



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

EFFECTO DE LA OSCILACIÓN DE LA TEMPERATURA
DURANTE EL DESARROLLO EMBRIONARIO Y SU
INFLUENCIA EN LA ALIMENTACIÓN EXÓGENA EN LARVAS
DE JUREL *Seriola rivoliana*

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación en Acuicultura)

Presenta

Lucero Berenice Cervantes Montoya

La Paz, Baja California Sur, Noviembre 2019

ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 12:00 horas del día 25 del Mes de Octubre del 2019, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

Efecto de la oscilación de la temperatura durante el desarrollo embrionario y su influencia en la alimentación exógena en larvas de jurel *Seriola rivoliana*

Presentada por el alumno:

Lucero Berenice Cervantes Montoya

Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACIÓN EN **Acuicultura**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACIÓN DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA



Danitzia Adriana Guerrero Tortolero
Director de Tesis



Rafael Campos Ramos
Co-Tutor



Alejandro Manuel Maeda Martinez
Co-Tutor



Dra. Gracia Alicia Gómez Anduro,
Directora de Estudios de Posgrado y
Formación de Recursos Humanos

Comité Tutorial

Dra. Danitzia Adriana Guerrero Tortolero

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste
Director de Tesis

Dr. Rafael Campos Ramos

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste
Co-Tutor. CIBNOR

Dr. Alejandro Manuel Maeda Martínez

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste
Co-Tutor. CIBNOR

Comité Revisor

Dra. Danitzia Adriana Guerrero Tortolero

Dr. Rafael Campos Ramos

Dr. Alejandro Manuel Maeda

Jurado de Examen

Dra. Danitzia Adriana Guerrero Tortolero

Dr. Rafael Campos Ramos

Dr. Alejandro Manuel Maeda

Suplente

Dr. Pedro E. Saucedo Lastra

Resumen

Entre los factores abióticos que influyen en el desarrollo, crecimiento y supervivencia de peces teleósteos, la temperatura es uno de los más importantes, ya que los peces son poiquiloterms y los niveles extremos de termo-tolerancia puede generar estrés. En la mayoría de las especies cultivadas, se mantiene una temperatura constante de incubación y desarrollo larvario que es considerada como óptima. Sin embargo, se pueden obtener supervivencias variables y producciones discontinuas que no aseguran la sostenibilidad de la producción. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la oscilación de la temperatura durante el desarrollo embrionario en la morfología, composición bioquímica, respuesta al estrés y su efecto en la incidencia de la primera alimentación exógena en larvas de jurel *S. rivoliana*. El diseño experimental consistió en dos tratamientos oscilantes de temperatura al comienzo de la incubación de huevos con tres réplicas cada uno, con una tasa de cambio de temperatura de $1^{\circ} \text{C h}^{-1}$: uno ascendente-descendente (AD) y otro descendente-ascendente (DA) en un rango de 21 a 29° C, hasta culminar con la eclosión. Estos tratamientos oscilantes se compararon con un control a una temperatura constante de 25° C. Una vez culminada la eclosión, los tratamientos oscilantes continuaron a una temperatura constante como el control. Se colectaron muestras embrionarias en la etapa de blástula, epibolia y néurula, mientras que, en larvas en la eclosión, a las 24 y 48 h en donde las larvas mostraron los ojos semi pigmentados y la boca abierta. Los datos se analizaron mediante un ANOVA de una sola vía. La supervivencia estuvo en un rango del 78 al 82%. La longitud total y notocordal fueron significativamente mayores en las larvas en AD en comparación a larvas en DA y control ($P < 0.05$). Los principales componentes energéticos consumidos fueron las proteínas y los triacilglicéridos (TAG). Las proteínas fueron utilizadas hasta en un 70% durante la embriogénesis ya que son necesarias para la formación de tejido, mientras que los TAG representaron el 50% de los lípidos totales y fueron utilizados hasta en un 90% hasta la eclosión. En contraste los carbohidratos representaron menos del 1% en el huevo y no se consideraron como

la fuente principal de energía. Se observó una oscilación de cortisol en el tratamiento AD, lo que sugiere un mayor nivel de estrés. Se encontraron diferencias durante la primera alimentación exógena. El tratamiento DA en el día 4 mostró una mayor incidencia alimenticia significativa ($P < 0.05$), con un valor del 63% en comparación al tratamiento control (57%) y AD (47%). Adicionalmente, el consumo de rotíferos por larva fue mayor en el tratamiento DA en el día 5 después de la eclosión, con un promedio de 4.6 rotíferos por larva, en comparación al tratamiento control con un consumo de 1.6 rotíferos por larva y el tratamiento AD con un consumo de 3.5 rotíferos por larva. Con lo anterior, se sugiere que el tratamiento DA durante la incubación de huevos mostró una estimulación para la incidencia de la primera alimentación exógena de las larvas, favoreciendo un mayor consumo de rotíferos, lo que podría contribuir a un mejor desarrollo de la larva y a un mayor porcentaje de supervivencia en etapas posteriores.

Palabras clave: temperatura, oscilación, néurula, incidencia alimenticia, *S. rivoliana*

Vo. Bo.



Dra. Danitzia A. Guerrero Tortolero
Directora de Tesis

Summary

Among the abiotic factors that influence the development, growth and survival of teleost fish, the temperature is one of the most important, since the fish are poikilotherms and extreme levels of thermo-tolerance can generate stress. In most cultivated species, it maintains a constant incubation temperature and larval development that is determined to be optimal. However, we can obtain variable survivals and discontinuous productions that do not ensure the sustainability of production. The objective of this study was to evaluate the effect of temperature oscillation during embryonic development on morphology, biochemical composition, stress response and its effect on the incidence of the first exogenous feeding on horse mackerel larvae longfin yellowtail *S. rivoliana*. The experimental design consists of two oscillating temperature treatments at the beginning of the incubation of eggs with three replicates each, with a temperature change rate of 1 ° C h⁻¹: one ascending-descending (AD) and another descending-ascending (DA) in a range of 21 to 29 ° C, until culminating with hatching. These oscillating treatments were compared with a control at a constant temperature of 25 ° C. Once hatching is completed, the oscillating treatments will continue at a constant temperature as the control. Embryonic samples were collected in the cleavage stage, epiboly and blastula stage, while in hatching larvae, at 24 and 48 h where the larvae of semi pigmented eyes and open mouth. The data is analyzed by a one-way ANOVA. Survival ranged from 78 to 82%. The total and notocordal length were greater in the larvae in AD compared to larvae in AD and control (P <0.05). The main energy components consumed were proteins and triacylglycerides (TAGs). Proteins were used up to 70% during embryogenesis as they are necessary for tissue formation, while TAGs accounted for 50% of total lipids and were used up to 90% until hatching. In contrast, carbohydrates represent less than 1% in the egg and are not considered as the main source of energy. A cortisol oscillation was detected in the AD treatment, which required a higher level of stress. Differences were found during the first exogenous feeding. The DA treatment on day 4 identified a higher significant dietary

incidence ($P < 0.05$), with a value of 63% compared to the treatment control (57%) and AD (47%). In addition, the consumption of rotifers per larva was higher in the DA treatment on day 5 after hatching, with an average of 4.6 rotifers per larva, compared to the treatment control with a consumption of 1.6 rotifers per larva and the AD treatment with a consumption of 3.5 rotifers per larva. With the above, I know that the DA treatment during the incubation of eggs shows a stimulation for the incidence of the first exogenous feeding of the larvae, favoring a greater consumption of rotifers, which could contribute to a better development of the larva and to a greater survival percentage in later stages.

Keywords: temperature, oscillation, neurula, feeding incidence, *S. rivoliana*

Vo. Bo.



Dra. Danitzia A. Guerrero Tortolero
Directora de Tesis

Dedicatoria

A mis padres Jorge Luis y Lourdes por su gran apoyo en mis decisiones

hoy y siempre.

A mi hermana y familia.

A mi persona especial por estar a mi lado.

Gracias

A las personas que fueron de apoyo para lograr el desarrollo de este trabajo

Agradecimientos

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, por las facilidades otorgadas para el desarrollo de este trabajo.

Al CONACyT por el apoyo económico a través de la beca no. 863272

Este estudio fue apoyado por el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) bajo el proyecto de Ciencia Básica CONACyT 258504 otorgado al Dr. Rafael Campos.

A mi comité tutorial: Dra. Danitzia Guerrero, Dr. Rafael Ramos y Dr. Alejandro Maeda por su apoyo, sugerencias y enseñanzas que al final del camino se ven reflejadas en esta tesis y las experiencias que se quedaron conmigo para una vida laboral.

Al laboratorio de endocrinología, dirigido por el Dr. Rafael y la Dra. Danitzia, donde sin el equipo de trabajo y mis compañeros no hubiera podido realizar mi trabajo, en especial a la M.C. Nairobi Pacheco, al Dr. Edgar, a la Dra. Grecia, al M. C. Daniel, y un agradecimiento especial al técnico Gilberto Colado Duran.

Al técnico Roberto Hernández del laboratorio de Bioquímica fisiológica.

A mis compañeros y amigos, ahora maestros en ciencias, Yoshio Shiba, Mariam Calixto, Ma. Fernanda Ochoa y Alejandra Quintero.

A todo el personal de posgrado de CIBNOR.

Contenido

Acta de Liberación de Tesis

Comité Tutorial

Resumen.....	i
Summary.....	iii
Dedicatoria.....	v
Agradecimientos.....	vi
Lista de figuras.....	ix
Lista de tablas.....	xi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	4
2.1 Generalidades de la especie.....	4
2.3 Influencia de los factores abióticos en el cultivo larvario.....	6
2.4 Punto de no retorno.....	8
2.4.1 Incidencia alimenticia.....	9
2.5 Glucocorticoides y su influencia en el desarrollo del huevo y larva.....	10
3. JUSTIFICACIÓN.....	11
4. HIPOTESIS.....	12
5. OBJETIVOS.....	12
5.1 Objetivo general.....	12
5.2 Objetivos particulares.....	12
6. MATERIALES Y METODOS.....	13
6.1 Diseño experimental.....	13
6.2 Supervivencia.....	15
6.3 Medidas morfológicas.....	16
6.4 Determinación de peso seco.....	17
6.5 Análisis del perfil bioquímico y cortisol.....	17
6.5.1 Proteínas totales.....	17
6.5.2 Carbohidratos totales.....	18
6.5.3 Triacilglicéridos.....	18

6.6 Análisis de nivel de cortisol.....	19
6.7 incidencia alimenticia.....	20
6.8 Análisis estadístico.....	20
7. RESULTADOS.....	21
7.1 Porcentaje de eclosión y supervivencia.....	21
7.2 Datos morfométricos de larvas de jurel <i>S. rivoliana</i>	22
7.3 Análisis de peso seco por individuo durante el desarrollo embrionario y primera fase larvaria del jurel <i>S. rivoliana</i>	24
7.4. Perfil bioquímico del jurel <i>S. rivoliana</i> durante el desarrollo embrionario y la primera fase larvaria.....	24
7.5 Niveles de cortisol del jurel <i>S. rivoliana</i> durante el desarrollo embrionario y la primera fase larvaria.....	28
7.6 Evaluación del porcentaje incidencia alimenticia y consumo de rotíferos por larva.....	29
8. DISCUSIÓN.....	31
8.1 Porcentaje de eclosión y supervivencia.....	31
8.2 Datos morfométricos de longitud total.....	32
8.3 Longitud, Altura y volumen del saco vitelino y diámetro de la gota de aceite.....	32
8.4 Perfil bioquímico (Proteínas, lípidos, triacilglicéridos (TAG) y carbohidratos).....	33
8.5 Niveles de cortisol.....	34
8.6 Porcentaje de incidencia alimenticia y consumo de rotíferos.....	35
9. CONCLUSIONES.....	36
10. LITERATURA CITADA.....	37

Lista de Figuras

- Figura 1.** Distribución mundial del jurel *Seriola rivoliana* y las principales regiones donde se cultiva actualmente.....1
- Figura 2.** Diseño experimental (oscilaciones de temperatura).....13
- Figura 3.** Medidas morfológicas obtenidas en la larva después de la eclosión, longitud total (LT), longitud notocorda (LN), longitud del saco vitelino (LSV), altura del saco vitelino (HSV), longitud de la gota de aceite (LGA), altura de la gota de aceite (HGA), altura del ojo (H-ojo), y ancho de la cabeza (AC).....16
- Figura 4.** Peso seco por estadio de desarrollo en tres tratamientos de temperatura: control, oscilación descendente-ascendente (DA) y oscilación ascendente-descendente (AD).....24
- Figura 5.** Concentración de proteína por estadio de desarrollo en tres tratamientos de temperatura: control, oscilación descendente-ascendente (DA) y oscilación ascendente-descendente (AD). Letras distintas equivalen a diferencias significativas ($P<0.05$) en los tratamientos respecto al control.....25
- Figura 6.** Concentración de lípidos totales por estadio de desarrollo en tres tratamientos de temperatura: control, oscilación descendente-ascendente (DA) y oscilación ascendente-descendente (AD). Letras distintas equivalen a diferencias significativas ($P<0.05$) en los tratamientos respecto al control.....26
- Figura 7.** Concentración de TAG por estadio de desarrollo en tres tratamientos de temperatura: control, oscilación descendente-ascendente (DA) y oscilación ascendente-descendente (AD). Letras distintas equivalen a diferencias significativas ($P<0.05$) en los tratamientos respecto al control.....27
- Figura 8.** Concentración de carbohidratos por estadio de desarrollo en los tres tratamientos, control, descendente-ascendente (DA) y ascendente-descendente (AD). Letras distintas equivalen a diferencias significativas ($P<0.05$) en los tratamientos respecto al control.....28

Figura 9.	Niveles de cortisol (promedio \pm DS) obtenido de un pool por estadio de desarrollo en tres tratamientos de temperatura: Control, oscilación descendente-ascendente (DA) y oscilación ascendente-descendente (AD).....	29
Figura 10.	Larva con el intestino lleno de alimento.....	30
Figura 11.	Larva con el intestino lleno de rotífero.....	30

Lista de Tablas

Tabla I.	Porcentaje de eclosión y supervivencia del jurel <i>S. rivoliana</i> . En diferentes tratamientos de temperatura: control (C), oscilación ascendente-descendente (AD), oscilación descendente-ascendente (DA).....	21
Tabla II.	Longitud total y longitud de notocorda (promedio \pm DS) de larvas de jurel <i>S. rivoliana</i>	22
Tabla III.	Datos morfométricos (promedio \pm DS) de longitud de saco vitelino (LSV), altura (HSV), volumen (VSV) y diámetro de la gota de aceite (DGA) de las reservas endógenas de larvas de jurel <i>S. rivoliana</i>	23
Tabla IV.	Niveles de cortisol en pg mg^{-1} proteína, (promedio \pm DS) de un “pool” en tres tratamientos de temperatura: Control, oscilación descendente-ascendente (DA) y oscilación ascendente-descendente (AD).....	29
Tabla V.	Porcentaje de incidencia alimenticia (IA) y consumo de rotíferos por larva (NRC) en tres tratamientos de temperatura, control (C), oscilación descendente-ascendente (DA) y oscilación ascendente-descendente (AD).....	31

INTRODUCCIÓN

El jurel *Seriola rivoliana* es un pez pelágico, cosmopolita que se desarrolla principalmente en climas tropicales y subtropicales, presenta un rápido crecimiento, y es considerado un candidato potencial para la piscicultura en México. Hoy en día se estima que su valor en el mercado se encuentra entre los 7 y 10 US dlls/kg, los principales países que lo consumen y cultivan son Japón, Australia y Estados Unidos, su cultivo de engorda es llevado a cabo en jaulas flotantes (Verner-Jeireys *et al.*, 2007; Roo *et al.*, 2014).

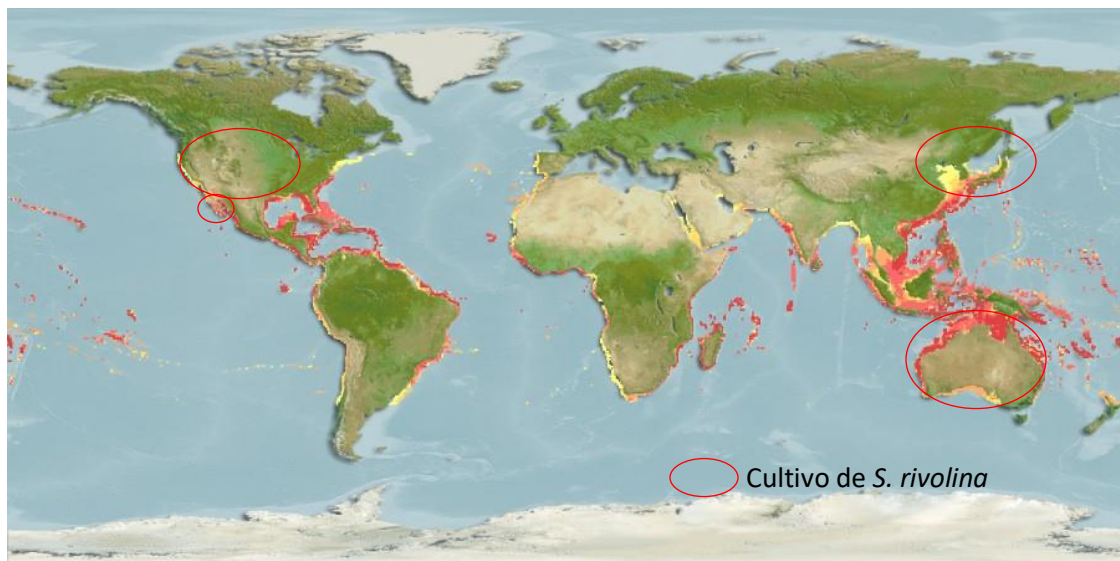


Figura 1. Distribución mundial de jurel *Seriola rivoliana* y las principales regiones donde se cultiva actualmente. Fuente (fishbase. se).

Esta especie se distribuye principalmente entre los 5 y 160 m de profundidad en la columna de agua y presenta dos picos reproductivos, uno en primavera y el segundo en otoño. Al ser un pez pelágico, sus huevos son depositados en la columna de agua en donde al eclosionar, la supervivencia y el reclutamiento de juveniles se encuentra sujeto a la selección natural, debido a los eventos oceanográficos naturales a los que son expuestos. Estos eventos han sido monitoreados principalmente en estudios de pesquerías debido a la importancia comercial como

un recurso pesquero ampliamente explotado en el noroeste de nuestro país (Grossi-Dopico, 2010).

Debido a que el cultivo y la engorda del jurel *S. rivoliana*, inició como el de otras especies, mediante la colecta de alevines en el medio natural; se estableció que éste es un proceso que se ve afectado por diferentes condiciones medio ambientales como el fotoperiodo, el viento, las corrientes, la marea y la oscilación diurna y nocturna de la temperatura; por lo tanto, es necesario integrar el conocimiento básico multidisciplinario para lograr un avance en la tecnología de cautiverio y cultivo de esta especie, estudiando primeramente el desarrollo de su ciclo de vida, para solucionar el principal problema del cultivo, que es la producción continua de larvas viables y de buena calidad en granjas acuícolas (Roo *et al.*, 2014).

Las condiciones ambientales en los océanos, presentan variaciones diarias, diurnas, nocturnas y estacionales, que afectan el desempeño y la condición natural de larvas, es decir, los cambios en las condiciones medio-ambientales regulan el desarrollo y la supervivencia en las primeras etapas de su ciclo de vida, los embriones cuentan con los componentes necesarios transferidos por la madre, a través de su saco vitelino, para la adaptación requerida a los cambios constantes en la zona superficial en la columna de agua, dichos cambios generan un efecto sobre la velocidad de desarrollo del organismo (Grossi-Dopico, 2010). Sin embargo, la influencia de estos factores medio-ambientales, involucra cierto grado de estrés y uno de los principales indicadores de estrés en peces es la hormona cortisol la cual se ha reportado como un modulador de la condición larvaria. Estudios recientes, se han enfocado a comprender el papel del cortisol en los procesos de desarrollo y crecimiento de las larvas de peces, con el objetivo de lograr una producción larvaria de buena calidad (Grossi-Dopico, 2010).

En la larvicultura, la viabilidad y calidad larvaria es definida por altos porcentajes de supervivencia y bajos porcentajes de deformidades durante el desarrollo

ontogénico. Distintos factores fisicoquímicos como son: temperatura, pH, salinidad, oxígeno disuelto, entre otros, pueden influenciar directamente el desarrollo y ontogenia larvaria. Las condiciones en confinamiento pueden ser controladas y optimizadas de acuerdo a las necesidades biológicas para cada especie; en organismos incapaces de regular su temperatura corporal (poiquiloterms) como los peces, la temperatura del medio en el que se desarrollan es uno de los factores más importantes y cobra vital importancia durante las primeras fases de desarrollo del ciclo de vida (Réalís-Doyelle *et al.*, 2016).

Siendo la temperatura un componente que incide en muchos factores del desarrollo embrionario en organismos poiquiloterms, se ha comprobado que, a mayor temperatura, se presenta un mejor crecimiento, se acelera el metabolismo y se presenta una eclosión prematura, mientras que a temperaturas bajas se presenta mayor periodo de incubación y disminuye el metabolismo (Yu *et al.*, 2017). Si las condiciones óptimas no son alcanzadas para la especie en cuestión, el resultado se verá reflejado en larvas no viables, deformaciones, alta mortalidad, además de la alteración en la velocidad de absorción de las reservas energéticas (Kazuyuki *et al.*, 1988; Yu *et al.*, 2017). Estas reservas son transferidas por medio de la madre al embrión a través del saco vitelino y contribuyen a la organogénesis embrionaria y larvaria. Se ha reportado que, a mayor temperatura, el desarrollo, el metabolismo y el agotamiento de dichas reservas es más rápido, esto a su vez está relacionado al inicio de la alimentación exógena que se presenta poco antes del agotamiento total de las reservas energéticas (Blaxter, 1992). Este proceso en la especie (*S. rivoliana*) se observa entre los 3 a 5 días después de la eclosión; a una mayor temperatura la absorción de las reservas será más rápido por lo que la incidencia alimenticia exógena se verá afectada significativamente por la temperatura (Kazuyuki *et al.*, 1988; Blaxter, 1992; Yu *et al.*, 2017; Ashton y Rust, 2003).

Por lo anterior, la importancia del monitoreo de la primera alimentación exógena (incidencia alimenticia en el intestino de fito y zooplancton) en las larvas, radica en evaluar la capacidad de la larva para superar la fase de alimentación endógena e

iniciar la asimilación exógena, ya que se ha observado que la mayor mortalidad larvaria en cultivo, se da durante ésta transición, donde las larvas por falta de incorporación o asimilación de alimento exógeno, entran en fase de inanición llegando al punto de no retorno y mueren. Es indispensable comprender que existe una estrecha relación entre alimento, metabolismo (desarrollo) y temperatura (Yu *et al.*, 2017).

Se han reportado diversos estudios enfocados en encontrar la temperatura óptima para lograr el mayor número de larvas viables. Diferentes protocolos de cultivo se han descrito con el uso de temperaturas constantes durante la incubación y desarrollo larvario considerando la temperatura óptima (Kupren *et al.*, 2011). Sin embargo, se pueden obtener supervivencias variables y producciones discontinuas que no aseguran la sostenibilidad de la producción. Es por ello que en trabajos más recientes se ha optado por evaluar los beneficios que representaría el aumento gradual de la temperatura durante la incubación y cómo influye en etapas posteriores, mostrando un menor número de anomalías durante el desarrollo larvario (Kupren *et al.*, 2011; Puvanendran *et al.*, 2015). Debido a lo anterior, en el presente trabajo se estudió el efecto de la oscilación de la temperatura durante el desarrollo embrionario y su influencia en el éxito de la primera alimentación exógena en larvas de jurel *S. rivoliana*.

2. ANTECEDENTES

2.1 Generalidades de la especie

El Jurel *Seriola rivoliana* (Valenciennes 1833), pertenece a la familia Carangidae, que está formada por 33 géneros y 140 especies. Las especies del género *Seriola*, son principalmente marinas, un ejemplo de ello es *S. rivoliana*, siendo una especie cosmopolita, que se distribuye principalmente entre los 5 y 160 m en la columna de agua, es un pez pelágico, epibentónico y su talla en ejemplares adultos puede llegar alcanzar los 1.60 m y los 59 kg, presenta una característica línea lateral oscura que se extiende hacia atrás y hacia arriba a partir del ojo, se alimenta principalmente de

peces pequeños, moluscos y crustáceos, en etapas larvarias su alimentación se compone de fitoplancton y zooplancton, presenta dos picos reproductivos en primavera y otoño, liberando huevos pelágicos. Su cultivo de engorda se lleva a cabo principalmente en jaulas flotantes y su importancia en la acuicultura se debe a su rápido crecimiento y su amplia distribución, además de su alto valor en el mercado internacional. Actualmente su cultivo de producción comercial, se lleva a cabo en Hawái y se encuentra una planta piloto en las Islas Canarias; las dificultades de su cultivo se deben principalmente durante la etapa del cultivo larvario, debido a la alta mortalidad en las primeras fases de desarrollo y su baja calidad en la producción de juveniles, siendo las “deformidades” en los peces producidos, uno de los principales problemas (Roo et al., 2014; Mesa-Rodríguez et al., 2016).

2.2 Cultivo larvario

El desarrollo del cultivo larvario de especies marinas representa un reto para la acuicultura y esto es debido a que las larvas eclosionan aun sin estar desarrolladas completamente, es decir, algunos tejidos y órganos, como el sistema nervioso, digestivo y estructuras óseas no han completado su desarrollo por lo que sus cambios morfológicos y funcionales pueden ser afectados. En particular el jurel, presenta altas tasas de crecimiento durante las primeras semanas de vida. En sistemas de producción de alevines (semilla), deben manejarse condiciones óptimas como temperatura, pH, salinidad, calidad del agua, oxígeno disuelto, iluminación, y flujo de agua dentro del tanque, entre otros considerados intraespecíficos, para lograr la mayor tasa de supervivencia y la mejor calidad de alevines (Grossi-Dopico, 2010; Roo et al., 2014).

De acuerdo con Roo et al. (2014) y Arguello-Gevara et al. (2018) el gran cuello de botella para la producción masiva de *Seriola rivoliana*, es la baja supervivencia de larvas y pobre calidad de juveniles, sin embargo, establecer protocolos para el cultivo larvario, utilizando como base otra especie del mismo género *S. lalandi* es controversial, ya que aún no se ha logrado tener el éxito deseado. Los cultivos larvarios reportados por Grossi-Dopico (2010) y Roo et al. (2014) establecen un

cultivo semi-intensivo e intensivo, con parámetros fisicoquímicos controlados, como la temperatura que varió entre los 22 y 24°C, salinidad de 37g L⁻¹, fotoperiodo 12/12 h (luz/oscuridad), con cultivos en agua verde (*Nannochloropsis sp.*), en donde se ha establecido los cultivos mixtos de fitoplancton y zooplancton dentro de los tanques de larvas para mantener las presas vivas para la primera alimentación exógena que se da en la transición del agotamiento de las reservas energéticas y la asimilación de nutrientes mediante el consumo de partículas alimenticias, principalmente rotíferos del género *Brachionus plicatilis*.

Grossi-Dopico (2010) y Roo *et al.* (2014), mencionan dos etapas de alta mortalidad en dicha transición, observando una supervivencia del $\pm 50\%$ en el día 3-4 después de la eclosión cuando sucede la absorción del saco vitelino e inicia la alimentación exógena, presentando una mortalidad masiva entre los días 7-8 después de la eclosión, resultando en una supervivencia menor al 2%. Con lo anterior, dichos protocolos aún no son considerados exitosos para manejar una producción continua de jurel *S. rivoliana*. La explicación que dan los piscicultores a esta variación en la sobrevivencia de las larvas, se debe principalmente a la falta de desarrollo del sistema digestivo y a las condiciones de cultivo a las que son sometidas las larvas que influyen en el tiempo que tardará la larva en utilizar sus reservas energéticas, y requerir aporte de nutrientes de la alimentación exógena, por lo tanto el sistema digestivo debe estar preparado y maduro para la transición de alimentación endógena a la alimentación exógena.

2.3 Influencia de los factores abióticos en el cultivo larvario

Otro factor que influye en la producción larvaria son los factores abióticos que varían para cada especie, es decir, los factores fisicoquímicos como: la temperatura, pH, salinidad, oxígeno disuelto, entre otros que varían de acuerdo a los rangos óptimos y necesidades biológicas de cada especie; en organismos poiquiloterms como los peces la temperatura es uno de los más importantes. El desarrollo ontogénico en el medio natural es controlado por factores ambientales, que presentan variaciones

diurnas y estacionales que se verá reflejado en la supervivencia natural de las larvas Meekan (2003). En condiciones de cultivo en un laboratorio, dichas condiciones ambientales son reproducidas apegadas al del medio natural donde se desarrolla la especie, en busca de encontrar la mejor combinación de los factores abióticos para obtener la mayor tasa de supervivencia y calidad larvaria, para producir protocolos que permitan una producción continua en volumen de larvas (semilla) de distintas especies de importancia comercial en la acuicultura a nivel mundial. De acuerdo con la revisión de Blaxter (1992), la temperatura es un factor ambiental determinante para el desarrollo de los peces; se ha demostrado el efecto que ejerce en su fisiología, bioquímica, supervivencia, crecimiento, eclosión, desarrollo, consumo del saco vitelino y condición larvaria. Kazuyuki *et al.* (1988), menciona que en *Pagrus major*, *Paralichthys olivaceus* y *Multicolorfin halichoeres*, a una mayor temperatura, se presenta un mayor crecimiento, un metabolismo acelerado y una eclosión prematura, mientras que a temperaturas bajas se presenta un mayor periodo de incubación, y el metabolismo se ralentiza; el nivel de respuesta varía de acuerdo a la termo-tolerancia de cada especie, y se verá reflejado en larvas no viables, deformaciones, y alta mortalidad. Además, Sund (2005), describe como la temperatura regula directamente la velocidad de absorción de las reservas energéticas y el momento en el cual las larvas dependerán únicamente de alimentos de fuentes endógenas; con ello se puede inferir que la primera alimentación exógena es termo-dependiente, este momento es crucial para el crecimiento y supervivencia de las larvas de peces, donde las larvas pueden superar el punto de no retorno y evitar las altas mortalidades en esta etapa (Kurokawa *et al.*, 2008; Yu *et al.*, 2017). Sin embargo, Puvanendran *et al.* (2015) determinó que para el bacalao del Atlántico (Atlantic Cod), *Gadus morhua*, el aumento gradual de la temperatura puede ayudar a obtener una disminución en la aparición de anomalías y deformidades, es decir, reducir larvas no viables y aumentar la calidad larvaria, con lo que un aumento gradual a diferencia de una alta temperatura estática, puede mejorar el desarrollo de larvas. El estudio de Kupren *et al.* (2011), en *Leuciscus leuciscus*, *Ide L. Idus* y *Chub L. cephalus*, establece que el cambio gradual en la

temperatura durante la incubación dentro de los rangos óptimos de cada especie presenta un efecto sobre el desarrollo larval. Este autor describe que la capacidad de termotolerancia de huevos y larvas es mayor en especies que se desarrollan en zonas con cambios drásticos de temperatura durante las primeras fases de desarrollo de su ciclo de vida; por lo que tener cultivos con temperaturas estáticas no ayuda al organismo a desarrollarse de la misma manera ni en el mismo tiempo, lo cual repercutirá en un retraso durante la absorción de las reservas energéticas y la alimentación exógena (Kupren *et al.*, 2011; Puvanendran *et al.*, 2015).

2.4 Punto de no retorno

Las larvas de la mayoría de los peces requieren alimentarse en un corto periodo de tiempo, antes de que se agoten sus reservas energéticas. Al periodo durante el cual comienzan su alimentación exógena, pero aún utilizan sus reservas, se le ha denominado “periodo de alimentación mixta”, durante este lapso la larva debe asegurar su alimentación exógena y asimilación de nutrientes para evitar morir de inanición. Al punto de inflexión donde ocurre dicha transición, se ha denominado punto de no retorno (PNR) (Yin y Blaxter, 1987).

Blaxter y Hempel (1963), definieron el punto de no retorno (PNR) para *Clupea harengus L.*, como un punto “umbral” durante la inanición progresiva cuando el 50% de las larvas todavía están vivas, pero demasiado débiles para alimentarse, incluso con alimento disponible. A este punto también se le ha llamado "inanición irreversible". La información sobre el tiempo hasta el PNR en relación con el tiempo de desove y las concentraciones de alimentos adecuados en el mar puede ayudar a predecir la probabilidad de supervivencia de diferentes especies y contribuir a una mejor comprensión de los factores que controlan el reclutamiento (sucesión de cohortes poblacionales de peces) en la población adulta. El conocimiento de la alimentación exógena y el PNR también pueden ayudar a maximizar la supervivencia durante los cultivos larvarios (Blaxter y Hempel, 1963; Yin y Blaxter, 1987; Yu *et al.*, 2017).

2.4.1 Incidencia alimenticia

La incidencia alimenticia se define como el porcentaje de larvas que presentan al menos una presa en su tracto digestivo; es considerada una estrategia alimentaria de las larvas de peces para encontrar el alimento necesario para sobrevivir la transición de la alimentación endógena a la alimentación exógena. Comúnmente utilizada en estudios de larvas de peces que refleja la abundancia y disponibilidad de alimento (fito y zooplancton) en el medio natural (Arthur, 1976).

La capacidad que tiene la larva de ingerir partículas de alimento en su tracto digestivo es evaluada cuantitativamente mediante el término “incidencia alimenticia”. Una incidencia alimenticia superior al 50% puede ser considerado como un indicador de una buena tasa de ingestión y por lo tanto mayor supervivencia en las etapas posteriores (Ashton y Rust, 2003). Previo al agotamiento de las reservas energéticas del saco vitelino y de la gota de aceite, las larvas deben establecerse como depredadores activos o corren el riesgo de entrar a la fase de inanición (Yin y Blaxter, 1987). En general, el intervalo de tiempo desde el agotamiento de la gota de aceite hasta la inanición, depende de la temperatura y es específico para cada especie. Dou *et al.* (2005) describe que en larvas del lenguado japonés (halibut), tienen mayor tasa de supervivencia cuando la temperatura es baja y la alimentación inicia en la fase final de absorción de la gota de aceite. Por otro lado, Yu *et al.* (2017), menciona que en larvas de *S. lalandi* a mayor temperatura, la tasa de incidencia alimenticia es mejor pero no muestra un aumento en el porcentaje de supervivencia, por lo que sugiere que una alta temperatura de incubación tiene un efecto significativo en el tiempo que tardan las larvas en superar la fase de alimentación endógena e iniciar la asimilación del aporte exógeno.

2.5 Glucocorticoides y su influencia en el desarrollo del huevo y larva

En la etapa de maduración gonadal para la preparación de la reproducción y desove de peces pelágicos, como el jurel, la hembra proporciona al huevo todos los nutrientes necesarios para lograr el desarrollo exitoso de la progenie, es decir, la información indirecta heredada por la madre sobre la adaptabilidad al medio ambiente, hormonas, reservas energéticas y glucocorticoides, entre otros y permite que la descendencia pueda responder rápidamente a los cambios impredecibles del medio en el que se desarrollan; lo anterior se ve reflejado en la supervivencia, el crecimiento y la respuesta al estrés en los organismos (Colson *et al.*, 2015; Grossi-Dopico, 2010). El principal glucocorticoide que se produce en los peces y que puede monitorearse y medirse como respuesta al estrés, es el cortisol. Esta hormona juega un papel importante en diferentes funciones en el metabolismo de los peces, una de ellas relacionada a la regulación de otras hormonas como la tirosina, involucrada directamente con la metamorfosis larvaria, como se ha reportado en diferentes trabajos en peces marinos (Sopinka *et al.*, 2016). Robinson *et al.* (2019), menciona que el estrés durante las primeras etapas de desarrollo del ciclo de vida en peces, tiende a alterar el nivel de respuesta adaptativa y el metabolismo en etapas posteriores. Por lo tanto, los organismos durante las primeras etapas, pueden estar sujetos a condiciones ambientales variables, pueden estar expuestos a toxinas ambientales, nutrientes limitados y temperaturas extremas (Von Dawsow *et al.*, 2014). De estos factores, la temperatura es considerada como un factor determinante en el metabolismo y crecimiento de los peces, por lo anterior, los niveles de termotolerancia fuera de los óptimos para cada especie genera un factor estresante especialmente durante el tiempo de eclosión. El inicio de la síntesis del cortisol en etapas embrionarias varía entre especies, pero la respuesta al estrés por cortisol se desarrolla después de la eclosión en la mayoría de los teleósteos (Robinson *et al.*, 2019). Falahtkar *et al.* (2013) evaluó la respuesta al estrés, evaluando niveles del cortisol del huevo en las primeras etapas de desarrollo en el esturión (*Acipenser persicus*) en donde se comprueba lo descrito en Robinson *et al.* (2019), el cortisol

transferido por la madre al huevo, descendió gradualmente en las diferentes etapas de embriogénesis: blástula, gástrula, néurula, primer latido del corazón y eclosión. Según el autor la etapa más sensible al estrés en esta especie fue en el latido del corazón presentando el porcentaje de eclosión más bajo.

En base a los estudios mencionados anteriormente, el presente trabajo, se enfocó en estudiar la oscilación de la temperatura sobre la incubación y desarrollo de las primeras etapas de los huevos y su posterior influencia en el desempeño de las larvas. Se evaluó el desarrollo embrionario, el éxito de la primera alimentación exógena y la calidad larvaria de acuerdo a su composición bioquímica y la respuesta al estrés en larvas de jurel *Seriola rivoliana*.

3. JUSTIFICACIÓN

El cultivo larvario es el cuello de botella de diversas especies en la piscicultura, lo que ha llevado estudiar la biología básica del desarrollo y la comprensión de los factores que controlan el crecimiento y supervivencia de larvas en el medio natural, para posteriormente mimetizar las condiciones naturales durante el confinamiento y cultivo. Los factores ambientales que promueven el desarrollo óptimo de las larvas de peces, son una combinación compleja de varios factores, tanto físico-químicos como biológicos que presentan variaciones diurnas, nocturnas y estacionales, que afectan el desempeño y la condición natural de larvas. En organismos incapaces de regular su temperatura corporal (poiquiloterms) como los peces, la temperatura del medio en el que se desarrollan es uno de los factores más importantes. En relación a estos antecedentes, el presente trabajo busca evaluar el efecto de la oscilación de la temperatura durante el desarrollo embrionario y su influencia sobre la primera alimentación exógena en larvas de jurel *S. rivoliana*; buscando integrar el conocimiento básico para lograr el avance en el desarrollo de la tecnología del larvicultivo, principalmente en las fases tempranas de su ciclo de vida en confinamiento y contribuir así al desarrollo de su cultivo en el noroeste del país.

4. HIPOTESIS

Si la temperatura regula el desarrollo embrionario (metamorfosis), su metabolismo y el crecimiento larvario, entonces la oscilación de la temperatura afectará la tasa de desarrollo y estimulará la incidencia de la primera alimentación exógena.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la oscilación de la temperatura durante el desarrollo embrionario y la incidencia de la primera alimentación exógena en larvas de jurel *S. rivoliana*.

5.2 Objetivos particulares

1. Analizar las características morfométricas de las distintas etapas de desarrollo embrionario desde huevo hasta las primeras fases larvarias en el jurel *S. rivoliana*.
2. Evaluar el perfil bioquímico cuantificando lípidos, proteínas y carbohidratos, en las diferentes etapas desde huevo, blástula, epíbola, gástrula, eclosión y primera fase larvaria.
3. Analizar las reservas endógenas de las larvas posterior a la eclosión, en relación al saco vitelino, gota de aceite, altura de la cabeza y longitud de la notocorda.
4. Evaluar el estrés mediante la cuantificación de los niveles de cortisol en las distintas etapas de desarrollo embrionario hasta larvas recién eclosionadas de jurel *S. rivoliana*.
5. Evaluar la incidencia alimenticia y consumo de rotíferos de larvas de jurel *S. rivoliana*.

6. MATERIALES Y METODOS

6.1 Diseño experimental

Para el presente trabajo, los huevos fertilizados se donaron por la empresa Kampachi Farms, productora de jurel *Seriola rivoliana*, en convenio y ubicada dentro de las instalaciones del CIBNOR. Los huevos se colectaron de los tanques de desove por la empresa a una temperatura de 26 °C, se transfirieron al laboratorio y se aclimataron a la misma temperatura ($\pm 1^\circ\text{C}$), y se evaluaron en el microscopio estereoscópico, para determinar el nivel de desarrollo embrionario alcanzado hasta ese momento. Se utilizaron únicamente aquellos huevos en fase de blástula antes de ser sembrados aleatoriamente en un aproximado de 200 huevos /L/tina, en nueve tinajas de 200 L de capacidad, con agua de mar filtrada y con temperatura controlada por calentadores con termostatos. Los tratamientos de temperatura empleados en este estudio, fueron oscilantes en un rango de 21 a 29°C de acuerdo al esquema de la Fig. 2.

En el proceso de desarrollo embrionario, se usó un protocolo de cambio gradual de temperaturas a razón de un grado por hora, en ambos sentidos, ascendente y descendente.

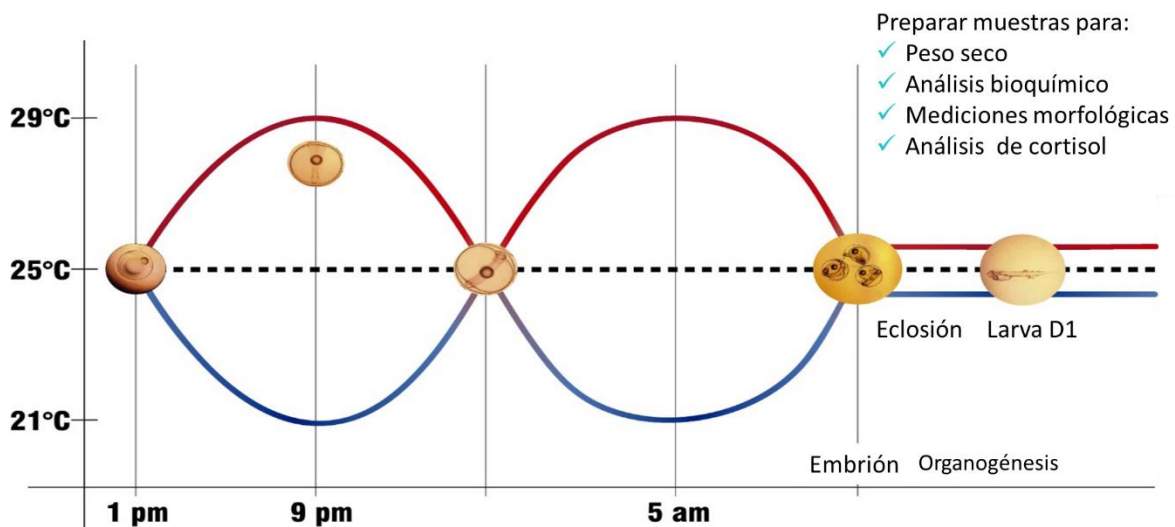


Figura 2. Diseño experimental (oscilaciones de temperatura)

Como se muestra en la Fig. 2, los huevos se sembraron a una temperatura de 25°C en los tres tratamientos, se aplicó una oscilación ascendente-descendente (AD: 25 a 29; 29 a 21 °C) y otra descendente-ascendente (DA: 25 a 21; 21 a 29 °C), el control permaneció constante (C: 25°C). El tratamiento oscilante ascendente-descendente (AD), a partir de los 25°C, se realizó de la siguiente manera: se aumentó un grado cada dos horas durante 8 horas para alcanzar su punto máximo a 29°C, una vez que alcanzó la temperatura máxima, en un lapso de 8 horas su temperatura descendió hasta alcanzar el punto mínimo de 21°C, una vez que alcanzó los 21°C, empezó ascender de nuevo la temperatura a razón de 1 °C por hora. De igual manera que en el tratamiento anterior, el tratamiento oscilante de temperatura descendente-ascendente (DA) a partir de los 25°C; el procedimiento se realizó de la misma manera pero de manera inversa, es decir, se disminuyó un grado cada dos horas durante 8 horas para alcanzar su punto mínimo a 21°C, una vez que alcanzó la temperatura mínima, en un lapso de 8 horas, se ascendió su temperatura hasta alcanzar el punto máximo de 29°C, una vez que alcanzó los 29°C, empezó descender de nuevo la temperatura a razón de 1 °C por hora.

Durante dichas oscilaciones se mantuvo un monitoreo constante del desarrollo embrionario. Se observó bajo el microscopio óptico para identificar las fases de desarrollo consecutivo a partir de blástula, posteriormente epibola, néurula y eclosión, obteniendo muestras en cada punto de desarrollo, donde se analizó peso seco, indicadores bioquímicos (proteínas, carbohidratos, lípidos, triacilglicéridos y lípidos totales), mediciones morfológicas y niveles de cortisol.

Una vez alcanzada la eclosión de los huevos, todos los tratamientos se mantuvieron a una temperatura constante de 25°C como el control. El muestreo en larvas se realizó desde la eclosión hasta el día 2 después de la eclosión.

Se observó bajo el microscopio óptico, la absorción del saco vitelino, el desarrollo del intestino, la pigmentación de los ojos y la apertura de boca. Una vez alcanzada la etapa larvaria, se alimentó con rotíferos aproximadamente 5 rotíferos /mL. Se

llevó a cabo un muestreo de 30 larvas por tratamiento para observarlas bajo el microscopio y realizar el conteo de alimento por larva en relación del número de rotíferos contenidos en el intestino. Se mantuvo la densidad de rotíferos promedio en cada tina y se alimentaron con microalgas (*nannochloropsis sp.*) dentro de las mismas tinas siguiendo la técnica mencionada en Grossi-Dopico (2010) y Roo *et al.* (2014) de agua verde para el cultivo larvario de *S. rivoliana*.

6.2 Supervivencia

Para calcular la supervivencia definida como la tasa de eclosión de larvas viables, se usó y modificó la metodología descrita en Grossi-Dopico (2010) y Ahn *et al.* (2012) para nuestras condiciones experimentales. Se tomó una muestra de huevos en cada una de las tinas, se contó el número de huevos vivos (hv) en pre-eclosión y el número de huevos muertos (hm) en el fondo, y se calculó el porcentaje de eclosión (E) con la siguiente fórmula.

$$E = (N hv * 100) / (N hv + N hm) \quad (1)$$

Para la evaluación de la supervivencia de larvas al día 5 después de la eclosión se tomó una muestra de larvas en un volumen de un litro, se pasaron por un tamiz de 45 μ m, se colocó en una caja Petri y se agregaron 2 gotas de Lugol, se contó el número de larvas viables en el litro de agua (LLt) y se utilizó la siguiente fórmula para evaluar el porcentaje de supervivencia.

$$\%S = ((LLt) * 100) / (n^{\circ}HST)) \quad (2)$$

*LLt = número de larvas en un litro de agua

*HST= número de huevos sembrados por tina

6.3 Medidas morfológicas

Se muestrearon 15 larvas durante la eclosión y hasta el día 2. Después de la eclosión, se colocaron en un cubreobjetos y se tomaron fotografías con un microscopio óptico acoplado a una cámara Olympus CX3. Mediante el software Image-J se registraron las medidas morfológicas (Fig. 2). Se siguió la metodología modificada de Grossi-Dopico (2010) y Yu *et al.* (2017) para la longitud total (LT), longitud notocorda (LN), longitud del saco vitelino (LSV), altura del saco vitelino (HSV), longitud de la gota de aceite (LGA), altura de la gota de aceite (HGA), altura del ojo (H-ojo), y ancho de la cabeza (AC). Como se muestra en la Fig. 3, mediante la fórmula descrita en Yu *et al.* (2017) se obtuvo el volumen del saco vitelino (VSV).

$$VSV = (\pi/6 \times LSV \times (HSV \times 2)) \quad (3)$$

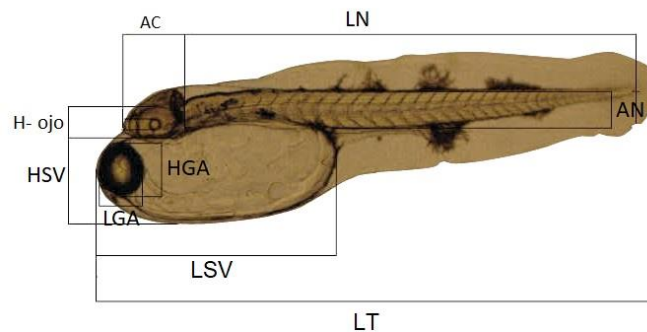


Figura 3. Medidas morfológicas obtenidas en la larva después de la eclosión, longitud total (LT), longitud notocorda (LN), longitud del saco vitelino (LSV), altura del saco vitelino (HSV), longitud de la gota de aceite (LGA), altura de la gota de aceite (HGA), altura del ojo (H-ojo), y ancho de la cabeza (AC).

6.4 Determinación de peso seco

Las muestras de huevos y larvas recolectadas durante el experimento se pasaron por un tamiz de 45 µm, se secó el excedente de agua con papel secante y se tomó aproximadamente 30 mg (n= 30-35 huevos y n=40-45 larvas) y se pesó en una balanza analítica A&D N° 92. Se contó el número de individuos en cada muestra, posteriormente se dejó secar en la estufa VWR modelo N° 1500EM a 60 °C por 24h., una vez seca la muestra se pesó de nuevo para obtener el peso seco (PS) de la muestra. De acuerdo al número de individuos (ni) contados en la muestra (m) en húmedo, se obtuvo el peso seco por individuo (µg), aplicando la siguiente fórmula.

$$PSi = (PS m \times 10^6) / ni \quad (4)$$

6.5 Análisis del perfil bioquímico y cortisol

Para el análisis del perfil bioquímico y determinación de cortisol en las muestras de huevos y larvas se pasaron por un tamiz de 45µm, se secó el excedente de agua con papel secante y se pesó 50 mg (n= 50-55 huevos y n=60-65 larvas), en una balanza analítica. Las muestras se colocaron en microtubos VWR de 2 mL y se preservaron en un ultra congelador a -80°C, hasta ser analizadas.

Antes del análisis del perfil bioquímico y determinación de cortisol las muestras de huevo y larva se liofilizaron en una liofilizadora VirTis N°15940 y pulverizaron con perlas de cobre en un homogeneizador (MPI fast Prep-24, CA-USA) y se pesó la cantidad requerida para cada indicador bioquímico y de cortisol, que a continuación se describe.

6.5.1 Proteínas totales

Se utilizó la técnica del ácido bicinonínico o BCA basado en Fujimoto *et al.* (1985), empleando una solución reactiva comercial de Sigma® (solución de ácido bicinonínico BB9643 y solución de sulfato de cobre II C2284). Se hidrató la muestra

lío-filizada con SIC (aprox. 1 mL de SIC por 0.1 g de muestra). Después se tomó una alícuota de 25 μL de homogenizado y se añadió 500 μL de NaOH 0.1 N. Una vez que se tomó la muestra se procedió a digerirla durante 2 horas, se agitó durante este intervalo de tiempo, para posteriormente tomarse 25 μL del extracto digerido que se colocó en una microplaca y se hizo reaccionar con 200 μL del reactivo preparado de BCA. Se incubó a 60°C durante 15 min y se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro de placas (Termo, Multiskan spectrum, Vanta-finlandia) a 562 nm. Para la curva estándar, se usó una solución estándar con una concentración de 2 mg mL⁻¹ de albumina bovina, la cual se diluyó en proporción 1:2 en solución salina hasta tener concentraciones de 2.0, 1.0, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625 y 0.03125 mg mL⁻¹ de proteína y solución salina como blanco.

6.5.2 Carbohidratos totales

Se utilizó el método basado en Roe *et al.* (1961): se tomaron 50 μL del homogenizado a los cuales se añadió 50 μL de ácido tricloroacético (TCA), al 20%. Se centrifugó a 3600 rpm, 10 min, a 5°C. Se tomaron 25 μL de sobrenadante y se colocó en un tubo de vidrio, se agregaron 250 μL de solución de antrona 0.1% diluida en H₂SO₄ al 72%. Se calentó a baño maría a 90°C durante 5 minutos y se enfrió en baño de hielo. Posteriormente se leyó en un espectrofotómetro a 620 nm de absorbancia. Para la curva estándar se utilizó una solución estándar de carbohidratos (5 mg mL⁻¹) y se preparó una dilución de proporción 1:2; en 500 μL de TCA, quedando concentraciones de 5.0, 2.5, 1.25, 0.625, 0.3125, 0.15625, 0.078125 mg mL⁻¹ de carbohidratos.

6.5.3 Triacilglicéridos

Para el análisis de triacilglicéridos (Koditschek y Umbreit, 1969) se utilizó una prueba enzimática colorimétrica (Kit de RANDOX, No. Catalogo TR 1697). Los triglicéridos se determinaron a partir de la hidrólisis enzimática con lipasas. El

glicerol liberado es convertido en quinoínemina a partir de la reacción con peróxido de hidrogeno 4-aminofenazona y 4-clorofenol, bajo la influencia de una peroxidasa. Se colocó 20 μL del homogenizado en una microplaca, se agregó 200 μL de una solución reactiva, se incubó 10 minutos y se leyó la absorbancia a 540 nm. Para la curva estándar se usó una solución estándar de triacilglicéridos con 200 mg dL^{-1} y se preparó una dilución de proporción 1:2; en 1 mL de agua desionizada, quedando concentraciones de 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 mg dL^{-1} de triglicéridos. Se utilizó solución diluyente como blanco.

6.6 Análisis de nivel de cortisol

Para la extracción de cortisol se consideró la metodología de Noppe *et al.* (2014) utilizando metanol para la obtención tanto del cortisol libre y conjugado a partir de muestras de tejido (Scott y Ellis, 2007). Las muestras de huevo y larva se liofilizaron en una liofilizadora VirTis N°15940 (-30°C a 100 mTorr durante 6 h) y pulverizaron con perlas de cobre en un homogeneizador (MPI fast Prep-24, CA-USA). Posteriormente se tomó 30 mg del pulverizado ($n= 30\text{-}35$ huevos y $n=40\text{-}45$ larvas), se mezcló 10 mg de cada réplica por tratamiento, para cada uno de los estadios de desarrollo. Las muestras se colocaron en tubos de vidrio y se agregaron 1.5 mL de metanol al 99%. Se homogenizó en vortex durante 60 s y se incubó en una ultrasonicadora (modelo n° 2510R-DTH) durante 60 min a 20°C . Los tubos se centrifugaron durante 10 min a 1500 g y posteriormente se recuperó el sobrenadante. Se realizó un segundo lavado a la muestra (tejido precipitado) con 1 mL del solvente siguiendo el mismo procedimiento. El metanol recuperado se llevó a sequedad empleando una centrífuga al vacío (JOUAN RT90, Saint-Herblain, Francia) hasta obtener una capa densa amarillosa en el fondo del tubo. Las muestras fueron resuspendidas en 470 μL del buffer de Elisa. Posteriormente se realizó una dilución tomando ~ 10 μL y agregando ~ 190 μL del buffer. Dos alícuotas de 50 μL de la muestra reconstituida fueron usadas como duplicados siguiendo el

protocolo del ensayo provisto por Cayman Chemical (Cortisol EIA Kit, Cayman Chemical Item Number 500360). Las muestras fueron cuantificadas usando un lector de microplaca y una absorbancia de 405 nm.

6.7 incidencia alimenticia

Para evaluar el contenido de alimento en las larvas, se colectó 30 larvas por tratamiento (Lt) y se colocaron en un porta objetos, bajo el microscopio óptico. Se contó el número de larvas con alimento (LA) y el número de rotíferos contenidos (RC) en el intestino de cada larva. Para la medición del porcentaje de incidencia alimenticia (IA) se utilizó la formula descrita en Yu *et al.* (2017).

$$IA = 100 X (n^{\circ} Lt / n^{\circ} LA) \quad (5)$$

Para la evaluación del número se rotíferos consumidos por larva (NRC), se utilizó la siguiente fórmula.

$$NCR = ((\sum n^{\circ} RC)/(n^{\circ} LA)) \quad (6)$$

6.8 Análisis estadístico

Los datos de tasas de eclosión (porcentajes) se transformaron previamente a arcoseno. Los datos de bioquímica, caracteres longitudinales y perpendiculares del cuerpo, incluido el volumen del saco vitelino y el volumen de la gota de aceite se analizaron previamente en normalidad (prueba de Shapiro-Wilks) y homogeneidad de varianza (prueba de Levene). Posteriormente se realizó un ANOVA unifactorial ($P < 0.05$), con la temperatura como variable independiente. La comparación de medias *post hoc* se estableció mediante la prueba de Tukey. Los datos se graficaron

en función de los estadios y el tiempo (días después de la eclosión). Los análisis se realizaron con el software Stad Soft (Statistica).

En el caso de los datos de bioquímica los estadios blástula y larva D1 no se consideraron para el análisis estadístico debido a que las muestras fueron conjunto de las tres réplicas representativas del tratamiento y no una muestra de cada réplica.

7. RESULTADOS

7.1 Porcentaje de eclosión y supervivencia.

El porcentaje promedio de la eclosión en las larvas de *Seriola rivoliiana* obtenidos en el presente trabajo, son mostrados en la Tabla I, de acuerdo a los siguientes valores: en el control (C) fue del 81%, en el tratamiento descendente-ascendente (DA) fue del 82% y finalmente del 78% en el tratamiento ascendente-descendente (AD). No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. La supervivencia al 5^{to} día después de la eclosión, presentó un porcentaje promedio del 60% para el tratamiento control (C) y para el descendente-ascendente (DA), a diferencia del tratamiento ascendente-descendente (AD), en donde se obtuvo un porcentaje promedio del 50%.

Tabla I. Porcentaje de eclosión y supervivencia del jurel *S. rivoliiana*. En diferentes tratamientos de temperatura: control (C), oscilación ascendente-descendente (AD), oscilación descendente-ascendente (DA).

Tratamiento	T°C incubación	Eclosión (%)	Supervivencia (%)
C	25°C	81	60
DA	21-29°C oscilación	82	60
AD	29-21°C oscilación	78	50

7.2 Datos morfométricos de larvas de jurel *S. rivoliana*

Al momento de la eclosión, los tratamientos oscilantes se ajustaron a una temperatura constante de 25°C para los tres tratamientos. Se registró el crecimiento de la larva a partir de la longitud total y de la longitud notocordal (Tabla II) y el consumo de las reservas energéticas en relación al consumo del saco vitelino (Tabla III) durante la temperatura de incubación y en la temperatura constante. Las medidas morfológicas de las larvas se registraron durante el día 0 y hasta el día 2 después de la eclosión (DDE) como se observa en la Tabla II. En el día 0 el crecimiento en longitud total en el tratamiento descendente-ascendente (DA), fue significativamente menor ($P < 0.05$) 2.8 ± 0.07 comparado con los dos tratamientos; control (C) y tratamiento ascendente-descendente (AD), para los días 1 y 2, no se encontraron diferencias significativas. Para la longitud notocordal, no se obtuvieron diferencias significativas en crecimiento de la longitud total entre el control y los tratamientos mostrando valores similares para los días evaluados (Tabla II).

Tabla II. Longitud total y longitud de notocorda (promedio \pm DS) de larvas de jurel *S. rivoliana*

DDE	LT (mm)			LN (mm)		
	0	1	2	0	1	2
C	2.9 ± 0.08^a	3.6 ± 0.1	3.6 ± 0.09	2.4 ± 0.07	2.9 ± 0.2	3.0 ± 0.04
DA	2.8 ± 0.07^b	3.6 ± 0.08	3.5 ± 0.1	2.4 ± 0.07	3.0 ± 0.08	3.0 ± 0.09
AD	3.0 ± 0.1^{ab}	3.5 ± 0.1	3.6 ± 0.1	2.5 ± 0.3	2.9 ± 0.3	3.0 ± 0.1

Letras distintas equivalen a diferencias significativas ($P < 0.05$) en los tratamientos respecto al control.

Las reservas energéticas endógenas son mostradas en la Tabla III, en donde se registraron valores para el saco vitelino, en relación a: longitud (LSV), altura (HSV) y volumen (VSV) y para el diámetro de la gota de aceite (DGA) durante el día 0 y hasta el día 2 DDE. En relación a la longitud del saco vitelino se observó una reducción significativa ($P < 0.05$) para el tratamiento ascendente-descendente (AD) 1.0 ± 0.06 ; 0.42 ± 0.05 ; en el día 0 y 1, respectivamente con respecto al control (C), mientras que en el tratamiento descendente-ascendente (DA) la tasa de consumo

fue significativamente más lenta 0.30 ± 0.02 , a partir del día 2 con respecto al control (C) y al tratamiento (AD).

Para la altura y el volumen en el saco vitelino, el tratamiento ascendente-descendente (AD) fue el único que presentó una disminución significativa 0.49 ± 0.05 ; 0.53 ± 0.08 , respectivamente comparado con el control (C) 0.53 ± 0.07 ; 0.64 ± 0.05 y el tratamiento descendente-ascendente (DA) durante el día 0 DDE. Para los días 1 y 2, no se presentaron diferencias significativas en los tratamientos estudiados (Tabla III).

Tabla III. Datos morfométricos (promedio \pm DS) de longitud de saco vitelino (LSV), altura (HSV), volumen (VSV) y diámetro de la gota de aceite (DGA) de las reservas endógenas de larvas de jurel *S. rivoliana*

DDE	LSV (mm)			HSV (mm)		
	0	1	2	0	1	2
C	1.1 ± 0.07^a	0.45 ± 0.03^a	0.27 ± 0.01^a	0.53 ± 0.05^a	0.2 ± 0.01	0.2 ± 0.01
DA	1.1 ± 0.09^{ab}	0.44 ± 0.02^{ab}	0.30 ± 0.02^b	0.53 ± 0.05^{ab}	0.2 ± 0.01	0.2 ± 0.03
AD	1.0 ± 0.06^b	0.42 ± 0.05^b	0.25 ± 0.02^{ab}	0.49 ± 0.05^b	0.2 ± 0.00	0.2 ± 0.02
DDE	VSV (mm) ³			DGA (mm)		
	0	1	2	0	1	2
C	0.64 ± 0.09^a	0.1 ± 0.01	0.06 ± 0.00	0.2 ± 0.01	0.2 ± 0.02	0.2 ± 0.02
DA	0.65 ± 0.1^{ab}	0.1 ± 0.00	0.07 ± 0.01	0.2 ± 0.01	0.2 ± 0.00	0.2 ± 0.01
AD	0.53 ± 0.08^b	0.1 ± 0.01	0.06 ± 0.00	0.2 ± 0.01	0.2 ± 0.02	0.2 ± 0.01

Letras distintas equivalen a diferencias significativas ($P < 0.05$) en los tratamientos respecto al control.

7.3 Análisis de peso seco por individuo durante el desarrollo embrionario y primera fase larvaria del jurel *S. rivoliana*.

El promedio del peso seco en blástula (huevo) fue de $60 \pm 9 \mu\text{g}$ y en la fase larvaria al día 0 (DDE) y en (D0) fue de $52 \pm 3 \mu\text{g}$ como se muestra en la Fig. 4. El peso disminuyó después de la eclosión. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos.

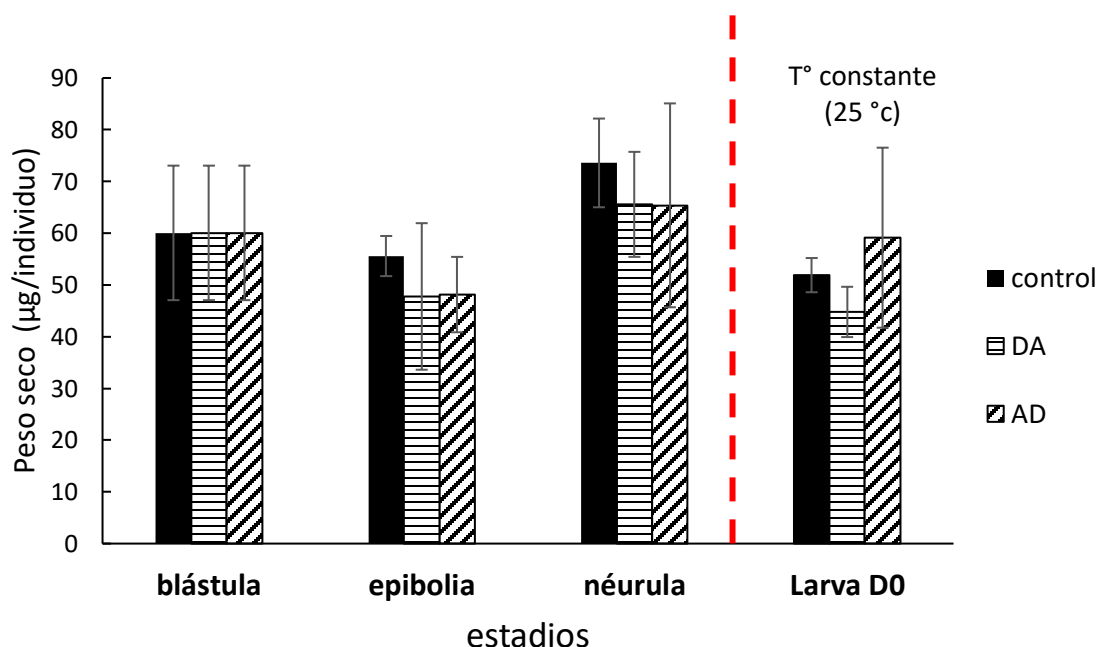


Figura 4. Peso seco por estadio de desarrollo en tres tratamientos de temperatura: control, oscilación descendente-ascendente (DA) y oscilación ascendente-descendente (AD).

7.4. Perfil bioquímico del jurel *S. rivoliana* durante el desarrollo embrionario y la primera fase larvaria.

La concentración de proteína por estadio de desarrollo en los tres tratamientos: control, descendente-ascendente (DA) y ascendente-descendente (AD) se muestra en la Figura 5. La menor concentración de proteína se presentó en el tratamiento descendente-ascendente (DA) para las fases de epibolia y néurula con valores de

26.6 ± 4.2 y 28.4 ± 12.3 respectivamente con respecto al control; de igual forma que para la larva DDE (D0) 11.9 ± 1.3 , sin embargo, para los demás tratamientos no hubo diferencias significativas ($P > 0.05$).

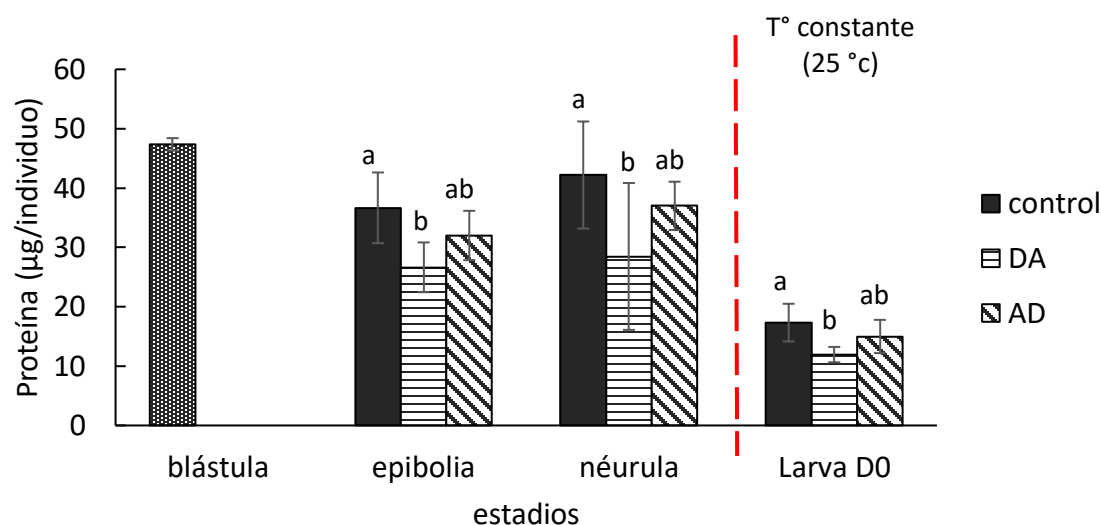


Figura 5. Concentración de proteína por estadio de desarrollo en tres tratamientos de temperatura: control, oscilación descendente-ascendente (DA) y oscilación ascendente-descendente (AD). Letras distintas equivalen a diferencias significativas ($P < 0.05$) en los tratamientos respecto al control

La concentración de lípidos por estadio de desarrollo en los tres tratamientos: control, descendente-ascendente (DA) y ascendente-descendente (AD) se muestra en la Figura 6. En la etapa de larva DDE (D0), en el control, y en el tratamiento descendente-ascendente (DA) la concentración de lípidos fue similar, no hubo diferencias significativas, sin embargo, para este mismo estadio la concentración de lípidos para el tratamiento ascendente-descendente (AD) fue significativamente mayor ($P < 0.05$) con un valor de 14.9 ± 2.9 µg, comparado con los tratamientos anteriores.

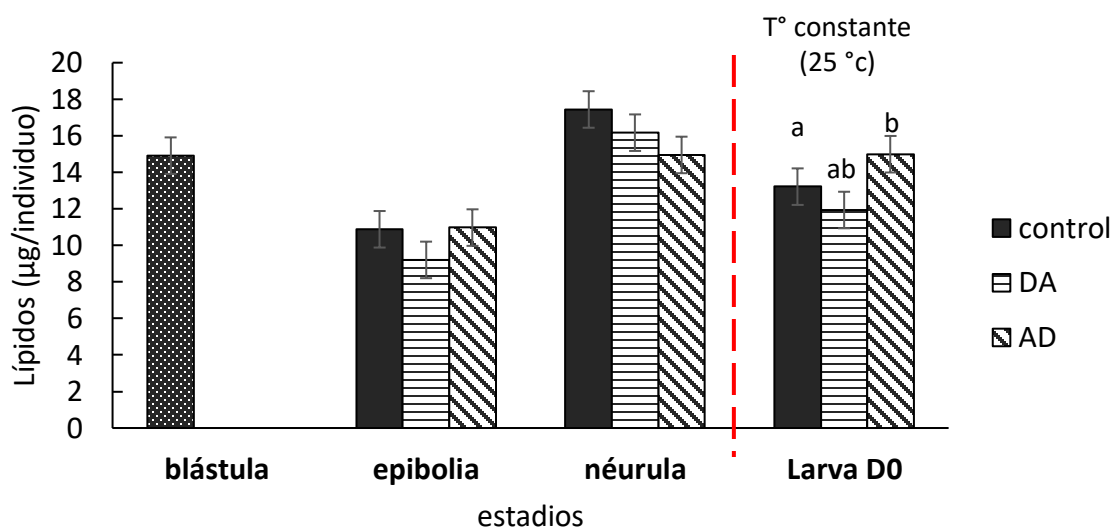


Figura 6. Concentración de lípidos totales por estadio de desarrollo en tres tratamientos de temperatura: control, oscilación descendente-ascendente (DA) y oscilación ascendente-descendente (AD). Letras distintas equivalen a diferencias significativas ($P < 0.05$) en los tratamientos respecto al control

La concentración de triacilglicéridos (TAG) por estadio en los tres tratamientos: control, descendente-ascendente (DA) y ascendente-descendente (AD) se presentan en la Figura 7. Se observó un mayor agotamiento de este componente alcanzando rangos de 1.6 ± 0.2 , muy similares entre tratamientos después de la eclosión (Fig. 7), sin embargo, la concentración de TAG en la fase epibolia y néurula del tratamiento descendente-ascendente (DA) fue significativamente menor ($P < 0.05$) 5.0 ± 0.6 y 6.6 ± 1.2 µg respectivamente, comparado con los otros dos tratamientos, control (C) y el tratamiento ascendente-descendente (AD), en donde los valores fueron similares, y no se observaron diferencias significativas.

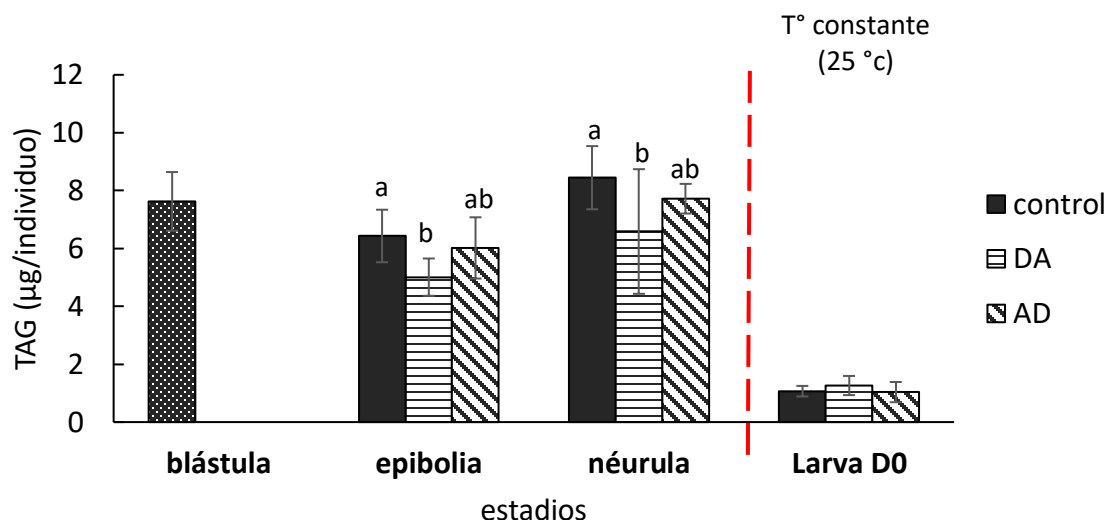


Figura 7. Concentración de TAG por estadio de desarrollo en tres tratamientos de temperatura: control, oscilación descendente-ascendente (DA) y oscilación ascendente-descendente (AD). Letras distintas equivalen a diferencias significativas ($P < 0.05$) en los tratamientos respecto al control.

La concentración de carbohidratos por estadio en los tres tratamientos: control, descendente-ascendente (DA) y ascendente-descendente (AD) se presentan en la Figura 8. Cabe mencionar, que el total de carbohidratos representó menos del 1% de los componentes bioquímicos desde el huevo hasta la larva. En la etapa de néurula y larva DDE (D0), en el control, y en el tratamiento descendente-ascendente (DA), la concentración de carbohidratos fue similar, no hubo diferencias significativas; sin embargo, para ambos estadios, la concentración de carbohidratos para el tratamiento ascendente-descendente (AD) se incrementó y fue significativamente mayor ($P < 0.05$) con un valor de 0.17 ± 0.04 ; 0.30 ± 0.06 µg respectivamente, comparado con los tratamientos anteriores.

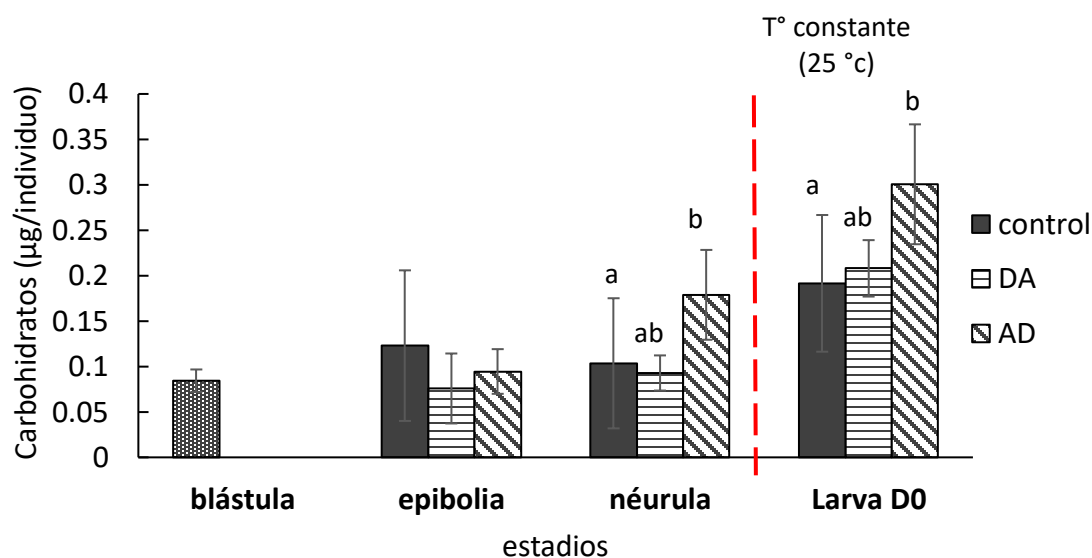


Figura 8. Concentración de carbohidratos por estadio de desarrollo en los tres tratamientos, control, descendente-ascendente (DA) y ascendente-descendente (AD). Letras distintas equivalen a diferencias significativas ($P < 0.05$) en los tratamientos respecto al control.

7.5 Niveles de cortisol del jurel *S. rivoliana* durante el desarrollo embrionario y la primera fase larvaria.

El nivel de cortisol que se obtuvo durante el desarrollo embrionario como en el inicio de la ontogenia larvaria DDE (D0 Y D1) se presenta en la Figura 9. Como se muestra en la tabla IV, el contenido de cortisol por estadio en los tres tratamientos control, (DA) y ascendente-descendente (AD) disminuyó durante el desarrollo del huevo y se elevó una vez que la larva eclosionó. El promedio del nivel de cortisol en blástula (huevo) fue de 1.63 ± 0.5 pg mg⁻¹ proteína y en la fase larvaria al día 0 (DDE) fue de 1.3 ± 0.3 pg mg⁻¹ proteína, sin embargo a partir de la etapa larvaria 1 (DDE) se presentó un ligero incremento para todos los tratamientos, siendo el tratamiento descendente-ascendente (DA) 1.51 ± 0.5 en donde se observó el mayor nivel de cortisol, como se muestra en la Tabla IV. El nivel de cortisol aumentó para todos los tratamientos después de la eclosión, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos.

Tabla IV. Niveles de cortisol en pg mg^{-1} proteína, (promedio \pm DS) de un “pool” en tres tratamientos de temperatura: Control, oscilación descendente-ascendente (DA) y oscilación ascendente-descendente (AD).

	blástula	epibolia	néurula	Larva D0	Larva D1
control		1.509 ± 0.3	1.44 ± 0.2	1.38 ± 0.3	1.48 ± 0.3
DA	1.63 ± 0.5	1.513 ± 0.5	1.43 ± 0.5	1.34 ± 0.4	1.51 ± 0.3
AD		1.347 ± 0.1	1.56 ± 0.4	1.36 ± 0.2	1.42 ± 0.1

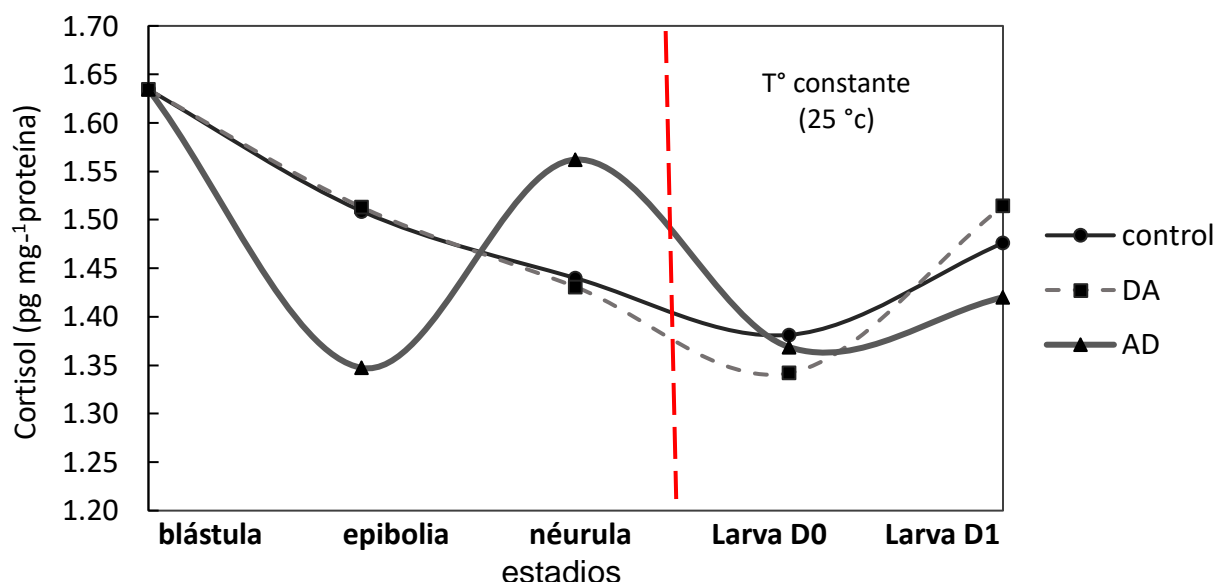


Figura 9. Niveles de cortisol (promedio \pm DS) obtenido de un pool por estadio de desarrollo en tres tratamientos de temperatura: Control, oscilación descendente-ascendente (DA) y oscilación ascendente-descendente (AD).

7.6 Evaluación del porcentaje incidencia alimenticia y consumo de rotíferos por larva.

Se realizó un monitoreo y conteo de alimento en el intestino de las larvas como lo muestran las Figuras 10 y 11.

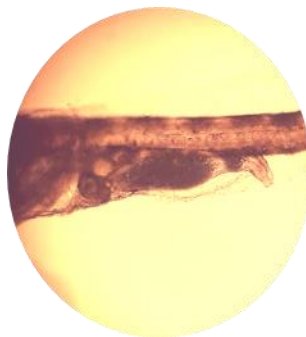


Figura 10. Larva con el intestino lleno de alimento



Figura 11. Larva con el intestino lleno de rotíferos

Se registró el porcentaje (%) desde el día 3 hasta el día 5 (DDE), de incidencia alimenticia (IA) y el consumo de rotíferos (NRC) por larva. Se observó que el mayor porcentaje de (IA) se obtuvo en el tratamiento descendente-ascendente (DA) 63 ± 1 y 80 ± 1 % en el día 4 y 5 DDE respectivamente, en comparación a los tratamientos control (C) y ascendente- descendente (AD), Tabla V. El consumo de rotíferos de manera similar a la incidencia alimenticia (IA) aumentó desde el día 3 al día 5 (DDE). Se observó que el mayor porcentaje de consumo de rotíferos (NRC) se obtuvo en el tratamiento descendente-ascendente (DA) 4.6 ± 0.3 N° rotíferos larva⁻¹ en el día 5 DDE, en comparación a los tratamientos control (C) y ascendente- descendente (AD). Sin embargo, el consumo de rotíferos para el tratamiento control (C) disminuyó con un consumo de 2.2 ± 0.6 N° rotíferos larva⁻¹ a un consumo de 1.6 ± 0.09 N° rotíferos larva⁻¹ comparado con los tratamientos anteriores.

Tabla V. Porcentaje de incidencia alimenticia (IA) y consumo de rotíferos por larva (NRC) en tres tratamientos de temperatura, control (C), oscilación descendente-ascendente (DA) y oscilación ascendente-descendente (AD)

DDE	IA			NRC		
	3	4	5	3	4	5
C	20 ± 0.8	57 ± 8.8	60 ± 17.6	0.2 ± 0.1	2.2 ± 0.6	1.6 ± 0.09
DA	10 ± 1.0	63 ± 1.0	80 ± 1.0	0.16 ± 0.1	2.4 ± 0.5	4.6 ± 0.3
AD	0	47 ± 8.0	55 ± 5.0	0	2.6 ± 1.0	3.5 ± 2.1

Valores en porcentajes con una DS de los promedios

8. DISCUSIÓN

8.1 Porcentaje de eclosión y supervivencia.

Estudios anteriores han demostrado que la temperatura incide en muchos factores del desarrollo embrionario en organismos que no regulan su propia temperatura (poiquiloterms) como los peces, entre los principales son el tiempo de eclosión, la supervivencia y la velocidad del consumo de reservas energéticas (Ashton y Rust, 2003; Blaxter, 1992; Kazuyuki *et al.*, 1988; Yu *et al.*, 2017). Esto varió de acuerdo a los rangos óptimos y necesidades biológicas de cada especie, en el cultivo de jurel *S. rivoliana*. Grossi-Dopico (2010) y Roo *et al.* (2014), han reportado el tiempo de eclosión de esta especie en un rango de 36-48 h, después de la fertilización y bajo una temperatura constante de entre 22 y 24 °C, en el presente estudio la eclosión se dió a las 34 h después de la fertilización en los tres tratamientos estudiados: control (25°C constante), oscilación descendente- ascendente (DA: 21-29°C), oscilación ascendente-descendente (AD: 29-21°C), lo que coincide con lo descrito por (Ashton y Rust, 2003; Blaxter, 1992; Kazuyuki *et al.*, 1988; Sund, 2005; Yu *et al.*, 2017) a una mayor temperatura disminuye el tiempo de eclosión y se acelera el metabolismo. El nivel de respuesta varía de acuerdo a la temo-tolerancia de cada especie; y se verá reflejado en larvas no viables, deformaciones, y alta mortalidad (Sund, 2005).

8.2 Datos morfométricos de longitud total

De acuerdo a los datos morfométricos de longitud total reportados para esta especie son de 2.5 - 3.2 mm en Grossi-Dopico (2010) y Roo *et al.* (2014) en un rango de temperaturas de 22-24°C, los datos obtenidos en este estudio se encuentran dentro del rango de longitud total antes reportado para esta especie con un valor de 2.8 ± 0.07 a 3.0 ± 0.1 mm. De acuerdo a Yu *et al.* (2017) la longitud total en la especie *Seriola lalandi* no fue un factor termo-dependiente. Sin embargo, en el presente estudio se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en el momento de la eclosión, lo que se atribuyó a que las temperaturas oscilantes de larvas en el tratamiento AD aceleraron la formación de tejido mediante una utilización más rápida de vitelo, observando larvas con mayor longitud, mientras que en el tratamiento DA el proceso metabólico se desaceleró, observando larvas más pequeñas, pero con un mayor volumen de saco vitelino. Sin embargo, aunque estas diferencias fueron significativas en la eclosión, se sugiere que ocurrió una compensación en el desarrollo y crecimiento posterior de las larvas, en donde no se presentaron diferencias en el día 2 después de la eclosión. Por lo tanto, con lo descrito anteriormente, se sugiere que *Seriola rivoliana* presenta una alta adaptabilidad en respuesta a la temperatura.

8.3 Longitud, Altura y volumen del saco vitelino y diámetro de la gota de aceite.

En el presente estudio, las larvas de *S. rivoliana* tuvieron una longitud del saco vitelino promedio de 1.1 mm y un volumen del saco vitelino (0.64 ± 0.09 ; 0.65 ± 0.08 ; 0.53 ± 0.1 mm³) correspondiendo a cada uno de los tratamientos: control (25°C), oscilación DA y oscilación AD. Este tamaño del saco vitelino es muy similar a lo ya reportado para la especie en Grossi-Dopico (2010) y Roo *et al.* (2014) de 1.2 mm. Sin embargo, el volumen del saco vitelino fue mayor, para lo reportado para *Seriola lalandi* por Yu *et al.* (2017) que fue de 0.49 ± 0.09 mm³. Diversos autores han descrito que la absorción de reservas energéticas son termo-dependientes

(Kazuyuki *et al.*, 1988; Blaxter, 1992; Ashton y Rust, 2003; Sund, 2005), sin embargo para *Seriola lalandi* Yu *et al.* (2017), menciona que no hubo diferencias significativas en el tamaño y volumen del saco vitelino en un rango de temperaturas de 21 - 25°C en comparación con lo reportado en este estudio donde se obtuvieron diferencias entre tratamientos comparados con el control, por lo que se infiere un efecto termo-dependiente para *S. rivoliana* lo que coincide con lo ya descrito para diferentes especies (Kazuyuki *et al.*, 1988; Blaxter, 1992; Ashton y Rust, 2003; Sund, 2005).

8.4 Perfil bioquímico (Proteínas, lípidos, triacilglicéridos (TAG) y carbohidratos)

Las reservas energéticas aportadas por la madre al embrión se dividen en cuatro grupos principalmente, proteínas, lípidos, triacilglicéridos y carbohidratos. El análisis del perfil bioquímico en los diferentes estadios de desarrollo mostró la manera en que son utilizados para la embriogénesis. En el caso de las proteínas se ha demostrado que son cruciales para el desarrollo embrionario. En el presente estudio se obtuvo un valor del 47% de contenido de proteínas en el estadio de blástula (huevo) y se redujo en un 70% después de la eclosión, lo cual coincide con lo reportado en Grossi-Dopico (2010) respecto a la tendencia de disminución desde huevo a larva para la misma especie. En *S. dumerili*, se ha observado que después de la eclosión, el contenido de proteínas aumenta hasta la etapa juvenil alrededor del día 30 (Yamamoto *et al.*, 2008), por lo que se evidencia la importancia del contenido de proteína en los huevos.

El contenido de lípidos en blástula disminuyó ligeramente hasta la eclosión, lo que coincide con lo reportado en otras especies (Tong *et al.*, 2017). Sin embargo, los triacilglicéridos (TAG) fueron utilizados como fuente de energía durante la embriogénesis, lo que concuerda con (Rønnestad *et al.*, 1998). En este estudio, los TAG representaron aproximadamente el 50 % de los lípidos totales y se utilizaron hasta en un 90% al momento de la eclosión con un valor promedio de 1.3% por

larva. Se ha observado que las proteínas y lípidos representan el mayor porcentaje en la composición bioquímica del huevo; son cruciales para el desarrollo embrionario y larvario, ya que juegan un papel importante en una amplia serie de procesos entre los cuales destacan, crecimiento, supervivencia, morfogénesis, comportamiento y sensibilidad al estrés. Un desequilibrio nutricional de la madre o durante las primeras fases larvarias puede generar alteraciones en el desarrollo y calidad larvaria en etapas posteriores (Blaxter, 1987; Blaxter y Hempel, 1963; Rønnestad *et al.*, 1998; Grossi-Dopico, 2010; Yin *et al.*, 2008).

En contraste los carbohidratos representaron menos del 1% en el huevo y no se consideraron como la fuente principal de energía. Sin embargo, se conoce que son importantes durante las primeras divisiones celulares en el huevo (Rønnestad *et al.*, 1998; Tong *et al.*, 2017). Se presentó un incremento significativo en la eclosión que requiere de más investigación, en donde es posible que la técnica no tenga la precisión para medir niveles muy bajos de carbohidratos.

8.5 Niveles de cortisol

El nivel de cortisol se midió durante el desarrollo embrionario (blástula, epibolia y néurula), así como también durante el inicio de la ontogenia larvaria en la larva (larva D0) recién eclosionada y un día después de la eclosión (larva D1). El contenido de cortisol fluctúa en el huevo durante las fases del desarrollo embrionario y se presenta un punto crítico al momento de la eclosión, en donde después de la primera fase larvaria, la larva es capaz de iniciar el metabolismo y producir por si misma el cortisol. El aumento de cortisol en el tratamiento AD concordó con lo descrito en la literatura (Falahtkar *et al.*, 2013; Robinson *et al.*, 2019; Simontacchi *et al.*, 2009; Von Dawsow *et al.*, 2014). En el presente estudio, el nivel de cortisol en el estadio de blástula fue de $1.6 \text{ pg } \mu\text{g}^{-1}$ de proteína, el cual disminuyó a $1.4 \text{ pg } \mu\text{g}^{-1}$ de proteína en la eclosión. Dicha disminución concordó con lo reportado para *Acipenser transmontanus* (Simontacchi *et al.*, 2009) y para el esturión persa *Acipenser persicus* (Falahtkar *et al.*, 2013), en donde los valores también

disminuyeron de blástula (5.5 ng g^{-1}) a la fase pre eclosión (2.6 ng g^{-1}). Falahtkar *et al.* (2013) menciona que el esturion persa (*A. persicus*) es resistente al estrés durante el desarrollo embrionario, sin embargo, en la fase de pre-eclosión donde se presenta el latido del corazón, si existió un efecto del incremento en los niveles de cortisol debido al estrés provocado. En contraste, en este estudio para *S. rivoliana* se observó una tendencia similar en los tratamientos control y oscilación DA, mientras que en la oscilación AD, se observaron dos fases con cambios drásticos en los niveles de cortisol. El primero, en donde disminuyó en la fase de epibolia y el segundo, más acentuado durante la fase néurula y pre eclosión en donde coincidió con temperaturas elevadas. Con lo anterior se sugiere que la especie *S. rivoliana* fue sensible a oscilaciones de temperatura, específicamente en el estadio de néurula. Sin embargo, se requerirá de más investigación para discernir qué efectos directos conllevan durante el desarrollo larvario.

8.6 Porcentaje de incidencia alimenticia y consumo de rotíferos

La primera alimentación exógena es termo-dependiente ya que la temperatura alta acelera la organogénesis y por consiguiente la apertura de la boca y el desarrollo de la visión, entre otras estructuras sensoriales. Por lo tanto, este momento es crucial para el crecimiento y supervivencia de las larvas de peces. Se ha demostrado que una incidencia alimenticia superior al 50% puede ser considerado como un indicador de una buena tasa de ingestión y por lo tanto de una mayor supervivencia en las etapas posteriores (Ashton y Rust, 2003). En este estudio se observó un inicio de la alimentación mixta al día 3 después de la eclosión, con una incidencia alimenticia del 10 a 20% en los tratamientos control y oscilación DA. Sin embargo, en el tratamiento de oscilación AD, se registró el inicio de la alimentación hasta el día 4 después de la eclosión. En contraste, Roo *et al.* (2014) observó una incidencia alimenticia del 50 % hasta el día 5 después de la eclosión para la misma especie, posiblemente debido a una menor temperatura en el cultivo larvario. El

porcentaje de incidencia alimenticia para el día 5 después de la eclosión en este estudio, para el control fue de 60%, para el tratamiento descendente-ascendente (DA) fue de 80% y para el tratamiento ascendente- descendente (AD) del 55%, por lo que se sugiere que la oscilación de la temperatura (DA) durante la incubación de huevos, mostró una estimulación para la incidencia de la primera alimentación exógena de las larvas, favoreciendo un mayor consumo de rotíferos, lo que podría contribuir a un mejor desarrollo de la larva y a un mayor porcentaje de supervivencia en etapas posteriores. Lo anterior coincide con lo descrito por Dou *et al.* (2005) para el lenguado (*halibut*) japonés. Por otro lado, Yu *et al.* (2017), menciona que para larvas de *S. lalandi* a mayor temperatura, la tasa de incidencia alimenticia es mejor, pero no muestra un incremento en el porcentaje de supervivencia, lo cual para *S. rivoliana*, se presentó de manera contraria, ya que con una temperatura inicial descendente se registró una mejor tasa de incidencia alimenticia y consumo de rotíferos.

9. CONCLUSIONES

1. La eclosión de los huevos de *S. rivoliana* ocurrió a las 34 h después de la fertilización en los tres tratamientos control, oscilación DA y oscilación AD.
2. Las tasas de eclosión para el jurel *S. rivoliana* estuvieron en un rango de 78 al 82 %, sin encontrarse una diferencia significativa entre tratamientos. Sin embargo, en las larvas en el tratamiento ascendente descendente (AD), se presentó un menor porcentaje de supervivencia al quinto día después de la eclosión con respecto al control.
3. En general, el porcentaje de supervivencia al 5^{to} día después de la eclosión para el jurel *S. rivoliana* estuvo en un rango de 50 a 60 %.
4. La longitud total en la eclosión para *S. rivoliana* estuvo en un rango de 2.8 ± 0.07 a 3.0 ± 0.1 mm, mostrando una diferencia significativa entre tratamientos con respecto al control, en donde las larvas en el tratamiento AD fueron más largas.

5. El volumen del saco vitelino en la eclosión fue de 0.64 ± 0.09 , 0.65 ± 0.08 , 0.53 ± 0.1 mm³; correspondiendo a cada uno de los tratamientos control, oscilación (DA) y oscilación (AD).
6. En el tratamiento ascendente-descendente (AD) se obtuvieron los datos morfométricos de las reservas endógenas (LSV, HSV, VSV) más bajos en la eclosión en comparación al tratamiento control y el tratamiento descendente-ascendente (DA).
7. Las proteínas fueron utilizadas hasta en un 70% durante la embriogénesis.
8. Los TAG, representaron el 50% de los lípidos totales y fueron utilizados hasta en un 90% durante la eclosión.
9. Los carbohidratos mostraron una mínima fracción en el contenido de los huevos.
10. El resultado del perfil bioquímico durante el desarrollo embrionario mostró un perfil similar entre tratamientos.
11. En el tratamiento de oscilación (AD), se presentaron cambios evidentes en los niveles de cortisol durante las dos fases de desarrollo de epibolia y néurula.
12. El tratamiento de oscilación descendente ascendente (DA), mostró un mayor consumo de rotíferos y un mayor porcentaje de incidencia alimenticia con una mejor supervivencia.

10. LITERATURA CITADA

- Ahn, H., Y. Yamada, A. Okamura, N. Horie, N. Mikawa, S. Tanaka, K. Tsukamoto. 2012. Effect of water temperature on embryonic development and hatching time of the Japanese eel *Anguilla japonica*. *Aquaculture*. 330:100-105.
- Argüello-Guevara, W., W. Apolinario, M. Bohórquez-Cruz, S. Reinoso, S. Rodríguez, S. Sonnenholzner. 2018. Effects of intermittent feeding on water quality,

skin parasites, feed consumption, and growth performance of juvenile longfin yellowtail *Seriola rivoliana* (Valenciennes, 1833). *Aquac. Res.* 49(11):3586-3594.

Arthur, D. K. 1976. Food and feeding of larvae of three fishes occurring in the California Current, *Sardinops sagax*, *Engraulis mordax*, and *Trachurus symmetricus*. *Fish. Bull.* 74:517-530.

Ashton, N., M. B. Rust. 2003. Effect of light intensity on feeding incidence and survival of preflexion larval black rockfish (*Sebastes melanops*). En: 27th Larval Fish Conference, August 20–23. (Santa Cruz, California). (Book of abstracts).

Blaxter, J. H. S. 1991. The effect of temperature on larval fishes. *Neth. J. Zool.* 42(2):336-357.

Dou, S. Z., R. Masuda, M. Tanaka, K. Tsukamoto. 2005. Effects of temperature and delayed initial feeding on the survival and growth of Japanese flounder larvae. *J. Fish. Biol.* 66:362-377.

Falahatkar, B., S. R. Akhavan, G. Ghaedi. 2014. Egg cortisol response to stress at early stages of development in Persian sturgeon *Acipenser persicus*. *Aquacult. Int.* 22(1):215-223.

Fujimoto E. K., N. M. Goeke, B. J. Olson, D. C. Klenk. 1985. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytic. Biochem.* 150:76-85.

Grossi-Dopico, E. 2010. Primeras experiencias de cultivo larvario del medregal negro *Seriola rivoliana* (Valenciennes 1833) en Canarias. Tesis (Maestría). Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, España. 134 pp.

Hempel, G., J. H. S. Blaxter. 1963. On the condition of herring larvae. *Rapp. P.-v. Réun. Cons. Int. Explor. Mer.* 154:35-40.

Kazuyuki, S., K. Hisashi, K. Shogoro. 1988. Changes in low temperature tolerance of the eggs of certain marine fish during embryonic development. *Comp. Biochem. Physiol. Part A: Physiol.* 91(1):183-187.

Koditschek, L., W. Umbreit. 1969. Alpha-glycerophosphate oxidase in *Streptococcus faecium* F 24. J. Bacteriol. 98:1063-1068.

Kupren, K., A. Mamcarz, D. Kucharczyk. 2011. Effect of variable and constant thermal conditions on embryonic and early larval development of fish from the genus *Leuciscus* (Cyprinidae, Teleostei). CAJAS. 56(2):70-80.

Kurokawa, T., T. Okamoto, K. Gen, S. Uji, K. Murashita, T. Unuma, H. Tanaka. 2008. Influence of water temperature on morphological deformities in cultured larvae of Japanese eel, *Anguilla japonica*, at completion of yolk resorption. JWAS. 39(6):726-735.

May, R. C. 1974. Larval mortality in marine fishes and the critical period concept. En: Blaxter, J. H. S. (ed.). The early life history of fish. Springer. Berlin. pp. 3-19.

Meekan, M. G., J. H. Carleton, A. D. McKinnon, K. Flynn, M. Furnas. 2003. What determines the growth of tropical reef fish larvae in the plankton: food or temperature. MEPS. 256:193-204.

Mesa-Rodríguez, A., C. M. Hernández-Cruz, M. B. Betancor, H. Fernández-Palacios, M. S. Izquierdo, J. Roo. 2016. Bone development of the skull, pectoral and pelvic fins in *Seriola rivoliana* (Valenciennes, 1833) larvae. Fish Physiol. Biochem. 42(6):1777-1789.

Noppe, G., E. F. Van Rossum, J. W. Koper, L. Manenshijn, G. J. Bruining, Y. B. De Rijke, E. L. Van Den Akker. 2014. Validation and reference ranges of hair cortisol measurement in healthy children. Horm. Res. Paediat. 82(2):97-102.

Puvanendran, V., I. B. Falk-Petersen, H. Lysne, H. Tveiten, H. Toften, S. Peruzzi. 2015. Effects of different step-wise temperature increment regimes during egg incubation of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) on egg viability and newly hatched larval quality. Aquac. Res. 46:226-235.

Réalís-Doyelle, E., A. Pasquet, D. De Charleroy, P. Fontaine, F. Teletchea. 2016. Strong effects of temperature on the early life stages of a cold stenothermal fish species, brown trout (*Salmo trutta* L.). PLoS One. 11(5): e0155487.

Robinson, N. A., H. Johnsen, H. Moghadam, Ø. Andersen, H. Tveiten. 2019. Early developmental stress affects subsequent gene expression response to an acute stress in Atlantic salmon: An approach for creating robust fish for aquaculture?. G3-Genes. Genom. Genet. 9:1597-1611.

Roe, J. H., J. M. Bailey, R. R. Gray, J. N. Robinson. 1961. Complete removal of glycogen from tissues by extraction with cold trichloroacetic acid solution. J. Biol. Chem. 236:1244-1246.

Roo, J., H. Fernández-Palacios, C. M. Hernández-Cruz, A. Mesa-Rodriguez, D. Schuchardt, M. Izquierdo. 2014. First results of spawning and larval rearing of longfin yellowtail *Seriola rivoliana* as a fast-growing candidate for European marine finfish aquaculture diversification. Aquac. Res. 45: 689-700.

Rønnestad, I., Koven, W., Tandler, A., Harel, M., Fyhn, H. J. 1998. Utilisation of yolk fuels in developing eggs and larvae of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture. 162: 157-170.

Scott, A. P., T. Ellis. 2007. Measurement of fish steroids in water—a review. Gen. Comp. Endocrinol. 153:392-400.

Simontacchi, C., E. Negrato, M. Pazzaglia, D. Bertotto, C. Poltronieri, G. Radaelli. 2009. Whole-body concentrations of cortisol and sex steroids in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*, Richardson 1836) during early development and stress response. Aquacult. Int. 17:7-14.

Sopinka, N. M., P. M. Capelle, C. A. Semeniuk, O. P. Love. 2017. Glucocorticoids in fish eggs: variation, interactions with the environment, and the potential to shape offspring fitness. Physiol. Biochem. Zool. 90:15-33.

- Sund, T., I. B. Falk-Petersen, 2005. Effects of incubation temperature on development and yolk sac conversion efficiencies of spotted wolffish (*Anarhichas minor* Olafsen) embryos until hatch. *Aquac. Res.* 36:1133-1143.
- Teles, A., J. Salas-Leiva, C. A. Alvarez-González, E. Gisbert, L. Ibarra-Castro, J. C. P. Urbiola, D. Tovar-Ramírez. 2017. Histological study of the gastrointestinal tract in longfin yellowtail (*Seriola rivoliana*) larvae. *Fish. Physiol. Biochem.* 43:1613-1628.
- Tong, X., X. Yang, C. Bao, J. Wang, X. Tang, D. Jiang, L. Yang. 2017. Changes of biochemical compositions during development of eggs and yolk sac larvae of turbot *Scophthalmus maximus*. *Aquaculture.* 473:317-326.
- Yamamoto, T., K. Teruya, T. Hara, H. Hokazono, H. Hashimoto, N. Suzuki, Y. Iwashita, H. Matsunari, F. Hirofumi, K. Mushiake. 2008. Nutritional evaluation of live food organisms and commercial dry feeds used for seed production of amberjack *Seriola dumerili*. *Fish. Sci.* 74:1096-1108.
- Yin, M. C., J. H. S. Blaxter. 1987. Feeding ability and survival during starvation of marine fish larvae reared in the laboratory. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 105:73-83.
- Yu, G., Z. Ma, J. Hu, Y. Liu, Q. Yang, R. Yang. 2017. Water Temperature Affects the Ontogenetic Development of Yellowtail Amberjack *Seriola lalandi* dorsalis (Gill 1863). *Insights Aquac Cult Biotechnol.* 12:158–161.
- Verner-Jeffreys, D. W., I. Nakamura, R. J. Shields. 2007. Surface disinfection of Pacific threadfin, *Polydactylus sexfilis*, and amberjack, *Seriola rivoliana*, eggs. *Aquac. Res.* 38:605-612.
- Von Dassow, M., C. J. Miller, L. A. Davidson. 2014. Biomechanics and the thermotolerance of development. *PLoS One.* 9: e95670.
- Wen, W., X. Huang, Q. Chen, L. Feng, L. Wei. 2013. Temperature effects on early development and biochemical dynamics of a marine fish, *Inimicus japonicas*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 442:22-29.