

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, Baja California).

La investigación fue financiada por el SECIHTI (Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación).

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los 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 de Autor.

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



**Maestría en ciencias
en Acuicultura**

**Evaluación de respuestas fisiológicas en *Totoaba
macdonaldi* alimentada con dietas bajas en ácido
araquidónico**

Tesis

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

Presenta:

Aldo Emmanuel Belmonte Romo

Ensenada, Baja California, México

2025

Tesis defendida por

Aldo Emmanuel Belmonte Romo

y aprobada por el siguiente Comité

Dra. Mónica Hernández Rodríguez

Codirectora de tesis

Dr. Fernando Barreto Curiel

Codirector de tesis

Dr. Benjamín Barón Sevilla

Dr. Helmut Maske Rubach



Dr. Roberto Cruz flores

Coordinador del Posgrado en Acuicultura

Dra. Ana Denise Re Araujo

Directora de Estudios de Posgrado

Resumen de la tesis que presenta **Aldo Emmanuel Belmonte Romo** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Acuicultura.

Evaluación de respuestas fisiológicas en *Totoaba macdonaldi* alimentada con dietas bajas en ácido araquidónico

Resumen aprobado por:

Dra. Mónica Hernández Rodríguez

Codirectora de tesis

Dr. Fernando Barreto Curiel

Codirector de tesis

Actualmente la acuicultura juega un papel importante en la producción de proteína de origen acuático, un ejemplo de ello es la producción de totoaba (*Totoaba macdonaldi*), la cual es una especie de interés en la investigación acuícola, debido a que puede alcanzar longitudes de 2m y pesar hasta 135 kg. Sin embargo, al igual que otras especies de peces marinos requieren de dietas elaboradas con aceite y harina de pescado, insumos que actualmente son escasos. Las investigaciones recientes buscan alternativas para la elaboración de alimentos, una de ellas es la suplementación de ácidos grasos esenciales como el ácido araquidónico (ARA), el cual participa en diferentes procesos fisiológicos de los peces. El objetivo del presente trabajo fue evaluar las respuestas fisiológicas de totoaba alimentada con una dieta control y cinco dietas bajas en ARA. Las dietas contaban con un decremento porcentual de ARA a partir de la harina de pescado sin desgrasar, misma que fue considerada como el control (100%ARA), seguido del 80, 60, 40, 20 y 0% de ARA. En cada tratamiento se utilizaron 45 organismos con un peso promedio de 18 g y una longitud de alrededor de 10 cm; los peces fueron mantenidos en un SRA durante 71 días a 26°C. Los resultados mostraron que el peso/longitud, tasa de conversión alimenticia, tasa de crecimiento específico, tasa de eficiencia proteica, índice hepatosomático, e índice viscerosomático no fueron afectados por los bajos niveles de ARA en la dieta. En la composición bioquímica de los tejidos, el hígado presentó una acumulación lipídica a partir de 80%ARA. En hígado se pudo observar una disminución de ARA, mientras que en el cerebro aumentó, por lo que se hipotetiza una movilización de este ácido graso hacia ese tejido. Se observó una acumulación lipídica en el hígado de los peces en todos los tratamientos, particularmente de ácidos grasos saturados y monoinsaturados. La actividad de las lipasas totales en el hígado no fue afectada por las bajas cantidades de ARA en la dieta, lo cual, en conjunto con los resultados de las diferentes respuestas evaluadas, se podría especular que *T. macdonaldi* posee gran plasticidad fisiológica especie-específica.

Palabras clave: *Totoaba macdonaldi*, crecimiento, ácido araquidónico, ácidos grasos, lipasas

Abstract of the thesis presented by **Aldo Emmanuel Belmonte Romo** as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Aquaculture.

Evaluation of physiological responses in *Totoaba macdonaldi* fed with diets low in arachidonic acid

Abstract approved by:

Dra. Mónica Hernández Rodríguez

Thesis Co-director

Dr. Fernando Barreto Curiel

Thesis Co-director

Currently, aquaculture plays a crucial role in the production of aquatic-derived protein. One example is the cultivation of totoaba (*Totoaba macdonaldi*), a species of great interest in aquaculture research due to its ability to reach lengths of up to 2 meters and weights of up to 135 kg. However, like other marine fish species, totoaba requires diets formulated with fish oil and fishmeal which are currently scarce resources. Recent research is seeking alternatives for the feed formulation, one of which is to add essential fatty acids such as arachidonic acid (ARA), which participates in various physiological processes in fish. The objective of this study was to evaluate the physiological response of Totoaba fed with either a control diet or five diets with different ARA concentrations. The diets included a decreasing percentage of ARA derived from unprocessed fishmeal, with 100% ARA as the control, followed by 80%, 60%, 40%, 20%, and 0% ARA. Each treatment used 45 organisms with an average weight of 18 g and a length of approximately 10 cm. The fish were maintained in a recirculating aquaculture system (RAS) for 71 days at 26°C. The results showed that final weight/length, specific growth rate (SGR), feed conversion efficiency (FCE), protein efficiency ratio (PER), hepatosomatic index (HSI), and viscerosomatic index (VSI) were not affected by low dietary ARA levels. In terms of biochemical tissue composition, the liver exhibited lipid accumulation starting at 80% ARA. ARA levels in the liver decreased, while they increased in the brain, suggesting the mobilization of this fatty acid to the brain. Lipid accumulation was observed in the liver across all treatments, particularly for saturated and monounsaturated fatty acids. The activity of total lipases in the liver was not affected by the lower dietary ARA levels, which, together with the other physiological responses observed, suggests that *T. macdonaldi* exhibits a high degree of species-specific physiological plasticity.

Keywords: *Totoaba macdonaldi*, growth, arachidonic acid, fatty acids, lipases

Dedicatoria

A mis amados padres María del Rocío Romo Muñoz y Félix Belmonte Márquez por ser mi fuente inagotable de amor, apoyo y fortaleza. Gracias por creer en mí incluso en los momentos en que yo dudé, por enseñarme con su ejemplo que el esfuerzo y la perseverancia pueden abrir cualquier camino y por brindarme siempre su confianza y su cariño incondicional.

Esta tesis es el reflejo de todo lo que me han dado, y les dedico cada paso de este logro con profunda gratitud y amor.

Agradecimientos

Al Centro de investigación Científica y Educación Superior de Ensenada Baja California (CICESE) y al Departamento de Acuicultura, por haberme permitido realizar mis estudios de maestría y este proyecto.

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), por otorgarme la beca durante mi estancia en el posgrado.

A la Facultad de Ciencias Marinas de la Universidad Autónoma de Baja California por permitirme realizar la investigación dentro de sus instalaciones de acuicultura.

A la Dra. Mónica Hernández Rodríguez, por su enseñanza y motivación que siempre me mantuvo constante durante la realización de este trabajo. Gracias por dedicarme su tiempo y paciencia durante todo este tiempo, así como también, sus observaciones que me han hecho mejorar tanto en lo científico como en lo personal. La admiro mucho.

Al Dr. Fernando Barreto Curiel por su guía, paciencia y compromiso, no solo durante mi etapa de licenciatura, sino también a lo largo de este camino en la maestría. Su dedicación y apoyo han sido fundamentales en mi formación académica y en mi crecimiento personal. Me faltan palabras para describir lo agradecido que estoy por darme su tiempo y confianza, pero sobre todo abirme las puertas de su hogar y hacerme sentir como en casa.

Al Dr. Benjamín Barón Sevilla, por sus grandes comentarios y observaciones que ayudaron a la complementación de este trabajo. Muchas gracias por aclararme grandes dudas que tuve durante la realización del trabajo. Lo aprecio mucho.

Al Dr. Helmut Maske Rubach, por los comentarios, preguntas y observaciones que me realizó durante la realización de este trabajo.

A los Doctores Conal David True y Mario Alberto Galaviz, quienes en conjunto con su equipo de trabajo me proporcionaron los organismos utilizados en esta investigación y me facilitaron el uso de los sistemas RAS.

A Alondra Nayeli Martínez Franco, por ser mi compañera en este viaje, mi apoyo en los momentos difíciles y mi mayor motivación para seguir adelante. Gracias por tu paciencia infinita, por tus palabras de aliento y por recordarme siempre que soy capaz de alcanzar mis sueños. Esta meta es también tuya, porque cada

logro mío está lleno de la inspiración y fuerza que me das cada día. Así mismo te agradezco el gran apoyo que me brindaste durante la realización de este trabajo.

A la técnico Samantha Victoria Cota, muchas gracias por apoyarme y resolver toodas mis dudas durante la realización de esta investigación, te agradezco el tiempo que me brindaste y la disposición de ayudarme, pero sobre todo agradezco infinitamente tu amistad, que me brindó alegría incluso en los momentos más difíciles a lo largo de la realización de este trabajo. Siempre atesoraré los momentos que pasamos durante mi estancia en el laboratorio, sobre todo el aromatizante olor a vainilla :).

Al técnico Abelardo Campos, por su gran apoyo y disposición para resolver mis dudas y enseñarme a utilizar gran parte de los equipos de laboratorio que fueron utilizados en este trabajo, muchas gracias.

A la M. en C. Lorena Garnica, por su disposición a resolver mis dudas y apoyarme durante la realización de la dieta y los análisis enzimáticos.

Al técnico Luis Murillo Valenzuela, por estar dispuesto a apoyarme cuando lo necesitaba y sobre todo brindarme su ayuda en el muestreo final.

Al Dr. Daniel Badillo Zapata, por su gran disposición a apoyar y estar siempre al pendiente de nuestra estancia en Ensenada. Le agradezco infinitamente todo lo que ha hecho por mí, ya que sin su apoyo nada de esto sería posible.

A la Dra. Ceres Molina, por siempre estar en la mayor disposición de ayudar durante la estancia en el posgrado y en la realización de este trabajo, pero sobre todo muchas gracias por dejarnos formar parte de su hermosa familia junto a Cibeles y José Andrés. Siempre estaré muy agradecido.

Al laboratorio de nutrición de la Facultad de Ciencias Marinas de la UABC, por prestarme su material y espacio para realizar este trabajo.

A mis hermanos Félix Iván Belmonte Romo y Ashley Uriel Belmonte Romo, por ser mi apoyo incondicional durante todo este tiempo y mis guías a lo largo de toda mi vida, pero sobre todo gracias por estar ahí cuando los necesito. Esta tesis también es de ustedes por todo el cariño y apoyo que me han brindado, los quiero mucho hermanos.

Al Dr. Juan Pablo Lazo, por resolver mis dudas y permitirme utilizar el laboratorio de Nutrición Acuícola del Departamento de Acuicultura del CICESE.

A Edgar Alexis López Lucero, por apoyarme en todo lo que necesité durante la realización de este trabajo y su gran disposición a enseñarme. Pero, sobre todo, por brindarme tu amistad y tu tiempo que, para mí,

valen mucho. Gracias por hacer que la estancia en el laboratorio se volviera uno de los mejores momentos, los cuales los atesoraré con cariño. Gracias carnalito.

A Angie, por estar conmigo durante gran parte de la realización de este trabajo, muchas gracias por brindarme tu amistad y apoyarme cuando lo necesitaba. Gracias por aprender junto a mí durante nuestra estancia. Y gracias por los chismecitos matutinos jajaja

Al Dr. Omar Aguillón por siempre resolver mis dudas sobre los ácidos grasos y metodologías que no lograba entender, así como también tu disposición a apoyar durante la realización de este trabajo.

A las asistentes del Departamento de Acuicultura Dalila, Cecilia y Bibiana por brindarme la información pertinente durante mi estancia en el posgrado.

Al Departamento de Acuicultura del CICESE y a sus maestros por los aprendizajes transmitidos durante la estancia en el posgrado.

A mis compañeros del posgrado que me acompañaron a lo largo de este camino que cursamos juntos, les agradezco todos los momentos que vivimos juntos. En especial a Noé y Sergio que siempre han estado ahí para apoyarme. Gracias por su gran amistad.

En general a todos los que me apoyaron y pusieron su granito de arena para que todo esto sea posible, les agradezco infinitamente.

Tabla de contenido

	Página
Resumen en español	ii
Resumen en inglés	iii
Dedicatoria	iv
Agradecimientos	v
Lista de figuras	xi
Lista de tablas.....	xii
Capítulo 1. Introducción.....	1
1.1 Estado actual de la acuicultura mundial	1
1.2 <i>Totoaba macdonaldi</i>	2
1.3 Problemática de la alimentación acuícola	4
1.4 Ácidos grasos como nutrientes esenciales.....	4
1.5 Antecedentes	8
1.6 Justificación	11
1.7 Hipótesis.....	11
1.8 Objetivo general.....	11
1.8.1 Objetivos específicos.....	11
Capítulo 2. Metodología.....	13
2.1 Obtención y aclimatación de los peces	13
2.2 Procesado y desgrasado de la harina	14
2.3 Preparación de las dietas experimentales	14
2.4 Experimentación	15
2.5 Parámetros productivos.....	18

2.6	Muestreo	20
2.7	Composición bioquímica para dietas, músculo, hígado y pez entero.....	20
2.8	Transmetilación y determinación de ácidos grasos para las dietas, músculo, hígado y cerebro	21
2.9	Cuantificación de aminoácidos en las dietas	22
2.10	Cuantificación de actividad de lipasas totales en hígado de <i>Totoaba macdonaldi</i>	22
	2.10.1 Extracción	22
	2.10.2 Cuantificación de actividad de lipasas	23
2.11	Análisis estadístico	23
Capítulo 3. Resultados.....		24
3.1	Supervivencia, crecimiento y parámetros productivos.....	24
	3.1.1 Supervivencia	24
	3.1.2 Ganancia de peso	24
	3.1.3 Parámetros productivos.....	25
3.2	Composición bioquímica.....	25
	3.2.1 Pez completo.....	25
	3.2.2 Músculo	26
	3.2.3 Hígado	26
3.3	Ácidos grasos.....	27
	3.3.1 Cerebro.....	27
	3.3.2 Hígado	28
	3.3.3 Músculo	28
3.4	Lipasas totales	29
Capítulo 4. Discusión		34
4.1	Parámetros productivos.....	34

4.2	Composición bioquímica	35
4.3	Ácidos grasos.....	36
4.4	Lipasas totales	38
Capítulo 5. Conclusiones		40
5.1	Recomendaciones	40
Literatura citada		42

Lista de figuras

Figura	Página
1 Producción mundial de la pesca y la acuicultura (FAO, 2024).....	1
2 Zona de distribución de Totoaba macdonaldi (Tomado de Arvizu & Chávez, 1972).....	3
3 Juvenil de Totoaba macdonaldi.....	3
4 Rutas de biosíntesis de ácidos grasos poliinsaturados desde los precursores C18:2n6 y C18:3n3 (Tomado y modificado de Monroig et al., 2011).	5
5 Ejemplificación de estructuras de ácidos grasos ω -6 y ω -3, araquidónico (ARA) y docosahexanoico (DHA) respectivamente (Tomado y modificado de Cheng et al. 2015).	6
6 Descripción gráfica de las posibles rutas metabólicas del ácido araquidónico liberado por las fosfolipasas de membrana (Tomado y modificado de Wang et al., 2021).	7
7 Sistema de recirculación utilizado en la experimentación en la Facultad de Ciencias Marinas de la UABC. A) Bomba centrífuga, B) Biofiltro C) Bomba de calor, D) Fraccionador de espuma, E) Tanques de compensación, F) Tanques experimentales, G) Lámpara UV.	13
8 Ciclo del proceso de desgrasado de la harina de sardina para la elaboración de las dietas.	14
9 Supervivencia de juveniles de Totoaba macdonaldi alimentada con dietas bajas en ácido araquidónico (100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 0%) durante los 71 días de cultivo	24
10 Actividad enzimática de la lipasas totales en el hígado en juveniles de Totoaba macdonaldi alimentada con dietas bajas en ácido araquidónico (100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 0%) durante los 71 días de cultivo. U= unidades arbitrarias de absorbancia.	29
11 Representación gráfica en mg/g de las ácidos grasos esenciales en las dietas, músculo, hígado y cerebro de juveniles de Totoaba macdonaldi alimentados con concentraciones reducidas de ácido araquidónico en la dieta (80%, 60%, 40%, 20% y 0% del contenido de ARA en la harina de pescado, 100%,) durante los 71 días de cultivo. a) ARA, b) EPA, c) DHA.....	33

Lista de tablas

Tabla	Página
1 Ingredientes y composición bioquímica de las dietas experimentales (g/kg) (100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 0%) proporcionadas a los juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> durante los 71 días de cultivo.	16
2 Perfil de ácidos grasos de las dietas experimentales (mg/g alimento) (100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 0%) proporcionadas a los juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> durante los 71 días de cultivo.	17
3 Perfil de aminoácidos (mg/g alimento) de las dietas bajas en ácido araquidónico (100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 0%) proporcionadas a los juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> durante los 71 días de cultivo.	18
4 Parámetros fisicoquímicos del agua en el bioensayo de alimentación con dietas bajas en ácido araquidónico en <i>T. macdonaldi</i>	18
5 Parámetros productivos de juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> alimentados con dietas bajas en ácido araquidónico (100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 0%) durante los 71 días de cultivo. Media \pm DE.	26
6 Composición bioquímica de pez completo, músculo e hígado en <i>Totoaba macdonaldi</i> alimentadas con dietas bajas en ácido araquidónico (100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 0%) durante los 71 días de cultivo. Media \pm DE.	27
7 Perfil de ácidos grasos en cerebro (mg/g tejido) de <i>Totoaba macdonaldi</i> alimentada con dietas bajas en ácido araquidónico (100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 0%) durante los 71 días de cultivo. Media \pm DE.	30
8 Perfil de ácidos grasos en hígado (mg/g ⁻¹ tejido) de <i>Totoaba macdonaldi</i> alimentada con dietas bajas en ácido araquidónico (100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 0%) durante los 71 días de cultivo. Media \pm DE.	31
9 Perfil de ácidos grasos en músculo (mg/g ⁻¹ tejido) de <i>Totoaba macdonaldi</i> alimentada con dietas bajas en ácido araquidónico (100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 0%) durante los 71 días de cultivo. Media \pm DE.	32

Capítulo 1. Introducción

1.1 Estado actual de la acuicultura mundial

En la actualidad, los sistemas de producción acuícola son ampliamente reconocidos por su contribución a la seguridad alimentaria, esto se debe principalmente a la gran diversidad de especies y aportes nutricionales, lo que vuelve a la acuicultura una solución viable y eficaz para suplir la creciente demanda alimenticia (FAO, 2024). La tendencia creciente de la acuicultura se ha mantenido hasta la actualidad, pues tan solo en el año 2022, la producción acuícola mundial alcanzó la cifra de 130.9 millones de toneladas en peso vivo, lo que representó un aumento significativo con respecto al año 2020 con 122.6 millones de toneladas (Figura 1: *Producción mundial de la pesca y la acuicultura (FAO, 2024).*), además, significó un récord histórico, ya que primera vez la producción acuícola (51%) superó a la pesca de captura (49%) (FAO, 2024).

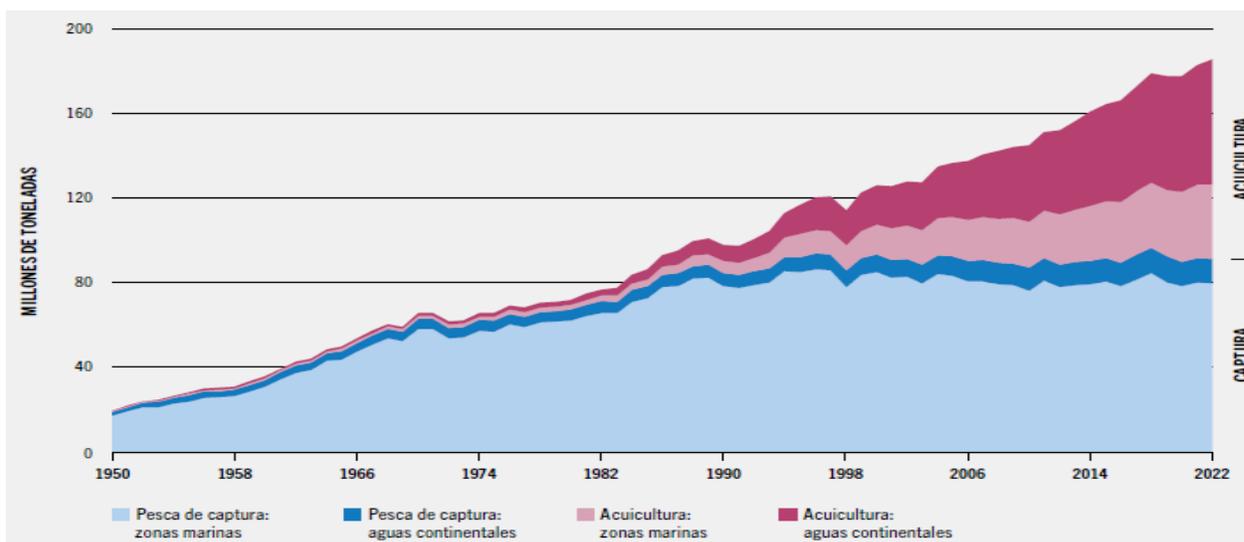


Figura 1: Producción mundial de la pesca y la acuicultura (FAO, 2024).

Aunque la producción mundial acuícola superó a la pesca de captura, esta última continúa utilizándose en gran medida para uso alimentario, sin embargo, no se considera sostenible a largo plazo y, según el informe del estado mundial de la pesca y la acuicultura, esto se debe a la pesca desmedida y el uso insostenible de los recursos pesqueros (FAO, 2024).

En México, el registro más reciente de la producción acuícola fue de alrededor de 351 mil toneladas de

peso vivo en el año 2020, lo que representó el 13% de la producción total en comparación con la pesca, por lo que se observó un aumento significativo en comparación con el año anterior, con una producción de 307 mil toneladas (CONAPESCA, 2021). Estos resultados posicionan a México como uno de los principales productores de productos acuícolas.

En el 2018, la participación en el volumen de producción por maricultura ascendió a 2 millones 159 mil 600 toneladas de peso vivo, específicamente el litoral del Pacífico contribuyó con 87.9% del volumen de producción, mientras que el Golfo de México y el Caribe aportaron 12.1%, sin embargo, la sostenibilidad de esta industria acuícola es una preocupación ambiental, económica y social que depende en gran medida del buen manejo de los organismos en cultivo (Madrid, 2019). En ese mismo sentido los recursos clave para ello son los alimentos acuáticos para especies carnívoras y los ingredientes utilizados en su producción (Rana *et al.*, 2009). Los peces marinos de hábitos carnívoros, como la totoaba, dependen en gran medida del suministro de la harina de pescado, ya que es un ingrediente importante en la formulación de las dietas para estas especies, esto ha generado un aumento importante en la demanda de dicho ingrediente, lo que ha derivado en una gran problemática debido a la producción limitada de harina de pescado de las pesquerías, y a que las capturas se encuentran en sobreexplotación o en el límite máximo sostenible (Madrid, 2019).

1.2 *Totoaba macdonaldi*

En México, la familia de las corvinas (Sciaenidae) es ampliamente conocida por su valor en la industria alimenticia. De manera particular, Nayarit y Sonora son participes en la producción y consumo de estas especies, en el año 2021 produjeron alrededor de 13,412 toneladas de peso vivo (CONAPESCA, 2021). En esta familia se encuentra *Totoaba macdonaldi*, que debido a su pesca desmedida a principios del siglo XX y en 1976 se incluyó en el Apéndice I (especie en peligro de extinción) de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES por sus siglas en inglés). Posteriormente fue protegida por la norma oficial mexicana NOM-024-SEMARNAT-1993 y a partir del año 1994, entró en vigor su protección en aguas mexicanas (Barrera, 1990; Cisneros *et al.*, 1995; True, 2012).

En la actualidad, los programas de cría de totoaba que se llevan a cabo en el noroeste de México, donde se han desarrollado y tecnificado los procesos de reproducción, logrando con éxito la producción de alevines, lo que ha impactado en el desarrollo de su cultivo; gracias a ello en la actualidad está catalogada como vulnerable, lo que a su vez impulsa su exportación a otros países (Pérez *et al.*, 2017).

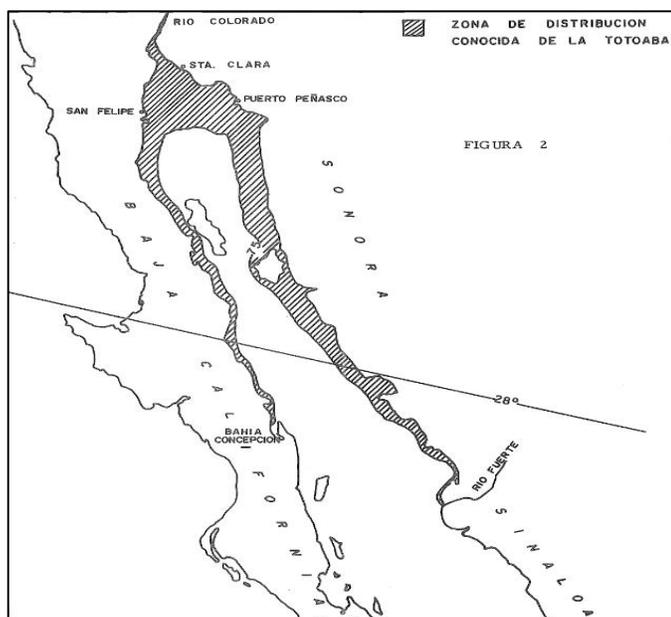


Figura 2: Zona de distribución de *Totoaba macdonaldi* (Tomado de Arvizu & Chávez, 1972).

Totoaba macdonaldi es una especie endémica del Golfo de California, en la costa occidental se distribuye desde la desembocadura del Río Colorado hasta Bahía Concepción, Baja California y en la costa oriental hasta la desembocadura del Río El Fuerte, Sinaloa (Figura 2), lugares donde realiza migraciones continuas y estacionales para la maduración y desove (Cisneros *et al.*, 1995).

Esta especie se caracteriza por que alcanza longitudes de hasta 2 m de largo y 135 kg de peso, por lo que son los Scianidos más grandes de esta familia; por su crecimiento rápido y alta calidad nutricional, totoaba se considera una especie de gran interés para la acuicultura (Figura 3) (Juárez *et al.*, 2016).



Figura 3: Juvenil de *Totoaba macdonaldi*

La totoaba tiene un cuerpo alargado con una boca oblicua grande y una mandíbula inferior proyectada, los juveniles se alimentan principalmente de pequeños crustáceos del fondo y peces más pequeños de la columna de agua, una vez que alcanzan un mayor tamaño, los adultos son uno de los principales peces

depredadores en la parte superior del Mar de Cortés y su dieta incluye sardinas y anchovetas, aunque los crustáceos bentónicos también forman parte de su dieta. (Cisneros *et al.*, 1995; Juárez *et al.*, 2016).

1.3 Problemática de la alimentación acuícola

En la actualidad una de las grandes problemáticas para la acuicultura, es la disponibilidad de alimentos balanceados inertes, para el crecimiento y desarrollo óptimo de los organismos en cultivo. En este sentido, los alimentos con un alto contenido proteico, son dirigidos a especies principalmente carnívoras, como la totoaba, que requiere niveles proteicos del 52%, con un balance adecuado de aminoácidos y un contenido de lípidos específicos para la especie (Wilson, 2002; NRC, 2011; Rueda *et al.*, 2011; Oliva *et al.*, 2015).

Los alimentos para peces se encuentran constituidos principalmente por harina y aceite de pescado, que son obtenidos de la pesca y acuicultura. En el año 2020, alrededor del 86 % de harina y el 73% de aceite de pescado producido se destinó a la elaboración de alimentos formulados para el cultivo de especies carnívoras (FAO, 2022).

El reto para los sistemas de producción acuícola ha sido reducir u optimizar el uso de ingredientes marinos en alimentos balanceados, sin afectar el desempeño y salud de los organismos de cultivo (García-Lozano, 2019). Por lo anterior, es necesario el desarrollo de dietas óptimas que mantengan un bajo impacto ambiental y que resulten costeables para la industria acuícola (FAO, 2024). Los alimentos para peces se deben formular con un balance adecuado de nutrientes, es decir, deben contener los nutrientes que son esenciales para sus necesidades fisiológicas, entre los que destacan los aminoácidos, vitaminas, minerales y ácidos grasos (Hixson, 2014).

1.4 Ácidos grasos como nutrientes esenciales

El aceite de pescado es una fuente de lípidos esenciales para los organismos marinos carnívoros, ya que se considera uno de los ingredientes más nutritivos y digeribles, así como la principal fuente de ácidos grasos omega 3 (ácido eicosapentaenoico [EPA] y ácido docosahexaenoico [DHA]) y 6 (Ácido araquidónico [ARA]) para la elaboración de alimentos balanceados (FAO, 2020).

La estructura básica de los ácidos grasos se caracteriza por tener una cadena larga de carbonos con un grupo carboxilo en un extremo y un grupo metilo en el otro. Se pueden clasificar por la presencia o ausencia de dobles enlaces carbono-carbono, en ácidos grasos saturados (sin dobles enlaces), monoinsaturados (un doble enlace), o poliinsaturados (dos o más dobles enlaces). En este último grupo se pueden encontrar los ácidos grasos esenciales, que reciben su nombre porque no pueden ser sintetizados por los peces marinos. La incapacidad para sintetizar de manera natural estos ácidos grasos se debe principalmente a la falta de complejos enzimáticos conocidos como desaturasas Δ^5 , Δ^6 , Δ^{12} y Δ^{15} , las cuales son necesarias para poder desaturar (introducir dobles enlaces) en la cadena de carbonos de los ácidos grasos, en específico los últimos dos complejos desaturan al ácido oleico (C18:1n9) y lo transforman en linoleico (C18:2n6), y luego en alfa-linoleico (C18:3n3) (Figura 4). En consecuencia, todos aquellos ácidos grasos que dependen de esta ruta metabólica, son considerados como ácidos grasos esenciales, que los peces marinos deben obtener a través de su dieta (Monroig *et al.*, 2011).

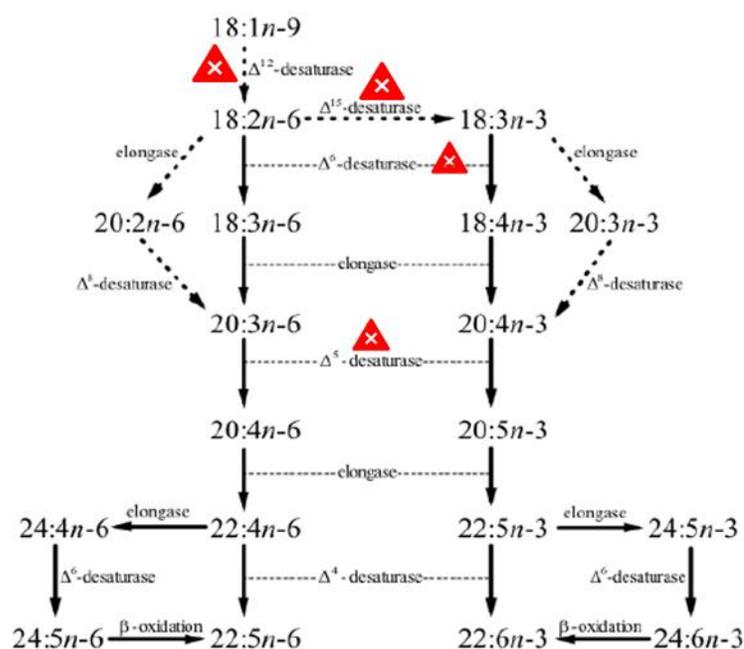


Figura 4: Rutas de biosíntesis de ácidos grasos poliinsaturados desde los precursores C18:2n6 y C18:3n3 (Tomado y modificado de Monroig *et al.*, 2011).

Los ácidos grasos esenciales pertenecen a la familia de los ω -3 y ω -6. Los ácidos grasos ω -3 tienen en común un doble enlace carbono-carbono en la posición ω -3, es decir, la posición en la que se encuentra el primer doble enlace desde el extremo metilo del ácido graso, mientras que los ácidos grasos ω -6 lo tienen en la posición ω -6, es decir, en el sexto enlace desde el extremo metilo del ácido graso (Figura 5) (Kaur *et al.*, 2014; Cheng *et al.*, 2015).

En estas familias de ácidos grasos polinsaturados de cadena larga (LC-PUFA's, por sus siglas en inglés Long chain polyunsaturated fatty acids), se destacan: el ácido araquidónico (ARA-C20:4n6), ácido eicosapentaenoico (EPA-C20:5n3) y el ácido docosahexaenoico (DHA-C22:6n3), los cuales tienen funciones similares en la regulación del crecimiento, metabolismo de lípidos, estructura para la membrana celular e incluso funciones en el sistema inmunológico y en la reproducción (NRC, 2011).

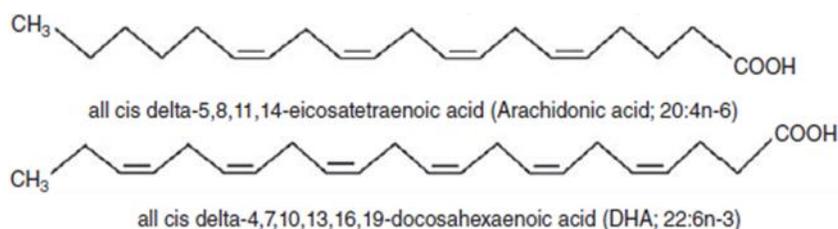


Figura 5: Ejemplificación de estructuras de ácidos grasos ω -6 y ω -3, araquidónico (ARA) y docosahexaenoico (DHA) respectivamente (Tomado y modificado de Cheng *et al.* 2015).

En los estudios relacionados con el ARA, solo se menciona como uno de los componentes de la membrana celular, en una proporción menor si se compara con el EPA y DHA (Torrecillas *et al.*, 2017). Investigaciones recientes han demostrado que el ARA es el principal precursor de moléculas, involucradas directamente en la regulación de varios procesos incluidos la reproducción, crecimiento, desarrollo, la respuesta inmune, e incluso las respuestas al estrés (Kaur *et al.*, 2014; Torrecillas *et al.*, 2017; Khiabani, 2019). Particularmente ARA es el principal responsable de la formación de biomoléculas de gran importancia, como los prostanoides (prostaglandinas y tromboxanos), eicosanoides (Leucotrienos), epoxieicosatrienoides (EET's) y ácidos hidroxieicosatetraenoicos (HETE's), formados por la acción de grupos enzimáticos como las lipooxigenasas (LOX), ciclooxigenasas (COX) y el complejo citocromo P450 (CYP) respectivamente (Figura 6) (Bertram, 2014; Wang *et al.*, 2021). Por ello, el ácido araquidónico es de gran importancia para la acuicultura, ya que puede estar involucrado directamente en el estado de salud de los organismos en cultivo.

Las dietas deben contener niveles adecuados de ARA para mantener el buen funcionamiento cerebral ya que también es un importante regulador de la transmisión neural, tanto en las neuronas como en las células gliales, en las que modula la sensibilidad de los receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) y AMPA (ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropinoico) al glutamato, un importante neurotransmisor. En estos receptores la presencia de ARA promueve o inhibe la apertura de un mayor número de canales, a través de los cuales la acción del glutamato promueve la captación de Na⁺, Ca²⁺ y K⁺, iones que participan

en la comunicación de las neuronas (Eckert *et al.*, 1997; Willmer 1992; Attwell *et al.*, 1993; Barbour *et al.*, 1997; Miller *et al.*, 2004; Mejri *et al.*, 2021).

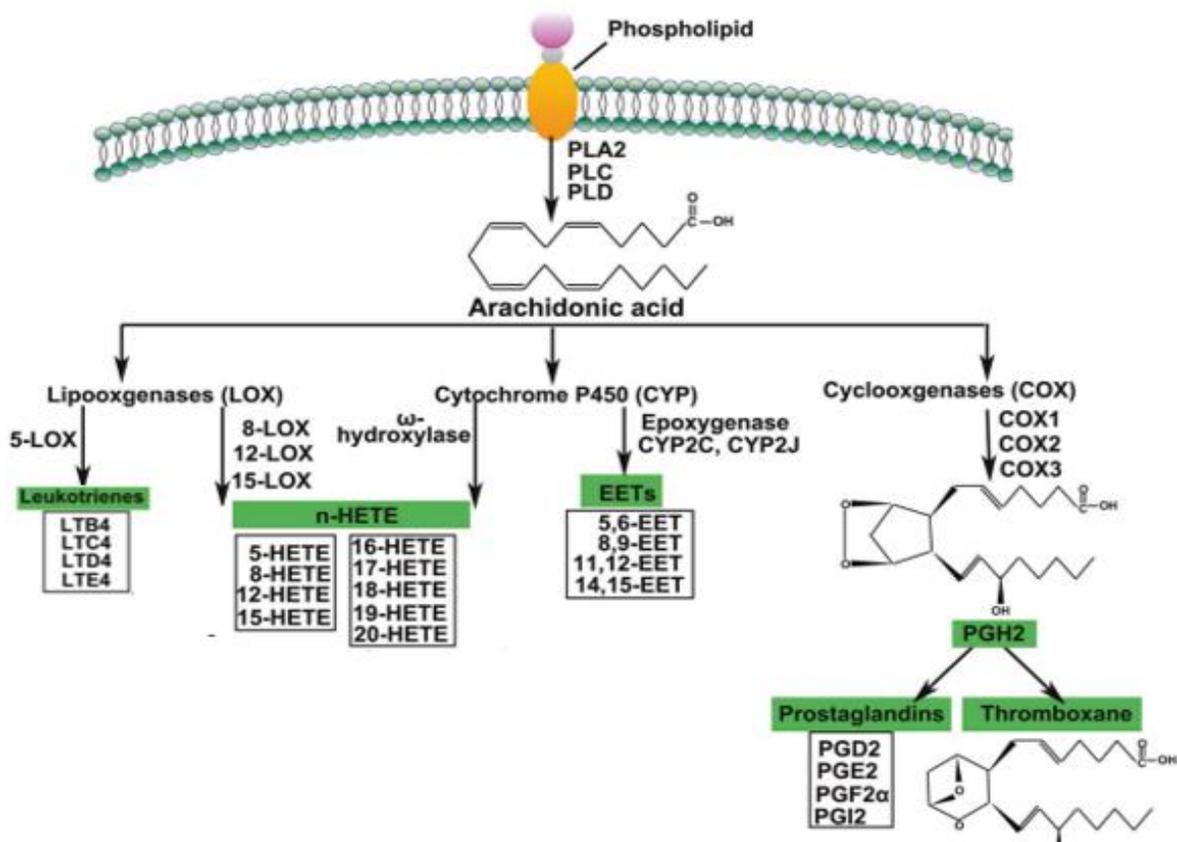


Figura 6: Descripción gráfica de las posibles rutas metabólicas del ácido araquidónico liberado por las fosfolipasas de membrana (Tomado y modificado de Wang *et al.*, 2021).

Las investigaciones relacionadas con fuentes alternativas de lípidos para reemplazar el aceite de pescado se han centrado en la disponibilidad, el precio y la sostenibilidad, dejando a los aceites vegetales como ingredientes alternativos. Se ha demostrado que es posible el reemplazo parcial o total del aceite de pescado en la formulación de dietas para peces marinos, sin afectar negativamente el crecimiento o la salud de los peces, siempre que los ácidos grasos esenciales estén en la proporción necesaria para el organismo (Maldonado *et al.*, 2022). Los aceites vegetales son ricos en ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) n-6 como el ácido linoleico (LOA, 18:2n-6), lo que eventualmente inducirá un cambio en el perfil de ácidos grasos del organismo, por lo tanto, los beneficios nutricionales asociados al consumo de pescado pueden perderse debido a la deficiencia de ω -3. El reto está en que la fuente de lípidos ideal para reemplazar el aceite de pescado, sea rica en ω -3 para influir positivamente tanto en la salud de los peces

y de los humanos, al producir un filete de buena calidad, con una proporción deseable de ácidos grasos ω -3/ ω -6 (González *et al.*, 2016; Maldonado *et al.*, 2022).

1.5 Antecedentes

El ácido araquidónico tiene un papel importante en la salud de los peces, por lo tanto, el aumentar o disminuir su cantidad en las dietas puede ocasionar cambios en distintas respuestas fisiológicas (Ronald, 2021; Yuan *et al.*, 2015).

Bell *et al.* (1995), evaluaron dietas con un contenido en ácido araquidónico que iba del 0.02 al 0.78% en juveniles de rodaballo (*Scophthalmus maximus*). Observaron que el contenido de ARA en los fosfolípidos del hígado fue sustancialmente influenciado por los niveles dietéticos y que también se reflejaron en cambios en la producción de prostaglandinas, las cuales influyen en una amplia gama de procesos fisiológicos importantes para el crecimiento y para la salud general de los peces. Otro ejemplo de los efectos de la incorporación de diferentes niveles de ARA en la dieta, fueron observados por Bell (2003), en un estudio con rodaballos en el que incluyó ARA como único LC-PUFA (0,78 % del peso seco de la dieta). Los resultados indicaron un mayor crecimiento y supervivencia en comparación con cualquiera de las dietas con una mezcla de DHA/ARA o con solamente DHA. Los primeros indicios de que ARA es un ácido graso esencial para el crecimiento y desarrollo normal de rodaballos en etapa juvenil, provinieron de los estudios realizados por estos autores, quienes observaron el menor crecimiento y supervivencia en los organismos que fueron alimentados con la dieta que contenía solamente DHA.

Yuan *et al.* (2015), analizaron las respuestas fisiológicas de las larvas del pez plano *Cynoglossus semilaevis*, producidas por dietas ricas y pobres en ácido araquidónico. Los niveles de inclusión, expresados en porcentaje de peso seco fueron 0.01% como control y 0.39, 0.70, 1.07, 1.42 y 2.86% y correspondían a una sustitución gradual de la palmitina por aceite rico en ARA. Sus resultados sugirieron que una deficiencia o exceso de ARA puede influenciar la expresión de los genes COX-2 y 5-LOX, así como las tasas de supervivencia y crecimiento. Además, el aumento en la actividad de la tripsina en el intestino y páncreas, a una concentración de ARA de 1.07%-1.42% reflejaron un buen desarrollo pancreático cuando ARA es suministrado de manera moderada, mientras que un exceso (2.86%) o deficiencia (0.39%) podrían ocasionar desarrollo tardío del páncreas, esto se debe a que la secreción de la tripsina está regulada por la madurez de este órgano. No obstante, estos requerimientos de ARA varían entre especies. En este mismo sentido, Rezek *et al.* (2010) observaron en larvas de lobina negra (*Centropristis striata*), requieren

cantidades moderadas de ARA para un buen crecimiento, ya que en el análisis de cuerpo completo las larvas acumularon este ácido graso.

Torrecillas *et al.* (2017), evaluaron dietas formuladas que contenían 0.59, 1, 2 y 4% de ARA y observaron que los niveles dietéticos de ARA por debajo del 1% afectaron negativamente el crecimiento de la lobina europea (*Dicentrarchus labrax*), lo que ocasionó una respuesta fisiológica de compensación ante la deficiencia de ARA y provocó la acumulación selectiva de este ácido graso en los leucocitos y en el plasma, que desencadenó modificaciones en los niveles basales de prostaglandinas. Xu *et al.* (2010) observaron una respuesta similar en la lobina japonesa (*Lateolabrax japonicus*), a la que le proporcionaron 0, 0.14, 0.28, 0.56, 1.12 y 2.24% de ARA. Estos autores destacaron que los niveles mayores o menores que el requerimiento basal de ARA, pueden afectar tanto el crecimiento como los niveles de prostaglandinas, aun cuando los requisitos dietéticos de EPA y DHA para los organismos estaban cubiertos.

Araújo *et al.* (2019), llevaron a cabo un experimento nutricional de ocho semanas con el objetivo de evaluar el efecto de diferentes niveles de inclusión de ARA a dos temperaturas (29.5 °C y 26.5 °C) en el rendimiento de los distintos parámetros productivos de la cobia (*Rachycentron canadum*) donde la inclusión fue de 0%, 0.5%, 1.2% y 1.9%. Los autores no encontraron diferencias significativas en el índice hepatosomático y viscerosomático con las distintas inclusiones de ARA a 26.5 °C. Sin embargo, observaron que la inclusión de ARA, ya sea en niveles bajos o altos, mejoró el crecimiento de los juveniles de cobia mantenida a 26.5 °C y 29.5 °C en comparación con una dieta basal con aceite de pescado con un contenido de 6.44% de ARA (sin adición extra). Además, observaron diferencias significativas en los niveles de DHA en los filetes de animales que fueron alimentados con dietas ricas en ARA, lo cual es importante para la producción de peces ricos en este ácido graso.

Rivero *et al.* (2020), evaluaron el efecto de cinco niveles de ARA (ARA0.5 (0.5%), ARA1 (1%), ARA2 (2%), ARA4 (4%) y ARA6 (6%) en la dieta de juveniles de lobina europea (*Dicentrarchus labrax*), con el fin de conocer su efecto en la composición de los distintos tipos de lípidos del intestino distal y como estos cambios afectaron las tasas de translocación bacteriana intestinal y la expresión génica relacionada con el tejido linfóide asociado al intestino. Estos autores llegaron a la conclusión de que el ARA fue selectivamente retenido en los fosfoglicéridos de las células del intestino distal en los organismos alimentados con las dietas con el menor contenido de ARA (0.5%). También se registró la expresión de genes proinflamatorios después de infectarlos con *Vibrio sp.*, lo que evidenció la importancia del ARA. Sin embargo, estas variaciones no fueron suficientes para alterar la morfología del intestino distal o la translocación bacteriana, lo que supuso una funcionalidad relacionada con la preservación de la integridad

del epitelio intestinal y con la actividad inmune del intestino distal, destacando la gran importancia de este ácido graso.

En los juveniles de *Seriola dorsalis* alimentados con diferentes niveles de ARA (0, 0.4, 0.9 y 1.4% del total de ácidos grasos en la dieta), se evaluó el crecimiento, la composición de ácidos grasos del hepatopáncreas y del músculo, la expresión génica de las enzimas acyl-Coa deshidrogenasa de cadena muy larga (acadvl), araquidonato 5-lipoxigenasa (alox5), carnitina O-palmitoiltransferasa 1 (cpt1a), ácido graso elongasa 5 (elvol), ácido graso sintasa (fas), receptor activado por proliferadores de peroxisomas alfa (ppara) y factor de crecimiento insulínico (igf1) y los parámetros sanguíneos (Araújo *et al.*, 2022). Dichos tratamientos no afectaron significativamente la tasa de crecimiento específica, la tasa de conversión alimenticia y el consumo de alimento de los peces. Sin embargo, los diferentes niveles de ARA en las dietas influyeron directamente en los perfiles de ácidos grasos hepáticos y musculares. La expresión relativa de las enzimas alox5, acadvl y cpt1a se vio significativamente afectada por los tratamientos dietéticos, ya que aumentó conforme se incrementaban los niveles de ARA en las distintas dietas. Además, encontraron una reducción significativa en el cortisol y la glucosa en sangre con un nivel de ARA del 0.9% en comparación con los otros tratamientos. El estudio sugirió que con base en el crecimiento, los niveles de cortisol, la expresión génica para la síntesis de eicosanoides y las vías metabólicas de los lípidos, una inclusión máxima del 0.9 % de ARA en las dietas de los juveniles de jurel cola amarilla es adecuada.

En totoaba se han llevado a cabo estudios relacionados con distintos niveles de ácidos grasos. Lazo *et al.* (2020), suplementaron distintos niveles de ácidos grasos de la cadena omega 3 en la dieta de juveniles de *Totoaba macdonaldi* con el objetivo de conocer los niveles adecuados y recomiendan niveles de inclusión del 0.8 y 1% además de continuar el estudio de los requerimientos lipídicos de esta importante especie para la acuicultura comercial en México.

En el estudio realizado por Alvarado (2024) en juveniles de *T. macdonaldi*, se evaluó una concentración de 0.73, 1.28, 1.96 y 2.14 mg/g de ácido araquidónico, superior a la utilizada en otros estudios, sobre los índices biológicos (supervivencia, peso, longitud, TCA, TCE, TEP, IHS, IVS), contenido bioquímico y actividad enzimática. Los resultados mostraron que no hay afectaciones en su fisiología, ya que no se observaron diferencias en los índices biológicos y análisis bioquímicos, por lo que concluyó que esas concentraciones de ARA en la dieta no tuvieron efectos negativos en la totoaba. Ese estudio resalta la importancia de evaluar niveles bajos en ácido araquidónico para conocer el nivel mínimo requerido de este ácido graso.

Por ello el presente trabajo evalúa los efectos fisiológicos de una inclusión baja de ácido araquidónico en la dieta, lo que contribuirá a ajustar los requerimientos nutricionales para el cultivo de esta especie.

1.6 Justificación

La totoaba (*Totoaba macdonaldi*) es una especie carnívora de gran interés comercial para el noroeste de México. Para optimizar su cultivo, es fundamental que su dieta cubra sus requerimientos nutricionales, incluyendo la harina y el aceite de pescado como fuentes indispensables de lípidos esenciales. Sin embargo, debido a la escasez y el alto costo de estos insumos, es necesario determinar los niveles óptimos de distintos ácidos grasos para reducir su uso. En particular, el ácido araquidónico es un nutriente esencial que participa en numerosos procesos fisiológicos, como la regulación enzimática, la transmisión neuronal, la respuesta inmune y los procesos inflamatorios. Por ello, es crucial establecer su requerimiento óptimo en la alimentación de la totoaba.

1.7 Hipótesis

La disminución proporcional de ácido araquidónico en la dieta de *Totoaba macdonaldi* menor al 80% (0.013 mg/g) con respecto a la dieta control, afectará de manera negativa los parámetros productivos, la actividad de lipasas totales y la composición bioquímica de los peces.

1.8 Objetivo general

Evaluar diferentes respuestas fisiológicas en *Totoaba macdonaldi* alimentada con dietas reducidas en ácido araquidónico.

1.8.1 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la inclusión de concentraciones progresivamente menores (80, 60, 40, 20 y 0%) de ácido araquidónico con respecto al contenido de ARA en la harina de pescado (100%), en la dieta de juveniles de *T. macdonaldi* sobre los parámetros productivos: crecimiento, tasa de

crecimiento específica, ganancia en peso, supervivencia, tasa de conversión alimenticia y tasa de eficiencia proteica, índice hepatosomático y viscerosomático.

- Cuantificar la composición bioquímica (proteínas, lípidos, cenizas y ELN) del músculo, hígado y pez entero de *T. macdonaldi*.
- Cuantificar el perfil de ácidos grasos de las dietas, cerebro, músculo e hígado de *T. macdonaldi* alimentada con las diferentes dietas.
- Evaluar el efecto de bajas concentraciones de ácido araquidónico en la actividad de lipasas totales del hígado de *T. macdonaldi*.

Capítulo 2. Metodología

2.1 Obtención y aclimatación de los peces

Un lote de 270 juveniles de *T. macdonaldi*, proporcionados por la Unidad de Biotecnología Piscícola (UBP) de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) en Ensenada, Baja California, fueron colocados y aclimatados en 18 estanques de 75 L, conectados a un sistema de recirculación acuícola (RAS), el cual contaba con un filtro de cuentas plásticas con una capacidad de 4 pies cúbicos (Bubble bead filter BBF-XS8000), una lámpara de luz ultravioleta de 150 w (Smart UV W150S No.: 091668-FL-001), un fraccionador de espuma y una bomba centrífuga de ¼ HP (SPARUS, Modelo SPKT-3) conectada a 3 tanques de compensación de 200 L cada uno (Figura 7). El fotoperiodo fue de 12 horas luz y 12 horas oscuridad. La temperatura del sistema se mantuvo a 26 ± 0.6 °C, la cual se reguló con una bomba de calor de ¼ HP (Aqualogic®). El oxígeno disuelto se mantuvo en 5.5 ± 0.3 mg /l, mientras que la salinidad se registró en 34.4 ± 0.7 ppt.

Los organismos se mantuvieron por 15 días en el sistema de recirculación y se alimentaron con la dieta ALGAMAR suministrada por la UBP, el cual contiene 48% de proteína y 14% de lípidos.

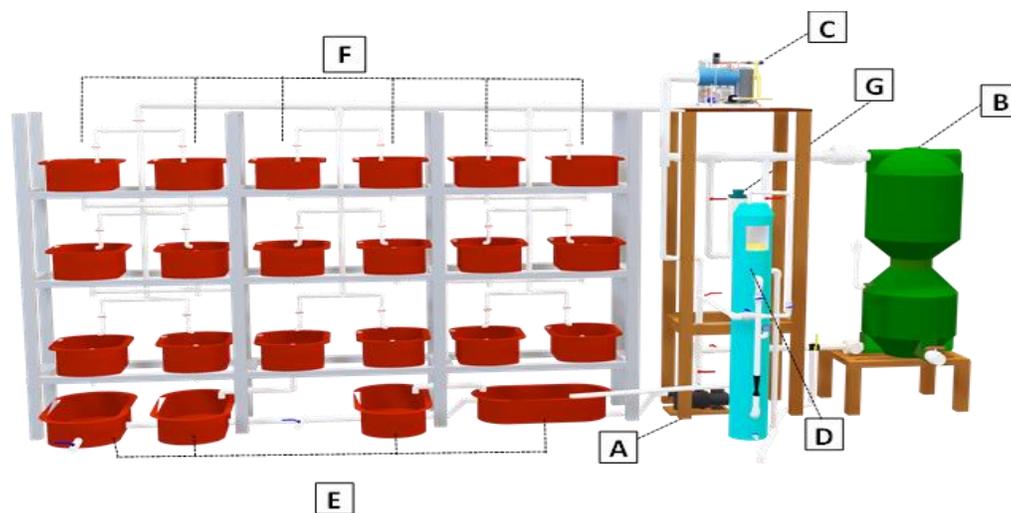


Figura 7: Sistema de recirculación utilizado en la experimentación en la Facultad de Ciencias Marinas de la UABC. A) Bomba centrífuga, B) Biofiltro C) Bomba de calor, D) Fraccionador de espuma, E) Tanques de compensación, F) Tanques experimentales, G) Lámpara UV.

2.2 Procesado y desgrasado de la harina

Un lote de 25 Kg de harina de sardina se pulverizó en un molino M400 (INMIMEX, laboratorio de investigación y desarrollo de alimentos para la acuicultura (LINDEACUA, UABC), hasta obtener un tamaño de partícula de 500 μm . Una vez pulverizada la harina, 12.5 kg se destinaron al desgrasado, que consistió en tres lavados con hexano industrial al 97% y tres lavados con etanol industrial al 97%, en una proporción de solvente y harina de 2:1 respectivamente (Yamamoto *et al.*, 2008; Chang *et al.*, 2015), para ello se utilizaron recipientes con capacidad de 10 L. La mezcla de harina y solvente se refrigeró a 4°C por 24h, a continuación se retiró el solvente mediante tamizado con una luz de malla de 42 μm ; terminado este proceso se agregó nuevamente el solvente y se repitió el ciclo (Figura 8). El proceso se repitió para cada uno de los solventes, una vez que se llegó al tercer y último lavado con etanol, la mezcla se tamizó y posteriormente se eliminó totalmente el solvente en una campana de extracción por 12 h y posteriormente se llevó a una estufa de convección a 65 °C hasta obtener un producto seco y libre de etanol. Las harinas desgrasadas se colocaron en bolsas selladas, y se guardaron a 4°C en un refrigerador hasta su uso

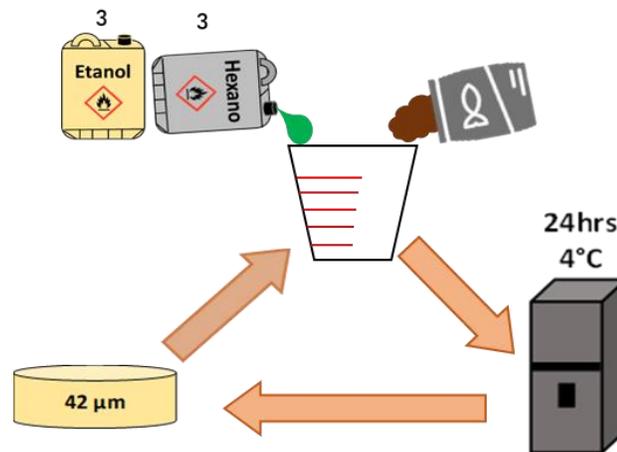


Figura 8: Ciclo del proceso de desgrasado de la harina de sardina para la elaboración de las dietas.

2.3 Preparación de las dietas experimentales

De acuerdo con la dieta base utilizada por Badillo *et al.* (2016) para peces marinos y con la que se ha demostrado que la totoaba alimentada con esta dieta a una temperatura de 26°C puede alcanzar mejores rendimientos productivos, se formuló un alimento isoproteico e isolipídico con 47% de proteína y 11% de

lípidos. En cuanto a las concentraciones de ácido araquidónico, la concentración control o 100% correspondió a la cantidad presente en la harina de pescado sin desgrasar, mientras que para los tratamientos restantes, el contenido de ARA de la harina desgrasada se ajustó agregando aceite concentrado de ARA (Xi'an Henrikang Biotech Co., Ltd). Por lo tanto, las concentraciones utilizadas en esta formulación corresponden al 80, 60, 40, 20 y 0% de ácido araquidónico presente en la harina de pescado sin desgrasar (100%ARA), lo que resulta en una concentración de 0.05 (80%), 0.04 (60%), 0.03 (40%), 0.02 (20%) y 0.00 (0%) g/100 g de ARA a la dieta. Para elaborar las dietas experimentales se utilizaron las cantidades y los ingredientes descritos en Tabla 1. Los ingredientes se mezclaron durante 20 min en una mezcladora (Hobart® legacy), el aceite concentrado de ácido araquidónico correspondiente a cada dieta se agregó lentamente para asegurar una mezcla homogénea, así mismo, se agregó el 30% de agua destilada a la mezcla.

El alimento obtenido se pasó por un molino de alimentos, mismo que se encontraba integrado en la mezcladora (Hobart® legacy), el cual contaba con un cedazo de 3 mm de diámetro. Los pellets fueron sometidos a un movimiento circular constante para obtener una forma esférica, una vez finalizado el proceso, se colocaron en charolas de aluminio y se secaron durante 24 h a 65 °C en una estufa de convección por gravedad GO1350A-1 (Lindberg Blue M®). Una vez que los pellets quedaron secos fueron guardados en bolsas selladas, y se almacenaron a temperatura ambiente hasta su utilización, así mismo se separó una muestra de cada una de las dietas para realizar los análisis bioquímicos, la cuantificación de los ácidos grasos por medio de la cromatografía de gases (GC) y la determinación del perfil de aminoácidos por medio de la cromatografía /liquida de alta resolución (HPLC) para determinar ácidos grasos (Tabla 2) y aminoácidos (Tabla 3) respectivamente.

2.4 Experimentación

Los organismos con un peso promedio de 18 ± 1.4 g se distribuyeron aleatoriamente en grupos de 15 peces en los 18 estanques de 75 L, así mismo, las dietas (100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 0%) se repartieron al azar por triplicado para cada tratamiento experimental; una vez iniciado el bioensayo se midieron diariamente el oxígeno disuelto, la salinidad y la temperatura. El NH_4^+ , NO_2^- , y NO_3^- , se midieron cada cinco días (Tabla 4). Los organismos se alimentaron cuatro veces al día a saciedad aparente, en horarios de 8:30, 11:30, 14:30 y 17:30 horas durante 71 días, momento en el que los organismos alcanzaron el 400% de su peso inicial.

Tabla 1: Ingredientes y composición bioquímica de las dietas experimentales (g/kg) (100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 0%) proporcionadas a los juveniles de *Totoaba macdonaldi* durante los 71 días de cultivo.

Dietas experimentales de <i>Totoaba macdonaldi</i>						
INGREDIENTES	100%ARA	80%	60%	40%	20%	0%
Harina de pescado ^a	320	0	0	0	0	0
Harina de pescado desgrasada ⁺⁺	0	300	300	300	300	300
Harina de subproducto de ave ^b	280	280	280	280	280	280
Gelatina	50	50	50	50	50	50
Harina de Maíz entero	150	150	150	150	150	150
Harina de trigo entero	110	110	110	110	110	110
Fécula de maíz	20	0	0	0	0	0
Aceite ácido araquidónico (50%) ^c	0	0.5	0.4	0.3	0.2	0
PUFA (polvo) Omega 3 ^d	0	18	18	18	18	18
PUFA (polvo) Omega 6 ^e	0	5	5	5	5	5
Aceite de Canola	10	26	26	26	26	26
Lecitina ^f	10	10	10	10	10	10
rovimix (mezcla vit y min) ^g	30	30	30	30	30	30
stay c	3	3	3	3	3	3
Taurina ^g	5	10	10	10	10	10
benzoato de sodio (antifúngico)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Agavina ^h	10	10	10	10	10	10
BHT (Butil hidroxi-toleno)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Coxan	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	1000	1000	1000	1000	1000	1000
COMPOSICION BIOQUÍMICA						
Humedad	3.8	3.4	5.2	4.1	4.8	4.8
Proteína cruda	46	47	47	47	46	46
Lípidos totales	11	10	10	11	11	11
Cenizas	13	14	16	14	14	14
ELN [*]	26	25	22	24	24	24
ENERGIA kcal/g	16.2	15.9	15.4	15.9	15.8	15.9
Relación P:E	2.8	3.0	3.1	2.9	2.9	2.9

a Sardine fishmeal from Proteínas Marinas y Agropecuarias SA de CV, Guadalajara, México /

++ Harina desgrasada de pescado con lavados de hexano industrial al 95% y alcohol etílico del 96%.

b Pet food grade from Proteínas Marinas y Agropecuarias SA de CV, Guadalajara, Mexico. **c** Xi ' a n He n r i k a n g Bi o t e c h Co., Ltd 50% de pureza. **d** MEG-3[®] DSM. **e** AMFHER FOOD, MÉXICO. **f** Insumos Nubiot SA de CV. Manufacture by DSM Nutritional Products Mexico SA de CV. **g** DSM Nutritional Products Mexico SA de CV. Rovimix[®]; Vitamin and mineral mix (g kg⁻¹): p-aminobenzoic acid 1.45; biotin 0.02; myo-inositol 14.5; nicotinic acid 2.9; Capantothenate 1.0; pyridoxine-HCl 0.17; riboflavin 0.73; thiamine-HCl 0.22; menadione 0.17; α-tocopherol 1.45; cyanocobalamine 0.0003; calciferol 0.03; L-ascorbyl-2- phosphate-Mg 0.25; folic acid 0.05; choline chloride 29.65; retinol 0.015; NaCl 1.838; MgSO₄·7H₂O 6.85; NaH₂PO₄·2H₂O 4.36; KH₂PO₄ 11.99; Ca(H₂PO₄)₂·2H₂O 6.79; Fe-citrate 1.48; Ca-lactate 16.35; AlCl₃·6H₂O 0.009; ZnSO₄·7H₂O 0.17; CuCl₂ 0.0005; MnSO₄·4H₂O 0.04; KI 0.008; CoCl₂ 0.05 and Stay-C (Vitamin C) donated by DSM, Nutritional Products Guadalajara, Mexico. **h** Inulina y miel de agave SA DE CV, Jalisco, México.

Tabla 2: Perfil de ácidos grasos de las dietas experimentales (mg/g alimento) (100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 0%) proporcionadas a los juveniles de *Totoaba macdonaldi* durante los 71 días de cultivo.

Perfil de ácidos grasos de las dietas experimentales						
Ácido graso	100%ARA	80%ARA	60%ARA	40%ARA	20%ARA	0%ARA
SFA's						
C10:0	1.2	1.6	1.6	1.2	1.5	1.1
C13:0	0.5	0.4	0.4	0.6	0.5	0.5
C14:0	1.0	0.3	0.2	0.2	0.2	0.3
C16:0	6.1	5.7	4.8	4.3	5.4	6.1
C18:0	1.9	1.9	1.8	1.9	2.3	2.6
C21:0	**	0.8	0.9	1.0	1.1	1.3
ΣSFA's	10.8	10.3	9.8	9.1	11.0	11.9
MUFA's						
C16:1	1.1	1.0	0.8	0.8	0.9	0.9
C18:1n9	8.5	9.8	9.8	8.3	9.9	10.1
C20:1n9	**	0.1	**	**	0.1	0.03
ΣMUFA's	9.6	10.8	10.6	9.1	10.8	11.0
PUFA's						
C18:2n6	8.4	9.3	9.1	8.3	8.8	9.3
C18:3n6	0.5	1.2	1.0	0.7	1.0	1.3
C20:3	0.0	0.0	0.0	**	0.04	0.01
C20:4n6	0.02	0.013	0.009	0.004	0.002	**
C20:5n3	0.3	0.2	0.19	0.16	0.2	0.2
C22:6n3	1.1	0.9	0.8	0.8	0.9	1.1
ΣPUFA's	10.3	11.6	11.1	10.0	11.0	11.9
Σn3	1.4	1.1	1.0	1.0	1.1	1.3
Σn6	9.0	10.5	10.1	9.0	5.4	10.6
ARA/EPA	0.06	0.06	0.05	0.03	0.01	
ARA/DHA	0.02	0.02	0.01	0.005	0.002	
EPA/DHA	0.27	0.22	0.23	0.23	0.22	0.20

.** = no determinado SFA's= ácidos grasos saturados MUFA's= ácidos grasos monosaturados PUFA's=ácidos grasos poliinsaturados

Tabla 3: Perfil de aminoácidos (mg/g alimento) de las dietas bajas en ácido araquidónico (100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 0%) proporcionadas a los juveniles de *Totoaba macdonaldi* durante los 71 días de cultivo.

mg/g						
Aminoácidos	100%ARA	80%	60%	40%	20%	0%
Aminoácidos esenciales						
HIS	1.7±0.2	1.6±0.3	1.8±0.1	1.5±0.0	1.6±0.0	1.6±0.1
ARG	4.0±0.3	4.1±	4.2±0.0	4.0±0.0	4.1±0.0	4.1±0.0
THR	1.6±0.2	1.6±0.2	1.5±0.0	1.6±0.0	1.5±0.0	1.5±0.0
VAL	0.9±0.1	1.1±0.1	1.0±0.0	1.1±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0
MET	0.9±0.1	0.8±0.2	0.3±0.0	0.9±0.0	0.5±0.2	0.5±0.5
LYS	10.4±0.1	11.5±0.6	12.1±0.1	11.5±0.1	11.6±0.0	11.5±0.3
ILE	1.2±0.1	1.1±0.1	1.0±0.0	1.1±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0
LEU	3.0±0.2	2.8±0.2	2.7±0.1	2.9±0.0	2.7±0.0	2.7±0.0
PHE	1.6±0.0	1.5±0.1	1.5±0.0	1.5±0.0	1.5±0.0	1.5±0.0
subtotal	25.3±0.3	26.1±0.3	26.2±0.1	26.2±0.0	25.5±0.1	25.5±0.2
Aminoácidos no esenciales						
ASP	2.3±0.2	2.2±0.4	2.0±0.0	2.3±0.0	2.1±0.1	2.0±0.0
SER	2.2±0.0	2.5±0.0	2.6±0.0	2.5±0.0	2.5±0.0	2.5±0.0
GLU	4.9±0.5	4.8±0.8	4.4±0.1	5.0±0.0	4.5±0.1	4.6±0.0
GLY	6.4±0.8	6.7±1.1	7.2±0.1	6.3±0.1	6.9±0.1	6.9±0.1
ALA	2.9±0.1	2.9±0.3	2.7±0.1	2.9±0.0	2.7±0.0	2.8±0.0
TYR	1.6±0.2	1.3±0.1	1.2±0.0	1.3±0.0	1.2±0.0	1.2±0.0
subtotal	20.3±0.2	20.4±0.4	20.2±0.2	20.3±0.0	19.9±0.2	19.9±0.2
Otros						
TAU	0.3±0.2	0.6±0.1	0.6±0.0	0.5±0.0	0.6±0.0	0.6±0.0
Total	46.0	47.0	47.0	47.0	46.0	46.0

Tabla 4: Parámetros fisicoquímicos del agua en el bioensayo de alimentación con dietas bajas en ácido araquidónico en *T. macdonaldi*.

Oxígeno disuelto mg/L	5.5 ± 0.3
Salinidad ppt	34.4 ± 0.7
Temperatura °C	26.6 ± 0.6
NAT mg/L	0.5 ± 0.3
NO₂- mg/L	< 0.25
NO₃- mg/L	< 40

2.5 Parámetros productivos

Los parámetros productivos se determinaron a partir del crecimiento de los organismos, para lo cual se

realizaron biometrías al inicio del experimento, y posteriormente en los días 30 y 71, empleando un ictiómetro y una balanza digital (AND, SK-2000WP). El peso y la longitud (total y estándar), la tasa de crecimiento específico (TCE), incremento en peso (C), tasa de conversión alimenticia (TCA), tasa de eficiencia proteica (TEP), supervivencia (%), índice hepatosomático (IHS) e índice viscerosomático (IVS), se estimaron con las siguientes fórmulas (Durazo *et al.*, 2010):

- Tasa de crecimiento específico (%)

$$TCE = \left(\frac{\ln(\text{peso final}) - \ln(\text{peso inicial})}{\text{Tiempo en días}} \right) \times 100 \quad (1)$$

- Ganancia de peso (g)

$$GP = (\text{peso final}) - (\text{peso inicial}) \quad (2)$$

- Tasa de conversión alimenticia

$$TCA = \frac{\text{alimento consumido (g)}}{\text{ganancia de peso (g)}} \quad (3)$$

- Tasa de eficiencia proteica

$$TEP = \frac{\text{ganancia de peso (g)}}{\text{proteína cruda en dieta (g)}} \quad (4)$$

- Supervivencia (%)

$$S = \left(\frac{\text{numero de organismos final}}{\text{numero de organismos inicial}} \right) \times 100 \quad (5)$$

- Índice hepatosomático (%)

$$IHS = \left(\frac{\text{peso del hígado (g)}}{\text{peso del pez completo (g)}} \right) \times 100 \quad (6)$$

- Índice viscerosomático (%)

$$IVS = \left(\frac{\text{peso de vísceras (g)}}{\text{peso del pez completo (g)}} \right) \times 100 \quad (7)$$

2.6 Muestreo

Las totoabas utilizadas en este estudio fueron anestesiadas y sacrificadas con base en los protocolos bioéticos de CICESE. Los peces fueron anestesiados con una solución de aceite de clavo y etanol en una proporción de 9:1 respectivamente. Se añadieron 3 ml de la solución anestésica en 10 L de agua de mar, los organismos se introdujeron en la solución por aproximadamente 5 minutos, o hasta que se observó la pérdida del movimiento tanto corporal como opercular. A continuación los organismos se pesaron en una balanza digital (AND SK-2000WP) y se midieron con un ictiómetro.

Se sacrificaron con una punción en el cerebro utilizando una aguja de disección (Batt *et al.*, 2005). A continuación se hizo un corte longitudinal desde el ano hasta la parte anterior de la cabeza por detrás de las branquias y se extrajeron los órganos internos y el músculo epaxial.

Para el cálculo del índice viscerosomático y hepatosomático, se midió el peso total de los organismos, además del peso de las vísceras e hígado en una balanza (LIDERT). Así mismo, se disecaron los hígados de nueve organismos de cada estanque, cuatro de estos se colocaron en tubos falcón de 50 ml para los análisis bioquímicos, mientras que otros cinco se colocaron en sobres de aluminio para su posterior análisis enzimático. Los órganos, músculo y peces completos se almacenaron a -60 °C en un ultra congelador Thermo scientific (Revco EXF).

2.7 Composición bioquímica para dietas, músculo, hígado y pez entero

Los análisis de composición bioquímica de las dietas, tejidos y pez entero, se realizaron con los métodos propuestos por la "Association of Official Analytical Chemists" (A.O.A.C., 1990). Las muestras del músculo, hígado y pez entero fueron secadas a -50 °C por 72 hrs en una liofilizadora (LABCONCO FreeZone Plus 2.5 # 7670521) y después cada tejido se homogeneizó en una procesadora de alimentos (nutribullet). Para la cuantificación de las proteínas totales se utilizó el método microKjeldahl.

En la cuantificación de lípidos totales se utilizó el método establecido por Folch *et al.* (1956). Para la

extracción de los lípidos se utilizaron como solventes el diclorometano y el metanol, así como cloruro de potasio (KCl) para mejorar la separación de las fases acuosa y orgánica.

Para la cuantificación de las cenizas totales las muestras se incineraron en una mufla (Barnstead Thermolyne 6000 #4505) a 550 °C durante 6 horas y el contenido porcentual se calculó con el método gravimétrico.

Por último, el extracto libre de nitrógeno (ELN, Jobling, 2001)) se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{ELN} = 100 - (\% \text{ proteína cruda} + \% \text{ lípidos crudos} + \% \text{ ceniza})$$

2.8 Transmetilación y determinación de ácidos grasos para las dietas, músculo, hígado y cerebro

La extracción de ácidos grasos y transmetilación se realizó con la técnica descrita por Parish *et al.* (2015). De manera general la metodología consiste en utilizar una solución extractora de metanol, diclorometano y ácido clorhídrico en una proporción de 10:1:1. La solución con la muestra se incubó a 83 °C por 2 horas, a continuación se enfrió a la temperatura ambiente y se agregó agua MILLI-Q, hexano y diclorometano, se centrifugó para separar la fase orgánica suspendida en solvente.

Para separar y cuantificar los ácidos grasos, se utilizó un cromatógrafo de gases AGILENT (GC 7820), equipado con un inyector Split/Splitless, un detector de ionización de flama (FID) y una columna capilar AGILENT (122-2361 DB-23) 60 m x 0.25 mm con un diámetro interno de 15 µm. La temperatura inicial de inyección fue de 120 °C por 1 min, después se incrementó a 190 °C a una tasa de 25 °C/min, posteriormente se aumentó a 230 °C a una tasa de 6 °C/min, Se utilizó Nitrógeno (N₂) como gas acarreador a 1.0 ml/min. Los cálculos se efectuaron mediante el software *GC Chemstation Data Analysis*.

Los ácidos grasos fueron identificados por comparación con los tiempos de retención relativos del estándar 37 Component FAME Mix (Supelco/Sigma-Aldrich®). Posteriormente se hizo un cromatograma del estándar en diluciones 2:1, 4:1, 6:1, 10:1, 20:1, 40:1, 60:1, 80:1, 100:1 y 130:1. La composición de cada ácido graso se calculó de acuerdo con el área correspondiente al estándar FAME Mix.

2.9 Cuantificación de aminoácidos en las dietas

Para el análisis de Aminoácidos (AAs), se tomaron 50 mg de muestras previamente desgrasadas y secas. Estas fueron hidrolizadas hasta AAs con 5 ml de una mezcla de HCl 6N con 0.06% de fenol en viales de vidrio de 10 ml. La hidrólisis se llevó a cabo incubando cada una de las muestras por 18 h a 113 °C. Después del tiempo de hidrólisis, las muestras se aforaron a un volumen final de 25 ml para su filtración con acrodiscos de 0.45 µm (P.N. 4426T), el volumen final de 1.5 ml fue colocado en un vial previamente limpio, calcinado y de color ámbar.

Las muestras fueron refrigeradas a -30 °C hasta su procesamiento en el HPLC. La derivatización se realizó directamente en el HPLC Agilent (Mod. 1200 infinity series). De manera general, se tomaron 2.5 µl del buffer de fosfatos (Part Num. 5061-3339), seguido de 0.5 µl de muestra con relación 1:1:1 de OPA: FMOC (Ortoftaldehido: Fluorenylmethyloxycarbonyl), posteriormente fueron inyectados en secuencia continua en el HPLC. Para la separación de los AAs se utilizó una columna C18 de fase reversa Zorbax eclipse AAA (4.5 X 150 mm 3.5µm, P.N. 963400-902), y se empleó un volumen de inyección de 5 µL. La curva de calibración se realizó utilizando una solución de AAs estándares (P.N. 061-3330) con concentraciones de 50 a 350 pmol. Por último, se estimó el área bajo la curva con el programa "OpenLAB" (Agilent Technologies 2000 copyright) para obtener el porcentaje de AAs respecto al contenido de proteína en las muestras.

2.10 Cuantificación de actividad de lipasas totales en hígado de *Totoaba macdonaldi*

2.10.1 Extracción

Los hígados disecados (seis organismos por tratamiento) fueron homogeneizados en grupo con agua destilada (tejido/agua; 1:3; v: v) de acuerdo a la metodología descrita por Nolasco *et al.* (2018). Se utilizó homogeneizador Polytron PT 1200, además para evitar su degradación, la muestra se procesó sobre una cama de hielo. Posteriormente se centrifugaron a 8000 RPM por 20 minutos a 4°C y finalmente se recuperó el sobrenadante en alícuotas de 0.6 ml, las cuales fueron almacenadas a -20°C hasta su análisis.

2.10.2 Cuantificación de actividad de lipasas

La actividad de las lipasas totales se midió siguiendo el método descrito por Gjellesvik (1992). Como sustrato enzimático se utilizó 9.78 mg 4-nitrofenil miristato disuelto en 1 ml de DMSO (dimetilsulfóxido) y se agregó 403.26 mg de taurocolato de sodio. La medición de la actividad se realizó a un pH de 8.7 y una temperatura de incubación de 37°C, posteriormente se realizó una lectura por minuto durante 30 min, a una longitud de onda de 405 nm en un espectrofotómetro (Thermo scientific varioskan flash #3001). Para el cálculo de la actividad enzimática se utilizó una curva de calibración utilizando lipasa comercial de páncreas de porcino (SIGMA L-3126), los resultados se expresaron en unidades de actividad por gramo de hígado, definiendo U como unidades arbitrarias de absorbancia.

2.11 Análisis estadístico

Los resultados se presentan como la media \pm desviación estándar. La normalidad y homocedasticidad se evaluaron con la prueba de Shapiro Wilk y Levene's respectivamente. Posteriormente se realizó un ANOVA de una sola vía, y para conocer las diferencias significativas entre los tratamientos, se aplicó una prueba post hoc de Tukey. Para datos que cumplieron con los supuestos, se realizó una prueba de Kruskal Wallis y una prueba post hoc de Dunn, mientras que para ácidos grasos como el oleico (C18:1N9) y docosahexaenoico (C22:6n3) en el hígado, se transformaron con logaritmo base 10. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas con $\alpha < 0.05$. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo con los programas estadísticos: SPSS (versión 26.0) y Sigma plot (versión 11).

Capítulo 3. Resultados

3.1 Supervivencia, crecimiento y parámetros productivos

3.1.1 Supervivencia

La supervivencia en todos los tratamientos fue superior al 95%. En el tratamiento 100%ARA, la supervivencia fue del 100%, mientras que en el tratamiento con 80% ARA fue del 98%, y del 96% en el resto de los tratamientos, sin diferencias significativas ($p>0.05$) (Figura 9). Es importante mencionar que las mortalidades observadas no se relacionaron con los efectos de los tratamientos.

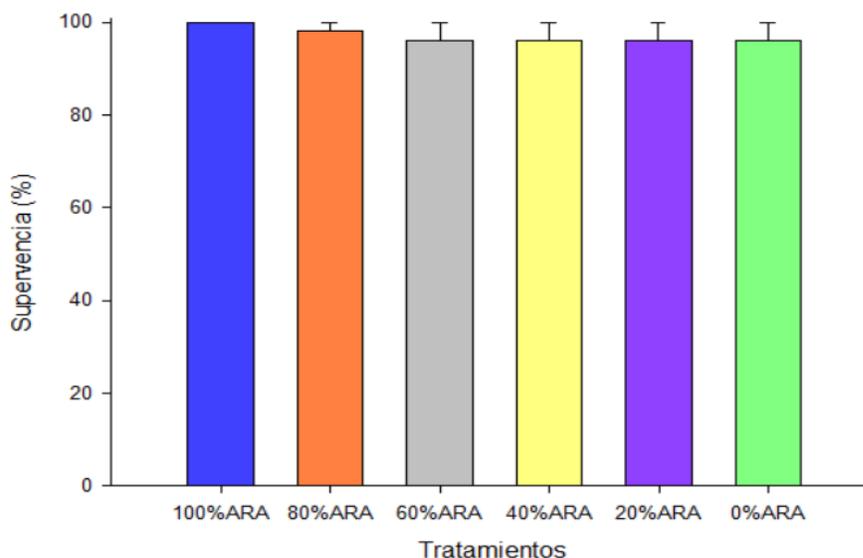


Figura 9: Supervivencia de juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentada con dietas bajas en ácido araquidónico (100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 0%) durante los 71 días de cultivo

3.1.2 Ganancia de peso

En lo que respecta al peso final (tabla 5), no se encontraron diferencias significativas ($p>0.05$), con el promedio más alto en la dieta 100%ARA (72 ± 11 g) y en el resto de los tratamientos se mantuvo en el intervalo de 66 ± 4 g (40%ARA) y 70 ± 3 g (20%ARA).

3.1.3 Parámetros productivos

En cuanto al peso final de los organismos (Tabla 5), no se encontraron diferencias significativas ($p>0.05$) entre tratamientos, el valor más alto con 90 ± 22 g se obtuvo en el grupo 100%ARA, mientras que el menor valor fue en el tratamiento 40%ARA con 83 ± 15 g. Del mismo modo, no se detectaron diferencias en la longitud final ($p>0.05$) con valores muy similares al tratamiento 100%ARA (17.5 ± 1.6 cm).

En la tasa de conversión alimenticia (TCA) (Tabla 5) las concentraciones se mantienen similares sin diferencias significativas ($p>0.05$), con el valor más alto en el tratamiento 40%ARA (1.4 ± 0.2), mientras que los menores valores se obtuvieron en los tratamientos 80%ARA y 20%ARA con 1.2 ± 0.1 para ambos tratamientos.

La tasa de crecimiento específico (TCE) y tasa de eficiencia proteica (TEP) (Tabla 5) no presentaron diferencias ($p>0.05$) y los valores son similares con respecto al grupo 100%ARA (2.3 ± 0.2 y 1.9 ± 0.2). Así mismo, los índices viscerosomático (IVS) y hepatosomático (IHS) no presentaron diferencias ($p>0.05$) obteniendo valores similares al grupo 100%ARA, los cuales fueron de 3.6 ± 1.7 % y 0.7 ± 0.4 % respectivamente.

3.2 Composición bioquímica

3.2.1 Pez completo

Los resultados de la composición bioquímica del pez completo (Tabla 6), mostraron que en el análisis de proteína no hay diferencias significativas ($p>0.05$), y las concentraciones más altas, de 63 g/100 g se obtuvieron en los tratamientos de 60%ARA, 40%ARA, 20%ARA y 0%ARA. Así mismo, en los lípidos, la mayor concentración se obtuvo en el tratamiento 0%ARA (11 ± 1.3 g/100 g) sin diferencias significativas ($p>0.05$) con respecto al resto de los tratamientos. En las cenizas la mayor concentración se obtuvo en 60%ARA, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas ($p>0.05$).

Tabla 5: Parámetros productivos de juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados con dietas bajas en ácido araquidónico (100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 0%) durante los 71 días de cultivo. Media \pm DE.

n= 46	100%ARA	80%ARA	60%ARA	40%ARA	20%ARA	0%ARA
Peso inicial (g)	18 \pm 1.3	18 \pm 1.6	18 \pm 1.5	17 \pm 1.3	18 \pm 1.4	17 \pm 1.6
Peso final (g)	90 \pm 22.1	86 \pm 22.4	87 \pm 21.8	83 \pm 15.8	88 \pm 21.3	85 \pm 19.6
Ganancia de peso (g)	72 \pm 11.1	68 \pm 2.1	69 \pm 6.8	66 \pm 4.1	70 \pm 2.9	68 \pm 10.5
Longitud inicial (cm)	11 \pm 0.5	11 \pm 0.5	11 \pm 0.5	11 \pm 0.5	11 \pm 0.6	11 \pm 0.5
Longitud final (cm)	17 \pm 1.6	17 \pm 1.5	17 \pm 1.6	17 \pm 1.2	17 \pm 1.4	18 \pm 8.5
TCA	1.3 \pm 0.1	1.2 \pm 0.1	1.3 \pm 0.1	1.4 \pm 0.2	1.2 \pm 0.1	1.3 \pm 0.1
TCE (%)	2.3 \pm 0.2	2.2 \pm 0.1	2.2 \pm 0.1	2.2 \pm 0.1	2.3 \pm 0.1	2.2 \pm 0.2
TEP	1.9 \pm 0.2	2.0 \pm 0.2	2.1 \pm 0.3	2.0 \pm 0.2	2.0 \pm 0.1	2.0 \pm 0.3
IVS (%)	3.6 \pm 1.7	3.6 \pm 0.9	3.4 \pm 0.6	3.6 \pm 0.4	3.6 \pm 1.3	3.3 \pm 0.5
IHS (%)	0.7 \pm 0.4	0.7 \pm 0.2	0.7 \pm 0.2	0.7 \pm 0.2	0.7 \pm 0.3	0.8 \pm 0.2

TCA= Tasa de conversión alimenticia, TCE= Tasa de crecimiento específico, TEP= Tasa de eficiencia proteica, IVS= Índice viscerosomático, IHS= Índice hepatosomático

Los valores corresponden a la media de las tres réplicas \pm desviación estándar.

Superíndices diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

3.2.2 Músculo

La concentración de proteína en el músculo no fue diferente significativamente entre los tratamientos ($p > 0.05$). En la dieta con 20%ARA y 0%ARA se obtuvieron las mayores concentraciones, de 82 g/100 g. Por otro lado, las concentraciones de lípidos fueron similares con alrededor de 5 g/100 g, sin diferencias significativas ($p > 0.05$) entre tratamientos. En las cenizas tampoco hubo diferencias ($p > 0.05$) con 8 g/100 g (Tabla 6).

3.2.3 Hígado

La concentración de proteínas en el hígado de totoaba fue significativamente mayor ($p < 0.001$) con el tratamiento 100%ARA con un contenido de 40 \pm 1.6 g/100g y disminuyó en relación directa con la reducción de ARA, con 36 \pm 0.6 y 31 \pm 1.9 g/100 g para 80%ARA y 60%ARA respectivamente. Sin embargo, 40%ARA, 20%ARA y 0%ARA no fueron estadísticamente diferentes entre sí ($p > 0.05$). En el caso de los lípidos, se presentaron diferencias estadísticas entre al grupo 100%ARA (45 \pm 1.8 g/100 g) y el resto de los tratamientos ($p < 0.001$). En lo que respecta a las cenizas no se detectaron diferencias estadísticas ($p > 0.05$) y las concentraciones son similares al grupo 100%ARA (8 \pm 0.2 g/100 g) (Tabla 6).

Tabla 6: Composición bioquímica de pez completo, músculo e hígado en *Totoaba macdonaldi* alimentadas con dietas bajas en ácido araquidónico (100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 0%) durante los 71 días de cultivo. Media \pm DE.

g/100g	n=6						
Pez C.	Iniciales	100%ARA	80%ARA	60%ARA	40%ARA	20%ARA	0%ARA
Proteína	57 \pm 1	61 \pm 1.6	61 \pm 1.8	63 \pm 1.7	63 \pm 0.7	63 \pm 1.4	63 \pm 1.6
Lípidos	15 \pm 2	10 \pm 1.6	10 \pm 0.4	9 \pm 1.8	9 \pm 1.6	10 \pm 1.3	11 \pm 1.3
Ceniza	10 \pm 1	17 \pm 1.8	16 \pm 1.2	18 \pm 1.2	17 \pm 1.9	17 \pm 1.6	17 \pm 1.8
ELN	19	11	13	11	11	10	10
Músculo							
Proteína	76 \pm 0.4	80 \pm 1.7	81 \pm 1.4	80 \pm 1.9	80 \pm 1.6	82 \pm 1.6	82 \pm 1.9
Lípidos	7 \pm 1	5 \pm 1.1	5 \pm 0.8	5 \pm 0.6	5 \pm 0.9	5 \pm 1.1	5 \pm 0.6
Ceniza	18 \pm 0.1	8 \pm 0.2	8 \pm 0.4	8 \pm 0.2	8 \pm 1.1	8 \pm 0.3	8 \pm 0.5
ELN	0.6	7.1	5.7	6.5	6.5	4.0	5.2
Hígado							
Proteína	35 \pm 0.6	40 \pm 1.6 a	36 \pm 0.6 b	31 \pm 1.9 c	28 \pm 1.7 d	27 \pm 1.5 d	26 \pm 1.1 d
Lípidos	47 \pm 0.1	45 \pm 1.8 a	49 \pm 1.3 b	56 \pm 1.6 c	57 \pm 0.9 c	56 \pm 1.1 c	54 \pm 0.6 c
Ceniza	5 \pm 0.7	8 \pm 0.2	8 \pm 0.4	8 \pm 0.2	8 \pm 1.1	8 \pm 0.3	8 \pm 0.5
ELN	15	7.1	5.7	6.5	6.5	4.0	5.2

ELN (Extracto libre de nitrógeno) = 100-(%Proteínas+%Lípidos+%Cenizas)

Las concentraciones corresponden a la media de las tres réplicas \pm desviación estándar.

Superíndices diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

3.3 Ácidos grasos

3.3.1 Cerebro

El contenido de ácidos grasos del cerebro de totoaba (Tabla 7) y de manera particular para los ácidos grasos saturados (SFA's), el ácido palmítico (C16:0) con el tratamiento 100%ARA (17.6 \pm 5 mg/g) fue menor ($p < 0.001$) que en los tratamientos 40%ARA (25.8 \pm 3.9 mg/g), 20%ARA (26.7 \pm 2.0 mg/g) y 0%ARA (34.1 \pm 4.3 mg/g), en este último se obtuvo la concentración más alta. Así mismo, en la sumatoria de los SFA's se mantienen estas diferencias ($p < 0.001$) con respecto al grupo 100%ARA.

Entre los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA's), el ácido oleico (C18:1n9) tuvo la menor concentración en el tratamiento 100%ARA ($p = 0.032$) y las concentraciones más altas se obtuvieron en 40%ARA y 0%ARA con 40.2 \pm 5.1 mg/g y 40.6 \pm 10.3 mg/g respectivamente. En la sumatoria de MUFA's, los tratamientos de 40%ARA (65.5 \pm 9.1 mg/g) y 20%ARA (65.7 \pm 6.3 mg/g) fueron mayores ($p = 0.032$) con respecto al 100%ARA (47.2 \pm 16.0 mg/g).

Entre los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA's), el ácido araquidónico (ARA) (C20:4n6) solo se identificó en los tratamientos: 100%ARA (0.001 ± 0.0), 40%ARA (0.011 ± 0.0), 20%ARA (0.028 ± 0.01) y 0%ARA (0.022 ± 0.01) (Figura 11a). Para el ácido eicosapentaenoico (EPA) (C20:5n3) se observó una disminución a partir del tratamiento 100%ARA (Figura 11b), sin embargo, no se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$), al igual que el ácido docosahexaenoico (DHA) (C22:6n3), en el que la concentración más alta se observó en 20%ARA (26.9 ± 2.0 mg/g), en comparación con 100%ARA ($p < 0.05$) (Figura 11c). Así mismo, en la sumatoria de los PUFA's, 40%ARA (38.5 ± 5.8 mg/g) y 20%ARA (38.8 ± 3.5 mg/g) tuvieron la concentración más alta ($p = 0.003$) con respecto al 100%ARA (22.9 ± 7.3 mg/g). En la suma total de ácidos grasos 40%ARA (153.1 ± 20.7), 20%ARA (155.5 ± 13.2 mg/g) y 0%ARA (159.0 ± 22.2 mg/g) tuvieron las mayores concentraciones ($p = 0.002$) cuando se compararon con 100%ARA.

3.3.2 Hígado

En el hígado de la totoaba (Tabla 8), de manera general, el contenido de SFA es similar en todos los tratamientos ($p = 0.111$). Con respecto al grupo de los MUFA's (ácidos grasos monoinsaturados), la concentración del ácido oleico (C18:1n9) fue mayor en todos los tratamientos en comparación con el tratamiento 100%ARA ($p < 0.001$). En la sumatoria de los MUFA's, con 40%ARA se obtuvo la concentración más alta (164.7 ± 24.2 mg/g) ($p = 0.017$) con respecto a 100%ARA (116.9 ± 23.1 mg/g). En el grupo de los PUFA's, solo se identificó el ARA en el grupo 100%ARA (0.001 ± 0.0) (Fig. 10a). Así mismo, el EPA solo se detectó en 100%ARA (0.9 ± 0.3 mg/g), 80%ARA (0.7 ± 0.0 mg/g) y 60%ARA (0.001 ± 0.0 mg/g) (Fig. 10b). No obstante, para el DHA no se encontraron diferencias ($p > 0.05$) (Fig. 10c), sin embargo, en la sumatoria de los PUFA's, la concentración más alta ($p = 0.003$) se obtuvo con 100%ARA (47.0 ± 5.2 mg/g).

3.3.3 Músculo

De los SFA's en el músculo de la totoaba (Tabla 9), el ácido palmítico (C16:0) presentó diferencias significativas ($p = 0.003$) con respecto al 100%ARA (2.5 ± 0.6 mg/g), donde 60%ARA (3.7 ± 0.8 mg/g), 40%ARA (3.7 ± 0.3 mg/g) y 20%ARA (3.6 ± 0.4 mg/g) tuvieron la concentración más alta; estos resultados son similares en la sumatoria de los SFA's, y las concentraciones más altas se obtuvieron en 60%ARA (5.0 ± 1.3 mg/g), 40%ARA (4.8 ± 0.3 mg/g) y 20%ARA (4.8 ± 0.6 mg/g) con respecto al 100%ARA (4.9 ± 1.6 mg/g) ($p = 0.037$). Por otro lado, en los MUFA's, el ácido oleico presentó (C18:1n9) diferencias ($p = 0.002$) en 80%ARA (7.0 ± 1.6 mg/g), 60%ARA (8.6 ± 2.2 mg/g), 40%ARA (7.3 ± 3.7 mg/g) y 20%ARA (8.7 ± 1.2 mg/g)

con las concentraciones más altas en comparación con el grupo 100%ARA (3.8 ± 0.9 mg/g). En la sumatoria de los MUFA's, 60%ARA (9.0 ± 2.3 mg/g), 40%ARA (7.3 ± 3.8 mg/g) y 20%ARA (8.7 ± 1.2 mg/g) fueron significativamente ($p= 0.003$) mayores que el grupo 100%ARA (4.0 ± 0.9 mg/g). En lo que respecta a los PUFA's, ARA solamente pudo ser determinado en 60%ARA (0.1 ± 0.0) (Fig. 11a), mientras que, en el caso de EPA, 100%ARA (0.4 ± 0.09) fue significativamente ($p<0.001$) mayor que el resto de tratamientos (Fig. 11b), caso contrario a lo encontrado en DHA, en el cual no se determinaron diferencias significativas ($p>0.05$) (Fig. 11c). No obstante, en la sumatoria de PUFA's el grupo 100%ARA (6.0 ± 1.3 mg/g) tuvo una concentración menor con diferencias significativas ($p= 0.027$) en 60%ARA (9.1 ± 1.8 mg/g), 40%ARA (9.2 ± 0.4 mg/g) y 20%ARA (9.2 ± 1.0 mg/g). En la totalidad de los ácidos grasos, 60%ARA (23.0 ± 5.5 mg/g), 40%ARA (19.1 ± 9.5 mg/g) y 20%ARA (22.9 ± 3.0 mg/g) fueron significativamente ($p<0.001$) mayores que el grupo 100%ARA (14.8 ± 3.5 mg/g).

3.4 Lipasas totales

En lo que respecta a la actividad de las lipasas totales del hígado de *T. macdonaldi* (Figura 10), no se encontraron diferencias significativas, con un promedio de actividad enzimática por gramo de hígado de 2.4 ± 0.2 U por gramo de hígado.

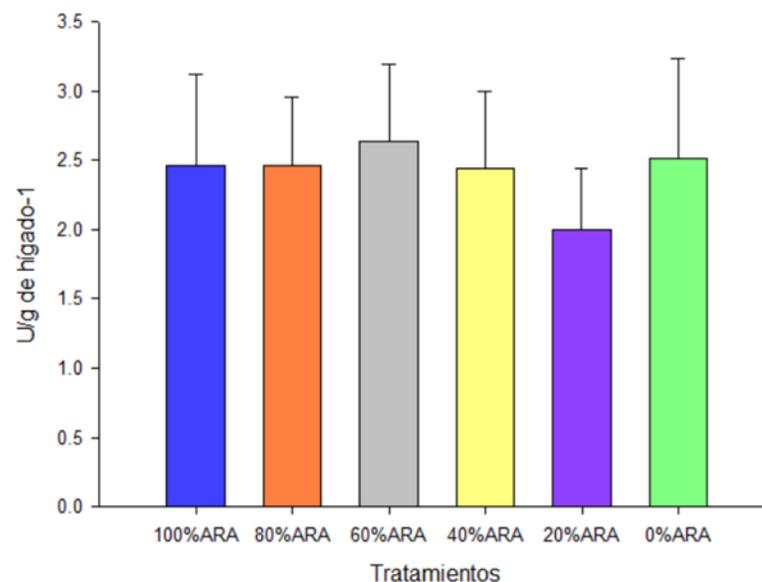


Figura 10: Actividad enzimática de las lipasas totales en el hígado en juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentada con dietas bajas en ácido araquidónico (100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 0%) durante los 71 días de cultivo. U= unidades arbitrarias de absorbancia.

Tabla 7: Perfil de ácidos grasos en cerebro (mg/g tejido) de *Totoaba macdonaldi* alimentada con dietas bajas en ácido araquidónico (100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 0%) durante los 71 días de cultivo. Media \pm DE.

n=6 mg/g	Cerebro						
	Inicial	100%ARA	80%ARA	60%ARA	40%ARA	20%ARA	0%ARA
SFA's							
C14:0	**	**	**	**	**	**	**
C15:0	**	**	**	**	**	**	**
C16:0	26.3 \pm 3	17.6 \pm 5.0 a	22.5 \pm 1.6 a	20.3 \pm 2.9 ac	25.8 \pm 3.9 bc	26.7 \pm 2.0 b	34.1 \pm 4.3 bc
C17:0	2.9 \pm 0.4	1.0 \pm 0.7	1.5 \pm 0.2	1.2 \pm 1.3	2.1 \pm 0.5	1.9 \pm 0.4	3.4 \pm 3.9
C18:0	18.7 \pm 0.1	15.5 \pm 4.9 a	19.6 \pm 1.6 ab	18.9 \pm 0.8 a	21.3 \pm 2.0 ab	22.3 \pm 1.4 bc	20.6 \pm 1.9 abc
C20:0	**	**	**	**	**	**	**
C21:0	**	**	**	**	**	**	**
C23:0	**	**	**	**	**	**	**
Σ SFA's	40.7 \pm 7	34.2 \pm 10.6 a	43.6 \pm 3.3 ab	40.4 \pm 4.0 ab	49.1 \pm 6.3 b	51.0 \pm 3.6 b	58.0 \pm 9.1 b
MUFA's							
C14:1	**	**	**	**	**	**	**
C15:1	**	0.5 \pm 0.3	0.5 \pm 0.2	0.5 \pm 0.2	0.6 \pm 0.3	0.9 \pm 0.3	1.1 \pm 0.8
C16:1	**	0.2 \pm 0.1 a	0.4 \pm 0.1 ab	0.6 \pm 0.5 ab	0.5 \pm 0.2 ab	0.5 \pm 0.1 b	0.8 \pm 0.4 b
C17:1	8.4 \pm 0.4	8.8 \pm 3.8	10.3 \pm 0.7	9.2 \pm 1.8	10.2 \pm 1.6	11.1 \pm 1.4	10.1 \pm 2.4
C18:1n9	42.9 \pm 0.0	28.5 \pm 8.4 a	35.8 \pm 2.4 ab	36.0 \pm 6.0 ab	40.2 \pm 5.1 b	39.3 \pm 3.7 ab	40.6 \pm 10.3 b
C20:1n9	**	**	**	**	**	**	**
C22:1n9	**	0.1 \pm 0.1	0.2 \pm 0.2	0.4 \pm 0.3	0.2 \pm 0.1	0.2 \pm 0.1	0.6 \pm 0.7
C24:1n9	12.5 \pm 0.6	9.3 \pm 3.5 a	12.5 \pm 1.7 ab	11.8 \pm 2.3 ab	13.7 \pm 2.0 b	13.7 \pm 1.2 b	11.7 \pm 1.4 ab
Σ MUFA's	63.8 \pm 25.7	47.2 \pm 16.0 a	59.7 \pm 4.3 ab	58.4 \pm 10.6 ab	65.5 \pm 9.1 b	65.7 \pm 6.3 b	64.8 \pm 11.6 ab
PUFA's							
C18:2n6	3.6 \pm 0.6	3.5 \pm 1.1 a	6.2 \pm 0.4 ab	6.8 \pm 1.5 ab	8.1 \pm 1.6 b	7.6 \pm 1.1 b	5.4 \pm 3.8 ab
C18:3n6	**	**	**	**	**	**	**
C20:2	**	3.9 \pm 0.0	**	**	**	**	**
C18:3n3	**	**	**	**	**	**	**
C20:3	0.3 \pm 0.0	0.9 \pm 0.6 a	2.1 \pm 0.3 b	1.7 \pm 0.2 ab	2.0 \pm 0.5 ab	2.1 \pm 0.2 b	1.8 \pm 0.5 ab
C20:4n6	0.1 \pm 0.0	0.001 \pm 0.0	**	**	0.011 \pm 0.0	0.028 \pm 0.01	0.022 \pm 0.01
C20:5n3	4.7 \pm 0.3	1.9 \pm 0.6	1.4 \pm 0.1	1.4 \pm 0.2	1.6 \pm 0.3	1.7 \pm 0.2	1.6 \pm 0.3
C22:2	**	0.6 \pm 0.2	0.5 \pm 0.1	0.5 \pm 0.3	0.6 \pm 0.3	0.4 \pm 0.1	0.6 \pm 0.4
C22:6n3	22.2 \pm 13	16.5 \pm 6.8	23.0 \pm 2.2	22.6 \pm 1.7	26.2 \pm 3.7	26.9 \pm 2.0	25.1 \pm 3.5
Σ PUFA's	30.7 \pm 14	22.9 \pm 7.3 a	33.1 \pm 2.8 ab	31.6 \pm 4.4 ab	38.5 \pm 5.8 b	38.8 \pm 3.5 b	36.2 \pm 5.9 ab
Σ n3		18.4	24.4	24.0	27.9	28.6	28.6
Σ n6		3.5	6.1	8.2	8.1	7.6	5.4
ARA/EPA		0.0002		1.0	0.007	0.01	0.006
ARA/DHA				0.06			
EPA/DHA		0.11	0.06	0.06	0.06	0.06	0.14
SUMA	106 \pm 30						
TOTAL		104.3 \pm 32.4 a	136.4 \pm 10.2 ab	130.4 \pm 16.4 ab	153.1 \pm 20.7 b	155.5 \pm 13.2 b	159.0 \pm 22.2 b

** = no determinado SFA's= ácidos grasos saturados MUFA's= ácidos grasos monoinsaturados PUFA's=ácidos grasos poliinsaturados (p<0.05).

Tabla 8: Perfil de ácidos grasos en hígado (mg/g^{-1} tejido) de *Totoaba macdonaldi* alimentada con dietas bajas en ácido araquidónico (100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 0%) durante los 71 días de cultivo. Media \pm DE.

n=6 mg/g	Hígado						
	Inicial	100%ARA	80%ARA	60%ARA	40%ARA	20%ARA	0%ARA
SFA's							
C14:0	2.3 \pm 1.4	3.6 \pm 0.6 a	0.7 \pm 0.4 b	1.3 \pm 1.8 b	2.1 \pm 0.6 b	1.5 \pm 0.3 b	1.4 \pm 0.6 b
C15:0	**	**	0.4 \pm 0.3	0.9 \pm 0.0	1.6 \pm 0.6	0.5 \pm 0.2	1.5 \pm 1.2
C16:0	11.5 \pm 3.9	41.5 \pm 3.7	34.0 \pm 1.8	29.3 \pm 14.5	38.3 \pm 5.4	35.3 \pm 7.5	36.8 \pm 3.8
C17:0	**	**	**	**	**	**	**
C18:0	2.8 \pm 0.1	15.3 \pm 2.4	14.6 \pm 3.8	18.6 \pm 11.4	28.9 \pm 11.6	16.9 \pm 4.2	16.2 \pm 8.6
C20:0	0.5 \pm 0.1	0.4 \pm 0.3	0.5 \pm 0.0	0.8 \pm 0.6	1.1 \pm 0.4	**	0.9 \pm 0.1
C21:0	**	**	**	**	**	**	**
C23:0	**	**	0.5 \pm 0.0	**	**	**	**
Σ SFA's	18 \pm 7.2	60.6 \pm 6.8	49.1 \pm 5.5	42.6 \pm 19.2	65.7 \pm 22.0	50.1 \pm 15.5	55.0 \pm 10.2
MUFA's							
C14:1	**	55.5 \pm 0.0	0.4 \pm 0.0	**	**	**	**
C15:1	**	**	0.2 \pm 0.0	0.7 \pm 0.3	0.8 \pm 0.6	1.6 \pm 0.9	0.5 \pm 0.3
C16:1	7 \pm 2.7	17.5 \pm 2.2	13.9 \pm 1.5	15.4 \pm 3.0	18.1 \pm 5.7	12.9 \pm 2.4	15.1 \pm 1.8
C17:1	**	**	**	**	**	**	**
C18:1N9	20.8 \pm 7	90 \pm 10.0 a	119 \pm 12.9 b	120 \pm 11.9 b	132 \pm 18.4 b	119 \pm 20.0 b	114 \pm 22.6 b
C20:1N9	**	**	**	0.3 \pm 0.2	0.7 \pm 0.6	2.0 \pm 0.0	0.4 \pm 0.0
C22:1N9	1.3 \pm 0.0	**	**	0.2 \pm 0.0	**	0.6 \pm 0.0	**
C24:1N9	**	**	**	**	**	**	**
Σ MUFA's	29 \pm 10	116.9 \pm 23.1 a	141.1 \pm 14.0 ab	135.5 \pm 15.5 ab	164.7 \pm 24.2 b	134.1 \pm 23.6 ab	131.7 \pm 24.5 ab
PUFA's							
C18:2n6	8.1 \pm 3	45.6 \pm 4.6 a	18.4 \pm 3.6 b	18.3 \pm 11.9 b	17.1 \pm 15.1 b	12.7 \pm 2.5 b	17.3 \pm 1.8 b
C18:3n6	0.03 \pm 0.0	**	**	0.2 \pm 0.0	**	**	**
C20:2	**	**	**	**	**	**	**
C18:3n3	**	1.6 \pm 0.0	**	0.5 \pm 0.0	0.5 \pm 0.0	1.7 \pm 0.0	**
C20:3	**	0.6 \pm 0.0	**	**	**	**	**
C20:4n6	0.1 \pm 0.0	0.001 \pm 0.0	**	**	**	**	**
C20:5n3	1.2 \pm 0.5	0.9 \pm 0.3	0.7 \pm 0.0	0.4 \pm 0.0	**	**	**
C22:2	**	**	0.3 \pm 0.0	**	**	**	**
C22:6n3	1.5 \pm 0.6	0.4 \pm 0.1	0.2 \pm 0.1	0.6 \pm 0.0	0.6 \pm 0.1	0.6 \pm 0.2	0.6 \pm 0.2
Σ PUFA's	10.6 \pm 3.1	47.0 \pm 5.2 a	18.7 \pm 3.5 b	18.6 \pm 14.1 b	14.0 \pm 16.2 b	12.1 \pm 2.3 b	15.7 \pm 1.8 b
Σ n3		2.9	1.2	1.1	1.1	2.3	0.6
Σ n6		45.6	18.4	18.5	17.1	1.7	17.3
ARA/EPA		0.03					
ARA/DHA		0.05					
EPA/DHA		2.1	3.2				
SUMA TOTAL	56.8 \pm 20	224.5 \pm 31.0	208.9 \pm 19.2	196.8 \pm 45.4	176.9 \pm 50.6	184.3 \pm 37.3	202.5 \pm 33.5

.* = no determinado SFA's= ácidos grasos saturados MUFA's= ácidos grasos monoinsaturados PUFA's=ácidos grasos poliinsaturados (p<0.05).

Tabla 9: Perfil de ácidos grasos en músculo (mg/g^{-1} tejido) de *Totoaba macdonaldi* alimentada con dietas bajas en ácido araquidónico (100%, 80%, 60%, 40%, 20% y 0%) durante los 71 días de cultivo. Media \pm DE.

n=6 mg/g	Músculo						
	Inicial	100%ARA	80%ARA	60%ARA	40%ARA	20%ARA	0%ARA
SFA's							
C14:0	**	4.1 \pm 0.0	**	**	**	**	**
C15:0	**	**	**	**	**	**	**
C16:0	3.8 \pm 0.3	2.5 \pm 0.6 a	3.1 \pm 0.5 ab	3.7 \pm 0.8 b	3.7 \pm 0.3 b	3.6 \pm 0.4 b	2.9 \pm 0.9ab
C17:0	**	**	**	**	**	**	**
C18:0	**	0.6 \pm 0.3	1 \pm 0.2	1.2 \pm 0.4	1.1 \pm 0.1	1.2 \pm 0.2	0.8 \pm 0.4
C20:0	**	**	**	**	**	**	**
C21:0	4.0 \pm 0.3	1.8 \pm 0.8	1.4 \pm 0.1	**	**	**	**
C23:0	**	**	**	**	**	**	**
Σ SFA's	7.8 \pm 0.6	4.9 \pm 1.6 a	5.5 \pm 0.8 ab	5.0 \pm 1.3 b	4.8 \pm 0.3 b	4.8 \pm 0.6 b	3.8 \pm 1.4ab
MUFA's							
C14:1	**	**	**	**	**	**	**
C15:1	**	**	**	**	**	**	**
C16:1	**	0.1 \pm 0.1	0.1 \pm 0.2	0.3 \pm 0.1	0.3 \pm 0.1	0.3 \pm 0.1	0.2 \pm 0.1
C17:1	**	**	**	**	**	**	**
C18:1n9	4.4 \pm 0.4	3.8 \pm 0.9 a	7.0 \pm 1.6 b	8.6 \pm 2.2 b	7.3 \pm 3.7 b	8.7 \pm 1.2 b	6.9 \pm 2.6 ab
C20:1n9	**	**	**	**	**	**	**
C22:1n9	**	**	**	**	**	**	**
C24:1n9	**	**	**	**	**	**	**
Σ MUFA's	4.4 \pm 0.4	4.0 \pm 0.9 a	7.0 \pm 1.7 ab	9.0 \pm 2.3 b	7.3 \pm 3.8 b	8.7 \pm 1.2 b	7.0 \pm 2.6 ab
PUFA's							
C18:2n6	**	4.0 \pm 1.0 a	6.5 \pm 0.9 b	7.4 \pm 1.6 b	7.6 \pm 0.5 b	7.6 \pm 0.9 b	6.3 \pm 1.9 b
C18:3n6	**	**	**	**	**	**	**
C20:2	**	**	**	**	**	**	**
C18:3n3	**	**	**	**	**	**	**
C20:3	**	**	**	**	**	**	**
C20:4n6	0.1 \pm 0.0	**	**	0.1 \pm 0.0	**	**	**
C20:5n3	2.0 \pm 0.1	0.4 \pm 0.09 a	0.1 \pm 0.04 b	0.2 \pm 0.02 b	0.2 \pm 0.05 b	0.2 \pm 0.07 b	0.2 \pm 0.04 b
C22:2	**	**	**	**	**	**	**
C22:6n3	3.6 \pm 0.2	1.4 \pm 0.6	1.3 \pm 0.1	1.4 \pm 0.2	1.4 \pm 0.05	1.3 \pm 0.1	1.2 \pm 0.2
Σ PUFA's	8.1 \pm 0.6	6.0 \pm 1.3 a	8.0 \pm 1.0 ab	9.1 \pm 1.8 b	9.2 \pm 0.4 b	9.2 \pm 1.0 b	7.6 \pm 2.2 ab
Σ n3	5.6	1.8	1.5	1.6	1.6	1.5	1.3
Σ n6	.1	4.0	6.5	7.5	7.6	7.6	6.3
ARA/EPA				0.5			
ARA/DHA				0.07			
EPA/DHA	0.5	0.3	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
SUMA TOTAL	20.3 \pm 3.6	14.8 \pm 3.5 a	20.5 \pm 3.4 ab	23.0 \pm 5.5 b	19.1 \pm 9.5 b	22.9 \pm 3.0 b	18.3 \pm 6.1ab

.** = no determinado SFA's= ácidos grasos saturados MUFA's= ácidos grasos monoinsaturados PUFA's=ácidos grasos poliinsaturados (p<0.05).

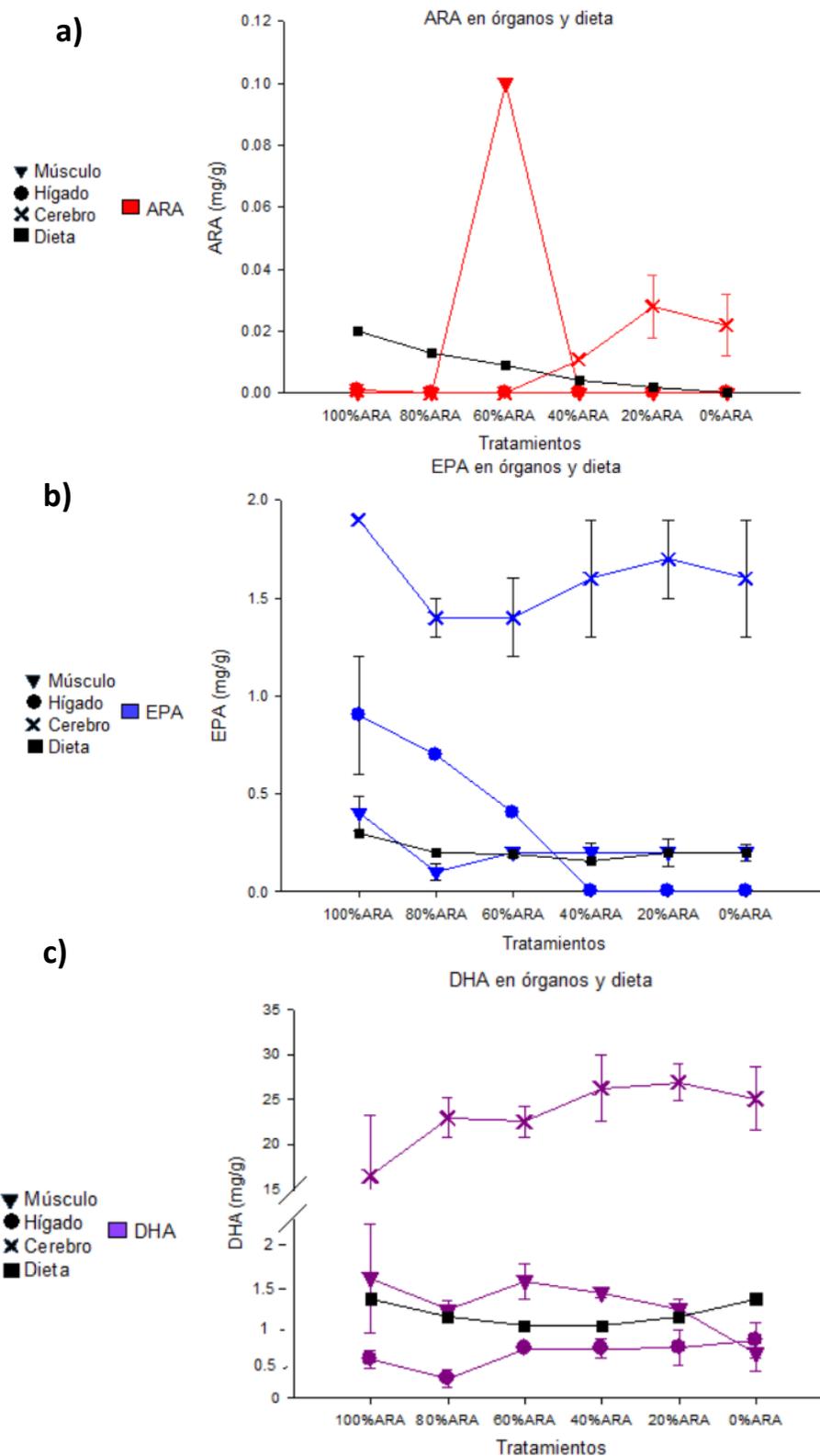


Figura 11: Representación gráfica en mg/g de los ácidos grasos esenciales en las dietas, músculo, hígado y cerebro de juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados con concentraciones reducidas de ácido araquidónico en la dieta (80%, 60%, 40%, 20% y 0% del contenido de ARA en la harina de pescado, 100%,) durante los 71 días de cultivo. **a)** ARA, **b)** EPA, **c)** DHA.

Capítulo 4. Discusión

4.1 Parámetros productivos

Diversos autores han elucidado la importancia que tiene el ácido araquidónico en los organismos acuáticos. Participa en los procesos relacionados con la reproducción, el éxito del desove, regulación de otros ácidos grasos, la tasa de fertilización, así como también en la calidad de la larva y el huevo (Hwang *et al.*, 1988; Sargent *et al.*, 1999; Bell 2003; Tocher 2003; Torrecillas *et al.*, 2018; Rivero *et al.*, 2020; Sissener *et al.*, 2020; Araújo *et al.*, 2022; Hong *et al.*, 2024). No obstante, también se ha destacado su función en el desarrollo esquelético, supervivencia y en el crecimiento de los organismos (Yuan *et al.*, 2015). En distintos estudios han demostrado que la falta de este ácido graso en especies como el lenguado (*Cynoglossus semilaevis*), el góbido (*Synechogobius hasta*), pez gato amarillo (*Pelteobagrus fulvidraco*) y la lobina japonesa (*Lateolabrax japonicus*), afecta negativamente la ganancia de peso, la supervivencia y la tasa de crecimiento específico (Xu *et al.*, 2010; Luo *et al.*, 2012; Yuan *et al.*, 2015; Ma *et al.*, 2018). En contraparte, se ha encontrado que niveles de ARA mayores a los 0.6 mg/g típicos de las harinas y aceites de pescado, también pueden mejorar el crecimiento y la supervivencia, como se observó en la lobina negra *Centropristis striata* y en el góbido *Synechogobius hasta*, especies en las que la adición de aceite de ARA mejoró el crecimiento (Rezek *et al.*, 2010; Luo *et al.*, 2012).

En especies como la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) se demostró que la adición dietética de ARA no ocasionó ningún efecto en los parámetros productivos, por lo que la dieta control (ARA 0.10%) fue suficiente para el crecimiento (Hong *et al.*, 2024). Una respuesta similar se observó en juveniles de totoaba (Alvarado, 2024), ya que los niveles de inclusión superiores a los encontrados en la dieta control no tuvieron efecto sobre los parámetros productivos. En el presente trabajo con totoaba se observó la misma tendencia ya que los menores niveles de ARA en la dieta no afectaron los parámetros productivos.

Por otro lado, la tasa de conversión alimenticia (TCA) en el presente trabajo se mantuvo alrededor de 1.3 concordando con los estudios realizados por Lazo *et al.* (2020), Garnica (2022) y Alvarado (2024), quienes encontraron que las TCA (Tasa de conversión alimenticia) se mantienen en valores que van de 0.8 a 1.3, lo cual se encuentra dentro del intervalo no mayor a 2, sugerido por Mengistu *et al.* (2020). Así mismo, en lo que respecta a la tasa de crecimiento específico (TCE), se mantiene alrededor del 2%/día tanto en el presente trabajo como en el de Mata *et al.* (2018); Lazo *et al.* (2020) y Alvarado (2024). Lo anterior

principalmente se debe a que la TCE se ve reducida conforme aumenta el peso del organismo y aumenta conforme sube la temperatura en la que se encuentran, variable que se mantuvo alrededor de 26°C tanto en este trabajo como en los anteriormente mencionados Talbot (1993).

Los peces en cultivo cuando son alimentados con variaciones en la composición dietética, el índice hepatosomático (IHS) puede ser un indicador útil para evaluar el estado de salud y la condición fisiológica del organismo (Espino *et al.*, 2008). Este índice puede variar en función de factores como la edad y la composición de la dieta, por lo que un aumento relativo en el tamaño del hígado, podría reflejar la acumulación de lípidos asociada a una dieta rica en grasas o carbohidratos. Mata *et al.* (2018), observaron que el IHS alcanzó un valor de 3, lo que sugirió una notable acumulación de lípidos en el hígado, particularmente de ácido palmítico (C16:0), esteárico (C18:0) y oleico (C18:1n9). No obstante, en la presente investigación y en el trabajo realizado por Alvarado (2024), el IHS se mantuvo alrededor de 1, lo que en conjunto con el peso total del organismo podría sugerir el inicio de una acumulación lipídica (Espino *et al.*, 2008; Zhao, 2023).

4.2 Composición bioquímica

En este estudio no se encontraron diferencias en la composición bioquímica del músculo y pez completo, estos resultados contrastan con los obtenidos por Alvarado (2024) para la totoaba. Por otro lado, en la composición del hígado, a diferencia de lo que observó Alvarado (2024), si se observó un aumento significativo de los lípidos con las dietas con 60%, 40%, 20% y 0% ARA. Esta respuesta se podría contraponer a lo estipulado por Pérez *et al.* (2017), quienes mencionan que la totoaba al igual que otros organismos pertenecientes al grupo de los scianidos, tienen un almacenamiento lipídico proporcional a la cantidad de grasa contenida en la dieta. No obstante, se sabe que un desbalance en los ácidos grasos esenciales puede llegar provocar problemas metabólicos y homeostáticos (Hardy *et al.*, 2022). Particularmente se ha descrito que una falta de ARA en la dieta ocasiona problemas en las respuestas inflamatorias e inmunes, esto se debe a que es el principal responsable de la formación de prostaglandinas y eicosanoides, productos que resultan de la oxidación de este ácido graso (Hong *et al.*, 2024). Sin embargo, se sabe que la reducción de la prostaglandina E2 (PGE2), debido a una menor actividad de COX-2, incrementa la expresión del gen C/EBP, un factor de transcripción clave en la adipogénesis (formación de adipocitos) (Wang *et al.*, 2022). Esto conduce a un almacenamiento más rápido y elevado de triglicéridos en los adipocitos (García *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2022). Por lo tanto, se podría plantear la

hipótesis de que la deficiencia de ácido araquidónico (ARA) en la dieta podría estar relacionada con una acumulación diferencial de lípidos encontrados en el hígado. Por otro lado, se podría hipotetizar también que la presencia de carbohidratos en la dieta podría estar sumando acumulación lipídica en hígado a través de la lipogénesis, como en lo mencionado por Zhao (2023) y Bou *et al.* (2016). Sin embargo, las dietas en el presente trabajo no contienen variaciones significativas en los hidratos de carbono por lo que sus efectos pueden no estar directamente relacionados (Sheridan, 1988; Ferramosca 2014). Esta acumulación lipídica también fue observada por Alvarado (2024), quien reporta cantidades de grasa total alrededor de los 60 g/100 g, concentraciones que son similares a las obtenidas en este trabajo con los tratamientos de 60%ARA a 0%ARA (57-54g/100 g).

4.3 Ácidos grasos

Diversos autores han elucidado la importancia que tienen los lípidos en el cerebro, ya que son indispensables para el funcionamiento de este órgano (Kreps *et al.*, 1969; Hong *et al.*, 2014; Hong *et al.*, 2014; Roy, *et al.*, 2020a; Roy, *et al.*, 2020b). Particularmente el ácido palmítico (C16:0) fue el ácido graso saturado de mayor presencia en el cerebro. Esto, principalmente se debe a que es el tercer ácido graso más abundante en el cerebro, formando parte estructural de los fosfolípidos de membrana y utilizado como recurso energético (Smith, 2024). Lo anterior se debe a que puede ser sintetizado mediante lipogénesis por la actividad del complejo enzimático ácido graso sintasa (FAS), a partir de malonil-CoA, un metabolito producto de la carboxilación del acetil CoA por acción de la enzima acetil-CoA carboxilasa (ACC) (Hardy *et al.*, 2022; Smith *et al.*, 2022). En contraparte, el cerebro de los peces al igual que el de mamíferos tiene una capacidad limitada de sintetizar LC-PUFAS (ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga) (Plourde, 2007). Esto conlleva la necesidad de que el alimento cuente con los ácidos grasos esenciales para suplir la demanda nutricional del cerebro. (Torrecillas *et al.*, 2017). Aunque es importante mencionar que la cantidad y requerimientos neuronales de ácidos grasos varía entre especies, se tiene conocimiento de que las células gliales pueden funcionar con una cantidad mínima de ARA (3-30 μ M) (Attwell *et al.*, 1993).

En el presente trabajo, las concentraciones de ARA en el cerebro aumentaron a partir del tratamiento 40%ARA, lo que podría implicar que este órgano tiene una demanda fisiológica de este ácido graso. Estos resultados difieren de lo encontrado para la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) donde dietas con valores inferiores al 1% de ARA no presentaron afectaciones ni diferencias en la concentración de ARA en el cerebro (Roy *et al.*, 2020). Esta importancia está altamente relacionada con la neurotransmisión, ya que

se ha demostrado con salamandras que el ARA es un importante regulador de la transmisión neuronal (Barbour *et al.*, 1989). Lo anterior se debe a que en las células gliales o astrocitos el ARA regula la captación del glutamato, un importante neurotransmisor captado por los receptores NMDA y AMPA (Attwell *et al.*, 1993).

El hígado de los peces, al igual que el de otros animales, tiene la función de metabolizar los carbohidratos, las proteínas y las grasas. Estas últimas, de manera particular en los peces, se almacenan en los hepatocitos como reserva energética (Torres *et al.*, 2010; NRC, 2011; Ronald, 2021;). La composición del hígado y el músculo de la totoaba reflejan de cierta forma la composición de ácidos grasos que le son suministrados en la dieta (Pérez *et al.*, 2017; González *et al.*, 2016 y Mata *et al.*, 2018), lo cual coincide con lo obtenido en este trabajo y con lo reportado por Alvarado en 2024, quien menciona que los ácidos grasos tales como EPA, DHA y ARA son proporcionales a los entregados en la dieta.

En relación con la composición bioquímica del hígado, la reducción en la cantidad ARA suministrado en la dieta pudo ocasionar una acumulación diferencial de lípidos. Esta acumulación lipídica, en su mayoría fue de ácidos grasos saturados (SFA's) y monoinsaturados (MUFA's). Esto principalmente está relacionado con la preferencia que tiene la totoaba hacia el almacenamiento de estos ácidos grasos, ya que son sustratos preferidos para la β -oxidación (Generación de energía a partir de lípidos) (Mata *et al.*, 2018). Esto también se ha reportado para el jurel cola amarilla (*Seriola lalandi*), el cual utiliza los SFA's (ácidos grasos saturados) y los MUFA's (ácidos grasos monoinsaturados) como principal reserva energética (Barreto *et al.*, 2017). En peces, los ácidos grasos tales como el palmítico (C16:0) y esteárico (C18:0), son utilizados como sustrato enzimático para la estearil CoA desaturasa y sintetizar de novo ácidos grasos como el oleico (C18:1n9), el cual también es utilizado como un recurso energético (Mata *et al.*, 2018). Esta afirmación coincide con lo obtenido en este trabajo y por Alvarado (2024), debido a que el ácido oleico (C18:1n9) almacenado en el hígado tuvo concentraciones (24 mg/g) superiores a las suministradas en la dieta.

Es importante mencionar que tanto el ARA (ácido araquidónico) como el EPA (ácido eicosapentaenoico) tienen la capacidad de influenciar indirectamente en el almacenamiento lipídico, esto se debe principalmente a que participan en la inhibición de enzimas como las lipasas sensibles a hormonas (HSL) y la lipoproteína lipasa (LPL), que en los adipocitos liberan los ácidos grasos, ya sea a partir de un triglicérido o de una lipoproteína para su movilización o almacenamiento (Mersmann, 1998). Lo anterior se comprobó en el músculo cardíaco de un porcino, ya que se documentó que estos ácidos grasos son importantes moduladores de las enzimas anteriormente mencionadas (Mersmann, 1998; Shang, 2021).

La fisiología del músculo de los peces involucra una gran diversidad de procesos, de los cuales el almacenamiento lipídico es una de los más importantes, ya que proveen la energía necesaria para una contracción continua y son una reserva ante la ausencia de alimento (Jaromowska, 1985; Jeukendrup, 2002). Tal y como lo menciona Skonberg *et al.* (1994), este tejido también refleja de manera directa los ácidos grasos que son suministrados en la dieta, lo cual se ha comprobado en los estudios realizados en el salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) y la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). En ese mismo sentido, también se ha documentado que la totoaba tienen la capacidad de incorporar los ácidos grasos de la dieta en el músculo (Pérez *et al.*, 2017). De manera similar, Alvarado (2024) observó el aumento de ARA en el músculo. En el presente trabajo se observó que la deficiencia de ARA también se reflejó en el músculo.

En este trabajo se demostró el aumento de ARA a partir de 40%ARA (0.011mg/g) en órganos como el cerebro, mientras que en hígado 100%ARA (0.001mg/g) fue el único tratamiento en el que fue detectado. Esto podría estar relacionado con la movilización lipídica de ARA y EPA, ya que este tipo de ácidos grasos por su estructura molecular son movilizados hacia el plasma sanguíneo (Connor *et al.*, 1996). En ese mismo sentido, se podría hipotetizar que ARA fue liberado por las fosfolipasas A2 desde otros tejidos como los adipocitos, músculo, hígado, entre otros y transportado por la vía sanguínea mediante moléculas como las LDL (Lipoproteínas de baja densidad) y HDL (Lipoproteínas de alta densidad) hacia el cerebro, lugar en el cual, como se mencionó anteriormente se presentó una demanda fisiológica (FAO, 2008; Giménez-Martín *et al.*, 2018; Grabner *et al.*, 2021). Aunado a ello se pudo observar una variación en el EPA de los distintos tejidos, que podría estar asociada con la relación competitiva que tiene con ARA, sin embargo, aunque se observan ligeras tendencias no hubo un efecto significativo (Fountoulaki *et al.*, 2003; Tian *et al.*, 2017).

4.4 Lipasas totales

En el metabolismo lipídico, es necesaria la participación de las lipasas, que son enzimas encargadas de la digestión lipídica, es decir, de transformar los triglicéridos en moléculas más pequeñas, como diglicéridos y ácidos grasos (Nolasco-Soria *et al.*, 2024). Estas enzimas se pueden encontrar en diferentes sitios en los peces, tales como el estómago, los ciegos pilóricos, intestino e hígado, y su actividad puede cambiar dependiendo del estadio de desarrollo, así como por cambios en el suministro lipídico. Por lo tanto, la evaluación de estas enzimas puede dar indicios del estado nutricional y de la salud de los peces (Nayak *et al.*, 2003).

La actividad de las lipasas depende de varios factores, como la expresión génica o la influencia de otras moléculas que pueden provocar su activación o inhibición. En este sentido, se ha demostrado que en los mamíferos, el ácido araquidónico puede modular la actividad de las lipasas mediante una cadena de eventos regulados por las prostaglandinas, en específico por las PGE₂ (Prostaglandina E₂) y PGI₂ (Prostaciclina), que son producto de la ruta metabólica de la ciclooxigenasa (COX) y lipooxigenasa (LOX). Estas enzimas utilizan principalmente ARA para la formación de estas hormonas (Tian *et al.*, 2016; Haghparast *et al.*, 2019; Nolasco *et al.*, 2024). En este sentido, Tian *et al.* (2016), alimentaron a la carpa china (*Ctenopharyngodon idella*) con el 0.3% de ARA en la dieta y observaron una modificación en la actividad lipolítica y por lo tanto en el almacenamiento de los ácidos grasos, estos resultados se contraponen a los observados en este trabajo y en los de Alvarado (2024) y Garnica (2022). En estos estudios la dieta se elaboró con una fuente lipídica y una cantidad de ARA diferente. Sus resultados no indicaron diferencias en la actividad de las lipasas, lo que sugiere que para futuros experimentos que impliquen el análisis de la actividad de lipasas sobre estos ácidos grasos, es necesario analizar también la expresión génica y la actividad de las prostaglandinas anteriormente mencionadas para poder correlacionar su efecto en el almacenamiento lipídico.

Capítulo 5. Conclusiones

Los parámetros productivos de totoaba (*Totoaba macdonaldi*) no fueron afectados por la deficiencia de ácido araquidónico en la dieta, por lo que se podría decir que la totoaba es una especie con gran plasticidad para modular la falta de este ácido graso.

La composición bioquímica del músculo y del pez completo no fueron afectados por las diferentes concentraciones de ARA en la dieta. En contraste, el hígado acumuló lípidos en respuesta a la falta de ARA, lo que podría deberse a la ausencia de prostaglandina E2.

El cerebro de la totoaba acumuló ácidos grasos como el palmítico y aumentó el ARA posiblemente gracias a la movilización de este ácido graso desde otros tejidos.

El hígado de la totoaba reaccionó a los bajos niveles de ARA de la dieta, y acumuló de ácidos grasos saturados y monoinsaturados, posiblemente por la preferencia energética, así como una disminución gradual de ARA, propiciada por su movilización.

La actividad de las lipasas en el hígado de la totoaba no fueron afectadas por la disminución de ARA en la dieta.

5.1 Recomendaciones

Para elucidar de manera particular los efectos de la suplementación de ácido araquidónico se recomienda analizar las respuestas inmunitarias y la expresión de los genes que codifican las enzimas involucradas en su metabolismo, como las ciclooxigenasas (COX) y las lipooxigenasas (LOX), así como el análisis nutricional de las posibles rutas metabólicas que se podrían ver implicadas.

En conjunto con el análisis de la actividad en lipasas totales se recomienda analizar específicamente las hormonas producidas por el ácido araquidónico como las PGE₂ (Prostaglandina E₂) y PGI₂ (Prostaciclina), ya que están directamente relacionadas con otros procesos metabólicos que incluyen los lípidos suministrados en la dieta.

Dado que el ARA juega un papel fundamental en la regulación celular y es responsable de múltiples vías metabólicas, se recomienda ampliamente analizar otro tipo de respuestas fisiológicas, como la competencia entre ARA y EPA o incluso identificar mediante isotopos el movimiento y la deposición que puede llegar a tener este ácido graso en organismos como la totoaba.

Literatura citada

- Alvarado, O. (2024). *Efecto del ácido araquidónico en los parámetros de crecimiento, química sanguínea, perfil de ácidos grasos, actividad enzimática de lipasas de Totoaba macdonaldi*. [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Baja California]. Tesis no publicada.
- Association of Official Analytical Chemist (A.O.A.C.) (1990). Official method of analysis. Association of Official Analytical Chemist, Washington D.C. Archivo PDF
- Araújo, B. C., Honji, R. M., Rombenso, A. N., de Souza, G. B., de Mello, P. H., Hilsdorf, A. W. S., & Moreira, R. G. (2019). Influences of different arachidonic acid levels and temperature on the growth performance, fatty acid profile, liver morphology and expression of lipid genes in cobia (*Rachycentron canadum*) juveniles. *Aquaculture*, 511. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734245>
- Araújo, B. C., Skrzynska, A. K., Marques, V. H., Tinajero, A., Del Rio-Zaragoza, O. B., Viana, M. T., & Mata-Sotres, J. A. (2022). Dietary Arachidonic Acid (20:4n-6) Levels and Its Effect on Growth Performance, Fatty Acid Profile, Gene Expression for Lipid Metabolism, and Health Status of Juvenile California Yellowtail (*Seriola dorsalis*). *Fishes*, 7(4). <https://doi.org/10.3390/fishes7040185>
- Attwell, D., Miller, B., & Sarantis, M. (1993). Arachidonic acid as a messenger in the central system. *The Neurosciences*, 5, 159-169. [https://doi.org/10.1016/S1044-5765\(05\)80049-1](https://doi.org/10.1016/S1044-5765(05)80049-1)
- Badillo, D., Lazo, J. P., Herzka, S. Z., & Viana, M. T. (2016). The effect of substituting fishmeal with poultry by-product meal in diets for *Totoaba macdonaldi* juveniles. *Aquaculture Research*, 47(6), 1778–1789. <https://doi.org/10.1111/are.12636>
- Barbour, B., Szatkowski, M., Ingledew, . N., & Attwell, D. (1989). Arachidonic acid induces a prolonged inhibition of glutamate uptake into glial cells. *Nature*, 342(6252), 918–920. <https://doi.org/doi:10.1038/342918a0>
- Barrera, J. (1990). The conservation of *Totoaba macdonaldi* (Gilbert), (Pisces: Sciaenidae), in the Gulf of California, Mexico. *Journal of Fish Biology*, 37, 201-202 <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1990.tb05038.x>
- Barreto, F., Focken, U., D'Abramo, L., & Viana, M. (2017). Metabolism of *Seriola lalandi* during starvation as revealed by fatty acid analysis and compound-specific analysis of stable isotopes within amino acids. *PLoS ONE*, 12(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170124>
- Bell, G & Sargent, J. (2003). Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. *Aquaculture*, 218(1–4), 491–499. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00370-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00370-8)
- Bell, G., Castell, J. D., Tocher, D. R., Macdonald, F. M., & Sargent, J. R. (1995). Effects of different dietary arachidonic acid: docosahexaenoic acid ratios on phospholipid fatty acid compositions and prostaglandin production in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Fish Physiology and Biochemistry* 14(2). [doi: 10.1007/BF00002457](https://doi.org/10.1007/BF00002457)

- Bou, M., Todorčević, M., Torgersen, J., Škugor, S., Navarro, I., & Ruyter, B. (2016). De novo lipogenesis in Atlantic salmon adipocytes. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1860(1), 86–96. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2015.10.022>
- Batt, J., Bennett, K., Couturier, C., Hammell, L., Harvey, C., Kreiberg, H., Griffin, G., Iwama, G., Lall, S., Litvak, M., Rainnie, D., Stevens, D., Wright, J. & Griffin, G. (2005). *CCAC guidelines on: The care and use of fish in research, teaching, and testing*. Ottawa. Canadian Council on Animal Care. Archivo PDF
- Chang, M., Xiao, J., Liu, R., Lu, L., Jin, Q., & Wang, X. (2015). Effect of defatting on quality of meat and bone meal. *Animal Science Journal*, 86(3), 319–324. <https://doi.org/10.1111/asj.12286>
- Cheng, L., Chhorn L., Delbert M. Gatlin III, & Webster, C. (2015). *Dietary Nutrients, Additives, and Fish Health*. Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119005568>
- Cisneros, M. A., Montemayor, G., & Rodríguez, R. (1995). Life History and Conservation of *Totoaba macdonaldi*. *Conservation Biology*, 9(4)<https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1995.09040806.x>
- Conal, D. (2012). *Desarrollo de la biotecnia de cultivo de Totoaba macdonaldi* [Tesis de doctorado, Universidad Autónoma de Baja California]. Repositorio institucional. <https://hdl.handle.net/20.500.12930/220>
- Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca (CONAPESCA). (2021). Anuario estadístico de acuacultura y pesca de la comisión nacional de acuacultura y pesca. https://nube.conapesca.gob.mx/sites/cona/dgppe/2021/ANUARIO_ESTADISTICO_DE_ACUACULTURA_Y_PESCA_2021.pdf
- Connor, W. E., Lin, D. S., & Colvis, C. (1996). Differential mobilization of fatty acids from adipose tissue. *Journal of Lipid Research*, 37(2), 290–298. [https://doi.org/10.1016/s0022-2275\(20\)37616-1](https://doi.org/10.1016/s0022-2275(20)37616-1)
- Durazo, E., Cruz, A. C., López, L. M., Lazo, J. P., Drawbridge, M., & Viana, M. T. (2010). Effects of digestible protein levels in isonitrogenous diets on growth performance and tissue composition of juvenile *Atractoscion nobilis*. *Aquaculture Nutrition*, 16(1), 54–60. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2008.00640.x>
- Eckert R., Randall D., Burggren W, & French K. (1997). *Animal Physiology: Mechanisms and Adaptations* (4ta ed.). W.H. Freeman y Company.
- Espino, E., González A., Santana, H., & González, H. (2008). Instituto nacional de la pesca Universidad Autónoma de Nayarit manual de biología pesquera. Archivo PDF.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2008). Grasas y ácidos grasos en nutrición humana Consulta de expertos (Fundación iberoamericana de nutrición, Ed.). <https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/i1953s>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2020). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. En El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. FAO. <https://doi.org/10.4060/ca9229es>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2020). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. En El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. FAO. <https://doi.org/10.4060/ca9229es>

- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2024). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2024. <https://doi.org/10.4060/cd0690es>
- Ferramosca, A., y Zara, V. (2014). Modulation of hepatic steatosis by dietary fatty acids. *World Journal of Gastroenterology*, 20(7), 1746–1755. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i7.1746>
- Folch, J., Lees, M., y Sloane, G. (1956). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of biological chemistry*, 226(1), 497-509 [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)64849-5)
- Fountoulaki, E., Alexis, M. N., Nengas, I., y Venou, B. (2003). Effects of dietary arachidonic acid (20:4n-6), on growth, body composition, and tissue fatty acid profile of gilthead bream fingerlings (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*, 225(1–4), 309–323. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00298-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00298-9)
- Garnica L. (2022). *Efecto de las macroalgas como ingrediente funcional en el desempeño biológico, capacidad digestiva y respuesta inmune de la totoaba, Totoaba macdonaldi*. [Tesis de Maestría ,Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada Baja California]. Repositorio Institucional <http://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/3672>
- García-Alonso V, Titos E, Alcaraz-Quiles J, Rius B, Lopategi A, López-Vicario C. (2016) Prostaglandin E2 Exerts Multiple Regulatory Actions on Human Obese Adipose Tissue Remodeling, Inflammation, Adaptive Thermogenesis and Lipolysis. *PLoS ONE* 11(4) e0153751. <https://doi:10.1371/journal.pone.0153751>
- Giménez, M., Gómez, Z., & Rueda, A. (2018). Fisiopatología de los transportadores de glutamato y de glicina: nuevas dianas terapéuticas. *Revista de Neurología*, 67(12), 491. <https://doi.org/10.33588/rn.6712.2018067>
- Gjellesvik, D., & Lombard, D. (1992). Pancreatic bile salt dependent lipase from cod (*Gadus morhua*): purification and properties. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1124. [https://doi.org/10.1016/0005-2760\(92\)90088-d](https://doi.org/10.1016/0005-2760(92)90088-d)
- González, M., Maldonado, C., & Pérez, M. (2016). Effect of dietary lipid level and replacement of fish oil by soybean oil in compound feeds for the shortfin corvina (*Cynoscion parvipinnis*). *Aquaculture*, 454, 217–228. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.12.021>
- Grabner, G. F., Xie, H., Schweiger, M., & Zechner, R. (2021). Lipolysis: cellular mechanisms for lipid mobilization from fat stores. *Nature Metabolism*, 3(11), 1445–1465. <https://doi.org/10.1038/s42255-021-00493-6>
- Hardy, R., & Kaushik, S. (2022). *Fish Nutrition* (4ta ed.). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2018-0-03211-9>
- Hong, H., Zhou, Y., Wu, H., Luo, Y., & Shen, H. (2014). Lipid content and fatty acid profile of muscle, brain and eyes of seven freshwater fish: A comparative study. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91(5), 795–804. <https://doi.org/10.1007/s11746-014-2414-5>
- Hong, J., Ortiz, J. G., Sealey, W. M., & Small, B. C. (2024). Effects of dietary arachidonic acid supplementation in low fishmeal and fish oil-free diets on growth performance, inflammatory response, gut histology, and non-specific immunity in sub-adult rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 580. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.740272>

- Hwang, D., Boidreau, M., & Chanmugam, P. (1988). Dietary Unsaturated Acid and Longer-Chain n-3 Fatty Acids: Comparison of Effects on Arachidonic Acid Metabolism in Rats. *The Journal of Nutrition*, 118(4), 427–437. <https://doi.org/doi:10.1093/jn/118.4.427>
- Jaromowska, M., & Górski, J. (1985). Effect of fasting on skeletal muscle triglyceride content. *Experientia*, 41(3), 357–358. <https://doi.org/10.1007/BF02004502>
- Jenabi Haghparast, R., Sarvi Moghanlou, K., Mohseni, M., & Imani, A. (2019). Effect of dietary soybean lecithin on fish performance, hemato-immunological parameters, lipid biochemistry, antioxidant status, digestive enzymes activity and intestinal histomorphometry of pre-spawning Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*). *Fish and Shellfish Immunology*, 91, 50–57. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.05.022>
- Jeukendrup, A. E. (2002). Regulation of Fat Metabolism in Skeletal Muscle. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 967(1), 217–235. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2002.tb04278.x>
- Jobling, M., Gomes, E., Dias, J. (2001). Feed types, manufacture and ingredients. Food intake in fish. Blackwell Science, 25–41. <https://doi.org/10.1002/9780470999516.ch2>
- Juarez, L., Konietzko, P., & Schwarz, M. (2016). Totoaba Aquaculture and Conservation: Hope for an Endangered Fish from Mexico's Sea of Cortez. *World aquaculture*, 47(4), 30–38. <https://www.globalseafood.org/wp-content/uploads/2017/06/Juarez-WAM-Dec.-2016.pdf>
- Kaur, N., Chugh, V., & Gupta, A. K. (2014). Essential fatty acids as functional components of foods- a review. *En Journal of Food Science and Technology*, 51(10), 2289–2303. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0677-0>
- Khiabani, A. R., & Keramat, A. (2019). Review: Use of highly unsaturated fatty acid (HUFA) in ornamental fish feeds. *Journal of Survey in Fisheries Sciences*, 6(1), 64–76. <https://doi.org/10.18331/sfs2019.6.1.7>
- Kreps, E. M., Chebotar, M. A. & Akulin, V. N. (1969). Fatty acid composition of brain and body phospholipids of the anadromous salmon, *Oncorhynchus nerka*, from fresh-water and marine habitat. *Biochem. Physiol* 31. [https://doi.org/doi.org/10.1016/0010-406X\(69\)90023-1](https://doi.org/doi.org/10.1016/0010-406X(69)90023-1)
- Katzung B. & Trevor A. (2014). *Basic & clinical pharmacology* (13th ed.) McGraw-Hill Education.
- Lazo, J. P., Fuentes, J. P., Villareal, G., Viana, M., & Barón, B. (2020). The effect of dietary n-3 LC-PUFA levels on growth, survival, and feed utilization in juvenile *Totoaba macdonaldi*. *Aquaculture*, 525. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735350>
- Luo, Z., Tan, X. Y., Li, X. D., & Yin, G. J. (2012). Effect of dietary arachidonic acid levels on growth performance, hepatic fatty acid profile, intermediary metabolism and antioxidant responses for juvenile *Synechogobius hasta*. *Aquaculture Nutrition*, 18(3), 340–348. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2011.00906.x>
- Ma, H. na, Jin, M., Zhu, T. ting, Li, C. chen, Lu, Y., Yuan, Y., Xiong, J., & Zhou, Q. cun. (2018). Effect of dietary arachidonic acid levels on growth performance, fatty acid profiles and lipid metabolism of juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Aquaculture*, 486, 31–41. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.11.055>

- Madrid, J. (2019). *Estimación del perfil de aminoácidos óptimo para el mayor crecimiento y eficiencia alimenticia en juveniles de Totoaba, (Totoaba macdonaldi)* [Tesis de Doctorado, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada Baja California]. Repositorio institucional. <http://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/2777>
- Maldonado, C. A., De La Re-Vega, E., Pérez, M., & González, M. L. (2022). Replacement of fish oil by camelina and black soldier fly larvae oils in diets for juvenile *Totoaba macdonaldi* and their effect on growth, fatty acid profile, and gene expression of pancreatic lipases. *Aquaculture*, 552. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.737985>
- Mata, J. A., Tinajero, A., Barreto, F., Pares, G., Del Rio, O. B., Viana, M., & Rombenso, A. N. (2018). DHA (22:6n-3) supplementation is valuable in *Totoaba macdonaldi* fish oil-free feeds containing poultry by-product meal and beef tallow. *Aquaculture*, 497, 440–451. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.08.015>
- Mengistu, S. B., Mulder, H. A., Benzie, J. A. H., & Komen, H. (2020). A systematic literature review of the major factors causing yield gap by affecting growth, feed conversion ratio and survival in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Reviews in Aquaculture*, 12(2), 524–541. <https://doi.org/10.1111/raq.12331>
- Mersmann, H. J. (1998). Lipoprotein and Hormone-Sensitive Lipases in Porcine Adipose Tissue. *Journal of Animal Science* 76 <https://academic.oup.com/jas/article-abstract/76/5/1396/4639153>
- Mejri, S. C., Tremblay, R., Audet, C., Wills, P. S., & Riche, M. (2021). Essential fatty acid requirements in tropical and cold-water marine fish larvae and juveniles. *Frontiers in Marine Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.680003>
- Miller, B., Sarantis, M., Traynelis, S. F., & Attwell, D. (1992). Potentiation of NMDA receptor currents by arachidonic acid. *Nature*, 355(6362), 722–725. <https://doi.org/10.1038/355722a0>
- Monroig, Óscar, Navarro, J. C., & R. Tocher, D. (2011). Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids in Fish: Recent Advances on Desaturases and Elongases Involved in Their Biosynthesis. *Avances En Nutrición Acuicola*. <https://nutricionacuicola.uanl.mx/index.php/acu/article/view/93>
- National Research Council. (2011). *Nutrient Requirements of Fish and Shrimp*. National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/13039>
- Nayak, J., Nair, P. G. V., Ammu, K., & Mathew, S. (2003). Lipase activity in different tissues of four species of fish: Rohu (*Labeo rohita Hamilton*), oil sardine (*Sardinella longiceps Linnaeus*), mullet (*Liza subviridis Valenciennes*) and Indian mackerel (*Rastrelliger kanagartha Cuvier*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(11), 1139–1142. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1515>
- Nolasco, H., Alvarez, C. A., Tovar, D., González, J., del Monte, A., & Vega, F. (2024). Optimization of Classical Lipase Activity Assays for Fish Digestive Tract Samples. *Fishes*, 9(7). <https://doi.org/10.3390/fishes9070261>
- Nolasco, H., Moyano, F., Vega, F., del Monte, A., Espinosa, D., Gisbert, E., & Nolasco, H. R. (2018). Lipase and Phospholipase Activity Methods for Marine Organisms. *Methods in Molecular Biology*, 1835 139–167. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8672-9_7

- Oliva-Teles, A., Enes, P., & Peres, H. (2015). Replacing fishmeal and fish oil in industrial aquafeeds for carnivorous fish. In *Feed and Feeding Practices in Aquaculture* (pp. 203–233). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100506-4.00008-8>
- Pérez, M., Minjarez, C., & González, M. L. (2017). Effect of dietary lipid level on growth performance, feed utilization and body composition of totoaba, *Totoaba macdonaldi* (Gilbert, 1890). *Aquaculture Research*, 48(5), 2607–2617. <https://doi.org/10.1111/are.13002>
- Plourde, M., & Cunnane, S. C. (2007). Extremely limited synthesis of long chain polyunsaturates in adults: implications for their dietary essentiality and use as supplements. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 32(4), 619–634. <https://doi.org/10.1139/H07-034>
- Rana, K.J., Siriwardena, S., & Hasan, M. R. (2009). *Impact of rising feed ingredient prices on aquafeeds and aquaculture production*. FAO Fish. Aquac. Tech. <https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/ji1143e>
- Rezek, T. C., Watanabe, W. O., Harel, M., & Seaton, P. J. (2010). Effects of dietary docosahexaenoic acid (22:6n-3) and arachidonic acid (20:4n-6) on the growth, survival, stress resistance and fatty acid composition in black sea bass *Centropristis striata* (Linnaeus 1758) larvae. *Aquaculture Research*, 41(9), 1302–1314. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02418.x>
- Rivero, F., Torrecillas, S., Betancor, M. B., Izquierdo, M. S., Caballero, M. J., & Montero, D. (2020). Effects of dietary arachidonic acid in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) distal intestine lipid classes and gut health. *Fish Physiology and Biochemistry*, 46(2), 681–697. <https://doi.org/10.1007/s10695-019-00744-0>
- Ronald W. (2002). Amino acids and proteins. In John E. Halver & Ronald W. Hardy, *Fish nutrition* (pp 143-179). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-319652-1.X5000-9>
- Roy, J., Larroquet, L., Surget, A., Lanuque, A., Sandres, F., Terrier, F., Corraze, G., Chung-Yung Lee, J., & Skiba-Cassy, S. (2020). Impact on cerebral function in rainbow trout fed with plant-based omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids enriched with DHA and EPA. *Fish and Shellfish Immunology*, 103, 409–420. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.05.044>
- Roy, J., Vigor, C., Vercauteren, J., Reversat, G., Zhou, B., Surget, A., Larroquet, L., Lanuque, A., Sandres, F., Terrier, F., Oger, C., Galano, J. M., Corraze, G., & Durand, T. (2020). Characterization and modulation of brain lipids content of rainbow trout fed with 100% plant-based diet rich in omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids DHA and EPA. *Biochimie*, 178, 137–147. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2020.06.010>
- Rueda, S., Lazo, J. P., Reyes, G. C., & Viana, M. (2011). Effect of dietary protein and energy levels on growth, survival and body composition of juvenile *Totoaba macdonaldi*. *Aquaculture*, 319(3–4), 385–390. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.07.007>
- Sargent, J., Bell, G., Mcevoy, L., Tocher, D., & Estevez, A. (1999). Recent Developments in the Essential Fatty Acid Nutrition of Fish. *Aquaculture*, 177(1-4), 191-199. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00083-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00083-6)
- Shang, R., & Rodrigues, B. (2021). Lipoprotein lipase and its delivery of fatty acids to the heart. *Biomolecules*, 11(7). <https://doi.org/10.3390/biom11071016>

- Sheridan, M. A. (1988). Lipid dynamics in fish: aspects of absorption, transportation, deposition and mobilization. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 90(4), 679–690. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(88\)90322-7](https://doi.org/10.1016/0305-0491(88)90322-7)
- Sissener, N. H., Araujo, P., Sæle, Rosenlund, G., Stubhaug, I., & Sanden, M. (2020). Dietary 18:2n-6 affects EPA (20:5n-3) and ARA (20:4n-6) content in cell membranes and eicosanoid production in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 522. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735098>
- Skonberg, D. I., Rasco, B. A., & Dong, F. M. (1994). Fatty Acid Composition of Salmonid Muscle Changes in Response to a High Oleic Acid Diet. *The Journal of Nutrition*, 124(9), 1628–1638. <https://doi.org/10.1093/jn/124.9.1628>
- Smith, M. E., & Bazinet, R. P. (2024). Unraveling brain palmitic acid: Origin, levels and metabolic fate. *Progress in Lipid Research*, 96, 101300. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2024.101300>
- Smith, M. E., Cisbani, G., Metherel, A. H., & Bazinet, R. P. (2022). The majority of brain palmitic acid is maintained by lipogenesis from dietary sugars and is augmented in mice fed low palmitic acid levels from birth. *Journal of Neurochemistry*, 161(2), 112–128. <https://doi.org/10.1111/jnc.15539>
- Talbot, C. (1993). Some aspects of the biology of feeding and growth in fish. *Proceedings of the Nutrition Society*, 52(3), 403–416. <https://doi.org/10.1079/pns19930081>
- Tian, J. J., Lei, C. X., Ji, H., Kaneko, G., Zhou, J. S., Yu, H. B., Li, Y., Yu, E. M., & Xie, J. (2017). Comparative analysis of effects of dietary arachidonic acid and EPA on growth, tissue fatty acid composition, antioxidant response and lipid metabolism in juvenile grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*. *British Journal of Nutrition*, 118(6), 411–422. <https://doi.org/10.1017/S000711451700215X>
- Tian, J. jing, Lei, C. xia, Ji, H., Chen, L. Q., & Du, Z. Y. (2016). Dietary Arachidonic Acid Has a Time-Dependent Differential Impact on Adipogenesis Modulated via COX and LOX Pathways in Grass Carp *Ctenopharyngodon idellus*. *Lipids*, 51(12), 1325–1338. <https://doi.org/10.1007/s11745-016-4205-2>
- Tocher, D. R. (2003). Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science*, 11(2), 107–184. <https://doi.org/10.1080/713610925>
- Torrecillas, S., Betancor, M. B., Caballero, M. J., Rivero, F., Robaina, L., Izquierdo, M., & Montero, D. (2018). Supplementation of arachidonic acid rich oil in European sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*) diets: effects on growth performance, tissue fatty acid profile and lipid metabolism. *Fish Physiology and Biochemistry*, 44(1), 283–300. <https://doi.org/10.1007/s10695-017-0433-5>
- Torrecillas, S., Román, L., Rivero-Ramírez, F., Caballero, M. J., Pascual, C., Robaina, L., Izquierdo, M. S., Acosta, F., & Montero, D. (2017). Supplementation of arachidonic acid rich oil in European sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*) diets: Effects on leucocytes and plasma fatty acid profiles, selected immune parameters and circulating prostaglandins levels. *Fish and Shellfish Immunology*, 64, 437–445. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.03.041>
- Torres R, G. A., González P, S., y Peña S, E. (2010). Descripción Anatómica, Histológica y Ultraestructural de la Branquia e Hígado de Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *International Journal of Morphology*, 28(3). <https://doi.org/10.4067/S0717-95022010000300008>

- Wang B., Jing W., Dong L., Chen C., Wen Z., Hu J., Fleming I. & Wang D. (2021). Metabolism pathways of arachidonic acids: mechanisms and potential therapeutic targets. *Signal Transduction and Target Therapy* 6, 94. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00443-w>
- Wang, C., Zhang, X., Luo, L., Luo, Y., Wu, D., Spilca, D., Le, Q., Yang, X., Alvarez, K., Hines, W. C., Yang, X. O., & Liu, M. (2022). COX-2 Deficiency Promotes White Adipogenesis via PGE2-Mediated Paracrine Mechanism and Exacerbates Diet-Induced Obesity. *Cells*, 11(11), 1819. <https://doi.org/10.3390/cells11111819>
- Willmer P., Stone G., y Johnston I. (Eds.) (2004). *Environmental Physiology of Animals* (2th ed.). Willey-Blackwell.
- Wilson, R. P. (1994). Utilization of dietary carbohydrate by fish. *Aquaculture*, 124(1-4), 67-80 [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90363-8](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90363-8)
- Xu, H., Ai, Q., Mai, K., Xu, W., Wang, J., Ma, H., Zhang, W., Wang, X., & Liufu, Z. (2010). Effects of dietary arachidonic acid on growth performance, survival, immune response and tissue fatty acid composition of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture*, 307(1–2), 75–82. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.07.001>
- Yamamoto, T., Goto, T., Kine, Y., Endo, Y., Kitaoka, Y., Sugita, T., Furuita, H., Iwashita, Y., & Suzuki, N. (2008). Effect of an alcohol extract from a defatted soybean meal supplemented with a casein-based semi-purified diet on the biliary bile status and intestinal conditions in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 39(9), 986–994. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.01969.x>
- Yuan, Y., Li, S., Mai, K., Xu, W., Zhang, Y., & Ai, Q. (2015). The effect of dietary arachidonic acid (ARA) on growth performance, fatty acid composition and expression of ARA metabolism-related genes in larval half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*). *British Journal of Nutrition*, 113(10), 1518–1530. <https://doi.org/10.1017/S0007114515000781>
- Zhao, X. (2023). Etiology and Treatment of the Nutritional Fatty Liver in Fish: A Review. *Pakistan Journal of Zoology*. 1-14. <https://doi.org/10.17582/journal.pjz/20230301120341>