L; Caldas M; Rodríguez, D. y Hurtado, H. 2008. Comparación histológica y morfométrica entre el ojo de *Eremophilus mutisii* (trichomycteridae) y el de *Oncorhynchus mykiss* (salmonidae). Acta Biológica Colombiana. Vol. 13. No. 2, pp. 73- 88.
- Trong, N. 2015. Effects of temperature and salinity on growth performance in cultured tra catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) in Vietnam. Earth, Environmental and Biological Sciences Science and Engineering Faculty Queensland University of Technology Brisbane, Australia.
- Ueda, M. J. 1976) A correlation between membrane fluidity and the critical temperature for cell adhesion. The Journal of Cell Biology, 71(2), 670–674. doi:10.1083/jcb.71.2.670
- Urich, K. 1994. Comparative Animal Biochemistry. Springer, Berlin. pp. 782.
- Valenzuela, A. E., Silva, V. M., y Klempau, A. E. 2007. Effects of different artificial photoperiods and temperatures on haematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish Physiology and Biochemistry, 34(2), 159–167. doi:10.1007/s10695-007-9156-3
- Van Ham, E. H., Berntssen, M. H. G., Imsland, A. K., Parpoura, A. C., Wendelaar Bonga, S. E. y Stefansson, S. O. 2003. The influence of temperature and ration on growth, feed conversion, body composition and nutrient retention of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). Aquaculture, 217(1-4):547-58.
- Vásquez-Torres, W., Hernández-Arevalo, G., Gutiérrez-Espinosa, M. y Yossa, M. 2012. Efecto del nivel de proteína dietaria sobre el crecimiento y parámetros séricos en cachama blanca (*Piaractus brachypomus*). Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 25: 450-461.
- Vasconi, M., Aidos, L., Di Giancamillo, A., Bellagamba, F., Domeneghini, C. y Moretti, V. 2019. Effect of temperature on fatty acid composition and development of unfed Siberian sturgeon (*A. baerii*) larvae. J Appl. Ichthyol. 35:296–302. <https://doi.org/10.1111/jai.13725>
- Volkoff, H., y Rønnestad, I. 2020. Effects of temperature on feeding and digestive processes in fish. Temperature, 7(4), 307–320. doi:10.1080/23328940.2020.1765950
- Wagner, T. y Congleton, J. 2004. Blood chemistry correlates of nutritional condition, tissue damage, and stress in migrating juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 61: 1066–1074.
- Wall, R., Ross, R., Fitzgerald, J. y Stanton, C. 2010. Fatty acids from fish: the anti-inflammatory potential of long-chain omega-3 fatty acids. Nutrition Reviews, 68(5) 280–289.
- Wahli, T. 2002. Approaches to investigate environmental impacts on fish health. Fish Biology 24: 545-552.
- Wedemeyer, G. y Yasutake, W. 1977. Clinical methods for the assessment of the effects of environmental stress on fish health. Tech Pap USFWS no 89.
- Wedemeyer, G., Barton, B. y McLeay, D. 1990. Stress and acclimation. In: Schreck, C. B. & P. B. Moyle (Eds.). Methods for fish biology, American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, pp. 451–489.
- Wendelaar Bonga S. 1997. The stress response in fish. Physiol. Rev. 77: 591-625.
- Werner, E. 1994. Ontogenetic scaling of competitive relations: size-dependent effects and responses in two anuran larvae. Ecology. 75: 197–213.

- Willmer, P., Stone, G. y Johnston, I. 2000. Environmental Physiology of Animals. John Wiley y Stons. Blackwell Publishing, Second edition, 175-121.
- Wojtaszek J, Dziewulska-Szwajkowska D, LozinskaGabska M, Adamowicz A, Dzugaj A. 2002. Hematological effects of high dose of cortisol on the carp (*Cyprinus carpio* L.): cortisol effect on the carp blood. Gen. Comp. Endocrinol. 125: 176-183.
- Yoo, G. y Lee, J. 2016. The effect of feeding frequency, water temperature, and stocking density on the growth of river puffer *Takifugu obscurus* reared in a zero-exchange water system. Fish Aquatic Sci 19, 23. <https://doi.org/10.1186/s41240-016-0024-x>