



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS  
DEL NOROESTE, S.C.

---

---

Programa de Estudios de Posgrado

EFFECTO DE LA TEMPERATURA CONSTANTE Y OSCILANTE SOBRE  
EL METABOLISMO ENERGÉTICO DURANTE EL DESARROLLO  
EMBRIONARIO Y DESEMPEÑO LARVARIO TEMPRANO DEL JUREL  
*Seriola rivoliana*

T E S I S

Que para obtener el grado de

**Doctora en Ciencias**

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

P r e s e n t a

**Nairoby Pacheco Carlón**

La Paz, Baja California Sur, junio de 2022.

## ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 10 horas del día 9 del Mes de Junio de 2022, 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 TEMPERATURA CONSTANTE Y OSCILANTE SOBRE EL METABOLISMO ENERGÉTICO DURANTE EL DESARROLLO EMBRIONARIO Y DESEMPEÑO LARVARIO TEMPRANO DEL JUREL *Seriola rivoliana*."**

Presentada por la alumna:

**Nairoby Pacheco Carlón**

Aspirante al Grado de DOCTOR 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



Dr. Ilie Sava Racotta Dimitrov  
Co-Director de Tesis



Dr. Rafael Campos Ramos  
Co-Director de Tesis



Dra. Danitzia Adriana Guerrero Tortolero  
Co-Tutora de Tesis



Dr. Edouard Kraffe de Laubarede  
Co-Tutor de tesis



Dr. Alejandro Manuel Maeda Martínez  
Co-Tutor de Tesis

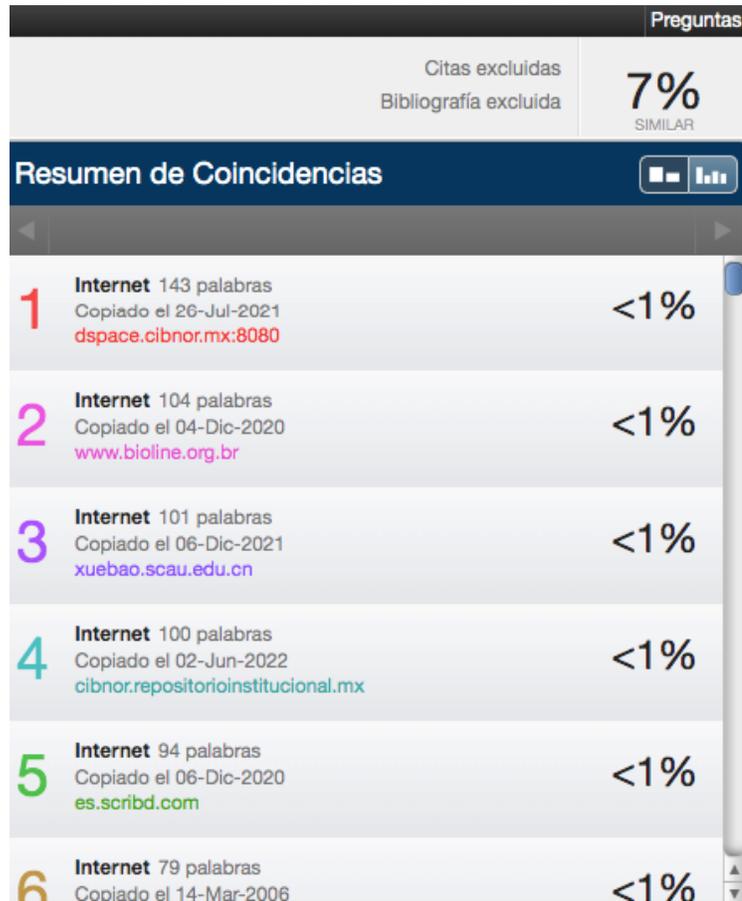


Dra. Gracia Alicia Gómez Anduro  
Directora de Estudios de Posgrado y  
Formación de Recursos Humanos

La Paz, Baja California Sur, a 9 de Junio de 2022.

Los miembros del comité de tesis de la estudiante Nairobi Pacheco Carlón del Programa de Doctorado en Ciencia en el Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales, revisamos el contenido de la tesis y otorgamos el Vo.Bo. dado que la tesis no representa un plagio de otro documento como lo muestra el reporte de similitud realizado:

- Herramienta antiplagio: iThenticate
  - Filtros utilizados: Bibliografía excluida
  - Porcentajes de similitud: 7%
- Se muestra captura de pantalla



The screenshot shows a similarity report interface. At the top right, it says 'Preguntas' and '7% SIMILAR'. Below that, it lists 'Citas excluidas' and 'Bibliografía excluida'. The main section is titled 'Resumen de Coincidencias' and contains a table of matches:

Rank	Source	Words	Copy Date	Similarity
1	Internet	143 palabras	Copiado el 26-Jul-2021	<1%
2	Internet	104 palabras	Copiado el 04-Dic-2020	<1%
3	Internet	101 palabras	Copiado el 06-Dic-2021	<1%
4	Internet	100 palabras	Copiado el 02-Jun-2022	<1%
5	Internet	94 palabras	Copiado el 06-Dic-2020	<1%
6	Internet	79 palabras	Copiado el 14-Mar-2006	<1%

Firmas del comité

  
\_\_\_\_\_

Dr. Ilie Racotta Dimitrov

  
\_\_\_\_\_

Dr. Rafael Campos Ramos

  
\_\_\_\_\_

Dra. Danitzia Guerrero Tortolero

  
\_\_\_\_\_

Dr. Edouard Kraffe de Laubarede

  
\_\_\_\_\_

Dr. Alejandro Maeda Martínez

## **Conformación del comité**

### **Comité tutorial**

Dr. Ilie Sava Racotta Dimitrov  
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C.  
Co-Director de Tesis

Dr. Rafael Campos Ramos  
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C.  
Co-Director de Tesis

Dra. Danitzia Adriana Guerrero Tortolero  
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C.  
Co-Tutora de Tesis

Dr. Alejandro Manuel Maeda Martínez  
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C.  
Co-Tutor de Tesis

Dr. Edouard Kraffe de Laubarede  
Universidad de Bretaña Occidental  
Co-Tutor de Tesis

### **Comité Revisor de Tesis**

Dr. Ilie Sava Racotta Dimitrov  
Dr. Rafael Campos Ramos  
Dra. Danitzia Adriana Guerrero Tortolero  
Dr. Alejandro Manuel Maeda Martínez  
Dr. Edouard Kraffe de Laubarede

### **Jurado de Exámen**

Dr. Ilie Sava Racotta Dimitrov  
Dr. Rafael Campos Ramos  
Dra. Danitzia Adriana Guerrero Tortolero  
Dr. Alejandro Manuel Maeda Martínez  
Dr. Edouard Kraffe de Laubarede

### **Suplentes**

Dra. Laurence Stephanie Mercier  
Dr. Juan Carlos Pérez Urbiola

## Resumen

La temperatura es el factor principal que influye en el proceso de desarrollo durante la ontogenia de los peces y tiene un efecto directo en la utilización y renovación de energía (ATP), en donde los embriones y larvas mantienen un balance energético celular (carga energética adenínica: CEA). Sin embargo, pocos estudios se han realizado comparando temperaturas constantes y fluctuantes de incubación, y se desconoce la respuesta energética durante los estadios de desarrollo tempranos. *Seriola rivoliana* es una especie emergente para la diversificación de la acuicultura marina en todo el mundo. Como objetivo general, se evaluó el efecto de la temperatura constante (20, 22, 24, 26, 28 y 30°C) y oscilante (entre 21 y 29°C) en el desarrollo y metabolismo energético de esta especie en el periodo de alimentación endógena. El rango viable de eclosión se obtuvo entre 20 y 28°C con una supervivencia mayor al 70%. Durante la embriogénesis, se observó un incremento gradual y significativo de ATP, en donde la CEA no fue influenciada por ningún régimen de temperatura y se mantuvo en niveles de alta viabilidad energética. Además, se observaron pocas variaciones en el contenido por individuo en proteínas, lípidos, carbohidratos, con excepción de los triacilglicéridos que fueron un combustible crítico durante la eclosión. Las larvas recién eclosionadas tuvieron una longitud total significativamente mayor en 22 y 24°C, y en la apertura de la boca entre los 20 y 24°C, en donde se observó una mayor disponibilidad de lípidos provenientes de la gota de aceite. Los tratamientos oscilantes reflejaron lo observado a temperaturas constantes más altas (26 a 30°C), en donde no existió un patrón morfológico definido y fueron desove-específicos. Sin embargo, la oscilación inicial ascendente tuvo una mayor supervivencia larval a la apertura de boca en comparación con 28°C y a la oscilación inicial descendente. El crecimiento de la cabeza con respecto a la longitud total fue óptimo a 26°C y se observó una mayor incidencia y severidad del edema en vitelo a la apertura de boca entre 20 y 26°C, mientras que a 28°C y en los tratamientos oscilantes disminuyó. Lo anterior sugirió la elevación progresiva de la temperatura después de la eclosión de 22-24°C a 26°C. Se concluye que el jurel *S. rivoliana* tiene una gran plasticidad y capacidad de adaptación a la temperatura durante la embriogénesis y el desarrollo larvario temprano.

**Palabras clave:** Temperatura, Oscilación, Carga energética adenínica, Embriogénesis, Desarrollo

ORCID: 0000-0002-1528-3328

Vo.Bo. Co-Directores de Tesis



Dr. Ilie Sava Racotta Dimitrov



Dr. Rafael Campos Ramos

## Summary

Temperature is the main factor that influences the development process during fish ontogeny and has a direct effect on the use and renewal of energy (ATP), where embryos and larvae maintain a cellular energy balance (adenylate energy charge: AEC). However, few studies have been performed comparing constant and fluctuating incubation temperatures, and the energetic response during early developmental stages is unknown. *Seriola rivoliana* is an emerging species for the diversification of marine aquaculture throughout the world. As a general objective, the effect of constant temperature (20, 22, 24, 26, 28 and 30°C) and oscillating temperature (between 21 and 29°C) on the development and energy metabolism of this species was evaluated during the period of endogenous feeding. The viable hatching range was obtained between 20 and 28°C with a survival greater than 70%. During embryogenesis, a gradual and significant increase in ATP was observed, where AEC was not influenced by any temperature regime and remained at levels of high energetic viability. In addition, few variations were observed in the content per individual in proteins, lipids, carbohydrates, with the exception of triacylglycerides, which were a critical fuel during hatching. Newly hatched larvae had a significantly greater total length at 22 and 24°C, and at mouth opening between 20 and 24°C, where a greater availability of lipids from the oil drop was observed. The oscillating treatments reflected what was observed at constant higher temperatures (26 to 30°C), where there was no defined morphological pattern and they were spawning-specific. However, the initial upward oscillation had a higher larval survival at mouth opening compared to 28°C and the initial downward oscillation. Head growth with respect to total length was optimal at 26°C and a higher incidence and severity of yolk edema was observed at mouth opening between 20 and 26°C, while at 28°C and in oscillating treatments decreased. This suggested the progressive rise in temperature after hatching from 22-24°C to 26°C. It is concluded that the longfin yellowtail *S. rivoliana* has a great plasticity and adaptability to temperature during embryogenesis and the early larval development.

**Keywords:** Temperature, Oscillation, Adenylate energy charge, Embryogenesis, Development

ORCID: 0000-0002-1528-3328

Vo.Bo. Co-Directores de Tesis



Dr. Ilie Sava Racotta Dimitrov



Dr. Rafael Campos Ramos

## Dedicatoria

*A la memoria de mi padre*

*A mi querida madre*

## **Agradecimientos**

Agradezco al CONACyT por el apoyo recibido a través de la beca doctoral (CVU-565407) para desarrollar la presente investigación.

Agradezco al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., en especial al posgrado dirigido por la Dra. Gracia Alicia Gómez Anduro.

Mi más sincero y especial agradecimiento a mi Co-Director el Dr. Rafael Campos, por el gran apoyo de principio a fin durante los experimentos (proyecto CONACYT 258504). Esperamos que ésta tesis aporte un granito de arena al conocimiento de la lecitotrofia del Jurel.

A mi Co-Director el Dr. Ilie Racotta, gracias por encaminarme a proyectos que realmente me motivaron mucho. Me siento muy orgullosa de haber continuado con el estudio de la calidad larvaria que alguna vez usted comenzó, y que ahora se aplicó también a las larvas de peces. Gracias por sus precisas observaciones para mejorar ésta investigación.

A mi Co-tutora la Dra. Danitzia Guerrero, así como a mis Co-tutores el Dr. Edouard Kraffe y el Dr. Alejandro Maeda. Gracias por sus aportaciones a este trabajo.

A Kampachi Farms por el aporte del material biológico.

Al Dr. Eduardo Quiroz Guzman por el material proporcionado para los experimentos.

Al Ing. Gilberto Colado Durán por su apoyo para la realización de los experimentos.

Un especial agradecimiento a la técnico del Laboratorio de Metabolismo energético la Dra. Rosa Linda Salgado García, por todo su apoyo durante el análisis de nucleótidos de adenina.

A la técnico del Laboratorio de Metabolismo de Lípidos la M. en C. Olivia Arjona López y al técnico del Laboratorio de Bioquímica Fisiológica el M. en C. Roberto Hernández Herrera, por su amable apoyo en los análisis.

Al personal de biblioteca: Susana Luna, Ana María Talamantes por su apoyo para buscar información, y muy especialmente a Maria Esther Ojeda.

A mis compañeros del laboratorio de Endocrinología que me apoyaron en los experimentos, Lucero Cervantes, Daniel Romo, Mariam Calixto y Grecia Vazquez.

A Verónica Mendoza, Claudia Maytorena y Arlett Robles por el conocimiento compartido y su amistad.

## Contenido

<b>Resumen</b> .....	<b>ii</b>
<b>Summary</b> .....	<b>iii</b>
<b>Dedicatoria</b> .....	<b>iv</b>
<b>Agradecimientos</b> .....	<b>v</b>
<b>Contenido</b> .....	<b>vi</b>
<b>Lista de figuras</b> .....	<b>ix</b>
<b>Lista de tablas</b> .....	<b>x</b>
<b>Abreviaturas</b> .....	<b>xi</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	<b>4</b>
2.1. Biología y cultivo del Jurel <i>Seriola rivoliana</i> .....	4
2.1.1. Aspectos biológicos .....	4
2.1.2. Cultivo .....	6
2.2. Desarrollo embrionario y larvario .....	9
2.2.1. Aspectos generales .....	9
2.2.2. Crecimiento alométrico .....	10
2.2.3. Deformaciones anatómicas .....	12
2.2.4. Dinámica de reservas y transformaciones bioquímicas durante el desarrollo .....	13
2.2.5. Balance energético .....	15
2.3. Efecto de la temperatura .....	17
2.3.1. Temperatura en ectotermos y concepto de $Q_{10}$ .....	17
2.3.2. Temperatura y desarrollo .....	17
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>22</b>
<b>4. HIPÓTESIS</b> .....	<b>23</b>
<b>5. OBJETIVOS</b> .....	<b>24</b>
5.1. Objetivo general .....	24
5.2. Objetivos particulares .....	24
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>25</b>
6.1. Manejo de reproductores e incubación de los huevos .....	25
6.2. Diseño experimental .....	26
6.3. Colecta de muestra y almacenado .....	28
6.4. Fases de desarrollo embrionario .....	29

6.5.	Velocidad de desarrollo.....	30
6.6.	Tasas de eclosión y supervivencia a la apertura de boca.....	30
6.7.	Crecimiento corporal larval .....	31
6.8.	Utilización del saco vitelino y gota de aceite .....	32
6.9.	Crecimiento alométrico .....	32
6.10.	Edema pericárdico/vitelino a la apertura de boca .....	33
6.11.	Análisis bioquímicos (masa seca, proteína, lípidos totales, carbohidratos y TAG) .....	34
6.12.	Nucleótidos de adenina .....	34
6.13.	Análisis estadístico .....	35
<b>7.</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>37</b>
7.1.	Velocidad de desarrollo y coeficiente de temperatura.....	37
7.2.	Rango viable de temperatura de incubación .....	38
7.3.	Efecto de la temperatura constante.....	39
7.3.1.	Morfología larval.....	39
7.3.1.1.	Influencia del bioensayo y la temperatura constante en la morfología larval .....	43
7.3.2.	Composición bioquímica, gota de aceite y nucleótidos de adenina .....	46
7.3.2.1.	Rango de temperaturas altas vs bajas .....	51
7.3.2.2.	Influencia del bioensayo y la temperatura constante en la composición bioquímica de la larva eclosionada .....	53
7.4.	Efecto de la temperatura oscilante .....	55
7.4.1.	Morfología larval.....	55
7.4.1.1.	Influencia del bioensayo y la temperatura oscilante en la morfología larval .....	58
7.4.2.	Composición bioquímica, gota de aceite y nucleótidos de adenina .....	61
7.4.2.1.	Influencia del bioensayo y la temperatura oscilante en la composición bioquímica de la larva en la eclosión .....	66
7.5.	Efecto de la temperatura constante y oscilante en un mismo desove.....	68
7.5.1.	Supervivencia a la apertura de boca .....	68
7.5.2.	Incidencia de edema pericardico/vitelino en la larva a la apertura de boca .....	69
7.5.3.	Morfología larval y crecimiento compensatorio .....	70
7.5.3.1.	Efecto del edema en deformaciones corporales .....	74
7.5.3.2.	Crecimiento alométrico .....	76
7.5.3.3.	Absorción del vitelo y gota de aceite.....	77
7.5.4.	Composición bioquímica y gota de aceite.....	81
7.6.	Principales diferencias bioquímicas y morfológicas entre los bioensayos.....	84

<b>8. DISCUSIÓN .....</b>	<b>86</b>
8.1. Cambios influenciados por el desarrollo en el periodo de alimentación endógena de <i>Seriola rivoliana</i> .....	86
8.2. Influencia de la temperatura en el periodo de alimentación endógena de <i>S. rivoliana</i> .	91
8.2.1. Efecto de la temperatura constante .....	91
8.2.2. Efecto de la temperatura oscilante .....	94
8.3. Crecimiento compensatorio .....	99
8.4. Influencia del desove en el periodo de alimentación endógena de <i>S. rivoliana</i> .....	100
<b>9. CONCLUSIONES .....</b>	<b>102</b>
<b>10. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>104</b>

## Lista de figuras

<b>Figura 1.</b> <i>Seriola rivoliana</i> .....	4
<b>Figura 2.</b> Distribución natural de <i>Seriola rivoliana</i> .....	5
<b>Figura 3.</b> Producción acuícola. ....	8
<b>Figura 4.</b> Ontogenia de <i>Seriola rivoliana</i> (23°C).....	10
<b>Figura 5.</b> Edema en pericardio y en seno del saco vitelino en la larva de Halibut.. ....	13
<b>Figura 6.</b> Esquema generalizado de los cambios en proteína y lípidos durante el desarrollo de embriones y larvas (alimentación endógena).....	15
<b>Figura 7.</b> Medición del volumen de huevos (A) y unidades experimentales (B) en el laboratorio de bioensayos de peces del CIBNOR. ....	26
<b>Figura 8.</b> Tratamientos de oscilación de temperatura durante la embriogénesis. ....	27
<b>Figura 9.</b> Fases embrionarias de <i>Seriola rivoliana</i> .. ....	30
<b>Figura 10.</b> Caracteres morfométricos paralelos y perpendiculares al eje longitudinal .....	31
<b>Figura 11.</b> Velocidad de desarrollo embrionario de <i>S. rivoliana</i> en relación a la temperatura. ...	37
<b>Figura 12.</b> Tasas de eclosión en huevos de <i>Seriola rivoliana</i> .....	39
<b>Figura 13.</b> Influencia del bioensayo y la temperatura constante en la morfología larval.....	45
<b>Figura 14.</b> Valores bioquímicos y gota de aceite en embriones de <i>Seriola rivoliana</i> expuestos a temperatura constante (20-30°C) (Bioensayo 1).....	48
<b>Figura 15.</b> Valores de nucleótidos de adenina en embriones de <i>Seriola rivoliana</i> expuestos a temperatura constante (20-30°C) (Bioensayo 1).....	50
<b>Figura 16.</b> Influencia del bioensayo y la temperatura constante en la composición bioquímica de la larva eclosionada.....	54
<b>Figura 17.</b> Influencia del bioensayo y la temperatura oscilante en la morfología larval.....	60
<b>Figura 18.</b> Valores bioquímicos en embriones de <i>Seriola rivoliana</i> expuestos a 25°C constante (control) y tratamientos con temperatura oscilante durante la incubación (21°C $\rightleftharpoons$ 29°C) (Bioensayo 2).....	63
<b>Figura 19.</b> Valores de nucleótidos de adenina en embriones de <i>Seriola rivoliana</i> expuestos a 25°C constante (control) y tratamientos con temperatura oscilante durante la incubación (21°C $\rightleftharpoons$ 29°C) (Bioensayo 2).....	65
<b>Figura 20.</b> Influencia del bioensayo y la temperatura oscilante en la composición bioquímica de la larva a la eclosión.....	67
<b>Figura 21.</b> Tasa de supervivencia larvaria a la apertura de boca (bioensayo 4).....	69
<b>Figura 22.</b> Porcentaje de larvas con edema en pericardio/vitelo a la apertura de boca (B4).....	70
<b>Figura 23.</b> Influencia del edema pericárdico/vitelino y la temperatura en la morfología larval a la apertura de boca (bioensayo 4). . ....	75
<b>Figura 24.</b> Coeficientes de crecimiento alométrico en longitudes paralelas (a) y perpendiculares (b) al eje longitudinal en el desove 3 a temperaturas constantes (20 a 30°C) y oscilantes.. ....	77
<b>Figura 25.</b> Valores bioquímicos y gota de aceite en embriones de <i>Seriola rivoliana</i> expuestos a temperatura constante (20-30°C) y oscilante (21°C $\rightleftharpoons$ 29°C) durante la incubación dentro de un mismo desove (Bioensayo 4). ....	83
<b>Figura 26.</b> Dinámica de la gota de aceite en el desarrollo embrionario y larvario temprano de <i>S. rivoliana</i> bajo temperaturas constantes y oscilantes (bioensayo 4).. ....	84
<b>Figura 27.</b> Tratamientos de oscilación de temperatura durante la embriogénesis y fluctuación natural estimada.. ....	96

## Lista de tablas

<b>Tabla 1.</b> Resumen de los bioensayos y análisis realizados. ....	28
<b>Tabla 2.</b> Identificación de los grados de edema .....	33
<b>Tabla 3.</b> Mediciones morfométricas a las temperaturas constantes del bioensayo 1. ....	40
<b>Tabla 4.</b> Mediciones morfométricas a las temperaturas constantes del bioensayo 3. ....	41
<b>Tabla 5.</b> Mediciones morfométricas a las temperaturas constantes del bioensayo 4. ....	42
<b>Tabla 6.</b> Dinámica de los parámetros medidos en la embriogénesis de <i>S. rivoliana</i> del bioensayo 1. ....	47
<b>Tabla 7.</b> Componentes medidos en los embriones y larvas de <i>Seriola rivoliana</i> incubados a temperaturas constantes frías (20-24°C) y cálidas (26-30°C) del bioensayo 1 y bioensayo 4. ....	52
<b>Tabla 8.</b> Mediciones morfométricas a las temperaturas oscilantes del bioensayo 2. ....	55
<b>Tabla 9.</b> Mediciones morfométricas a las temperaturas oscilantes del bioensayo 3. ....	56
<b>Tabla 10.</b> Mediciones morfométricas a las temperaturas oscilantes del bioensayo 4. ....	57
<b>Tabla 11.</b> Dinámica de los parámetros medidos en la embriogénesis de <i>S. rivoliana</i> del bioensayo 2. ....	62
<b>Tabla 12.</b> Influencia de la temperatura oscilante en la composición bioquímica de la larva a la apertura de boca (bioensayo 4). ....	68
<b>Tabla 13.</b> Mediciones morfométricas a las temperaturas constantes y oscilantes del bioensayo 3. ....	72
<b>Tabla 14.</b> Mediciones morfométricas a las temperaturas constantes y oscilantes del bioensayo 4. ....	73
<b>Tabla 15.</b> Utilización del saco vitelino (bioensayo 3). ....	79
<b>Tabla 16.</b> Utilización de la gota de aceite (bioensayo 3). ....	80
<b>Tabla 17.</b> Dinámica de los parámetros medidos durante la alimentación endógena de <i>S. rivoliana</i> en el bioensayo 3. ....	81
<b>Tabla 18.</b> Dinámica de los parámetros medidos durante la alimentación endógena de <i>S. rivoliana</i> en el bioensayo 4. ....	82
<b>Tabla 19.</b> Principales diferencias bioquímicas y morfológicas de los bioensayos. ....	85

**Abreviaturas**

**OID:** Oscilación inicial descendente

**OIA:** Oscilación inicial ascendente

**VO:** Vesícula óptica

**NE:** Néurula

**PRE:** Pre-eclosión

**ECL:** Eclosión

**CEA:** Carga energética adenílica

**ATP:** Adenosin trifosfato

**ADP:** Adenosin difosfato

**AMP:** Adenosin monofosfato

**IMP:** Inosin monofosfato

**NAT:** nucleótidos adenílicos totales

**TAG:** Triacilglicéridos

## 1. INTRODUCCIÓN

En general, el incremento en la producción en la acuicultura de peces marinos se ve limitado por la crianza de juveniles para el cultivo, ya que las primeras etapas de vida son las más difíciles de cultivar (Holt, 2002), especialmente los primeros días de alimentación en donde la supervivencia es altamente variable dependiendo de la especie, la calidad del desove y los procedimientos de crianza (Yúfera y Darias, 2007; Hu *et al.*, 2018).

La etapa de alimentación endógena es el periodo desde la fertilización del huevo hasta el inicio de la alimentación exógena. Durante este periodo los individuos sustentan todas sus necesidades fisiológicas a partir del vitelo y la gota de aceite, siendo su única fuente de energía y componentes para el metabolismo, desarrollo, y crecimiento (Finn *et al.*, 1996; Hou y Fuiman, 2021). Para alcanzar con éxito la transición hacia la alimentación exógena es necesario que todas las estructuras y órganos relacionados con la ingestión de alimento, digestión y asimilación estén listos en el debido tiempo (Yúfera y Darias, 2007). En lo que concierne a la capacidad de la larva para capturar el alimento, las deformaciones anatómicas que se presentan al finalizar la absorción del vitelo son patologías que pueden reducir las oportunidades para una primera alimentación exitosa y por ende del óptimo desarrollo larvario en general (Ottesen y Bolla, 1998; Cobcroft *et al.*, 2004; Kurokawa *et al.*, 2008).

La temperatura es uno de los factores ambientales más importantes que influyen en el proceso de desarrollo durante la ontogenia temprana de los peces. La mayoría de los estudios analizan la influencia de las temperaturas constantes en el desarrollo de los embriones de peces marinos, concretamente en el rendimiento zootécnico (tasa de fertilización, duración del desarrollo embrionario, tasa de eclosión, supervivencia y crecimiento), así como en los rasgos morfológicos (longitud de las larvas, volumen del saco vitelino y de la gota de aceite) (Scoppettone *et al.*, 1993; Moran *et al.*, 2007; Kupren *et al.*, 2011; Puvanendram *et al.*, 2015; Imsland *et al.*, 2019; Viader-Guerrero *et al.*, 2021). Aunque este es un enfoque práctico para las condiciones de crianza artificial para establecer un rango de temperatura óptimo, no refleja necesariamente las fluctuaciones térmicas naturales o antropogénicas inducidas. Por lo que la evaluación de los regímenes de temperatura variable durante la ontogenia temprana de varios peces,

principalmente de especies frías y templadas, ha ganado atención en los últimos años para mejorar aún más la producción larval (Blanco-Vives *et al.*, 2010; Eme *et al.*, 2018; Lahnsteiner *et al.*, 2012; Mueller *et al.*, 2015; Jeuthe *et al.*, 2016).

Para predecir los efectos de la temperatura en los estadios más tempranos del desarrollo de los peces, una herramienta útil es la evaluación de las reservas bioquímicas (proteínas, lípidos y carbohidratos) del huevo. Desafortunadamente, es poco entendido el rol de las reservas bioquímicas como proveedoras de energía y componentes celulares durante el desarrollo (Fraher *et al.*, 2016). Una limitación es la inhabilidad de discriminar entre el vitelo y el contenido presente en el cuerpo del embrión. A pesar de eso, la acumulación de estudios han proporcionado una amplia visión de los roles de las reservas bioquímicas y su importancia durante el desarrollo (Shulman y Love, 1999; Fraher *et al.*, 2016). Sin embargo, los efectos de la temperatura sobre estas variables han sido escasamente evaluados (Wen *et al.*, 2013; Mueller *et al.*, 2017). Otro enfoque utilizado para comprender el estatus energético a nivel celular en relación con los factores de estrés ambiental es la evaluación de la composición de los nucleótidos adenílicos (ATP, ADP, AMP) (Vetter *et al.*, 1983). Durante la fase lecitotrófica larvaria de peces, las transformaciones metabólicas se apoyan energéticamente en la hidrólisis del trifosfato de adenosina (ATP), que se forma a través de la oxidación acoplada de las reservas almacenadas en el vitelo y la gota de aceite (Finn *et al.*, 1996). La síntesis de ATP es un proceso regulado según las necesidades energéticas del organismo, lo cual significa que debe de existir un equilibrio entre la producción y la utilización de energía, es decir, un balance energético como se describe más adelante. En la regulación del metabolismo celular, además del ATP, los nucleótidos adenílicos de difosfato de adenosina (ADP) y monofosfato de adenosina (AMP) también juegan un papel importante en la generación de energía. Por lo tanto, la relación entre estos tres nucleótidos adenílicos conlleva a obtener la carga energética adenílica (CEA), la cual indica qué tanta energía celular esta disponible en un determinado momento en un organismo (Atkinson, 1968) y de la cual se desprenden los resultados con más relevancia en este estudio durante la embriogénesis y eclosión de larvas de jurel.

El jurel *Seriola rivoliana* Valenciennes es una especie de rápido crecimiento que habita los océanos subtropicales y ha surgido como una especie importante para la diversificación de la acuicultura en todo el mundo (Espinoza *et al.*, 2009; Jerez, 2013). La producción comercial de juveniles depende de la larvicultura a partir de huevos de reproductores cautivos, que desovan naturalmente a una temperatura óptima de 26°C (Blacio, 2004).

Esta investigación contribuye al conocimiento de la condición energética del Jurel *S. rivoliana* en el periodo de alimentación endógena en relación a temperaturas constantes (20→30°C) y oscilantes (21↔29°C, termociclo "agudo"), en donde se identificaron etapas específicas del desarrollo que correspondieron a ventanas energéticas críticas durante el desarrollo larvario temprano de esta especie, como se observará más adelante.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Biología y cultivo del Jurel *Seriola rivoliana*

#### 2.1.1. Aspectos biológicos

*Seriola rivoliana* (Valenciennes, 1783) pertenece a la familia Carangidae. Sus nombres comunes en otros idiomas son: Pez fuerte (México), medregal negro (Canarias), Almako jack, Pacific yellowtail, y longfin yellowtail (Inglés), Carangue dentée (Frances) y Kona kampachi (Japonés) (Jerez, 2013).

Phyllum: *Chordata*

Clase: *Actinopterygii*

Orden: *Perciformes*

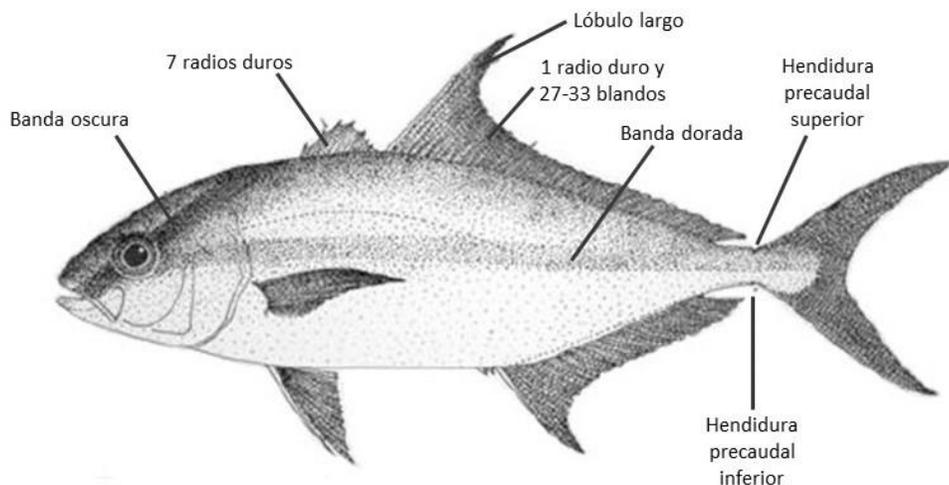
Familia: *Carangidae*

Género: *Seriola*

Especie: *revoliana*

(Froese y Pauly, 2017)

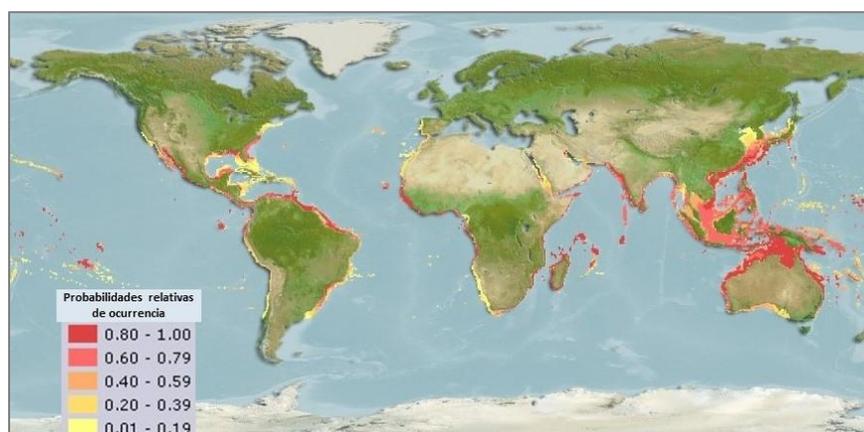
*Seriola rivoliana* es un pez marino, teleósteo carnívoro, de gran fuerza y nado veloz, que tiende a ser migratorio debido a la búsqueda de alimento y para reproducción de la especie. Sin embargo, son peces no muy longevos (Espinoza *et al.*, 2009).



**Figura 1.** *Seriola rivoliana* (Tomado de: Avendaño-Villamar y Pazos-Noriega, 2017).

Esta especie presenta un cuerpo alargado, fusiforme, de altura moderada, ligeramente comprimido lateralmente y cubierto de escamas pequeñas y cicloides (Fig. 1). Tiene un hocico más largo y puntiagudo que *S. dumerili*. Su color es marron-violáceo en el dorso con lados y vientre plateados y una barra negra diagonal entre la nuca y el ojo. Los juveniles presentan 6 bandas laterales y una banda en el pedúnculo caudal (Jerez, 2013).

*Seriola rivoliana* es un pez pelágico demersal y epibentónico que se encuentra en aguas abiertas cerca de la superficie. Está asociado a arrecifes marinos en un rango de profundidad de 5-160 m (Lieske y Myers, 1994), aunque normalmente se encuentra entre los 5 y 35 m (Gasparini y Floeter, 2001). Se encuentra distribuida a lo largo de las zonas subtropicales de los océanos Índico, Atlántico oeste y Pacífico oeste. En el continente americano se distribuye desde Baja California hasta el norte del Perú (Fig. 2) (Froese y Pauly, 2017).



**Figura 2.** Distribución natural de *Seriola rivoliana* (AquaMaps, 2019).

En *Seriola rivoliana* la madurez sexual se alcanza a los 3 años de edad con 4 kg de peso en las hembras (Jerez, 2013), y un poco antes en los machos, citándose incluso a los dos años (Quiñones-Arreola, 2015). Los jureles son reproductores asincrónicos por grupo con desoves múltiples, es decir, los ovocitos se van reclutando en lotes durante la temporada de reproducción y por lo tanto, en la gónada se observan diferentes estadios de maduración de ovocitos. Aquellos con un grado mayor de vitelogénesis llegan a la etapa de maduración final y se presenta el primer desove. El siguiente lote con mayor grado de maduración llegará a la etapa final y se dará el siguiente desove y así consecutivamente (Murua y Saborido-Rey, 2003). De esta manera, las hembras de *Seriola rivoliana* tienen un periodo de reproducción largo que comprende primavera, verano y

otoño, dependiendo de la latitud y la temperatura del agua de mar (Jerez, 2013). En islas de Ogasawara en Japón, fueron colectadas especies casi maduras desde finales de mayo al comienzo de septiembre y durante este periodo la temperatura de la superficie del agua fluctuó entre 23 y 28°C (Kato *et al.*, 1990). Por otro lado, en aquellas islas además fueron obtenidos huevos de *Seriola rivoliana* de alta calidad desde reproductores silvestres criados sin tratamientos artificiales (hormonas o manipulación de temperatura) para inducir la maduración y el desove. Casi todos los desoves ocurrieron al amanecer entre abril y noviembre, y fueron particularmente frecuentes entre junio y octubre (Kawabe *et al.*, 1997). En Ecuador, la época de puesta va desde abril a diciembre en reproductores cultivados, a una temperatura media de 27.4°C (Blacio y Alvarez, 2002), mientras que en Hawai ocurre durante todo el año a una temperatura media de 26°C (Laidley *et al.*, 2004). Finalmente, en criaderos de México los desoves de *S. rivoliana* ocurren espontáneamente a una temperatura de 26°C (Quiñones-Arreola *et al.*, 2015). Los huevos de los peces de éste género son pelágicos, tienen forma esférica y sin coloración. En la zona costera de la península de Baja California se observan especímenes maduros casi todo el año, registrándose la mayor presencia de sus larvas en el plancton y juveniles de 2-7 g., desde julio a septiembre, refugiándose bajo la sombra de los mantos de sargazo u otras algas (Moser *et al.*, 1993).

### **2.1.2. Cultivo**

*Seriola rivoliana* tiene un excelente potencial acuícola debido a su adaptabilidad al cautiverio, rápido crecimiento, y un gran valor en el mercado; sin embargo, la información acerca de la tecnología de cultivo es limitada (Quiñones-Arreola, 2015). La ventaja que ofrece esta especie es que es nativa, por lo que hay reproductores disponibles para su captura. Sin embargo, el cuello de botella para la producción en masa de *S. rivoliana* es que no hay una fuente confiable de juveniles (Roo *et al.*, 2014), ya que la actividad de cultivo depende exclusivamente de los juveniles producidos en los criaderos. La producción sostenible depende entonces de un mayor conocimiento en el manejo de los reproductores, condiciones del cultivo, la alimentación, el cultivo larvario, entre otros.

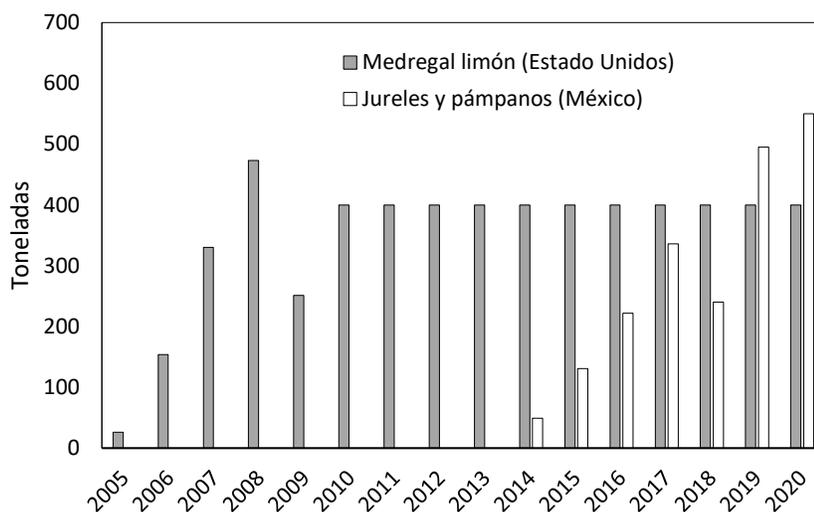
La obtención de desoves naturales e inducidos, ha permitido el desarrollo de la técnica de cultivo larvario para carángidos a partir de la ya establecida para otras especies (Jerez, 2013). Sin embargo, los juveniles producidos en cautividad son menos atractivos para el acuicultor porque presentan deformidades (Kolkovski y Sakakura, 2004) y muestran cambios sustanciales en la alimentación que a largo plazo afectan negativamente el crecimiento (Jerez, 2013). Así, varias mejoras a nivel de producción de juveniles son necesarias para el cultivo de *Seriola*, tales como una producción mejorada a través del año, que presenten mejores tasas de crecimiento y menos vulnerabilidad a las enfermedades, y una reducción en la incidencia de deformidades (Kolkovski y Sakakura, 2004). La fase de cultivo larvario es un importante cuello de botella para el desarrollo de la piscicultura marina. Esto debido, no solo a las bajas supervivencias obtenidas, sino además a los altos costos que representa esta fase del cultivo de una especie, en el total de la producción (Battaglione y Cobcroft, 2007).

El proceso de cría de *S. rivoliana* comienza con los reproductores, estos desovan naturalmente, sin inducción hormonal a una temperatura de 26°C. El cultivo larvario se realiza en sistemas intensivos, los cuales se caracterizan por alta densidad en los tanques (75-125 larvas/litro). Se llevan a cabo por lo general en el interior para controlar los parámetros, y a pesar de que todavía es frecuente el uso de tanques de cultivo pequeños (volúmenes de 0.5-1 m<sup>3</sup>), la tendencia actual es la utilización de tanques mucho más grandes, con volúmenes mayores (10-20 m<sup>3</sup>) (Grossi-Dopico, 2010). Los parámetros de cultivo en las técnicas intensivas son: condiciones controladas de fotoperiodo, temperatura, intensidad lumínica, hidrodinámica, oxigenación y alimentación. Generalmente el fotoperiodo, intensidad y espectro lumínico son artificiales, y se cambian de acuerdo al desarrollo de las larvas y a la agudeza de su sistema visual (Roo *et al.*, 2001).

Después de un periodo de 6 a 10 semanas en las instalaciones en cautiverio, los juveniles son transferidos a las jaulas (Blacio y Alvarez, 2002). En el cultivo en alta mar, el principal reto respecto a la ubicación geográfica es la temperatura. Este pez deja de crecer a los 18°C, se ralentiza el crecimiento a cualquier temperatura por debajo de 22°C y crece muy bien a 30°C (Sims, 2019). El peso comercial es de 3.5 kg (Moreno-Alva, 2018), inferior al de los organismos maduros (> 4 kg).

Actualmente, *Seriola rivoliana* está siendo cultivada a nivel pre-industrial en Hawaii, España, Ecuador y México (Jerez, 2013; Roo *et al.*, 2014). Según la FAO (2022), Estados Unidos viene produciendo 400 toneladas de esta especie desde 2010 a la fecha (Fig. 3).

Todas las especies de jurel tienen una alta demanda comercial, con un precio entre \$7.00 y \$11.00 USD /kg, principalmente en la gastronomía asiática oriental, en donde se presenta el sashimi y el sushi como platillos tradicionales (Avilés-Quevedo y Castellói Orvay, 2004).



**Figura 3.** Producción acuícola del medregal limón (*Seriola rivoliana*) en Estados Unidos (Pacífico) y Jurel y pámpanos en México (Pacífico) (FAO, 2022).

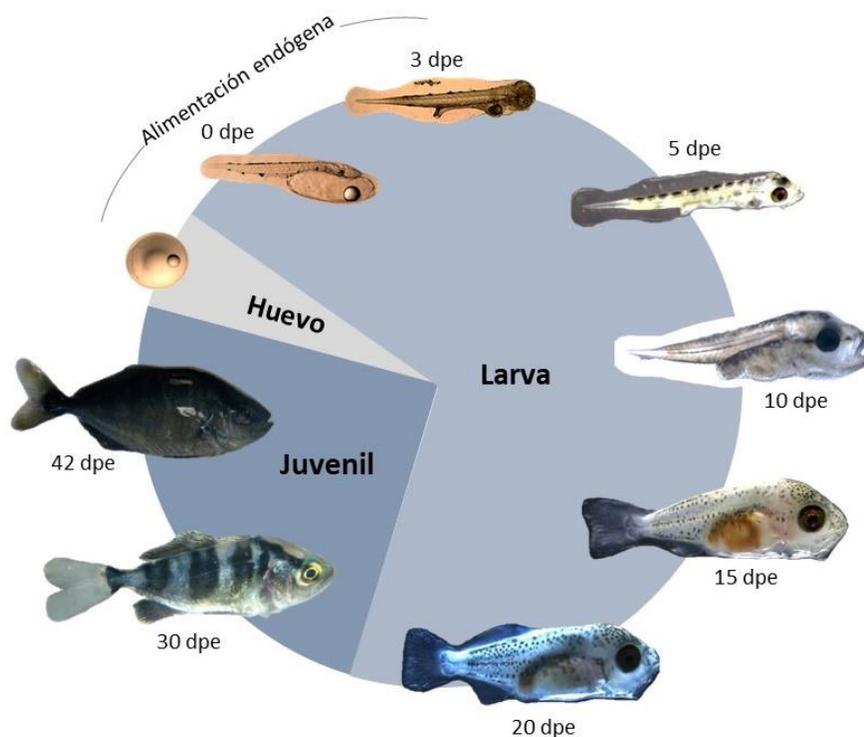
## 2.2. Desarrollo embrionario y larvario

### 2.2.1. Aspectos generales

Los huevos de *Seriola rivoliana* recién fecundados son esféricos, transparentes y flotantes, con un diámetro superior a 1 mm y una sola gota de aceite de 0.2 mm. En general, las células se dividen rápidamente durante la fase de escisión del óvulo. A partir de la fase de gástrula, las células comienzan a diferenciarse y a formar placodas (tejidos con placas) que formarán los órganos. En la fase de pre eclosión, se promueve la función muscular y la síntesis de enzimas. Tras la eclosión, las larvas cuentan con un saco vitelino relativamente grande con el que desarrollan rápidamente el esqueleto de la cabeza y el tracto gastrointestinal (Tanaka *et al.*, 2022).

A la eclosión, el tubo digestivo es rectilíneo formando un ángulo recto a la altura del ano. A las 24 horas post eclosión (hpe) se observan los neuromastos libres, los otolitos y el esbozo de la línea lateral, y en el sistema visual, cabe destacar la aparición de una ligera pigmentación en los ojos. A las 48 hpe, la pigmentación de la larva es más intensa y los ojos aparecen completamente pigmentados, las aletas desarrolladas, con la válvula ileorectal y vejiga natatorial definida, apreciándose movimientos digestivos. En este estadio el 20% de las larvas presentan la boca abierta. La alimentación exógena comienza a las 72 hpe con la apertura de boca y del ano, y con la formación de las aletas pectorales (Grossi-Dopico, 2010). Al día 10 posterior a la eclosión (pe), se aprecia una larva con el estómago lleno de alimento. Es al día 15 pe cuando se observa el inicio de la flexión y al día 20 pe cuando se da por finalizada. Con 30 días pe, el juvenil ya tiene la pigmentación característica de los juveniles de ésta especie mostrando las bandas de colores transversales. Con 42 días pe se observa un juvenil de 8 cm de longitud completamente desarrollado (Fig. 4) (Grossi-Dopico, 2010).

Durante la ontogenia de *S. rivoliana* se observan dos picos de mortalidad, el primero ocurre antes de abrir la boca y el segundo a edades próximas a los 20 días, similar a lo mostrado en otras especies de *Seriola*, lo que podría estar relacionado con el cambio de alimentación (Blacio, 2004).



**Figura 4.** Ontogenia de *Seriola rivoliana* (23°C). Dpe: días post-eclosión (Modificado de: Grossi-Dopico, 2010).

### 2.2.2. Crecimiento alométrico

La supervivencia de las larvas está asociada a la utilización óptima de sus reservas endógenas del saco vitelino y a la gota de aceite (Heming y Buddington, 1988), que provoca una fase de transición o "período crítico" (Smith, 1981). Una vez que se han agotado las reservas endógenas, las larvas de peces marinos deben de presentar un estado anatómico y fisiológico que les permita sobrevivir y crecer bajo una alimentación exógena. Por lo tanto, las capacidades de las larvas para sobrevivir dependerá de las características morfológicas particulares y del desarrollo funcional asociado de rasgos específicos (metabólico, sensorial, digestivo) (Fuiman, 1983; Osse, 1990; Osse y van den Bogart, 1995). Por ejemplo, el desarrollo alométrico de la región caudal, definirá la estabilidad y la propulsión de desplazamiento, mientras que las capacidades depredadoras selectivas dependerá del tamaño de la boca y la estructura de la cabeza, asociado con los órganos de visión, olfato y audición (Osse *et al.*, 1997; Fuiman, 1983). Adicionalmente, el tamaño de las larvas se ha establecido como el factor más importante para sobrevivir y alcanzar la fase juvenil,

ya que permitirá superar los factores estresantes de competencia con otros peces, en donde la densidad y disponibilidad de alimento serán prioritarios, así como escapar de los depredadores, romper la viscosidad del agua y la selección natural (Osse y Van den Boogaart, 1999; Johnson *et al.*, 2010; 2011; 2014; China y Holzman 2014; Garrido *et al.*, 2015).

Las larvas de peces marinos carecen de una boca funcional, ojos pigmentados, sistema digestivo, escamación y aletas diferenciadas, por lo que cambian progresivamente su morfología y proporciones corporales conforme aumentan su tamaño como resultado del crecimiento diferencial relativo (Fuiman, 1983; alometría ontogénica: Gould, 1966). Después de un período corto larvario, los peces adquieren su contraparte de forma adulta (Fuiman, 1983). Existe una gran variación entre los patrones de crecimiento alométrico entre las larvas de peces marinos y por lo tanto, el crecimiento debe de analizarse particularmente para cada especie (Klingenberg y Froese, 1991).

El crecimiento alométrico lo define la función potencial ( $Y = aLT^b$ ), en donde LT es la longitud total como variable independiente y cada parte del cuerpo que es medida y analizada corresponde a una parte del cuerpo "Y", la cual es la variable dependiente. En esta función, se obtiene la pendiente "b" que corresponde al coeficiente de crecimiento, mientras que "a" es el intercepto. De cada parte del cuerpo se obtiene también el coeficiente de correlación ( $R^2$ ). Por lo tanto, el coeficiente de crecimiento alométrico de una parte del cuerpo (por el ejemplo la longitud de la cabeza), se refiere a qué tanto se incrementó esa estructura en un tiempo definido con respecto al incremento de la longitud total. Cuando el crecimiento es isométrico, la pendiente  $b = 1$ , cuando es alométrico positivo:  $b > 1$  y cuando es alométrico negativo:  $b < 1$  (Fuiman, 1983).

El desarrollo morfológico y el crecimiento alométrico se han estudiado en varias especies de peces marinos (Osse *et al.*, 1997; Gisbert, 1999; Gisbert *et al.*, 2002; Choo y Liew, 2006; Peña y Dumas, 2009; Khemis *et al.*, 2013). Dentro de las especies de jurel, solamente se ha estudiado el crecimiento alométrico en *Seriola lalandi*, en donde la larva recién eclosionada muestra un crecimiento alométrico positivo y muy elevado en la cabeza, mientras que el tronco muestra un crecimiento alométrico negativo y el crecimiento de la cola es isométrico (Martínez-Montaña *et al.*, 2016). Estas investigaciones se han realizado bajo variables ambientales óptimas y constantes

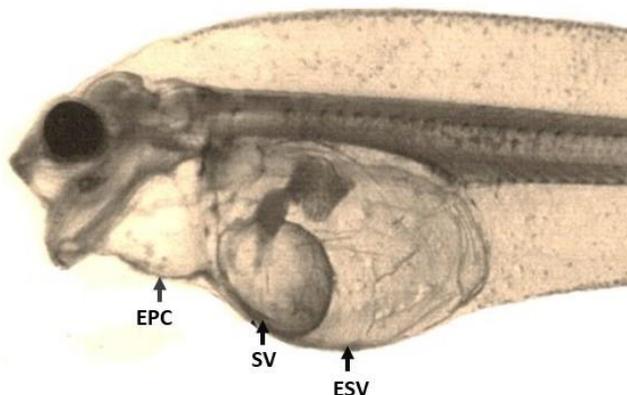
para el desarrollo de larvas y juveniles de acuerdo con los requisitos zootécnicos de cada especie para mejorar los protocolos de cría de larvas y juveniles en diferentes etapas de desarrollo. Las fases de desarrollo comprenden la utilización del saco vitelino que dura pocos días, la fase de pre-flexión, aproximadamente 15 días, la flexión con una duración de cinco días y finalmente la post-flexión en donde el pez adquiere su forma final (Gisbert *et al.*, 2004). El crecimiento alométrico es particular en cada especie (Klingenberg y Froese, 1991). Sin embargo, no se conoce hasta qué punto los factores ambientales como la temperatura podría modificar el crecimiento alométrico y específicamente en la etapa lecitotrófica. En un estudio en el desarrollo larvario del pez dentón *Dentex dentex* se observó una gran plasticidad de desarrollo alométrico en los puntos de inflexión en dos condiciones de crianza diferentes, posiblemente inducidas por la densidad o diferentes condiciones de alimentación (Koumoundouros *et al.*, 1999). Sin embargo, no existen más estudios específicos.

### **2.2.3. Deformaciones anatómicas**

Como ya se mencionó, un cuello de botella en la ontogenia temprana es el momento de pasar a la alimentación exógena, cuando las reservas de energía y estructura del vitelo llegan a su fin. A esto le precede un periodo de alimentación mixta, en el que la disminución de la alimentación endógena se complementa en mayor o menor medida con material exógeno; en este momento es habitual una elevada mortalidad (Shulman y Love, 1999). Sin embargo, ciertas manifestaciones patológicas (deformidades anatómicas) pueden reducir las oportunidades para que la larva sobreviva más allá de la primera alimentación (Ottesen y Bolla, 1998). En el cultivo de anguila japonesa *Anguilla japonica*, más del 50% de las larvas mostraron varios tipos de deformidades al finalizar la etapa de absorción del vitelo. Esto puede ser una causa posible de una baja supervivencia (Kurokawa *et al.*, 2008). Por otro lado, las larvas del pez trompetista rayado *Latris lineata* que fueron afectadas por el edema pericárdico generalmente murieron dentro de los primeros 2 o 3 días de alimentación (Cobcroft *et al.*, 2004).

En particular el edema pericárdico y edema en vitelo (Fig. 5) a menudo pueden ocurrir en los mismos individuos (Ottesen y Bolla, 1998). Esta deformidad se ha reportado en especies de agua dulce como el pez zebra *Danio rerio* (Villamizar *et al.*, 2012), Barbo *Barbus Barbus* (Lugowska y

Witeska, 2018), *Vimba vimba vimba* (Lugowska y Kondera, 2018) y en peces marinos como la anguila japonesa *Anguilla japonica* (Kurokawa *et al.*, 2008) y el Halibut *Hippoglossus hippoglossus* (Ottesen y Bolla, 1998; Skaalsvik *et al.*, 2015).



**Figura 5.** Edema en el pericardio (EPC) y en el seno del saco vitelino (ESV) en la larva de Halibut *Hippoglossus hippoglossus*. Remanente del vitelo (SV) (Tomado de: Ottesen y Bolla, 1998).

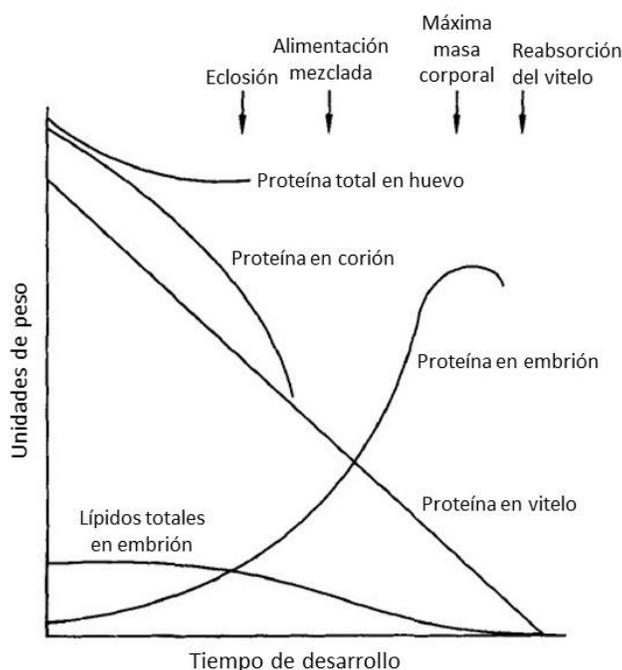
Pittman *et al.*, (1990) describió que los fluidos del edema ejercen una presión en los órganos internos, causando alta mortalidad en larvas de halibut. El edema pericárdico es una hinchazón alrededor del corazón el cual se expande hacia los tejidos blandos y puede causar que el arco hioides y la mandíbula inferior sean empujadas hacia abajo (Cobcroft *et al.*, 2004). Al respecto, Ottesen y Bolla (1998) mencionan que las temperaturas del agua inadecuadas inducen el edema pericárdico y las anomalías de la mandíbula inferior en muchas larvas de peces. Así, el desarrollo de la mandíbula parece ser una fase lábil en el desarrollo de la larva que está sujeto a factores ambientales y biológicos (Cobcroft *et al.*, 2004).

#### 2.2.4. Dinámica de reservas y transformaciones bioquímicas durante el desarrollo

La tasa de utilización de los diferentes sustratos energéticos (proteínas, lípidos y carbohidratos) durante el desarrollo embrionario y larvario de los peces ha sido ampliamente estudiada (Vetter, 1983; Finn *et al.*, 1995a; 1995b; 1996; Rønnestad *et al.*, 1998; Jaroszewska y Dabrowski, 2011). El principal constituyente del huevo es la proteína, siendo la materia prima dominante en el vitelo y la *fuentes principal para la formación de tejidos* (Fig. 6) (Blaxter y Hempel, 1963; Shulman y Love, 1999). Por otro lado, a los lípidos se les conoce por desempeñar un papel crítico en el *metabolismo*

*energético* de los peces tras la fecundación. Un mayor contenido de lípidos en los huevos se asocia a un aumento de los niveles de las clases de lípidos neutros, y a su almacenamiento en forma de glóbulos de aceite y niveles relativamente altos de lípidos polares (predominantemente fosfolípidos) se asocian generalmente a los huevos con menor contenido total de lípidos (Henderson y Tocher, 1987). Además, los fosfolípidos, conjuntamente con las proteínas y el colesterol, forman las estructuras estables de tejidos y órganos del embrión, mientras que los triacilglicéridos, esteres de colesterol y el glucógeno son encontrados mayormente en el saco vitelino, y generan energía para el crecimiento y diferenciación. Los ester de cera son menos densos que los triacilglicéridos y por tanto son mejores para regular la flotabilidad, y a bajas temperaturas estos permiten un mayor almacenaje de reserva de energía en los huevos de algunas especies (Shulman y Love, 1999). El grado y el momento exacto de la utilización de los lípidos como fuente de energía, junto con las clases específicas de lípidos y los ácidos grasos consumidos, han mostrado variaciones inter-específicas (Henderson y Tocher, 1987).

Es generalmente aceptado el concepto de que el metabolismo de carbohidratos (glucólisis y glucogenólisis) es necesario para suplir de energía para las etapas tempranas de desarrollo embrionario (Terner, 1979; Vetter *et al.*, 1983; Mommsen y Hochachka, 1988; Shulman y Love, 1999). Para las especies marinas como la dorada *Sparus aurata* y el sargo picudo *Diplodus puntazo* (Sparidae), el metabolismo de carbohidratos es esencial para un desarrollo embriogénico normal hasta la etapa de la eclosión (Lahnsteiner, 2005).



**Figura 6.** Esquema generalizado de los cambios en proteína y lípidos durante el desarrollo de embriones y larvas (alimentación endógena) (Tomado de Shulman y Love, 1999).

### 2.2.5. Balance energético

El equilibrio entre la ingesta y el gasto de energía determina las reservas de energía. La ecuación clásica del balance de energía establece que la reserva de energía del cuerpo es igual a la ingesta de energía menos el gasto de energía, siempre y cuando se mantenga una masa corporal constante. Sin embargo, si las reservas y el peso cambian con el tiempo, entonces la ecuación se define como: la tasa de cambio de las reservas de energía es igual a la tasa de ingesta de energía menos la tasa de gasto de energía (Galgani y Ravussin, 2008).

El metabolismo energético en embriones y larvas tempranas de peces es casi completamente aeróbico (Wieser, 1995), en donde los carbohidratos y las grasas se oxidan completamente en el cuerpo, mientras que la proteína solo se oxida parcialmente, lo que da como resultado la excreción de urea y otros productos nitrogenados. La etapa temprana larval en los peces marinos se caracteriza por un rápido crecimiento. Sin embargo, se ha observado que las tasas de metabolismo y de crecimiento no están correlacionadas, y como hipótesis, se propone que existe una distribución diferente de energía entre el crecimiento y otros procesos que demandan

energía, por lo que la energía se cambia de funciones de mantenimiento a procesos de crecimiento, en donde la síntesis de proteínas juega un papel preponderante para el desarrollo de los componentes del cuerpo. Por otro lado, la respiración es un factor que utiliza energía, y las tasas de consumo de oxígeno aumentan en proporción a la tasa de crecimiento, dependiente de las reservas disponibles en el organismo (Pedersen, 1997).

Las transformaciones metabólicas durante la fase lecitotrófica del pez son energéticamente soportados por la hidrólisis de ATP, el cual es formado via oxidación acoplada de las reservas almacenadas en el vitelo y la gota de aceite (Finn *et al.*, 1996). Por lo tanto, el ATP debe ser estrechamente regulado y una concentración baja indica desbalance entre la producción de energía y la utilización. Mas allá del ATP, Atkinson, 1968 propuso que las células regulan su metabolismo energético basado en la proporción de tres nucleótidos adenílicos (ATP, ADP, AMP), expresados como la carga energética adenílica (CEA), que tiene valores entre 0.0 a 1.0, con valores normales entre 0.8 y 0.9 indicando suficiente energía celular disponible.

$$CEA = \frac{[ATP] + 0.5[ADP]}{[ATP] + [ADP] + [AMP]} \quad (1)$$

Los estudios realizados han evaluado los cambios de estos compuestos y la CEA en la embriogénesis de peces, descartando ampliamente el análisis en la eclosión y en los estadios larvarios. En el desarrollo embrionario se observan resultados distintos dependiendo de la especie, con un aumento de la CEA o del ATP (el principal determinante de la CEA) en medaka *Oryzias latipes* (Pincetich *et al.*, 2005) y el bacalao del Atlántico *Gadus morhua* (Jung *et al.*, 2012), valores constantes en la dorada *Sparus aurata* (Lahnsteiner y Patarnello, 2003) y una disminución en el corvinón rojo *Sciaenops ocellata* (Vetter *et al.*, 1983). En la carpa *Ciprinus carpio*, se observó una disminución del ATP y de la CEA durante la embriogénesis (Boulekbache *et al.*, 1989), lo que sugiere que la movilización concomitante de las reservas para la fosforilación oxidativa del ATP no compensó totalmente la hidrólisis del ATP. En concordancia, Lahnsteiner y Patarnello (2003) encontraron en la dorada *Sparus aurata* una mayor CEA en huevos viables (flotantes) comparados con los no viables (que se hundieron), probablemente debido a niveles inadecuados de fuentes de

energía (reservas) o a una baja tasa de vías catabólicas para la síntesis de ATP. Otros estudios también indican el papel crucial del ATP en procesos particulares de alta demanda energética como la fertilización (Wendling *et al.*, 2004). De esta manera, los estudios sobre fisiología energética bajo diferentes temperaturas son importantes para las especies que no tienen métodos de crianza definidos.

## **2.3. Efecto de la temperatura**

### **2.3.1. Temperatura en ectotermos y concepto de $Q_{10}$**

Uno de los principales retos en ecología es comprender cómo influyen los factores ambientales en los organismos. Hay una gran variedad de factores que afectan a los fenotipos, pero una variable central que afecta a los animales ectotérmicos es la temperatura ambiental. La temperatura rige sus reacciones bioquímicas y fisiológicas, con los consiguientes efectos sobre la morfología, la ecología y el comportamiento (Jonsson y Hansen, 2022).

Al estudiar la influencia de la temperatura en los procesos biológicos, a menudo se ha utilizado el  $Q_{10}$  como medida para determinar sus efectos. También se conoce como el "coeficiente de temperatura" o la relación de las constantes de velocidad a temperaturas que tienen una diferencia de 10°C. Se ha sostenido comúnmente que, al igual que en una reacción química en la que  $Q_{10}$  se encuentra generalmente entre 2 y 3 (regla de Van Hoff), en la mayoría de los procesos biológicos también el  $Q_{10}$  se mantiene cerca de estos valores (Hasan y Qasim, 1961).

### **2.3.2. Temperatura y desarrollo**

En los peces ovíparos ectotermos los huevos se desarrollan fuera del cuerpo de la madre. Por lo tanto, las influencias ambientales sobre los embriones son muchas y muy fuertes (Jonsson y Hansen, 2022). Los efectos ambientales no solo pueden influir en el desarrollo del embrión y en el éxito de la eclosión, sino que también influyen en la proporción de sexos, en la morfología, la fisiología y el comportamiento para preparar a las crías para las condiciones que pueden

encontrar en una etapa posterior de la vida y amortiguar los efectos del cambio ambiental (Jonsson y Hansen, 2022).

La capacidad de un organismo de cambiar su fenotipo en respuesta a los estímulos del entorno se le conoce como *plasticidad de desarrollo* y da como resultado cambios permanentes en el fenotipo influenciados por las condiciones ambientales presentes durante el desarrollo (Kinne, 1962; Jonsson y Hansen, 2022). Por otro lado, la “ventana sensible” o “periodo plástico” se refiere a la etapa del desarrollo en el que se dan éstas reacciones fenotípicas en mayor medida que en otros períodos o etapas (Fawcett y Frankenhuis, 2015).

Existe una extensa literatura del efecto de la temperatura en el desarrollo ontogénico de larvas de peces, en donde con la información analizada se sugiere una temperatura constante óptima para el cultivo dependiendo de la especie en estudio. Se conoce que los tiempos de incubación son inversamente proporcionales a la temperatura (Pauly y Pullin, 1988; Blaxter, 1969; Kamler, 1992). Tanto las temperaturas altas o bajas que están en el límite de tolerancia de la especie producen una mortalidad significativa en los embriones y en las larvas y por ende reducen la tasa de eclosión (Kinne y Kinne, 1962; Pepin, 1991). En muchas especies, las larvas eclosionadas a temperaturas más cálidas y a temperaturas más frías presentan un menor y un mayor tamaño, respectivamente, aunque en otras especies este efecto no es evidente (Blaxter, 1969). No hay un efecto preponderante por temperatura en cuanto al volumen del saco vitelino, ya que puede ser uniforme (Blaxter y Hempel, 1963) o variable (Bermudes y Ritar, 1999), o bien inversamente proporcional a la temperatura (Kamler, 1992; Réalis-Doyelle *et al.*, 2016). La observación de larvas más pequeñas en temperaturas más cálidas se ha explicado como una baja eficiencia de conversión en la utilización de vitelo en la generación de tejido, mientras que una alta eficiencia ocurre a temperaturas más frías generando larvas más grandes (Blaxter, 1992; Kamler, 1992). Sin embargo, en algunas especies se ha observado una larva de menor tamaño con un saco vitelino más grande en la temperatura más alta, mientras que una larva de mayor tamaño con un saco vitelino más reducido en la temperatura más fría (Laurel *et al.*, 2008). De hecho, esta morfología de larvas se observó también en *Seriola lalandi* (Moran *et al.* 2007b). Estas variaciones en el tamaño de larva con respecto al volumen del saco vitelino también se han explicado por el

proceso de eclosión, en donde mientras la temperatura se incrementa se acelera el proceso, mientras que en temperaturas bajas se desacelera y al mismo tiempo la larva continúa aun creciendo en el huevo, dejando una larva pequeña con un saco de vitelo más grande y una larva más grande con un saco de vitelo reducido, respectivamente (Moran *et al.*, 2007b). Otro efecto es que la eclosión es asincrónica (Geffen, 2002) y el tiempo que transcurre entre las primeras eclosiones y las últimas, producen los mismos fenotipos mencionados anteriormente (Laurel *et al.*, 2008).

En los primeros estudios en larvas de peces, se encontró que los rasgos más evidentemente afectados por la temperatura son los "merísticos" (variación fenotípica merística). Los rasgos merísticos son repeticiones contables de algún rasgo morfológico, como las rayas de pigmentación, las filas de escamas, los rayos de las aletas o las vertebras (Fowler, 1970). En una fase bastante temprana de la ontogenia, éstos caracteres merísticos, a diferencia de los morfométricos, se fijan y permanecen inalterados independientemente de los cambios posteriores en el entorno, el tamaño o la forma del cuerpo (Lindsey, 1988). El momento en que cada rasgo es sensible a la temperatura suele ser diferente. Por ejemplo, el número de vertebras está determinado por el momento en que se diferencian los últimos somitos (antes de la eclosión), mientras que los radios de las aletas y las hileras de escamas son sensibles a la temperatura hasta entrada la vida larvaria (Taning, 1952; Fowler, 1970; Lindsey, 1988).

La mayoría de los estudios analizan la influencia de las temperaturas constantes, cambios y choques térmicos en el desarrollo de los embriones de peces marinos, concretamente en el campo zootécnico de la piscicultura (tiempo de incubación, tasa de eclosión, supervivencia y crecimiento), así como en los rasgos morfológicos (longitud de las larvas, volumen del saco vitelino y de la gota de aceite), con respuestas ampliamente variables de aquellos parámetros (Scoppettone *et al.*, 1993; Moran *et al.*, 2007b; Kupren *et al.*, 2011; Puvanendram *et al.*, 2015; Imsland *et al.*, 2019; Viader-Guerrero *et al.*, 2021). Aunque este es un enfoque práctico para las condiciones de crianza artificial para establecer un rango de temperatura óptimo y predecir la influencia perjudicial de los escenarios de calentamiento global, no refleja necesariamente las fluctuaciones térmicas naturales. Los organismos acuáticos suelen experimentar la variabilidad

de la temperatura diurna en forma de patrones de calentamiento y enfriamiento (día-noche) y las migraciones diurnas entre masas de agua con diferentes temperaturas (Coulter *et al.*, 2015). Por lo tanto, la evaluación de los regímenes de temperatura fluctuante durante la ontogenia temprana de varios peces, ha ganado atención en los últimos años para mejorar aún más el rendimiento larval.

Al respecto, Coulter *et al.* (2015) mencionan que los cambios rápidos de temperatura pueden tener importantes consecuencias biológicas para los organismos acuáticos; sin embargo, estos efectos dependen en gran medida de la magnitud de la fluctuación de la temperatura. En su estudio, ellos sometieron a embriones del pez *Pimephales promelas* a fluctuaciones de temperatura hasta por 45 días, y encontraron que el aumento de la magnitud del cambio de temperatura de  $\Delta 4$  a  $\Delta 8$  en un ciclo de 12 horas disminuyó significativamente la masa del juvenil.

Pero además, la dirección de la fluctuación parece ser importante. Blanco-Vives *et al.* (2010) sometieron a los embriones y larvas del lenguado *Senegal sole* a fluctuaciones diarias entre  $19.2 \rightleftharpoons 22.1^{\circ}\text{C}$  ( $\Delta 3^{\circ}\text{C}$ ) del día 1 al 30 post-eclosión. Observaron que el efecto de la fluctuación inicialmente ascendente mejoró el crecimiento a partir del día 25 post-eclosión y bajó la incidencia de deformidades con respecto a las larvas cultivadas en la fluctuación inicialmente descendente y el control ( $20.7^{\circ}\text{C}$ ). En otro estudio, se sometieron a embriones y larvas del pez zebra *Danio rerio* a temperaturas constantes y a fluctuaciones de temperatura entre  $24 \rightleftharpoons 28^{\circ}\text{C}$  ( $\Delta 4^{\circ}\text{C}$ ) desde el desarrollo embrionario hasta la diferenciación sexual. Ellos encontraron que la proporción de sexos estuvo fuertemente influenciada por la temperatura: mientras la proporción de hembras fue más alta en los termociclos (aprox. 81%), las temperaturas constantes dejaron mayor proporción de machos (aprox. 80%). Además, el termociclo que simulaba los cambios diurnos naturales redujo la proporción de malformaciones en los juveniles (Villamizar *et al.*, 2012).

Por último, el *coste energético* de la flexibilidad morfológica y/o del crecimiento alométrico (cambio de forma con respecto al tamaño) frente a la temperatura en el periodo de alimentación endógena de peces ha sido pobremente evaluado. En huevos del pez piedra japonés *Inimicus*

*Japonicos* incubados a temperaturas constantes de 18, 21, 24, 27, 30°C, una mayor eclosión se observó a 24°C, lo que se relacionó a un mayor contenido de lípidos totales y carbohidratos, mientras que a la apertura de boca una mayor longitud y supervivencia se dio a 21°C, lo que coincidió con un mayor contenido de carbohidratos (Wen *et al.*, 2013). En otro estudio, Mueller *et al.* (2017) sometieron a embriones del pez blanco *Coregonus clupeaformis* a tres temperaturas de incubación (1.8, 4.9 y 8°C), y encontraron que los embriones pueden estar muy adaptados a las bajas temperaturas debido a que no se encontraron efectos en el porcentaje de lípidos ni en el porcentaje de las diferentes clases de ácidos grasos (MUFA, SAFA y PUFA) en ninguna fase de su desarrollo.

### 3. JUSTIFICACIÓN

*Seriola rivoliana* tiene un gran potencial para su cultivo en aguas marinas cálidas. El desarrollo de esta industria a través de laboratorios y piscifactorías, está tomando mucho interés en la región noroeste de México y en particular en La Paz, Baja California Sur. Sin embargo, la producción de juveniles es un cuello de botella en la crianza intensiva. Los problemas concernientes no es solo la supervivencia, sino además el obtener una alta proporción de larvas vigorosas, bien desarrolladas y aptas para alimentarse. En este sentido, uno de los factores ambientales cruciales para la optimización de las condiciones de cultivo en acuicultura es la temperatura, especialmente durante las etapas críticas en la ontogenia temprana de los peces, en donde el crecimiento y la supervivencia dependerán de la disponibilidad de la energía que contenga los organismos. Por lo anterior, es importante evaluar la influencia de la temperatura no sólo sobre el desempeño en cultivo sino en el balance energético a nivel celular (CEA) en relación a la movilización de reservas del vitelo y de la gota de aceite que permiten un balance óptimo. Por otro lado, la influencia de temperaturas variables más que constantes resulta relevante dado que es lo que ocurre en condiciones naturales y permite analizar si existen ventanas críticas en el desarrollo en las cuales la termosensibilidad de algunos procesos puedan inclusive traducirse en ventajas desde el punto de vista zootécnico.

#### **4. HIPÓTESIS**

Se plantea que si las temperaturas constantes y oscilantes no tienen un efecto en las fases de desarrollo embriológico, morfología de las larvas y metabolismo energético, entonces el régimen de temperatura no tendrá un efecto en el tiempo de eclosión, no se observarán cambios significativos en la morfología de las larvas en la eclosión, ni durante el desarrollo temprano de las mismas y no existirán cambios significativos en la utilización de componentes bioquímicos y en la generación de energía.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la temperatura durante la etapa lecitotrófica de *Seriola rivoliana* mediante la velocidad de desarrollo, el crecimiento, la supervivencia, las deformidades externas y el metabolismo energético para determinar el régimen óptimo para la crianza de esta especie.

### 5.2. Objetivos particulares

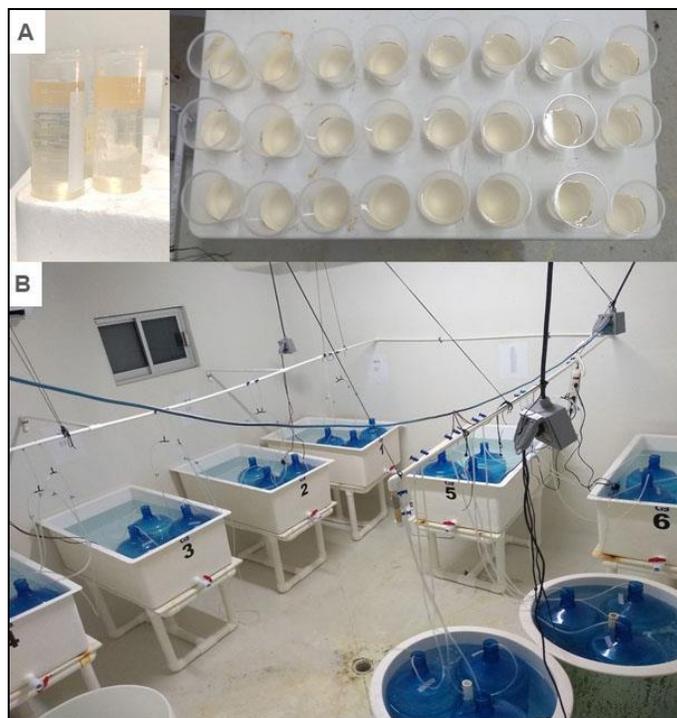
1. Evaluar el rango de tolerancia de temperatura de los embriones de *S. rivoliana* en términos de supervivencia y eclosión.
2. Establecer el rango óptimo de temperatura de incubación y desarrollo larvario, evaluando el crecimiento alométrico y el estatus energético.
3. Evaluar el efecto de la temperatura oscilante para determinar los periodos críticos de desarrollo durante la embriogénesis del jurel, en términos de crecimiento alométrico y estatus energético.
4. Identificar la carga energética adenílica durante la embriogénesis en el desarrollo ontogénico del jurel y la influencia que ejerce la temperatura constante y oscilante sobre los indicadores de utilización de energía, reservas endógenas y condiciones bioquímicas de nutrientes (proteínas, lípidos, triacilglicéridos y carbohidratos).

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. Manejo de reproductores e incubación de los huevos

Los reproductores silvestres de jurel consistieron en 20 hembras y 20 machos con un peso de alrededor de 20 kg cada uno y mantenidos en dos tanques de 40 toneladas en un criadero piloto experimental en las instalaciones del CIBNOR Unidad La Paz, México (24°08'32" N; 110°18'39" W). Los reproductores han sido reproductivamente activos los últimos cuatro años y mantenidos a ~26°C, 36-38 psu de salinidad, bajo condiciones naturales de fotoperiodo por la empresa Kampachi Farms México.

Los desoves espontáneos ocurrieron entre las 8 y las 10 de la mañana, con una frecuencia de dos a tres veces por semana en cada tanque. Se obtuvieron huevos flotantes alrededor del mediodía en la etapa temprana de blástula, y su volumen se midió con una probeta graduada de 10 o 100 ml con el objeto de ajustar la densidad de siembra de huevos (Fig. 7A). El conteo de huevos se calculó a partir del volumen de estos: un ml de huevos flotantes contenía  $755 \pm 8$  huevos ( $n = 30$  desoves analizados). Debido al monitoreo constante del desarrollo embrionario, los huevos se incubaron con luz las 24 h (~800 lux). Los niveles de oxígeno en el cultivo se mantuvieron entre 6.0 y 6.8 mg/L (equivalente a una saturación > 80%) y un pH 7.8 – 8.0. Cada unidad experimental tenía piedras de aire difusoras para mantener los huevos y las larvas suavemente en suspensión y distribuidos homogéneamente y con un recambio de agua diario del 30-50%. La temperatura experimental deseada del agua según el experimento se mantuvo ( $\pm 0.2^\circ\text{C}$ ) con uno a tres calentadores de 250 W con termostato y el uso de aire acondicionado en el laboratorio. Las réplicas experimentales (garrafones u otros contenedores según el experimento) se mantuvieron en baños maría en tanques de fibra de vidrio a diferentes tratamientos térmicos (Fig 7B).



**Figura 7.** Medición del volumen de huevos (A) y unidades experimentales (B) en el laboratorio de bioensayos de peces del CIBNOR.

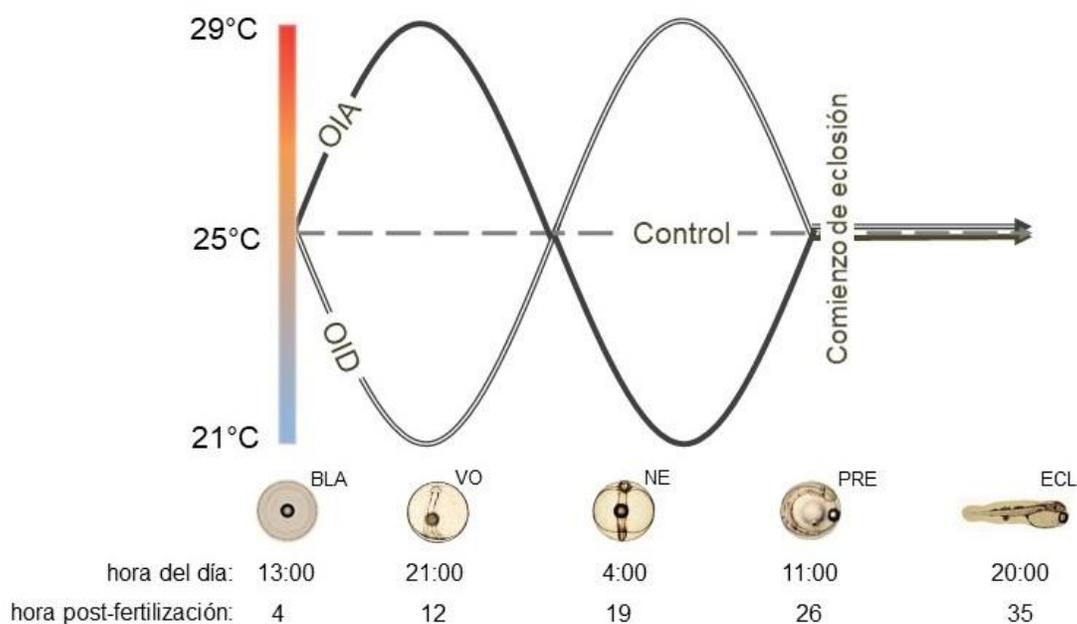
## 6.2. Diseño experimental

Inicialmente, en un ensayo preliminar realizado en junio de 2018 se utilizó un desove para investigar los límites del rango de tolerancia de temperatura de la especie al momento de la eclosión. Se utilizaron nueve temperaturas de incubación (16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 y 32°C). En cada temperatura, los huevos se incubaron a una densidad de 200 huevos/L en contenedores de 4 L (800 huevos por unidad) por triplicado dentro de un baño de 40 L.

En un primer bioensayo, los huevos de un mismo desove (03-2019) se aclimataron a una tasa de 2.0°C/h a seis temperaturas constantes (20, 22, 24, 26, 28 y 30°C) hasta la eclosión, utilizando tres contenedores de 18 L dentro de un contenedor de 150 L por temperatura, a una densidad de 700 huevos/L.

En un segundo bioensayo, los huevos de un mismo desove (09-2018) se sometieron a dos tratamientos de temperatura oscilante y a un control a temperatura constante, con tres réplicas

(contenedores de 150 L) por tratamiento, a una densidad de 200 huevos/L. Las oscilaciones de temperatura se realizaron disminuyendo y aumentando gradualmente la temperatura de incubación de los huevos de 29 a 21°C y de 21 a 29°C. Desde la etapa temprana de blástula (25-26°C), el primer tratamiento comenzó disminuyendo la temperatura (Oscilación inicial descendente “OID”) a 21°C, mientras que el segundo incrementándola (Oscilación inicial ascendente “OIA”) a 29°C, lo que tomó un tiempo de ~ 8 h a una tasa de 0.5°C/h. Posteriormente, cada tratamiento aumentó y disminuyó de 21 a 29°C y de 29 a 21°C, para la OID y OIA respectivamente, en un tiempo de ~ 8 h a una tasa de 1°C/h. Finalmente, se volvió a disminuir y aumentar la temperatura de 29 a 25°C y de 21 a 25°C, para la OID y OIA respectivamente, en un tiempo de ~ 8 h adicionales a una tasa de 0.5°C/h, con lo cual ambos tratamientos se reencontraron a una temperatura constante de 25°C en la etapa de pre-eclosión. El control se mantuvo a una temperatura constante de 25°C. De este modo, la gastrulación (blástula, vesículas ópticas y néurula) y la organogénesis (pre-eclosión y eclosión) tuvieron diferentes regímenes de temperatura durante el desarrollo (Fig. 8).



**Figura 8.** Tratamientos de oscilación de temperatura durante la embriogénesis. Se indican los tiempos aproximados de muestreos de los estadios embrionarios los cuales generalmente no variaron entre tratamientos y desoves. Oscilación inicial ascendente (OIA), oscilación inicial descendente (OID) y control a temperatura constante de 25°C. BLA: blástula, VO: vesículas ópticas, NE: néurula, PRE: pre-eclosión, ECL: eclosión.

Un tercer bioensayo (06-2019) se realizó con el objeto de evaluar las temperaturas constantes vs las temperaturas oscilantes en el mismo desove. Los huevos se incubaron a las seis temperaturas constantes (20 a 30°C; 650 huevos/L) y oscilantes (750 huevos/L) en tinas de 150 L de capacidad sin réplicas para cada tratamiento debido a la insuficiencia de huevos para tantos tratamientos simultáneos para un solo desove. En este bioensayo, se analizó la morfología de las larvas al eclosionar, y adicionalmente se muestrearon larvas a las 24, 48 y 72 h (día 3) para determinar una serie de variables morfométricas descritas en la sección 6.7.

Un cuarto bioensayo (02-2020) se realizó con el objeto de evaluar las temperaturas constantes vs las temperaturas oscilantes en el mismo desove a nivel de la eclosión y de la apertura de la boca. En este caso si fue posible tener tres réplicas por tratamiento utilizando garrafones de 18 L dentro de un baño de 150 L a una densidad de 700 huevos/L.

La tabla 1 muestra puntos claves para describir los bioensayos y el alcance de los análisis en cada uno de ellos.

**Tabla 1.** Resumen de los bioensayos y análisis realizados.

Bioensayo	Régimen de temperatura	Réplicas	Estadio inicial y final evaluado	Análisis						
				S	M	CA	U	CB	N	E
Preliminar	Constante (16 a 32°C)	3	Eclosión	✓	x	x	x	x	x	x
1	Constante (20 a 30°C)	3	VO→Eclosión	✓	✓	x	x	✓	✓	x
2	Oscilante (control, OID y OIA)	3	VO→Eclosión	✓	✓	x	x	✓	✓	x
3	Constante (20 a 30°C) y oscilante (Control, OID y OIA)	1	VO→Larva al día 3 post-eclosión	x	✓	✓	✓	*	x	x
4	Constante (20 a 30°C) y oscilante (OID y OIA)	3	Eclosión→Apertura boca	✓	✓	x	x	✓	x	✓

S: supervivencia al estadio final; M: morfometría (en embrión se midió la gota de aceite); CA: crecimiento alométrico; U: utilización de saco vitelino y gota de aceite; E: edema pericárdico/vitelino a la apertura de boca; CB: composición bioquímica; N: nucleótidos de adenina; ✓: Si se determinó; x: No se determinó; \* Se determinó en una muestra.

### 6.3. Colecta de muestra y almacenado

Los embriones y larvas flotantes se escurrieron en una malla de 100 µm, el exceso de agua se secó con papel absorbente, se pesó la muestra en una balanza analítica con una precisión de 0.1 mg (Ohaus, A&D HR60, USA), se sumergió inmediatamente en nitrógeno líquido y finalmente se almacenó a -80°C hasta su análisis. Para determinar el contenido bioquímico y de nucleótidos

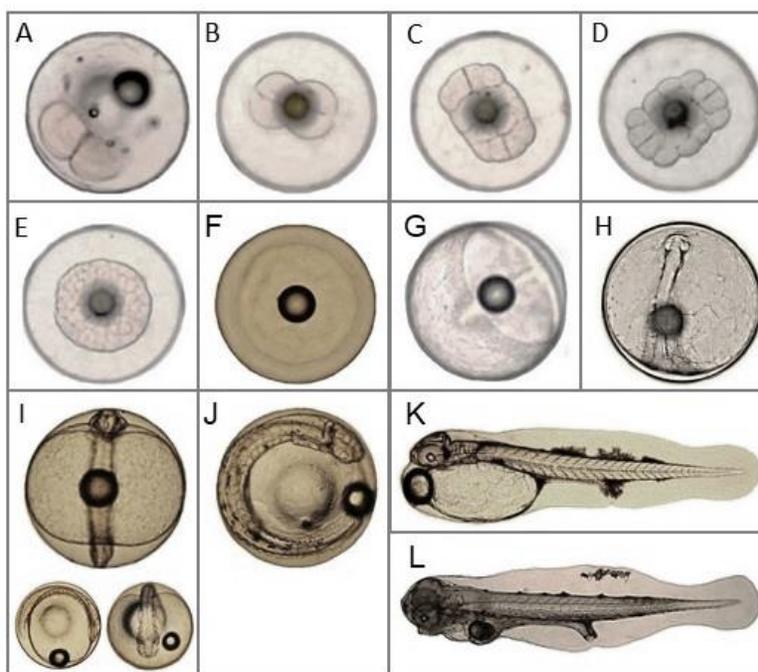
adenílicos por individuo, se contaron los huevos, embriones o larvas para cada estadio (sección 6.11 y 6.12) en una pequeña submuestra paralela (~30 mg) y luego, se extrapoló al número de individuos dentro de la muestra analizada a partir del peso de cada muestra. Con lo anterior, fue posible expresar los datos en  $\mu\text{g}$  (composición bioquímica) o  $\text{nmol}$  (nucleótidos) por individuo, que representa una forma más precisa de describir los cambios cuantitativos a través del desarrollo, dado que el peso del embrión/larva varía por sí mismo y generalmente disminuye según el desarrollo (Finn *et al.*, 1995a, Finn *et al.*, 1996; Rønnestad *et al.*, 1998; Podrabsky y Hand, 1999; Hilton *et al.*, 2008).

#### **6.4. Fases de desarrollo embrionario**

Se obtuvieron muestras de huevos, embriones y larvas (0.5 g por réplica que correspondieron a 700 huevos/embriones o 1400 larvas) en diferentes estadios de desarrollo que se identificaron con un estereomicroscopio 4x (Leica, amscope, USA) (ver Moran *et al.*, 2007a para estadios embrionarios). Se tomaron muestras en cinco estadios del desarrollo lecitotrófico: 1) huevos en el estadio de blástula (BLA) 4 h después de la fertilización en donde se obtuvo solo un dato inicial de referencia de esta fase, 2) embriones en donde se observaron las vesículas ópticas (VO) en el estadio de néurula temprana, 3) embriones en el estadio de néurula avanzada (NE), caracterizado por la presencia de miómeros corporales y un saco vitelino en forma de manzana, 4) embriones en el estadio de pre eclosión (PRE), cuando el embrión mostraba la cabeza y la aleta caudal completamente desarrollados, y 5) larvas recién eclosionadas (ECL), cuando se encontraba el ~80% de las larvas libres eclosionadas. En el bioensayo 2, se omitió el muestreo de la fase de pre-eclosión debido a la insuficiencia de larvas, dando prioridad a la fase de eclosión. Finalmente, se consideró también el estadio de larvas a la apertura de la boca (BOCA) el cual fue llevado a cabo solamente en el bioensayo 4 (Fig. 9).

### 6.5. Velocidad de desarrollo

En las temperaturas constantes viables de 20 a 30 °C y en los tratamientos oscilantes se monitoreó el tiempo de desarrollo del embrión. El coeficiente de temperatura ( $Q_{10}$ ) que representa la velocidad de desarrollo embrionario se calculó como  $Q_{10} = (RT2 / RT1)^{10 / (T2-T1)}$ , en donde T2 fue la temperatura viable más baja (20°C) y T1 la más alta (30°C). RT1 fue el tiempo (horas) en donde se alcanzó el estadio embrionario en T1 y RT2 en T2 (Reyes *et al.*, 2008).



**Figura 9.** Fases embrionarias de *Seriola rivoliana*. Primera división embrionaria (A); estadio de 4 células (B); 8 células (C); 32 células (D); mórula (E); blástula (F); gástrula (G); vesículas ópticas (H); néurula avanzada (I); pre-eclosión (J), eclosión (K) y apertura de boca (L) (ver Moran *et al.*, 2007a para estadios embrionarios)

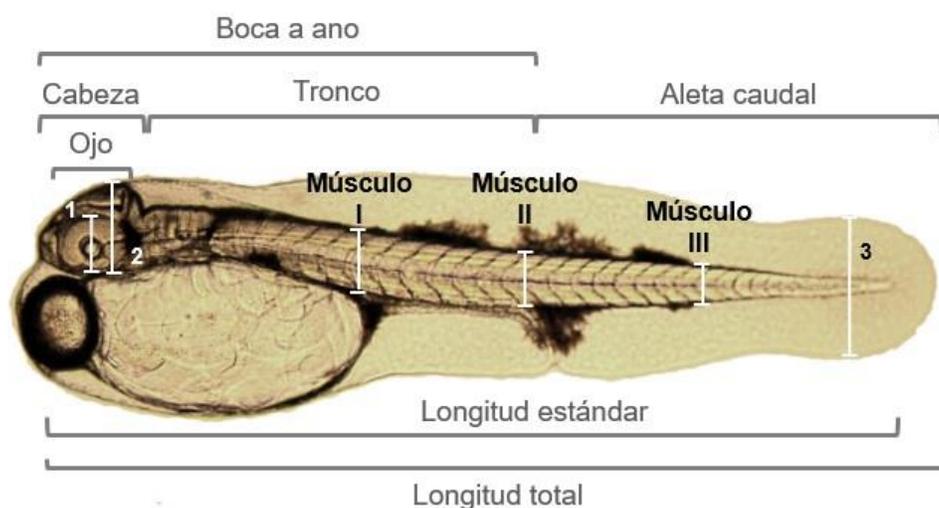
### 6.6. Tasas de eclosión y supervivencia a la apertura de boca

Los datos de las tasas de eclosión se calcularon con la fórmula:  $TE = 100 - [(V2/V1) \times 100]$ , en donde V2 es el volumen o el número de huevos muertos blanquecinos recolectados del fondo de cada unidad experimental después de la eclosión y V1 es el volumen o el número de huevos de siembra. La supervivencia a la apertura de boca se calculó con la fórmula  $AB = [(V2/V1) \times 100]$ ,

donde V2 es el número de larvas vivas colectadas de cada unidad experimental y V1 es el número de huevos de siembra.

### 6.7. Crecimiento corporal larval

Las muestras de huevos y larvas (20 individuos por réplica) se colocaron individualmente con una pequeña gota de agua en un portaobjetos (sin cubreobjetos) e inmediatamente se fotografiaron con una cámara Olympus conectada a un microscopio óptico compuesto CX-31 (Olympus Tokio, Japón). Se midieron siete caracteres morfométricos en paralelo al eje longitudinal y seis perpendiculares a dicho eje (Fig. 10). Adicionalmente, se midió la longitud del saco vitelino (LSV) y la altura del mismo (ASV) para calcular el volumen del saco vitelino (VSV) ( $\text{mm}^3$ ) de acuerdo con la fórmula  $VSV = [(\pi / 6) * LSV * (ASV)^2]$  (Cetta y Capuzzo, 1982). El volumen de la gota de aceite (VGA) ( $\text{mm}^3$ ) se calculó usando únicamente el radio ( $r$ ) de la gota de aceite:  $VGA = [(4 / 3\pi) * r^3]$ , considerando que se trata de una estructura esférica (Avila y Juario, 1987). Las imágenes de larvas se analizaron con el software ImageJ (<http://imagej.nih.gov/ij/>).



**Figura 10.** Caracteres morfométricos paralelos y perpendiculares al eje longitudinal en *Seriola rivoliana*. Paralelas: Longitud total (LT); longitud estándar (LE); longitud boca al ano (BA); longitud de la cabeza (LC); longitud del ojo (LO); Longitud del tronco (LTRO); longitud de aleta caudal (LAC). Perpendiculares: altura del ojo (AO); altura de la cabeza (AC); altura 1 del miotomo (AM1); altura 2 del miotomo (AM2); altura 3 del miotomo (AM3); altura de la aleta caudal (AAC).

## 6.8. Utilización del saco vitelino y gota de aceite

Este análisis solo se llevó a cabo en el bioensayo 3 debido al muestreo continuo de larvas en los nueve tratamientos en el mismo desove. Se sabe de antemano que el saco vitelino en *Seriola* se absorbe rápidamente dentro de los dos primeros días post-eclosión (Yu *et al.*, 2017), por lo que el volumen de saco vitelino se analizó hasta las 48 h post-eclosión. En contraste, la gota de aceite es conspicua hasta el comienzo de la fase de alimentación exógena (Roo *et al.*, 2014), por lo que el diámetro de la gota de aceite se analizó hasta las 72 h post-eclosión. El porcentaje de saco vitelino absorbido promedio (% SV) a las 24 y 48 h post-eclosión fue analizado con la fórmula:  $\% \text{ SV} = 100 - [(VSV \text{ a las } 24 \text{ o } 48 \text{ h} / VSV \text{ en la eclosión}) \times 100]$ , respectivamente. Adicionalmente, el porcentaje de la tasa de absorción promedio del SV por hora (% SVH<sup>-1</sup>) a las 24 y 48 h post-eclosión fue analizado con la fórmula:  $\% \text{ SVH}^{-1} = [\% \text{ SV a las } 24 \text{ h} / 24] \text{ y } [\% \text{ SV a las } 48 \text{ h} / 48]$ , respectivamente. Se realizaron los mismos cálculos para la absorción de la gota de aceite hasta las 72 h. Además, la utilización de la gota de aceite se analizó como una tasa lineal hasta las 72 h después de la eclosión (ver 6.13: análisis estadístico).

## 6.9. Crecimiento alométrico

Para obtener los coeficientes de crecimiento alométrico se utilizaron los datos en la eclosión y a las 24, 48 y 72 h post-eclosión del bioensayo 3. La función potencial ( $Y = aLT^b$ ) la cual describe la ecuación alométrica (crecimiento diferencial), en donde la longitud total "LT" es la variable independiente y cada medida corporal "Y" es la variable dependiente, se utilizó para obtener el coeficiente de crecimiento "b" (la pendiente) y el intercepto "a". Además, se obtuvo el coeficiente de correlación ( $R^2$ ) y una prueba de  $T$  para confirmar que sí existía una relación significativa entre ambas variables ( $P \leq 0.05$ ). Cuando el crecimiento es isométrico:  $b = 1$ , alométrico positivo:  $b > 1$  y alométrico negativo:  $b < 1$  (Fuiman, 1983).

### 6.10. Edema pericárdico/vitelino a la apertura de boca

Las deformaciones morfológicas en la región del saco vitelino y el pericardio solo se hacen muy evidentes una vez que la larva abre la boca, cuando ya ha ocurrido una notable absorción del vitelo. Las larvas a la apertura de boca fueron obtenidas en el bioensayo 4, por lo que éste análisis sólo se llevó a cabo en este bioensayo. Una vez que se detectó la presencia de edema en la zona del pericardio y el vitelo, se determinó de una forma cualitativa el grado de severidad del edema de acuerdo al tamaño visual (inflamación y deformación) del mismo (Tabla 2) (Kurokawa *et al.*, 2008; Skaalsvik *et al.*, 2015).

**Tabla 2.** Identificación de los grados de edema

Grado	Descripción	Morfología en la apertura de boca
0	Sin edema	
1	Edema menor	
2	Edema mayor	
3	Edema severo	

### **6.11. Análisis bioquímicos (masa seca, proteína, lípidos totales, carbohidratos y TAG)**

Las muestras congeladas de huevos, embriones y larvas se liofilizaron, luego se pulverizaron con un homogeneizador (MPI, Fast Prep-24, CA-USA), se rehidrataron con 1 mL de agua destilada por 0.1 g de muestra seca, y se homogeneizaron de nuevo.

Para la cuantificación de proteínas, el homogeneizado crudo se digirió en NaOH 0.1N durante 120 minutos, y posteriormente se hizo reaccionar con ácido bicinconínico a 60°C durante 15 minutos (Fujimoto *et al.*, 1985). La muestra se cuantificó con un reactivo proteínico y albúmina de suero bovino como estándar (Sigma-Aldrich, Merck, St Louis, MO). Los lípidos totales se determinaron por el método de la sulfofosfovanillina (Barnes y Blackstock, 1973). Se añadió ácido sulfúrico al homogeneizado y se calentó a 90°C durante 10 minutos, luego se hizo reaccionar con fosfovanillina al 0.2% en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 80%. Para la cuantificación de carbohidratos, las proteínas del homogeneizado se precipitaron con ácido tricloroacético (TCA) al 20% y el sobrenadante se hizo reaccionar con antrona al 0.1% en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 72% (Roe *et al.*, 1961). Los triacilgliceridos se determinaron a partir de la hidrólisis enzimática con lipasas según Koditschek y Umbreit (1969), con una prueba enzimática colorimétrica (kit de RANDOX, TR 1697). La masa seca de los huevos y las larvas se obtuvo dejando las muestras en el horno (VWR, USA) a 60°C durante 24 h. La estandarización y validación de éstas técnicas en huevos, embriones y larvas de peces se hizo con base a experiencias previas en huevos y larvas de ostión (Pacheco-Carlón, 2016).

### **6.12. Nucleótidos de adenina**

Se homogenizó una muestra congelada de huevos, embriones o larvas en un homogenizador criogénico (MM400, Retsh, Alemania) (2 min a 25 rpm) pre-enfriado con nitrógeno líquido. Los nucleótidos fueron extraídos y procesados de acuerdo al método de Moal *et al.*, (1989), con modificaciones descritas por Robles-Romo *et al.* (2016). Se pesaron 100 mg del polvo criogénico (200 huevos o embriones y 300 larvas) que se colocaron en ácido tricloroacético 0.5M (1.5 ml). Posteriormente se mezcló en un polytron Sentry por 30 s a 2000 rpm en un tubo de ensaye y centrifugados a 3000 g por 10 min a 4°C. Se recuperaron 0.5 ml del sobrenadante que fueron neutralizados con 1.3 ml de una mezcla de trioctilamina y diclorometano (1:5 v/v), agitándose 30

s en vortex. Nuevamente se centrifugó (5 min a 2000 g a 4°C), se verificó que el sobrenadante tuviese un pH neutro. Se recuperó una alícuota del sobrenadante (50 µL) la cual se pasó por un filtro de 0.2 µm y se almacenó a -80°C hasta su análisis. Los nucleótidos se separaron mediante HPLC de fase reversa con apareamiento iónico (modelo 1100, Agilent Technologies, Palo Alto, CA) con una columna Hyperclone ODS C18 (150 × 4.6 mm, tamaño de partícula de 3 µm, Phenomenex, Torrance, CA) conectada a una columna de guarda C18 (40 × 3 mm; Phenomenex, Torrance, CA).

La separación se realizó en una fase móvil compuesta por fosfato sódico monobásico 0.15 M (H<sub>2</sub>NaO<sub>4</sub>P), tetrabutilamonio 3 mM (Sigma-Aldrich, Merck, St. Louis, MO) y metanol al 8% a pH 6.0, que se ajustó con NaOH 5N. Las señales de los nucleótidos se detectaron a 254 nm a 0.8 mL/min durante 22 min. La identificación de los nucleótidos se realizó con una mezcla de estándares de trifosfato de adenosina (ATP), difosfato de adenosina (ADP), monofosfato de adenosina (AMP) y monofosfato de inosina (IMP) (Sigma-Aldrich, Merck, St. Louis, MO) a concentraciones conocidas. La carga energética adenílica (CEA) se estimó según el método de Atkinson (1968) de la siguiente manera:  $[(ATP+0.5ADP)/(ATP+ADP+AMP)]$ . Asimismo, los nucleótidos adenílicos totales (NAT) se calcularon como la suma de ATP, ADP y AMP.

### 6.13. Análisis estadístico

Se analizó la normalidad de todas las variables (prueba de Bartlett) y la homocedasticidad (prueba de Levene). Los datos de tasas de eclosión se transformaron previamente en arcoseno antes de realizar el análisis de varianza estadístico (ANOVA). En el bioensayo 3, los coeficientes de crecimiento (alometría) se consideraron diferentes cuando la magnitud de los intervalos de confianza al 95% de las pendientes no se sobrepusieron entre los tratamientos de temperatura y mediante una prueba de *t* para la significancia estadística. Además, en el bioensayo 3, se analizaron las tasas de utilización de la gota de aceite hasta las 72 h post-eclosión en los nueve tratamientos. Los datos se transformaron con logaritmo, seguido de una regresión lineal y se analizaron con un ANCOVA (Llanos-Rivera y Castro, 2006), en donde el tiempo en grados-día se utilizó como covariable. Los grados-día se utilizan para explicar la variación en el crecimiento y desarrollo de los peces en función de la temperatura. Se calculan utilizando la temperatura experimental como dato. Por ejemplo: a las 24 h después de la eclosión, los grados-día en larvas

a 20 °C sería 20 (en lugar de 24), mientras que a las 48 h sería 20 x 2 días = 40 (en lugar de 48). En larvas a 30°C a las 24 h sería 30 (en lugar de 24), mientras que a las 48 h sería 60 (en lugar de 48) y así para cada temperatura experimental.

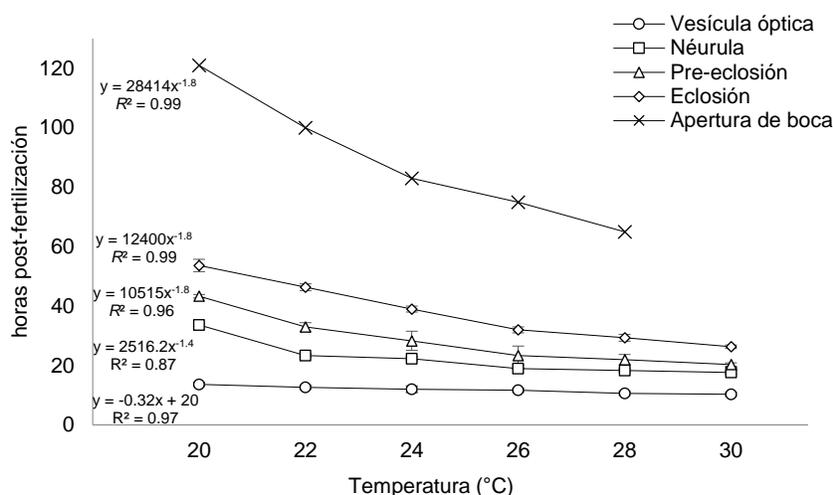
Los datos morfológicos se expresaron como promedio  $\pm$  desviación estándar. Se utilizó un ANOVA de dos vías para comprobar los efectos del bioensayo (desove) y del régimen de temperatura sobre las tallas.

Los datos bioquímicos fueron expresados como promedio  $\pm$  error estándar. Se utilizó un ANOVA de dos vías para comprobar los efectos del estadio y del régimen de temperatura sobre la composición bioquímica y de nucleótidos. Sólo cuando se observó una interacción significativa, se compararon las medias individuales dentro de cada factor mediante la prueba de Tukey. En caso contrario, se compararon las medias globales dentro de cada factor y se indicaron en tablas para los estadios de desarrollo o en el texto para las temperaturas. Para el bioensayo 1, las tres temperaturas más bajas (20-24°C) se agruparon y compararon con las temperaturas más altas (26-30°C) mediante la prueba t-student en cada estadio de desarrollo (véase la Tabla 7). Todos los estadísticos y gráficos se analizaron con la versión 8.0 de Statistica (StatSoft, Tulsa, OK) y Paleontological Statistics, PAST V. 3.25. En todos los casos, la significación estadística se aceptó a  $P < 0.05$ .

## 7. RESULTADOS

### 7.1. Velocidad de desarrollo y coeficiente de temperatura

La velocidad de desarrollo fue inversamente proporcional a la temperatura (Fig. 11). El estadio de vesícula óptica se observó entre ~10 (30°C) y ~14 (20°C) horas post fertilización (hpf). El tiempo para llegar a la néurula fue entre ~18 h (30°C) y ~34 h (20°C), mientras que para la pre-eclosión, tardó ~20 h (30°C) y ~43 hpf (20°C), respectivamente. Los tiempos de eclosión fueron ~54, 46, 39, 32, 29 y 26 hpf a 20, 22, 24, 26, 28 y 30°C, respectivamente. La larva a la apertura de boca se observó a las 65 h a 28°C, 75 h a 26°C, 83 h a 24°C, 100 h a 22°C y 121 h a 20°C. Si bien las larvas a 30°C no lograron sobrevivir a la apertura de boca, se predijo un tiempo de desarrollo de ~56 hpf a esta temperatura. Los coeficientes de temperatura ( $Q_{10}$ ) (20 a 30°C) fueron de 1.4, 1.8, 2.2, 2.4 y 2.1 en vesícula óptica, néurula, pre-eclosión, eclosión y apertura de boca, respectivamente.



**Figura 11.** Velocidad de desarrollo embrionario de *S. rivoliana* en relación a la temperatura.

En el caso de los tratamientos oscilantes durante la incubación y que continuaron a 25°C post-eclosión, la velocidad de desarrollo se vió poco influenciada por los tratamientos en los estadios embrionarios. El estadio de VO se alcanzó a las ~12 h, el de NE a las ~19 h, PRE a las ~26 h, y un tiempo de eclosión cercano al 50% de larvas eclosionadas fue de 32 y 35 h en el bioensayo 1 y 3, respectivamente. En el bioensayo 4, la eclosión se alcanzó a las 37 y 33 h en la OID y OIA, respectivamente. La larva con apertura de boca se obtuvo a las 72 h post-fertilización en ambas

oscilaciones térmicas. Estos valores estuvieron dentro del rango obtenido entre 24 y 26°C constantes (Fig. 11).

## 7.2. Rango viable de temperatura de incubación

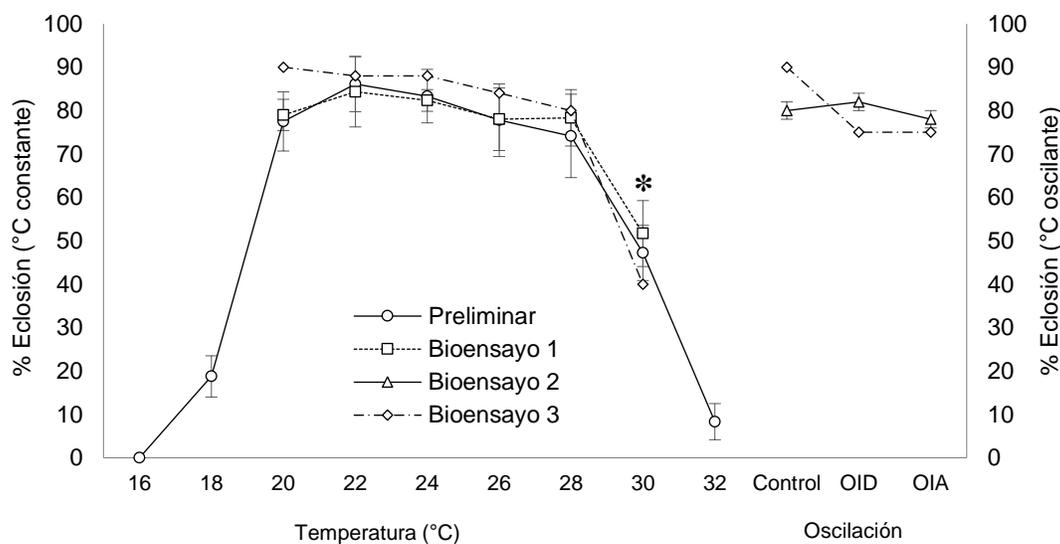
Los estadios embrionarios en el jurel *Seriola rivoliana* coincidieron con las descripciones anteriores en el género *Seriola*. En el bioensayo preliminar, los estadios de desarrollo ocurrieron en todos los tratamientos de temperatura de 16 a 32°C. Sin embargo, las larvas viables eclosionaron solo en el rango de temperatura de 20 a 30°C (Fig. 12). Se obtuvo una diferencia significativa por ANOVA en las tasas de eclosión entre las temperaturas viables ( $P < 0.05$ ). Las comparaciones posteriores mostraron que los huevos a 30°C presentaron una tasa de eclosión significativamente más baja (47%,  $P < 0.05$ ) que para el resto de las temperaturas de 20, 22, 26 y 28°C, en las cuales las tasas de eclosión fueron altas (74-86%) y sin diferencia significativa entre sí ( $P > 0.05$ ). A 16°C, pocos embriones (5-10%) alcanzaron el estadio de pre-eclosión e hipotéticamente eclosionarían alrededor de las 62 h. Sin embargo, aunque los embriones estaban vivos y presentaban movimiento, permanecieron "encerrados" dentro del huevo durante 12-24 horas adicionales y murieron progresivamente sin eclosionar. A temperaturas fuera de los límites viables de 18 y 32°C, solo una pequeña proporción de huevos eclosionó (máximo el 18%), pero las larvas se observaron dobladas y muertas. Por lo anterior, se consideró 20 a 30°C como el rango de temperatura viable para *Seriola rivoliana* que se usó para el resto de los bioensayos.

En el bioensayo 1 a temperaturas constantes, las tasas de eclosión de 20 a 28°C fueron altas (78-84%), mientras que a 30°C el valor disminuyó a 52% ( $P < 0.05$ ) (Fig. 12).

En el bioensayo 2 a temperaturas oscilantes, las tasas de eclosión fueron de 82 y 78% en los tratamientos de OID y OIA, respectivamente, similares al tratamiento control a 25°C (80%) y sin una diferencia significativa entre sí ( $P > 0.05$ ) (Fig. 12).

En el bioensayo 3, las tasas de eclosión a temperaturas constantes de 20 a 28°C se observaron entre 80 y 90%, mientras que a 30°C, la tasa de eclosión disminuyó a 40% ( $P < 0.05$ ). En el

tratamiento control a 25°C se obtuvo 90%, mientras que los tratamientos oscilantes OIA y OID se obtuvieron 75% en cada uno (Fig. 12).



**Figura 12.** Tasas de eclosión en huevos de *Seriola rivoliana*. Promedio  $\pm$  D. E. Control a 25°C constante. Oscilación inicial descendente (OID) y oscilación inicial ascendente (OIA) (\* denota una diferencia significativa a 30°C,  $P < 0.05$ ). En el bioensayo preliminar, las temperaturas a 16, 18 y 32°C fueron inviables y por lo tanto, no se analizaron.

### 7.3. Efecto de la temperatura constante

#### 7.3.1. Morfología larval

La larva eclosionada del bioensayo 1 mostró tener mayores tallas de los principales caracteres longitudinales (LT, LE y LAC) a 22 y 24°C, mientras que se observaron tallas intermedias a 28°C y más pequeñas a 20, 26 y 30°C (Tabla 3). La longitud y altura de cabeza fueron mayores a 22°C; la menor longitud y altura de cabeza se observaron a 30 y 26°C, respectivamente. El diámetro de pigmentación del ojo fue mayor a 24°C y menor a 20 y 26°C. Tanto el saco vitelino y la gota de aceite fueron mayores a 20°C.

**Tabla 3.** Mediciones morfométricas a las temperaturas constantes del bioensayo 1. Promedio  $\pm$  D. E. Análisis unifactorial. Post hoc Tukey. Letras minúsculas diferentes, representan diferencias significativas entre las temperaturas.

	mm	ECLOSIÓN					
		20°C	22°C	24°C	26°C	28°C	30°C
LT		2.65 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	2.87 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>	2.93 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>	2.71 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	2.77 $\pm$ 0.12 <sup>ab</sup>	2.66 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>
LE		2.53 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	2.74 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>	2.79 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>	2.58 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	2.65 $\pm$ 0.11 <sup>ab</sup>	2.53 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>
BA		1.47 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	1.58 $\pm$ 0.06 <sup>bc</sup>	1.60 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup>	1.52 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>	1.52 $\pm$ 0.07 <sup>abc</sup>	1.49 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>
LTRO		1.21 $\pm$ 0.07 <sup>ab</sup>	1.26 $\pm$ 0.06 <sup>bc</sup>	1.29 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup>	1.20 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	1.22 $\pm$ 0.06 <sup>abc</sup>	1.19 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>
LAC		1.14 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	1.29 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	1.32 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	1.19 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	1.24 $\pm$ 0.07 <sup>ab</sup>	1.18 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>
AAC		0.35 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	0.42 $\pm$ 0.04 <sup>bc</sup>	0.44 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	0.39 $\pm$ 0.06 <sup>ab</sup>	0.38 $\pm$ 0.06 <sup>abc</sup>	0.38 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>
LC		0.32 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.35 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	0.33 $\pm$ 0.02 <sup>bc</sup>	0.32 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.32 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.30 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
AC		0.230 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.260 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	0.241 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.221 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.240 $\pm$ 0.03 <sup>abc</sup>	0.225 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>
DPO		0.14 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.16 $\pm$ 0.01 <sup>bc</sup>	0.16 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	0.14 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.15 $\pm$ 0.01 <sup>abc</sup>	0.14 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>
AM1		0.19 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.19 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.19 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.18 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.18 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.18 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>
AM2		0.17 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.17 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.17 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.16 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.16 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.16 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>
AM3		0.10 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.11 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.11 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.10 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.10 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.10 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>
VSV		0.16 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	0.12 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.12 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.14 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>	0.12 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>	0.13 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
VGA		3.09 $\pm$ 0.65 <sup>c</sup>	2.85 $\pm$ 0.58 <sup>bc</sup>	2.25 $\pm$ 0.48 <sup>a</sup>	2.31 $\pm$ 0.67 <sup>ab</sup>	2.68 $\pm$ 0.56 <sup>abc</sup>	2.22 $\pm$ 0.62 <sup>abc</sup>

Longitud total (LT); longitud estándar (LE); longitud de la boca al ano (BA); Longitud del tronco (LTRO); longitud de aleta caudal (LAC); altura de la aleta caudal (AAC); longitud de la cabeza (LC); altura de cabeza (AC); diámetro de pigmentación del ojo (DPO); altura 1 del miótomo (AM1); altura 2 del miótomo (AM2); altura 3 del miótomo (AM3); volumen del saco vitelino (VSV $\pm$ mm<sup>3</sup>); volumen de la gota de aceite (VGA $\times$  10<sup>-3</sup> $\pm$ mm<sup>3</sup>).

La larva eclosionada del bioensayo 3 tuvo una mayor longitud total y longitud estándar a 22 y 24°C, intermedia a 26 y 30°C, y más pequeña a 20 y 28°C (Tabla 4). Las dimensiones de la aleta caudal (longitud y altura) fueron mayores entre 22 y 26°C y más pequeñas a 20°C. La longitud y altura de la cabeza fueron mayores a 24 y 22°C, respectivamente. No se observaron diferencias significativas en el saco vitelino, mientras que la gota de aceite fue mayor a 24°C y menor a 22 y 26°C. Al día 3 post-eclosión las larvas presentaron una mayor longitud total y estándar entre 20 y 24°C, intermedias entre 26 y 28°C y más pequeñas a 30°C. La longitud de la aleta caudal fue mayor entre 22 y 24°C y más pequeña a 30°C. La longitud de la cabeza se mostró mayor entre 24 y 28°C, mientras que entre 20 y 22°C se observó más pequeña. La gota de aceite fue mayor entre 20 y 22°C y más pequeña entre 24 y 28°C.

**Tabla 4.** Mediciones morfométricas a las temperaturas constantes del bioensayo 3. Promedio  $\pm$  D. E. Análisis unifactorial. Post hoc Tukey. Letras minúsculas diferentes, representan diferencias significativas entre las temperaturas.

mm	20°C	22°C	24°C	26°C	28°C	30°C
LT	2.77 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	2.97 $\pm$ 0.14 <sup>c</sup>	2.97 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>	2.91 $\pm$ 0.04 <sup>bc</sup>	2.73 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	2.83 $\pm$ 0.07 <sup>ab</sup>
LE	2.64 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	2.84 $\pm$ 0.13 <sup>c</sup>	2.84 $\pm$ 0.09 <sup>c</sup>	2.79 $\pm$ 0.03 <sup>bc</sup>	2.62 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	2.69 $\pm$ 0.06 <sup>ab</sup>
BA	1.61 $\pm$ 0.04 <sup>bc</sup>	1.62 $\pm$ 0.08 <sup>bc</sup>	1.64 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>	1.59 $\pm$ 0.02 <sup>abc</sup>	1.53 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	1.57 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>
LTRO	1.28 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	1.30 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	1.31 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	1.27 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>	1.23 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	1.27 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>
LAC	1.16 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	1.35 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup>	1.33 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>	1.32 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	1.20 $\pm$ 0.05 <sup>ab</sup>	1.25 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>
AAC	0.40 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.45 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	0.45 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.44 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.40 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.43 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>
LC	0.32 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.34 $\pm$ 0.01 <sup>cd</sup>	0.35 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	0.33 $\pm$ 0.02 <sup>bc</sup>	0.33 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.30 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>
AC	0.215 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.255 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>	0.240 $\pm$ 0.02 <sup>cd</sup>	0.230 $\pm$ 0.02 <sup>abc</sup>	0.220 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.236 $\pm$ 0.01 <sup>bcd</sup>
DPO	0.13 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.17 $\pm$ 0.01 <sup>cd</sup>	0.17 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	0.16 $\pm$ 0.01 <sup>cd</sup>	0.15 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.15 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>
AM1	0.19 $\pm$ 0.02	0.19 $\pm$ 0.01	0.19 $\pm$ 0.01	0.18 $\pm$ 0.01	0.18 $\pm$ 0.01	0.18 $\pm$ 0.01
AM2	0.18 $\pm$ 0.01	0.17 $\pm$ 0.01	0.17 $\pm$ 0.01	0.17 $\pm$ 0.01	0.17 $\pm$ 0.01	0.16 $\pm$ 0.00
AM3	0.10 $\pm$ 0.01	0.10 $\pm$ 0.01	0.10 $\pm$ 0.01	0.10 $\pm$ 0.01	0.10 $\pm$ 0.01	0.11 $\pm$ 0.01
VSV	0.20 $\pm$ 0.06	0.16 $\pm$ 0.04	0.20 $\pm$ 0.04	0.18 $\pm$ 0.04	0.21 $\pm$ 0.03	0.18 $\pm$ 0.05
VGA	3.60 $\pm$ 0.18 <sup>ab</sup>	3.25 $\pm$ 0.45 <sup>a</sup>	3.71 $\pm$ 0.47 <sup>b</sup>	3.26 $\pm$ 0.40 <sup>a</sup>	3.86 $\pm$ 0.41 <sup>b</sup>	3.53 $\pm$ 0.24 <sup>ab</sup>
LT	3.69 $\pm$ 0.09 <sup>c</sup>	3.67 $\pm$ 0.14 <sup>c</sup>	3.72 $\pm$ 0.11 <sup>c</sup>	3.45 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	3.42 $\pm$ 0.14 <sup>b</sup>	3.10 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>
LE	3.51 $\pm$ 0.09 <sup>c</sup>	3.49 $\pm$ 0.15 <sup>c</sup>	3.55 $\pm$ 0.12 <sup>c</sup>	3.27 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	3.27 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>	2.92 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>
BA	1.84 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>	1.80 $\pm$ 0.08 <sup>bc</sup>	1.79 $\pm$ 0.08 <sup>bc</sup>	1.73 $\pm$ 0.03 <sup>bc</sup>	1.70 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	1.53 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>
LTRO	1.44 $\pm$ 0.06 <sup>d</sup>	1.40 $\pm$ 0.06 <sup>d</sup>	1.32 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>	1.27 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>	1.23 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	1.14 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>
LAC	1.83 $\pm$ 0.06 <sup>cd</sup>	1.88 $\pm$ 0.08 <sup>d</sup>	1.92 $\pm$ 0.04 <sup>d</sup>	1.71 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	1.72 $\pm$ 0.12 <sup>bc</sup>	1.54 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
AAC	0.50 $\pm$ 0.06 <sup>ab</sup>	0.56 $\pm$ 0.03 <sup>bc</sup>	0.60 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	0.55 $\pm$ 0.03 <sup>abc</sup>	0.51 $\pm$ 0.05 <sup>ab</sup>	0.49 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>
LC	0.38 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.42 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.49 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	0.49 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	0.49 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	0.44 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>
AC	0.436 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.522 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	0.629 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>	0.576 $\pm$ 0.04 <sup>bc</sup>	0.553 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.519 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>
DPO	0.23 $\pm$ 0.02	0.24 $\pm$ 0.01	0.25 $\pm$ 0.02	0.24 $\pm$ 0.02	0.24 $\pm$ 0.01	0.23 $\pm$ 0.01
AM1	0.22 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.22 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.23 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.21 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.21 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.20 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
AM2	0.22 $\pm$ 0.02 <sup>bc</sup>	0.24 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	0.24 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	0.23 $\pm$ 0.01 <sup>bc</sup>	0.21 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.19 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
AM3	0.15 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.15 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.16 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.15 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.15 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.14 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
VGA	2.09 $\pm$ 0.63 <sup>b</sup>	1.95 $\pm$ 1.04 <sup>b</sup>	0.81 $\pm$ 0.73 <sup>a</sup>	0.51 $\pm$ 0.60 <sup>a</sup>	0.28 $\pm$ 0.52 <sup>a</sup>	0.86 $\pm$ 0.91 <sup>ab</sup>

Longitud total (LT); longitud estándar (LE); longitud de la boca al ano (BA); Longitud del tronco (LTRO); longitud de aleta caudal (LAC); altura de la aleta caudal (AAC); longitud de la cabeza (LC); altura de cabeza (AC); diámetro de pigmentación del ojo (DPO); altura 1 del miótomo (AM1); altura 2 del miótomo (AM2); altura 3 del miótomo (AM3); volumen del saco vitelino (VSV $\pm$ mm<sup>3</sup>); volumen de la gota de aceite (VGA  $\times$  10<sup>-3</sup> $\pm$ mm<sup>3</sup>).

La larva eclosionada del bioensayo 4 mostró una mayor longitud total y estándar entre 20 y 24°C, intermedia a 28°C y más pequeñas a 26 y 30°C (Tabla 5). La longitud de la aleta caudal fue mayor a 24°C, intermedia a 22 y 28°C y más pequeña a 20, 26 y 30°C. La longitud de la cabeza se mostró mayor entre 20 y 24°C y más pequeña a 30°C. El saco vitelino y gota de aceite fueron mayores a 30 y 28°C respectivamente. La larva a la apertura de boca tuvo mayores tallas longitudinales (LT,

LE, BA, LTRO, LAC) a 20°C y las más pequeñas se observaron a 26 y 28°C. No se observaron diferencias significativas en la gota de aceite.

**Tabla 5.** Mediciones morfométricas a las temperaturas constantes del bioensayo 4. Promedio  $\pm$  D. E. Análisis unifactorial. Post hoc Tukey. Letras minúsculas diferentes, representan las diferencias significativas entre las temperaturas.

	Mm	20°C	22°C	24°C	26°C	28°C	30°C
ECLOSIÓN	LT	2.91 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	2.94 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	2.96 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>	2.80 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	2.89 $\pm$ 0.20 <sup>ab</sup>	2.81 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>
	LE	2.78 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	2.81 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	2.83 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	2.68 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	2.76 $\pm$ 0.19 <sup>ab</sup>	2.69 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>
	BA	1.65 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>	1.63 $\pm$ 0.05 <sup>bc</sup>	1.63 $\pm$ 0.05 <sup>bc</sup>	1.55 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	1.59 $\pm$ 0.09 <sup>ab</sup>	1.55 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>
	LTRO	1.32 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>	1.30 $\pm$ 0.04 <sup>bc</sup>	1.30 $\pm$ 0.04 <sup>bc</sup>	1.24 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	1.27 $\pm$ 0.07 <sup>ab</sup>	1.24 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>
	LAC	1.26 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	1.30 $\pm$ 0.07 <sup>ab</sup>	1.33 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	1.24 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	1.30 $\pm$ 0.12 <sup>ab</sup>	1.26 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>
	AAC	0.43 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>	0.45 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.45 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.43 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>	0.43 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>	0.41 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>
	LC	0.35 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.35 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.34 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.33 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.33 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.33 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
	AC	0.246 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.234 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.239 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.234 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.243 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.231 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
	DPO	0.16 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.17 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.17 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.16 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.17 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.16 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>
	MH1	0.19 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.20 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.20 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.19 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.21 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.19 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
	MH2	0.18 $\pm$ 0.01	0.18 $\pm$ 0.01	0.18 $\pm$ 0.01	0.18 $\pm$ 0.02	0.19 $\pm$ 0.02	0.18 $\pm$ 0.01
	MH3	0.11 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.12 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.11 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>			
	VSV	0.15 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>	0.15 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.14 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.17 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>	0.16 $\pm$ 0.06 <sup>ab</sup>	0.18 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>
	VGA	2.67 $\pm$ 0.56 <sup>a</sup>	2.63 $\pm$ 0.51 <sup>a</sup>	2.78 $\pm$ 0.36 <sup>ab</sup>	3.07 $\pm$ 0.73 <sup>abc</sup>	3.23 $\pm$ 0.84 <sup>c</sup>	3.12 $\pm$ 0.54 <sup>bc</sup>
APERTURA DE BOCA	LT	3.55 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>	3.49 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	3.51 $\pm$ 0.09 <sup>bc</sup>	3.30 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	3.35 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	
	LE	3.35 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>	3.30 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	3.33 $\pm$ 0.09 <sup>bc</sup>	3.12 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	3.18 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	
	BA	1.78 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	1.76 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	1.78 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	1.68 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	1.70 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	
	LTRO	1.42 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>	1.38 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	1.41 $\pm$ 0.04 <sup>bc</sup>	1.30 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	1.33 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	
	LAC	1.74 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	1.70 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	1.72 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	1.60 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	1.63 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	
	AAC	0.49 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.50 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.53 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	0.50 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.50 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>	
	LC	0.37 $\pm$ 0.03	0.38 $\pm$ 0.03	0.38 $\pm$ 0.03	0.38 $\pm$ 0.02	0.37 $\pm$ 0.03	
	AC	0.480 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.513 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	0.487 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.513 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	0.487 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>	
	DPO	0.23 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.23 $\pm$ 0.02 <sup>bc</sup>	0.24 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	0.22 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.23 $\pm$ 0.02 <sup>abc</sup>	
	AM1	0.23 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.22 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.22 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.22 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.22 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	
	AM2	0.23 $\pm$ 0.01 <sup>abc</sup>	0.24 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	0.23 $\pm$ 0.01 <sup>bc</sup>	0.23 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.23 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	
	AM3	0.16 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.16 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.16 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.16 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.17 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	
	VGA	0.91 $\pm$ 0.36	0.87 $\pm$ 0.37	1.00 $\pm$ 0.68	1.07 $\pm$ 0.60	0.74 $\pm$ 0.28	

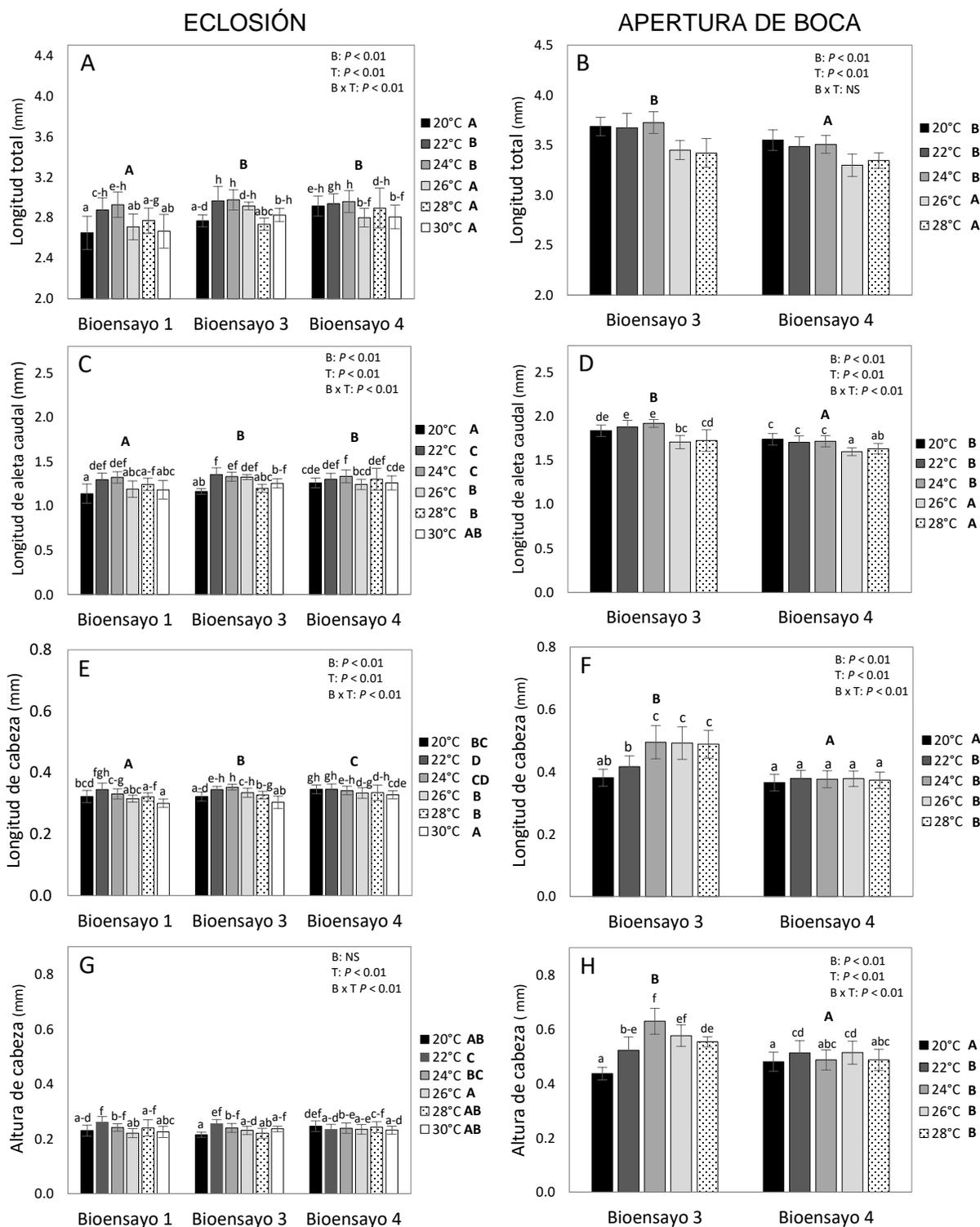
La descripción de los caracteres medidos están en la Tabla 4.

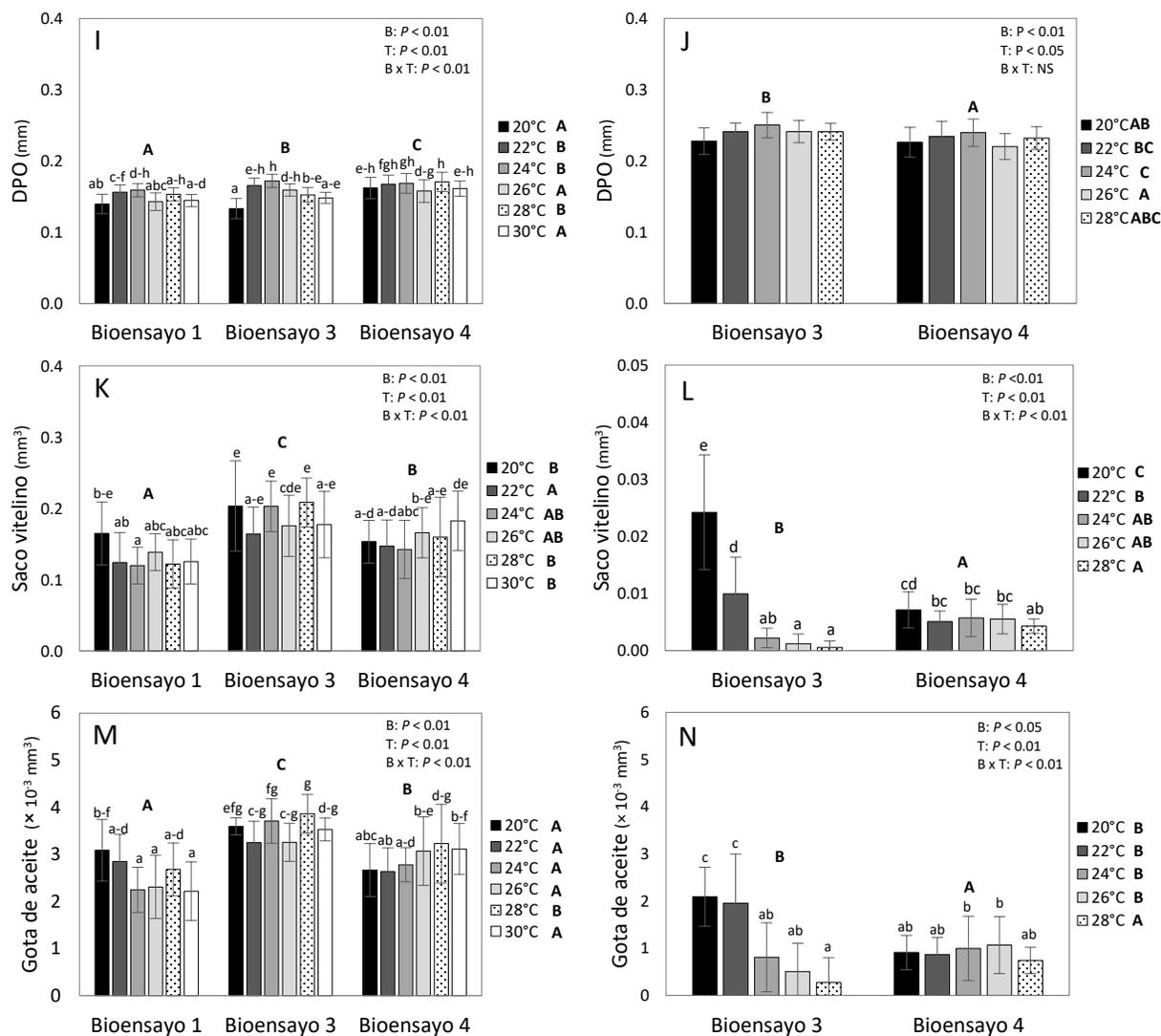
### 7.3.1.1. Influencia del bioensayo y la temperatura constante en la morfología larval

Con el fin de discernir entre la influencia del desove y de la temperatura, se realizó un análisis de varianza bifactorial (bioensayo × temperatura) para las mediciones realizadas en la larva eclosionada, considerando que cada bioensayo se realizó en un mismo desove y por ende, se trata de tres desoves diferentes para los tres bioensayos. Se obtuvo una interacción significativa para la mayoría de las variables morfométricas analizadas, lo cual indicó que la influencia de la temperatura dependió del desove (Fig. 13). Adicionalmente, se observó que para todas las variables fue significativo no solo el efecto de la temperatura sino del desove. Comparando solo las medias globales por temperatura (ver letras en la leyendas de las figuras), se encontró una longitud total mayor a 22 y 24°C con respecto a las demás temperaturas. La longitud de la aleta caudal también fue mayor a 22 y 24°C, intermedia a 26, 28 y 30°C, y menor a 20°C. La longitud de la cabeza fue mayor a 22 y 24°C, intermedia a 20, 26 y 28, y más pequeña a 30°C. A 22 y 24°C las larvas tuvieron una mayor altura de cabeza, intermedia a 20, 28 y 30°C, y más pequeña a 26°C. El diámetro de pigmentación del ojo fue mayor a 22, 24 y 28°C, y más pequeño a 20, 26 y 30°C. Con respecto a las diferencias entre desoves (bioensayos), las larvas de los bioensayos 3 y 4 alcanzaron tallas mayores en longitud total y longitud de aleta caudal en comparación con el bioensayo 1. La longitud de cabeza y el diámetro de pigmentación del ojo fueron mayores en el bioensayo 4, intermedios en el bioensayo 3 y más pequeños en el bioensayo 1. El volumen del saco vitelino y la gota de aceite fueron mayores en el bioensayo 3, intermedios en el bioensayo 4 y más pequeños en el bioensayo 1.

Para las larvas en el estadio más avanzado a la apertura de boca, se observaron mayores tallas en cuanto a longitud total y aleta caudal a 20, 22 y 24°C, comparado con 26 y 28°C (Fig. 13B, D). La longitud y altura de la cabeza fueron mayores entre 22 y 28°C y más pequeñas a 20°C. El diámetro de pigmentación del ojo fue mayor a 22 y 24°C, y menor a 26°C, con valores intermedios para las demás temperaturas (Fig. 13J).

En el bioensayo 3, se obtuvieron en general larvas a la apertura de boca con mayores tallas para todos los caracteres comparado con las larvas del bioensayo 4 (Fig. 13).





**Figura 13.** Influencia del bioensayo y la temperatura constante en la morfología larval. Promedio  $\pm$  D. E. Los resultados del ANOVA bifactorial (bioensayo  $\times$  temperatura) están insertados en la figura. En caso de interacción significativa, las diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas (Tukey) entre medias individuales para las distintas combinaciones bioensayo-temperatura. Para los efectos significativos de cada factor, las letras mayúsculas indican las diferencias significativas entre las medias globales de cada bioensayo, independientemente de las temperaturas (dentro de la gráfica) así como para las medias globales de cada temperatura, independientemente del bioensayo (en la leyenda fuera de la gráfica). Para larvas más avanzadas en el estadio de apertura de la boca, sólo se analizaron los datos de los bioensayos 3 y 4, dado que en el bioensayo 1 no se obtuvieron larvas en ese estadio. DPO: diámetro de pigmentación del ojo.

### 7.3.2. Composición bioquímica, gota de aceite y nucleótidos de adenina

En el bioensayo 1, el ANOVA de dos vías mostró una mayor influencia del estadio de desarrollo que de la temperatura (Fig. 14). La masa seca de los embriones fue influenciada solo por el estadio de desarrollo ( $P < 0.01$ ), permaneciendo estable durante la embriogénesis (VO, NE y PRE) con valores de  $\sim 64 \mu\text{g}/\text{ind}$ , y subsecuentemente, hubo una disminución significativa a  $44.6 \pm 0.9 \mu\text{g}/\text{ind}$  en la eclosión (Tabla 6). El contenido de proteína también fue influenciado por el estadio de desarrollo ( $P < 0.01$ ) y por las temperaturas constantes ( $P < 0.05$ ). Las comparaciones de las medias globales por estadio mostraron que los embriones mantuvieron niveles estables de proteínas durante la embriogénesis ( $\sim 23 \mu\text{g}/\text{ind}$ ), seguido de una disminución significativa a  $16.7 \pm 0.6 \mu\text{g}/\text{ind}$  en la eclosión (Tabla 6). Por otra parte, las medias globales del contenido protéico en los embriones a  $28^\circ\text{C}$  ( $24.2 \pm 5.7 \mu\text{g}/\text{ind}$ ), seguido de  $30^\circ\text{C}$  ( $22.8 \pm 3.7 \mu\text{g}/\text{ind}$ ), fueron significativamente superiores a las de las otras temperaturas constantes ( $20.7 \pm 3.1$ ,  $20.9 \pm 5.0$ ,  $21.2 \pm 3.9$  y  $21.9 \pm 4.4 \mu\text{g}/\text{ind}$ , a  $20$ ,  $22$ ,  $24$  y  $26^\circ\text{C}$ , respectivamente). El contenido de lípidos totales en los embriones se vio significativamente influenciado solo por el estadio de desarrollo ( $P < 0.05$ ), en donde las comparaciones de medias globales indicaron un aumento significativo del estadio de vesícula óptica ( $12.8 \pm 0.4 \mu\text{g}/\text{ind}$ ) a la néurula ( $15.0 \pm 0.6 \mu\text{g}/\text{ind}$ ), mientras que los estadios de pre-eclosión y eclosión mostraron valores intermedios. El contenido de carbohidratos en los embriones durante el desarrollo fue insignificante ( $\sim 0.33 \mu\text{g}/\text{ind}$ ) y sin ningún efecto principal o interacción entre el estadio de desarrollo y las temperaturas constantes (Fig.14D).

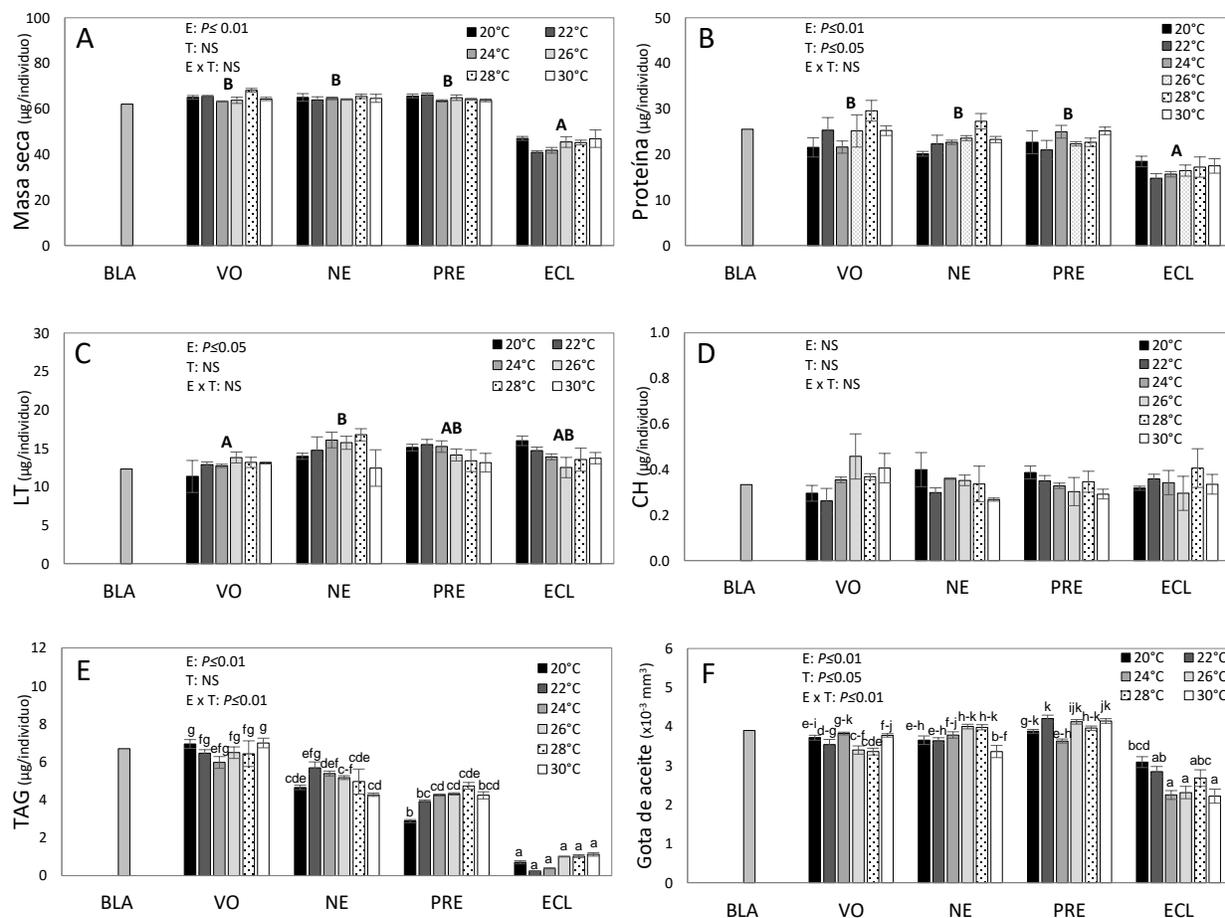
El contenido de triacilglicéridos (TAG) tuvo un efecto significativo del estadio de desarrollo ( $P < 0.01$ ), con una disminución progresiva y significativa durante la embriogénesis, dejando a las larvas eclosionadas con niveles muy bajos de este componente (Fig. 14E). Además, hubo una interacción significativa entre el estadio de desarrollo y las temperaturas constantes ( $P < 0.01$ ), dado que la disminución a lo largo del desarrollo embrionario no fue consistente para todas las temperaturas durante las tres primeras etapas embrionarias (VO, NE y PRE), con una disminución significativa de los estadios VO a NE a  $20$ ,  $28$  y  $30^\circ\text{C}$ , y de los estadios NE a PRE a  $20$  y  $22^\circ\text{C}$ .

El volumen de la gota de aceite (GA) se vio influido por el estadio de desarrollo, las temperaturas constantes y su interacción ( $P < 0.01$ ) (Fig. 14F). El volumen de la GA aumentó significativamente desde el estadio de VO ( $3.6 \times 10^{-3} \text{ mm}^3$ ) a la pre-eclosión ( $4 \times 10^{-3} \text{ mm}^3$ ) y luego disminuyó significativamente hasta  $2.6 \times 10^{-3} \text{ mm}^3$  a la eclosión. Los cambios antes de la eclosión fueron variables en función de la temperatura, mientras que la disminución en la eclosión fue evidente para todas las temperaturas. Sin embargo, las larvas en el momento de la eclosión tenían un mayor volumen de GA a  $20^\circ\text{C}$  que a  $24$ ,  $26$  y  $30^\circ\text{C}$ , con valores intermedios a  $22$  y  $28^\circ\text{C}$ .

**Tabla 6.** Dinámica de los parámetros medidos en la embriogénesis de *S. rivoliana* del bioensayo 1. Promedio  $\pm$  E. E. Las letras minúsculas muestran las diferencias significativas obtenidas del análisis bifactorial por efecto del estadio. Post hoc Tukey.

	Blástula	Vesícula Óptica	Néurula	Pre-eclosión	Eclosión
Masa seca ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	62	$65.0 \pm 0.5^b$	$64.6 \pm 0.4^b$	$64.7 \pm 0.4^b$	$44.6 \pm 0.9^a$
Proteína ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	26	$24.7 \pm 1.0^b$	$23.2 \pm 0.6^b$	$23.1 \pm 0.6^b$	$16.7 \pm 0.6^a$
Lípidos totales ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	12	$12.8 \pm 0.4^a$	$15.0 \pm 0.6^b$	$14.4 \pm 0.4^{ab}$	$14.1 \pm 0.4^{ab}$
Carbohidratos ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	0.33	$0.36 \pm 0.02$	$0.34 \pm 0.02$	$0.33 \pm 0.01$	$0.34 \pm 0.02$
Triacilglicéridos ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	6.7	$6.5 \pm 0.2^d$	$5.0 \pm 0.2^c$	$4.1 \pm 0.1^b$	$0.7 \pm 0.1^a$
Gota de aceite ( $\times 10^{-3} \text{ mm}^3$ )	3.9	$3.6 \pm 0.0^b$	$3.8 \pm 0.0^c$	$4.0 \pm 0.0^d$	$2.6 \pm 0.1^a$
ATP (nmol/ind)	0.15	$0.14 \pm 0.00^a$	$0.17 \pm 0.00^b$	$0.20 \pm 0.01^{bc}$	$0.21 \pm 0.01^c$
ADP (nmol/ind)	0.089	$0.084 \pm 0.002^b$	$0.075 \pm 0.003^{ab}$	$0.068 \pm 0.001^a$	$0.102 \pm 0.005^c$
AMP (nmol/ind)	0.002	$0.006 \pm 0.001^a$	$0.007 \pm 0.001^a$	$0.004 \pm 0.000^a$	$0.015 \pm 0.001^b$
CEA	0.81	$0.79 \pm 0.00^a$	$0.83 \pm 0.00^b$	$0.86 \pm 0.00^c$	$0.80 \pm 0.00^a$
IMP (nmol/ind)	0.14	$0.07 \pm 0.00^a$	$0.06 \pm 0.00^a$	$0.12 \pm 0.01^b$	$0.32 \pm 0.02^c$
NAT (nmol/ind)	0.24	$0.23 \pm 0.0^a$	$0.26 \pm 0.01^{ab}$	$0.27 \pm 0.01^b$	$0.33 \pm 0.02^c$

Adenosin trifosfato (ATP); adenosin difosfato (ADP); adenosin monofosfato (AMP); carga energética adenilica (CEA); inosin monofosfato (IMP); nucleótidos adenilicos totales (NAT)



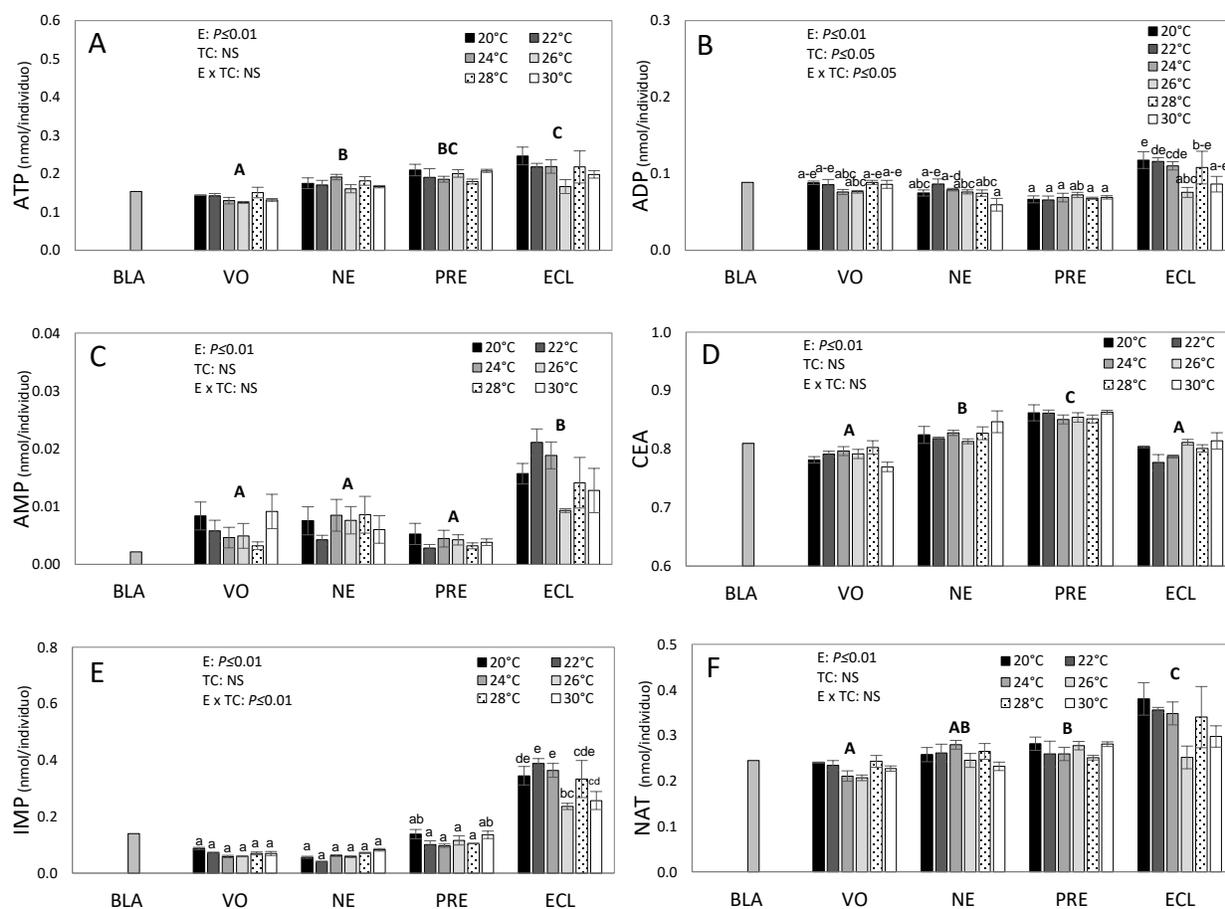
**Figura 14.** Valores bioquímicos y gota de aceite en embriones de *Seriola rivoliana* expuestos a temperatura constante (20-30°C) (Bioensayo 1). (A) masa seca, (B) proteína, (C) lípidos, (D) carbohidratos, (E) triacilglicéridos y (F) volumen de gota de aceite ( $\times 10^{-3} \text{ mm}^3$ ). Promedio  $\pm$  E. E. Los resultados del ANOVA bifactorial están mostrados en la figura. Siguiendo un post hoc Tukey, las diferentes letras minúsculas representan la interacción significativa entre el estadio (E) y la temperatura constante (CT), mientras que las letras mayúsculas indican las diferencias significativas entre estadios. Blástula (BLA), vesícula óptica (VO), néurula (NE), pre-eclosión (PRE) y eclosión (ECL).

El contenido de ATP se vio influenciado significativamente por el estadio de desarrollo ( $P < 0.01$ ), mostrando un aumento progresivo y significativo desde el estadio de vesícula óptica ( $0.14 \pm 0.0$  nmol/ind) a la eclosión ( $0.21 \pm 0.01$  nmol/ind) (Fig. 15A, Tabla 6). El contenido de ADP también se vio significativamente influenciado por el estadio de desarrollo ( $P < 0.01$ ), con una disminución significativa desde el estadio de VO ( $0.084 \pm 0.002$  nmol/ind) hasta el estadio de PRE ( $0.068 \pm 0.001$  nmol/ind), seguida de un aumento significativo en la eclosión ( $0.102 \pm 0.005$  nmol/ind). Además, hubo efectos significativos de la temperatura y de la interacción ( $P < 0.05$ ), observados

principalmente en las larvas eclosionadas. En efecto, el contenido de ADP no aumentó al mismo ritmo en los regímenes de 26 y 30°C, comparado con las otras temperaturas (Fig. 15B).

El contenido de AMP solo tuvo un efecto significativo del estadio de desarrollo ( $P<0.01$ ), mostrando un contenido estable durante la embriogénesis temprana, seguido de un aumento significativo desde la pre-eclosión ( $0.004 \pm 0.00$  nmol/ind) a la eclosión ( $0.015 \pm 0.001$  nmol/ind) (Fig. 15C, Tabla 6). La CEA se mantuvo en valores altos cercanos a 0.8 que aumentaron significativamente desde el estadio de vesícula óptica ( $0.79 \pm 0.0$ ) hasta la pre-eclosión ( $0.86 \pm 0.00$ ), y luego disminuyó en la eclosión, alcanzando un valor similar al observado en la etapa de VO (Fig. 15D, Tabla 6).

El contenido de IMP fue significativamente influenciado por el estadio de desarrollo ( $P<0.01$ ), con un primer aumento en la pre-eclosión ( $0.12 \pm 0.01$  nmol/ind), y un aumento adicional de 2.6 veces en la eclosión ( $0.32 \pm 0.02$  nmol/ind). Además, la interacción también fue significativa ( $P<0.05$ ), ya que el aumento en la eclosión fue menos pronunciado a 26 y 30°C (Fig. 15E, Tabla 6). El contenido total de nucleótidos de adenina (NAT) solo tuvo un efecto significativo del estadio ( $P<0.01$ ), mostrando un aumento progresivo desde el estadio de vesícula óptica ( $0.23 \pm 0.0$  nmol/ind) hasta la eclosión ( $0.33 \pm 0.02$  nmol/ind) (Fig. 15F, Tabla 6).



**Figura 15.** Valores de nucleótidos de adenina en embriones de *Seriola rivoliana* expuestos a temperatura constante (20-30°C) (Bioensayo 1). (A) adenosin trifosfato (ATP), (B) adenosin difosfato (ADP), (C) adenosin monofosfato (AMP), (D) carga energética adenilica (CEA), (E) inosin monofosfato (IMP) y (F) nucleótidos adenilicos totales (NAT). Promedio  $\pm$  E. E. Los resultados del ANOVA bifactorial estan mostrados en la figura. Siguiendo un post hoc Tukey, las diferentes letras minúsculas representan la interaccion significativa entre el estadio (E) y la temperatura constante (TC), mientras que las letras mayúsculas indican las diferencias significativas entre estadios. Blástula (BLA), vesícula óptica (VO), néurula (NE), pre-eclosión (PRE) y eclosión (ECL).

### 7.3.2.1. Rango de temperaturas altas vs bajas

Tras agrupar y comparar los datos de las tres temperaturas más bajas (20, 22, 24°C) con los de las tres temperaturas más altas (26, 28, 30°C) en cada estadio de desarrollo (Tabla 7), los resultados del bioensayo 1 mostraron que los embriones incubados en el rango de temperaturas altas presentaron niveles significativamente más altos de carbohidratos en el estadio de VO, proteínas e IMP en el estadio de NE, TAG y volumen de gota de aceite en el estadio de PRE y TAG y CEA en el estadio de eclosión ( $P<0.05$ ). Por el contrario, los embriones incubados a baja temperatura presentaron niveles significativamente más altos de volumen de gota de aceite en el estadio de VO, lípidos totales en el estadio de PRE y lípidos totales, GA, ADP, AMP, IMP y TAN en el estadio de eclosión ( $P<0.05$ ).

En el bioensayo 4, la larva a la eclosión presentó mayores niveles de masa seca y lípidos totales a las temperaturas bajas, mientras un mayor volumen de gota de aceite se encontró a las temperaturas altas en este mismo estadio (Tabla 7b).

**Tabla 7.** Componentes medidos en los embriones y larvas de *Seriola rivoliana* incubados a temperaturas constantes frías (20-24°C) y cálidas (26-30°C) del bioensayo 1 (a) y bioensayo 4 (b). Promedio  $\pm$  E. E. Las diferencias significativas entre ambos rangos de temperatura están indicadas para cada estadio de desarrollo (ANOVA unifactorial, post-hoc Tukey).

a)

	Vesícula óptica		Néurula		Pre-eclosión		Eclosión	
	20-24°C	26-30°C	20-24°C	26-30°C	20-24°C	26-30°C	20-24°C	26-30°C
Peso seco ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	64.6 $\pm$ 0.4	65.4 $\pm$ 0.8	64.5 $\pm$ 0.7	64.8 $\pm$ 0.6	65.1 $\pm$ 0.5	64.3 $\pm$ 0.4	43.2 $\pm$ 1.1	45.9 $\pm$ 1.4
Proteína ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	22.8 $\pm$ 1.2	26.7 $\pm$ 1.5	21.7 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	24.7 $\pm$ 0.8 <sup>b</sup>	22.9 $\pm$ 1.2	23.4 $\pm$ 0.6	16.3 $\pm$ 0.7	17.0 $\pm$ 0.9
LT ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	12.3 $\pm$ 0.7	13.4 $\pm$ 0.3	14.9 $\pm$ 0.7	15.0 $\pm$ 1.0	15.3 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	13.6 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	14.9 $\pm$ 0.4 <sup>b</sup>	13.3 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>
TAG ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	6.4 $\pm$ 0.2	6.6 $\pm$ 0.2	5.2 $\pm$ 0.2	4.8 $\pm$ 0.2	3.7 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	4.4 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	0.4 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	1.1 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>
CH ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	0.30 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.41 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	0.35 $\pm$ 0.03	0.32 $\pm$ 0.03	0.36 $\pm$ 0.01	0.31 $\pm$ 0.02	0.34 $\pm$ 0.02	0.35 $\pm$ 0.04
GA ( $\times 10^{-3}$ mm <sup>3</sup> )	3.7 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	3.5 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	3.7 $\pm$ 0.1	3.8 $\pm$ 0.1	3.9 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	4.1 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	2.8 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	2.4 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>
ATP (nmol/ind)	0.14 $\pm$ 0.00	0.14 $\pm$ 0.01	0.18 $\pm$ 0.01	0.17 $\pm$ 0.01	0.20 $\pm$ 0.01	0.20 $\pm$ 0.01	0.23 $\pm$ 0.01	0.19 $\pm$ 0.02
ADP (nmol/ind)	0.083 $\pm$ 0.003	0.084 $\pm$ 0.003	0.080 $\pm$ 0.003	0.070 $\pm$ 0.004	0.067 $\pm$ 0.003	0.070 $\pm$ 0.001	0.115 $\pm$ 0.004 <sup>b</sup>	0.090 $\pm$ 0.009 <sup>a</sup>
AMP (nmol/ind)	0.006 $\pm$ 0.001	0.006 $\pm$ 0.001	0.007 $\pm$ 0.001	0.007 $\pm$ 0.001	0.004 $\pm$ 0.001	0.004 $\pm$ 0.000	0.019 $\pm$ 0.001 <sup>b</sup>	0.012 $\pm$ 0.002 <sup>a</sup>
CEA	0.79 $\pm$ 0.00	0.79 $\pm$ 0.01	0.82 $\pm$ 0.00	0.83 $\pm$ 0.01	0.86 $\pm$ 0.01	0.86 $\pm$ 0.00	0.79 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.81 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>
IMP (nmol/ind)	0.07 $\pm$ 0.00	0.07 $\pm$ 0.00	0.05 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	0.07 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	0.11 $\pm$ 0.01	0.12 $\pm$ 0.01	0.37 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.28 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
TAN (nmol/ind)	0.23 $\pm$ 0.01	0.23 $\pm$ 0.01	0.27 $\pm$ 0.01	0.25 $\pm$ 0.01	0.27 $\pm$ 0.01	0.27 $\pm$ 0.01	0.36 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.30 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>

b)

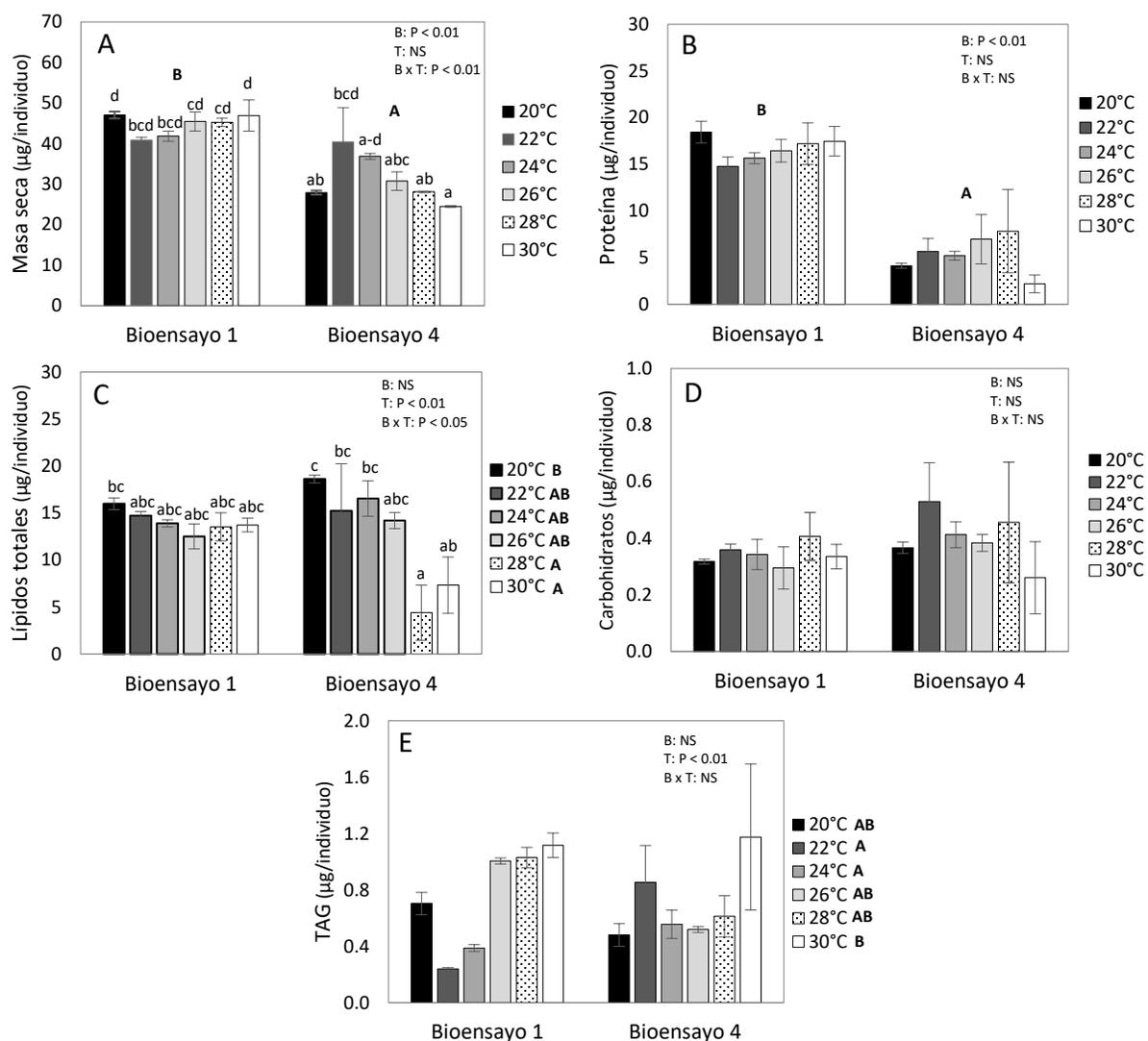
	Eclosión	
	20-24°C	26-30°C
Peso seco ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	35.0 $\pm$ 3.1 <sup>b</sup>	27.8 $\pm$ 1.1 <sup>a</sup>
Proteína ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	5.0 $\pm$ 0.5	5.7 $\pm$ 1.8
LT ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	16.8 $\pm$ 1.6 <sup>b</sup>	8.6 $\pm$ 1.9 <sup>a</sup>
TAG ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	0.44 $\pm$ 0.05	0.37 $\pm$ 0.08
CH ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	0.6 $\pm$ 0.1	0.8 $\pm$ 0.2
GA ( $\times 10^{-3}$ mm <sup>3</sup> )	2.7 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	3.1 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>

Lípidos totales (LT); Triacilglicéridos (TAG); Carbohidratos (CH); Gota de aceite (GA); Adenosin trifosfato (ATP); adenosin difosfato (ADP); adenosin monofosfato (AMP); carga energética adenilica (CEA); inosin monofosfato (IMP); nucleótidos adenilicos totales (NAT).

### **7.3.2.2. Influencia del bioensayo y la temperatura constante en la composición bioquímica de la larva eclosionada**

Al igual que para las variables morfométricas, se aplicó un análisis de varianza bifactorial (bioensayo × temperatura) para discernir entre el efecto del desove (diferente para cada bioensayo) y de la temperatura. Para el contenido de masa seca y lípidos totales en la larva eclosionada, la interacción entre el bioensayo y la temperatura fue significativa, indicando que la influencia de la temperatura dependió del desove o *visceversa* (Fig. 16). Así, para la masa seca, se observaron niveles menores en el bioensayo 4; sin embargo, este es el caso particularmente a las temperaturas extremas de 20, 28 y 30°C. En constraste, para los lípidos totales, el efecto de la temperatura con niveles menores a 28 y 30°C solo se observó para el bioensayo 4. Por otro lado, la proteína fue influenciada únicamente por el bioensayo, con un contenido mayor en el bioensayo 1 y más bajo en el bioensayo 4, mientras que los triacilglicéridos fueron únicamente influenciados por la temperatura con un mayor contenido a 30°C, intermedio a 20, 26 y 28°C y menor a 22 y 24°C.

## ECLOSIÓN



**Figura 16.** Influencia del bioensayo y la temperatura constante en la composición bioquímica de la larva eclosionada. Promedio  $\pm$  E. E. Los resultados del ANOVA bifactorial (bioensayo  $\times$  temperatura) están insertados en la figura. En caso de interacción significativa, las diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas (Tukey) entre medias individuales para las distintas combinaciones bioensayo-temperatura. Para los efectos significativos de cada factor, las letras mayúsculas indican las diferencias significativas entre las medias globales de cada bioensayo, independientemente de las temperaturas (dentro de la gráfica) así como para las medias globales de cada temperatura, independientemente del bioensayo (en la leyenda fuera de la gráfica). Sólo se analizaron los datos de los bioensayos 1 y 4, dado que en el bioensayo 3 sólo fue obtenido un dato de composición bioquímica.

## 7.4. Efecto de la temperatura oscilante

### 7.4.1. Morfología larval

La morfología de las larvas a la eclosión fue influenciada de manera significativa por los regímenes de temperatura oscilante (Tabla 8). En el bioensayo 2, una mayor longitud (LT, LE, LTRO) se observó en las larvas incubadas en la oscilación inicial ascendente (OIA), una intermedia en el control y una más pequeña en la oscilación inicial descendente (OID). La longitud de la aleta caudal fue mayor en la OIA y menor en el control y la OID. Por otro lado, el volumen del saco vitelino y la gota de aceite fueron menores en la OIA. Sin embargo, a la apertura de boca la morfología larval no fue significativamente afectada por las oscilaciones térmicas, excepto por la altura del miótomo 2 y el volumen de la gota de aceite considerablemente mayor en la OIA con respecto al control y la OID, mientras que el saco vitelino ya estaba completamente absorbido.

**Tabla 8.** Mediciones morfométricas a las temperaturas oscilantes del bioensayo 2. Promedio  $\pm$  D. E. Análisis unifactorial. Post hoc Tukey. Letras minúsculas diferentes, representan diferencias significativas entre los tratamientos.

mm	ECLOSIÓN			APERTURA DE BOCA		
	Control (25°C)	OID	OIA	Control (25°C)	OID	OIA
LT	2.90 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	2.83 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	3.02 $\pm$ 0.12 <sup>c</sup>	3.56 $\pm$ 0.10	3.52 $\pm$ 0.13	3.56 $\pm$ 0.14
LE	2.78 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	2.70 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	2.90 $\pm$ 0.13 <sup>c</sup>	3.41 $\pm$ 0.07	3.38 $\pm$ 0.11	3.42 $\pm$ 0.15
BA	1.58 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	1.53 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	1.61 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	1.72 $\pm$ 0.04	1.75 $\pm$ 0.04	1.71 $\pm$ 0.04
LTRO	1.24 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	1.19 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	1.27 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>	1.29 $\pm$ 0.03	1.32 $\pm$ 0.06	1.29 $\pm$ 0.05
LAC	1.32 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	1.30 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	1.41 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	1.84 $\pm$ 0.08	1.77 $\pm$ 0.13	1.89 $\pm$ 0.11
AAC	0.43 $\pm$ 0.04	0.41 $\pm$ 0.05	0.40 $\pm$ 0.10	0.49 $\pm$ 0.06	0.47 $\pm$ 0.09	0.51 $\pm$ 0.07
LC	0.34 $\pm$ 0.02	0.34 $\pm$ 0.02	0.34 $\pm$ 0.02	0.43 $\pm$ 0.02	0.42 $\pm$ 0.02	0.42 $\pm$ 0.03
AC	0.231 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.204 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.221 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.356 $\pm$ 0.02	0.418 $\pm$ 0.09	0.392 $\pm$ 0.04
DPO	0.18 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.17 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.18 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.24 $\pm$ 0.01	0.24 $\pm$ 0.02	0.23 $\pm$ 0.02
AM1	0.22 $\pm$ 0.02	0.20 $\pm$ 0.03	0.21 $\pm$ 0.02	0.24 $\pm$ 0.02	0.24 $\pm$ 0.02	0.23 $\pm$ 0.01
AM2	0.18 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.18 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.19 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.26 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.27 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.25 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
AM3	0.08 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.08 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.09 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.09 $\pm$ 0.00	0.10 $\pm$ 0.02	0.10 $\pm$ 0.02
VSV	0.17 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	0.18 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	0.13 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>			
VGA	4.4 $\pm$ 0.8 <sup>b</sup>	4.5 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup>	3.7 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	0.9 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	1.0 $\pm$ 0.3 <sup>ab</sup>	1.3 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>

Longitud total (LT); longitud estándar (LE); longitud de la boca al ano (BA); Longitud del tronco (LTRO); longitud de aleta caudal (LAC); altura de la aleta caudal (AAC); longitud de la cabeza (LC); altura de cabeza (AC); diámetro de pigmentación del ojo (DPO); altura 1 del miótomo (AM1); altura 2 del miótomo (AM2); altura 3 del miótomo (AM3); volumen del saco vitelino (VSV $\pm$ mm<sup>3</sup>); volumen de la gota de aceite (VGA $\times$  10<sup>-3</sup> $\pm$ mm<sup>3</sup>).

A diferencia del bioensayo anterior, en el bioensayo 3, la morfología de la larva eclosionada fue poco influenciada por las temperaturas oscilantes, con una longitud total mayor en el tratamiento control, intermedia en la OIA y una más pequeña en la OID (Tabla 9). Por otro lado, la altura de la aleta caudal fue mayor en el control y la OID y más pequeña en la OIA. A la apertura de boca las larvas incubadas en la OID alcanzaron una mayor longitud de la boca al ano (BA), una intermedia se observó en el control y una más pequeña en la OIA. El diámetro de pigmentación del ojo fue mayor en el control y la OIA con respecto a la OID. Al igual que el bioensayo 2, el saco vitelino ya había sido absorbido.

**Tabla 9.** Mediciones morfométricas a las temperaturas oscilantes del bioensayo 3. Promedio  $\pm$  D. E. Análisis unifactorial. Post hoc Tukey. Letras minúsculas diferentes, representan diferencias significativas entre los tratamientos.

Mm	ECLOSION			APERTURA DE BOCA		
	Control (25°C)	OID	OIA	Control (25°C)	OID	OIA
LT	2.69 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>	2.61 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	2.63 $\pm$ 0.08 <sup>ab</sup>	3.63 $\pm$ 0.13	3.58 $\pm$ 0.24	3.44 $\pm$ 0.14
LE	2.58 $\pm$ 0.09	2.50 $\pm$ 0.09	2.52 $\pm$ 0.08	3.47 $\pm$ 0.11	3.43 $\pm$ 0.25	3.28 $\pm$ 0.12
BA	1.54 $\pm$ 0.04	1.49 $\pm$ 0.06	1.50 $\pm$ 0.05	1.79 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>	1.81 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	1.71 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>
LTRO	1.22 $\pm$ 0.03	1.18 $\pm$ 0.04	1.19 $\pm$ 0.04	1.31 $\pm$ 0.09	1.31 $\pm$ 0.10	1.21 $\pm$ 0.05
LAC	1.14 $\pm$ 0.05	1.12 $\pm$ 0.05	1.11 $\pm$ 0.05	1.83 $\pm$ 0.08	1.77 $\pm$ 0.17	1.74 $\pm$ 0.10
AAC	0.40 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.40 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.36 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.50 $\pm$ 0.06	0.47 $\pm$ 0.04	0.49 $\pm$ 0.04
LC	0.33 $\pm$ 0.01	0.32 $\pm$ 0.02	0.32 $\pm$ 0.02	0.52 $\pm$ 0.06	0.52 $\pm$ 0.02	0.51 $\pm$ 0.07
AC	0.225 $\pm$ 0.01	0.222 $\pm$ 0.02	0.218 $\pm$ 0.02	0.579 $\pm$ 0.05	0.567 $\pm$ 0.04	0.609 $\pm$ 0.05
DPO	0.15 $\pm$ 0.01	0.15 $\pm$ 0.01	0.15 $\pm$ 0.01	0.26 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.23 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.26 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>
AM1	0.18 $\pm$ 0.01	0.17 $\pm$ 0.02	0.17 $\pm$ 0.01	0.20 $\pm$ 0.02	0.21 $\pm$ 0.02	0.21 $\pm$ 0.02
AM2	0.17 $\pm$ 0.02	0.16 $\pm$ 0.01	0.16 $\pm$ 0.01	0.22 $\pm$ 0.02	0.23 $\pm$ 0.02	0.22 $\pm$ 0.02
AM3	0.10 $\pm$ 0.01	0.09 $\pm$ 0.01	0.09 $\pm$ 0.01	0.16 $\pm$ 0.02	0.15 $\pm$ 0.02	0.14 $\pm$ 0.02
VSV	0.21 $\pm$ 0.04	0.24 $\pm$ 0.06	0.24 $\pm$ 0.08			
VGA	3.52 $\pm$ 0.54	4.00 $\pm$ 0.56	3.99 $\pm$ 0.56	0.43 $\pm$ 0.53	0.33 $\pm$ 0.13	0.72 $\pm$ 0.69

Longitud total (LT); longitud estándar (LE); longitud de la boca al ano (BA); Longitud del tronco (LTRO); longitud de aleta caudal (LAC); altura de la aleta caudal (AAC); longitud de la cabeza (LC); altura de cabeza (AC); diámetro de pigmentación del ojo (DPO); altura 1 del miótomo (AM1); altura 2 del miótomo (AM2); altura 3 del miótomo (AM3); volumen del saco vitelino (VSV $\pm$ mm<sup>3</sup>); volumen de la gota de aceite (VGA $\times$  10<sup>-3</sup> $\pm$ mm<sup>3</sup>).

La morfología de la larva eclosionada en el bioensayo 4 fue poco influenciada por los regímenes oscilantes de temperatura (Tabla 10). Las longitudes de la boca al ano y del tronco fueron mayores en la OID y menores en el control y la OIA. La altura de la aleta caudal fue mayor en el control,

intermedia en la OIA y menor en la OID. El saco vitelino fue más grande en las oscilaciones (OID y OIA) y más pequeño en el control. La gota de aceite fue más grande en la OIA, intermedia en la OID y más pequeña en el control.

A diferencia de los bioensayos anteriores, la morfología larval a la apertura de boca del bioensayo 4 fue muy influenciada por los regímenes oscilantes, en donde la longitud total y longitud de la boca al ano fueron mayores en la OID, intermedias en el control y menores en la OIA. La longitud estándar y del tronco fueron más grandes en la OID y más pequeñas en el control y la OIA. Por el contrario, la longitud y altura de la cabeza fueron mayores en el control, comparado con los tratamientos oscilantes (OID y OIA). Cabe mencionar que las larvas aún tenían un remanente del saco vitelino.

**Tabla 10.** Mediciones morfométricas a las temperaturas oscilantes del bioensayo 4. Promedio  $\pm$  D. E. Análisis unifactorial. Post hoc Tukey. Las diferentes letras minúsculas representan las diferencias significativas entre los tratamientos. El tratamiento control representa el promedio de las mediciones entre 24 y 26°C.

Mm	ECLOSION			APERTURA DE BOCA		
	Control (24 y 26°C)	OID	OIA	Control (24 y 26°C)	OID	OIA
LT	2.89 $\pm$ 0.13	2.94 $\pm$ 0.10	2.89 $\pm$ 0.07	3.40 $\pm$ 0.15 <sup>ab</sup>	3.47 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	3.36 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>
LE	2.77 $\pm$ 0.12	2.82 $\pm$ 0.10	2.77 $\pm$ 0.07	3.22 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	3.30 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	3.17 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>
BA	1.59 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	1.65 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	1.58 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	1.73 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	1.78 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>	1.69 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>
LTRO	1.28 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	1.34 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	1.26 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	1.36 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	1.42 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	1.34 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>
LAC	1.29 $\pm$ 0.08	1.29 $\pm$ 0.06	1.31 $\pm$ 0.05	1.66 $\pm$ 0.08	1.66 $\pm$ 0.06	1.64 $\pm$ 0.07
AAC	0.44 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.43 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.44 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.51 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	0.47 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.51 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>
LC	0.34 $\pm$ 0.02	0.34 $\pm$ 0.02	0.34 $\pm$ 0.02	0.38 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.36 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.36 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
AC	0.237 $\pm$ 0.02	0.241 $\pm$ 0.02	0.233 $\pm$ 0.01	0.500 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	0.449 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.447 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>
DPO	0.16 $\pm$ 0.02	0.16 $\pm$ 0.01	0.17 $\pm$ 0.01	0.23 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.23 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.22 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>
AM1	0.19 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.19 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.20 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.22 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.20 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.21 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>
AM2	0.18 $\pm$ 0.02	0.18 $\pm$ 0.01	0.18 $\pm$ 0.01	0.23 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.20 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.21 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
AM3	0.11 $\pm$ 0.01	0.11 $\pm$ 0.01	0.11 $\pm$ 0.01	0.16 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.15 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.15 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>
SV	0.15 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.18 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	0.19 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	0.01 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	0.01 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	0.01 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>
GA	2.90 $\pm$ 0.56 <sup>a</sup>	2.92 $\pm$ 0.59 <sup>ab</sup>	3.26 $\pm$ 0.70 <sup>b</sup>	1.03 $\pm$ 0.64	0.96 $\pm$ 0.31	0.82 $\pm$ 0.28

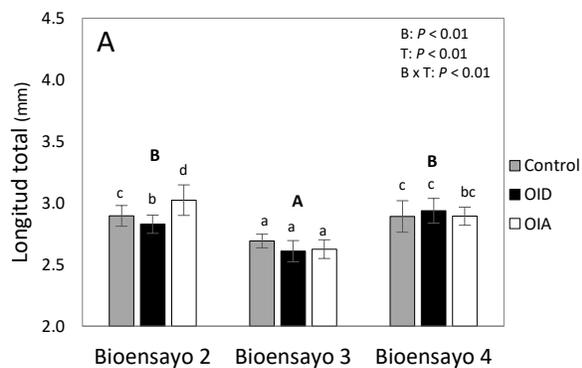
La descripción de los caracteres medidos se encuentra en la Tabla 9.

#### 7.4.1.1. Influencia del bioensayo y la temperatura oscilante en la morfología larval

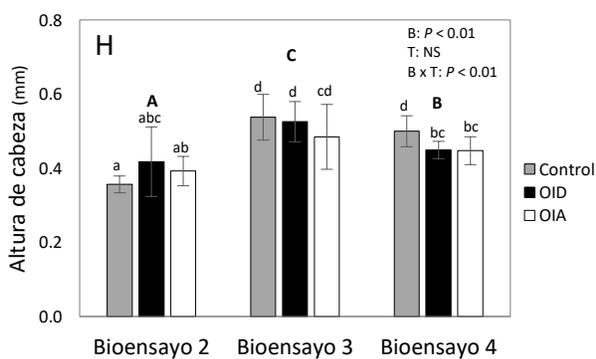
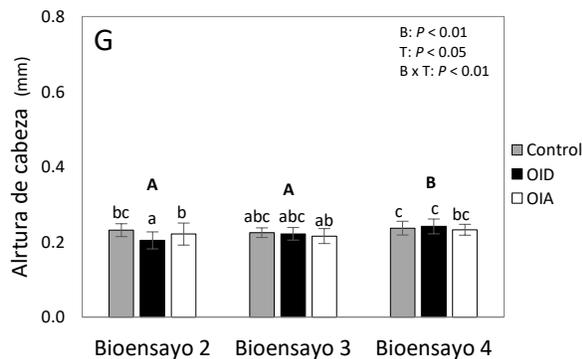
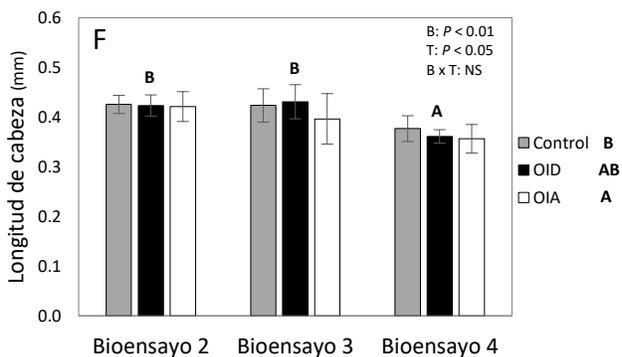
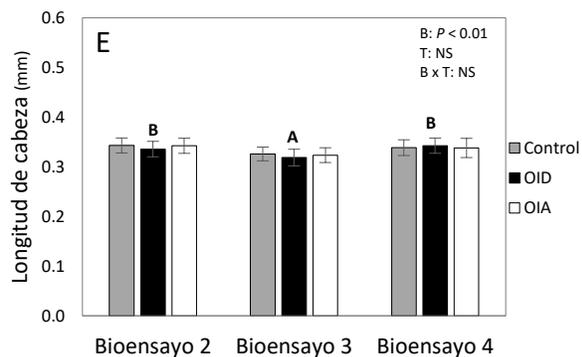
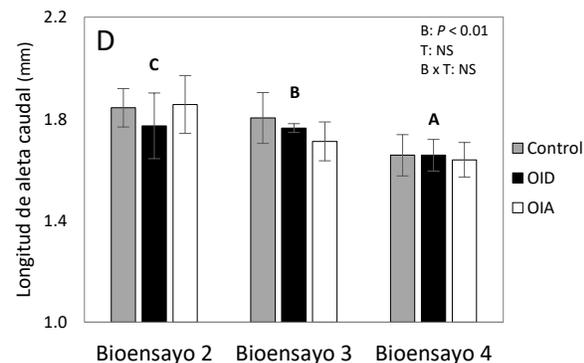
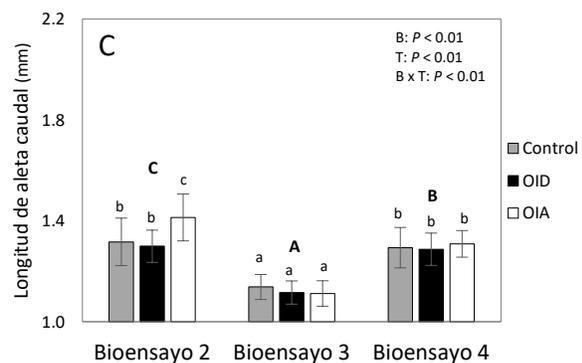
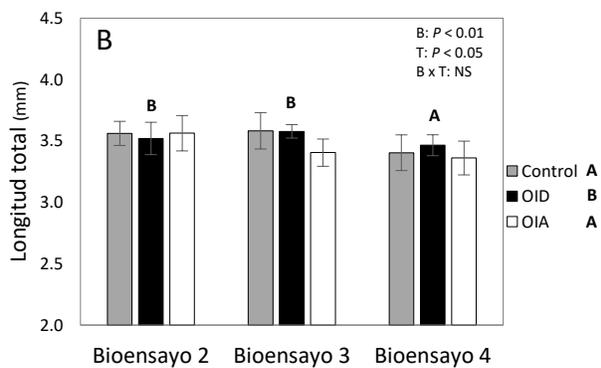
El efecto de la oscilación térmica fue altamente dependiente del desove como lo muestra la interacción significativa del ANOVA bifactorial (bioensayo  $\times$  temperatura) para la morfología de las larvas eclosionadas (Fig. 17). Por ejemplo, los valores significativamente mayores de longitud total (LT) y de la aleta caudal (LAC) para lo OIA solo se observaron en el bioensayo 2 en el cual a su vez se obtuvieron valores mayores que en los otros bioensayos. Para la altura de la cabeza, se observaron valores mayores en la OIA y en el control que en la OID únicamente para el bioensayo 2, aunque en este caso los valores más altos se obtuvieron en el bioensayo 4. En contraste, solo en el bioensayo 2, tanto el saco vitelino y la gota de aceite fueron significativamente menores que en el control y la OID.

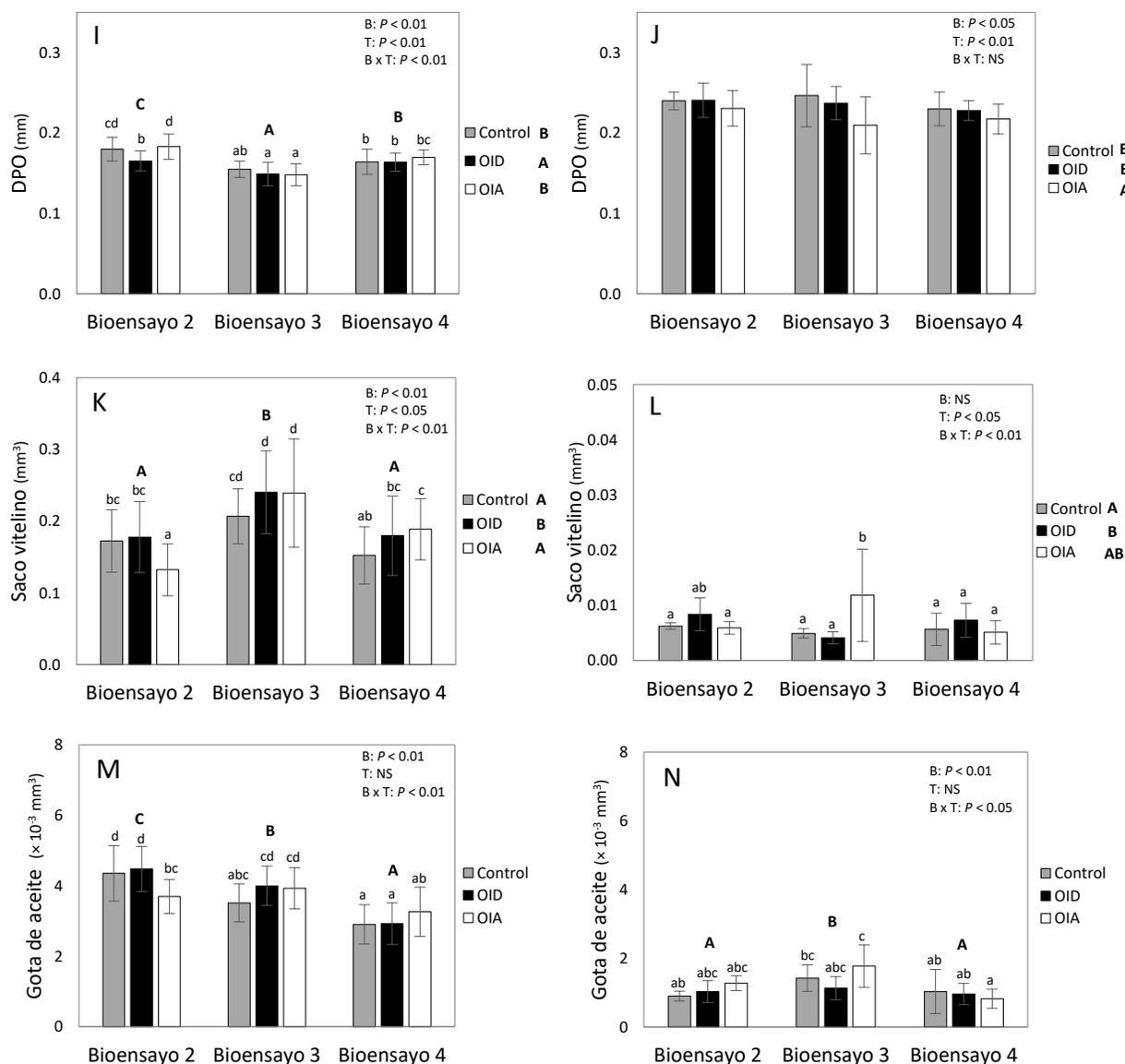
En el estadio de larva a la apertura de boca, hubo un menor número de variables para las cuales la interacción fue significativa, lo que indicó que el efecto de la temperatura fue hasta cierto punto más consistente para los distintos desoves. La longitud total fue influenciada por ambos factores por separado, con tallas mayores en el tratamiento OID y menores en la OIA y el control (Fig. 17B). Por otro lado, la longitud de la cabeza fue mayor en el control y más pequeña en OIA, con valores intermedios para OID (Fig. 17F). La altura de la cabeza dependió de la interacción entre el bioensayo y la temperatura oscilante, en donde las larvas del control tuvieron una mayor altura de cabeza con respecto a ambas oscilaciones térmicas, únicamente para el bioensayo 4 (Fig. 17H). El análisis bifactorial de la pigmentación del ojo indicó un mayor diámetro en el control y el tratamiento OID, y uno menor en la OIA (Fig. 17J). En general, las variables más relacionadas con el crecimiento como la longitud total y longitud de cabeza fueron menores en las larvas del bioensayo 4 con respecto al 2 y el 3 (Fig. 17B, F). Algo similar se observó para la longitud de la aleta caudal, aunque en este caso los valores fueron intermedios para el bioensayos 3 (Fig. 17D). El volumen del saco vitelino fue mayor en la OIA únicamente en el bioensayo 3 (Fig. 17L), mientras que en ese mismo bioensayo en general se observó el mayor volumen de gota de aceite, aunque no hubo diferencias entre los distintos regímenes térmicos en ningún bioensayo.

## ECLOSIÓN



## APERTURA DE BOCA





**Figura 17.** Influencia del bioensayo y la temperatura oscilante en la morfología larval. Promedio  $\pm$  D. E. Los resultados del ANOVA bifactorial (bioensayo  $\times$  temperatura) están insertados en la figura. En caso de interacción significativa, las diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas (Tukey) entre medias individuales para las distintas combinaciones bioensayo-temperatura. Para los efectos significativos de cada factor, las letras mayúsculas indican las diferencias significativas entre las medias globales de cada bioensayo, independientemente de las temperaturas (dentro de la gráfica) así como para las medias globales de cada temperatura, independientemente del bioensayo (en la leyenda fuera de la gráfica). DPO: diámetro de pigmentación del ojo.

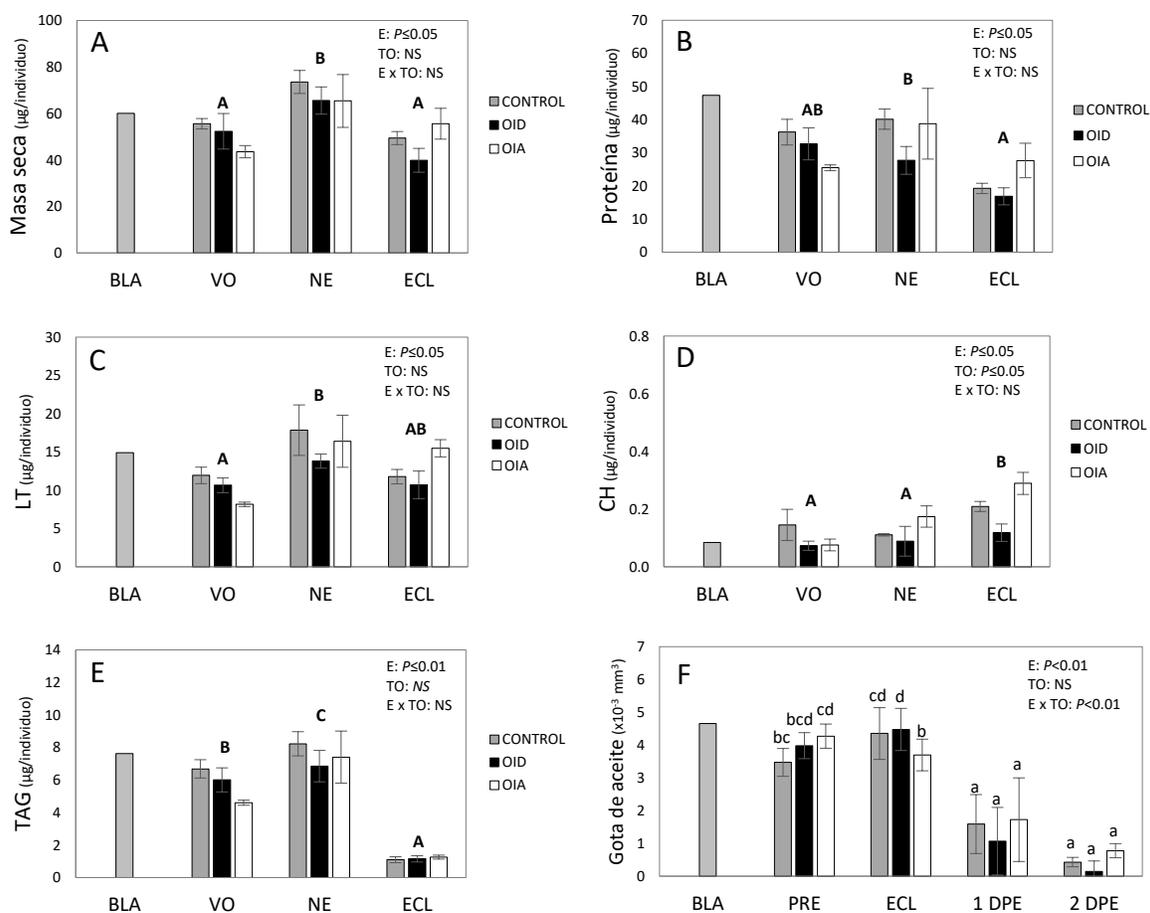
#### 7.4.2. Composición bioquímica, gota de aceite y nucleótidos de adenina

El ANOVA de dos vías mostró una mayor influencia del estadio de desarrollo que de la temperatura sobre la composición bioquímica del bioensayo 2. Los contenidos de masa seca y proteína se vieron significativamente influenciados solo por el estadio de desarrollo ( $P < 0.05$ ). Las medias globales de masa seca indicaron que los embriones aumentaron significativamente de peso en el estadio de néurula ( $68.2 \pm 4.2 \mu\text{g/ind}$ ), en comparación con el estadio de vesícula óptica ( $50.5 \pm 3.0 \mu\text{g/ind}$ ), y luego disminuyeron significativamente en la eclosión ( $49.1 \pm 3.3 \mu\text{g/ind}$ ) (Tabla 11). Una tendencia similar se observó para los niveles de proteína con una disminución significativa en la eclosión ( $21.7 \pm 2.4 \mu\text{g/ind}$ ), aunque sin una diferencia significativa entre los estadios de vesícula óptica ( $31.5 \pm 2.4 \mu\text{g/ind}$ ) y néurula ( $35.6 \pm 4.0 \mu\text{g/ind}$ ). El contenido de lípidos totales solo mostró un efecto significativo del estadio de desarrollo ( $P < 0.05$ ), con un aumento desde el estadio de vesícula óptica ( $10.2 \pm 0.7 \mu\text{g/ind}$ ) hasta néurula ( $16.0 \pm 1.5 \mu\text{g/ind}$ ), seguido de un descenso no significativo en la eclosión ( $12.8 \pm 0.9 \mu\text{g/ind}$ ). El contenido de carbohidratos también fue cuantitativamente mucho menor que el de lípidos y proteínas, pero estuvo significativamente influenciado por el estadio de desarrollo y las temperaturas oscilantes ( $P < 0.05$ ) (Fig. 18D). Los embriones aumentaron significativamente su contenido desde la néurula ( $0.12 \pm 0.02 \mu\text{g/ind}$ ) hasta la eclosión ( $0.21 \pm 0.03 \mu\text{g/ind}$ ). Por otro lado, hubo un nivel significativamente mayor de carbohidratos en la eclosión de la OIA ( $0.19 \pm 0.03 \mu\text{g/ind}$ ) que en la OID ( $0.09 \pm 0.02 \mu\text{g/ind}$ ), mientras que el grupo control (a  $25^\circ\text{C}$  constante) tuvo valores intermedios ( $0.16 \pm 0.02 \mu\text{g/ind}$ ). El contenido de TAG mostró un efecto significativo del estadio de desarrollo ( $P < 0.01$ ), con un aumento desde el estadio de vesícula óptica ( $5.8 \pm 0.4 \mu\text{g/ind}$ ) a la néurula ( $7.5 \pm 0.6 \mu\text{g/ind}$ ), seguido de una disminución significativa en la eclosión ( $1.21 \pm 0.1 \mu\text{g/ind}$ ). El volumen de la gota de aceite disminuyó significativamente entre la larva recién eclosionada y las larvas de 1 a 2 días de edad post-eclosión. Por otro lado, y tal como lo indica la interacción significativa, existió una disminución de la gota de aceite en el proceso de eclosión (etadios PRE y ECL) solo para la OIA.

**Tabla 11.** Dinámica de los parámetros medidos en la embriogénesis de *S. rivoli* del bioensayo 2. Promedio  $\pm$  E. E. Las letras minúsculas muestran las diferencias significativas obtenidas del análisis bifactorial por efecto del estadio. Post hoc Tukey.

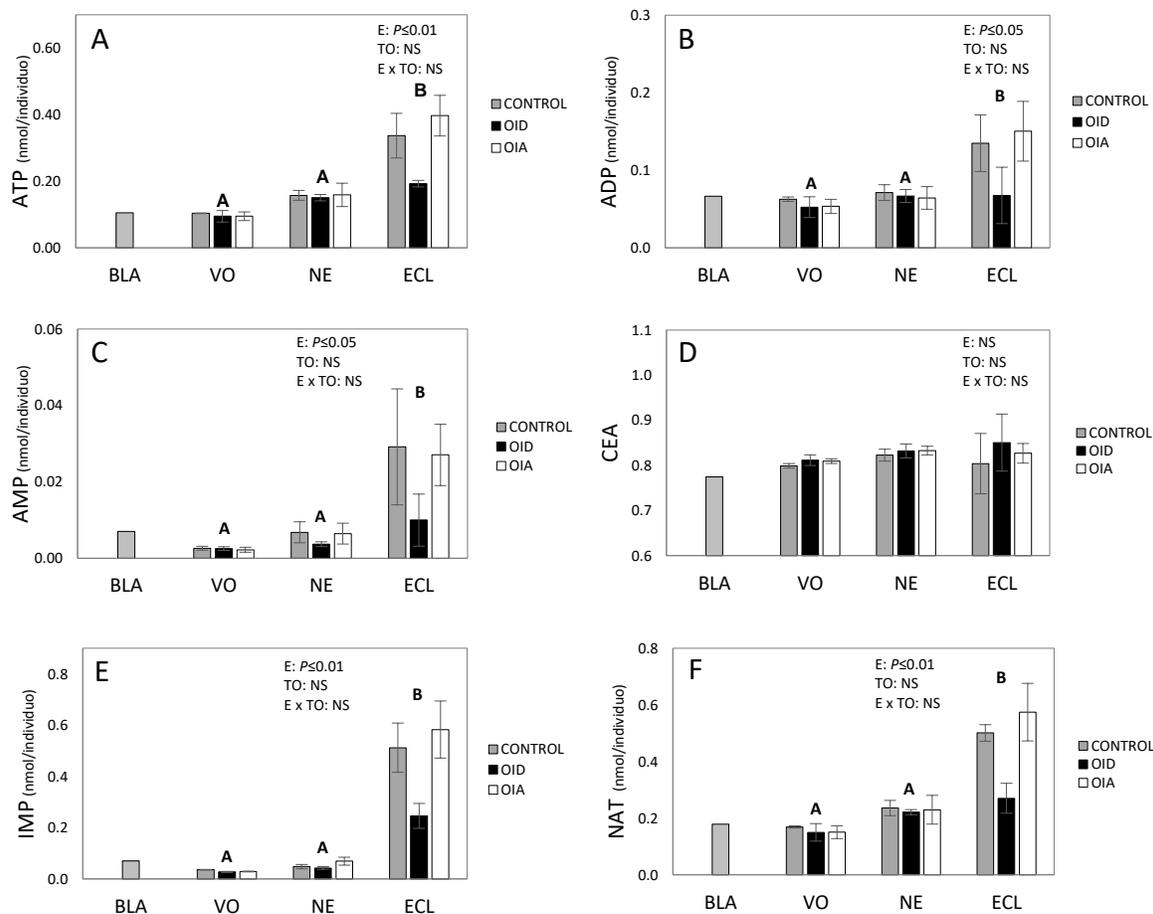
	<b>Blástula</b>	<b>Vesícula Óptica</b>	<b>Néurula</b>	<b>Pre-eclosión</b>	<b>Eclosión</b>
Masa seca ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	60	50.5 $\pm$ 3.0 <sup>a</sup>	68.2 $\pm$ 4.2 <sup>b</sup>		49.1 $\pm$ 3.3 <sup>a</sup>
Proteína ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	47	31.5 $\pm$ 2.4 <sup>b</sup>	35.6 $\pm$ 4.0 <sup>b</sup>		21.7 $\pm$ 2.4 <sup>a</sup>
Lípidos totales ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	15	10.2 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	16.0 $\pm$ 1.5 <sup>b</sup>		12.8 $\pm$ 0.9 <sup>ab</sup>
Carbohidratos ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	0.08	0.10 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.12 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>		0.21 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>
Triacilglicéridos ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	7.6	5.8 $\pm$ 0.4 <sup>b</sup>	7.5 $\pm$ 0.6 <sup>c</sup>		1.2 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>
Gota de aceite ( $\times 10^{-3} \text{ mm}^3$ )	4.7			4.0 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	4.2 $\pm$ 0.7 <sup>b</sup>
ATP (nmol/ind)	0.11	0.10 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.16 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>		0.33 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>
ADP (nmol/ind)	0.067	0.056 $\pm$ 0.005 <sup>a</sup>	0.067 $\pm$ 0.006 <sup>a</sup>		0.127 $\pm$ 0.023 <sup>b</sup>
AMP (nmol/ind)	0.007	0.002 $\pm$ 0.000 <sup>a</sup>	0.006 $\pm$ 0.001 <sup>a</sup>		0.024 $\pm$ 0.006 <sup>b</sup>
CEA	0.77	0.81 $\pm$ 0.00	0.83 $\pm$ 0.01		0.82 $\pm$ 0.02
IMP (nmol/ind)	0.07	0.03 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	0.05 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>		0.48 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>
NAT (nmol/ind)	0.18	0.16 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.23 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>		0.48 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>

Adenosin trifosfato (ATP); adenosin difosfato (ADP); adenosin monofosfato (AMP); carga energética adenilica (CEA); inosin monofosfato (IMP); nucleótidos adenilicos totales (NAT).



**Figura 18.** Valores bioquímicos en embriones de *Seriola rivoliana* expuestos a 25°C constante (control) y tratamientos con temperatura oscilante durante la incubación (21°C $\rightleftharpoons$ 29°C) (Bioensayo 2). (A) masa seca, (B) proteína, (C) lípidos totales (LT), (D) carbohidratos (CH), (E) triacilglicéridos (TAG) y (F) volumen de gota de aceite ( $\times 10^{-3} \text{ mm}^3$ ). Promedio  $\pm$  E. E. Los resultados del ANOVA bifactorial están mostrados en la figura. Siguiendo un post hoc Tukey, las letras minúsculas representan la interacción entre el estadio (E) y la temperatura oscilante (TO), mientras las diferentes letras mayúsculas indican las diferencias entre estadios. Blástula (BLA), vesícula óptica (VO), néurula (NE) y eclosión (ECL). DPE: días post-eclosión.

Todos los nucleótidos adenílicos (ATP, ADP, AMP), así como el IMP y el TAN, mostraron una variación significativa únicamente por el estadio de desarrollo ( $P < 0.05$ , Fig. 19). El contenido de ATP mostró un aumento progresivo y significativo desde el estadio de vesícula óptica ( $0.10 \pm 0.01$  nmol/ind) hasta la eclosión ( $0.33 \pm 0.04$  nmol/ind) (Tabla 11). Los contenidos de ADP, AMP, IMP y TAN mantuvieron niveles bajos durante las etapas VO y NE ( $\sim 0.060$ ,  $\sim 0.004$ ,  $\sim 0.04$  y  $\sim 0.20$  nmol/ind, respectivamente) y luego, todos ellos mostraron un aumento significativo en la eclosión ( $0.127 \pm 0.023$ ,  $0.024 \pm 0.006$ ,  $0.48 \pm 0.07$  y  $0.48 \pm 0.06$  nmol/ind, respectivamente). Aunque no fue significativo, hubo una tendencia en el tratamiento oscilante OID de presentar niveles más bajos en todos los nucleótidos en las larvas eclosionadas, en comparación con OIA y el control. Por último, la CEA se mantuvo en valores elevados por encima de 0.8 durante la embriogénesis y la eclosión sin ningún cambio significativo relacionado con la etapa de desarrollo y los regímenes de temperatura oscilante y el control.



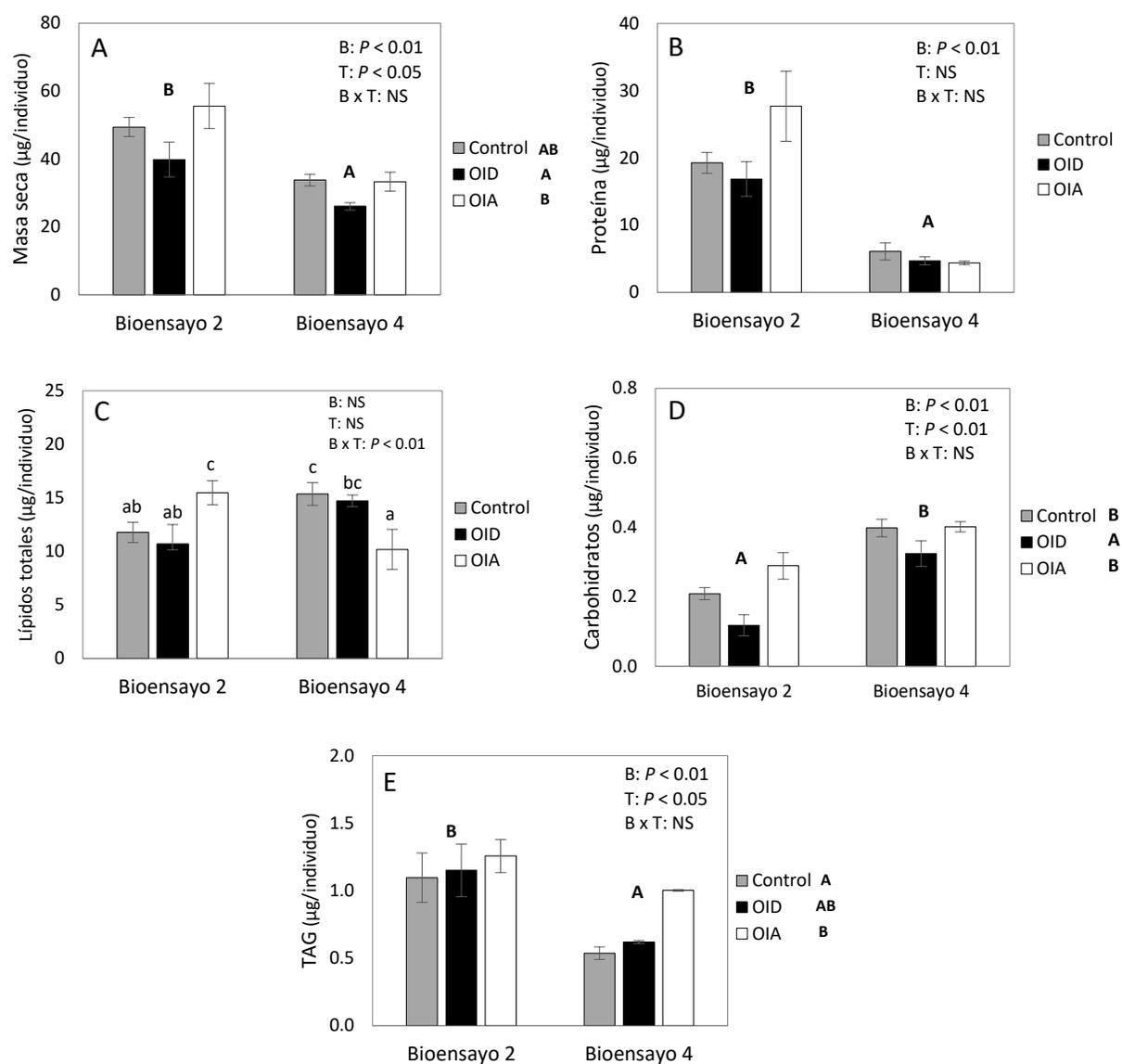
**Figura 19.** Valores de nucleótidos de adenina en embriones de *Seriola rivoliana* expuestos a 25°C constante (control) y tratamientos con temperatura oscilante durante la incubación (21°C  $\rightleftharpoons$  29°C) (Bioensayo 2). (A) adenosin trifosfato (ATP), (B) adenosin difosfato (ADP), (C) adenosin monofosfato (AMP), (D) carga energética adenilica (CEA), (E) inosin monofosfato (IMP) y (F) nucleótidos adenilicos totales (NAT). Promedio  $\pm$  E. E. Los resultados del ANOVA bifactorial están mostrados en la figura. Siguiendo un post hoc Tukey, las letras minúsculas representan la interacción entre el estadio (E) y la temperatura oscilante (TO), mientras las diferentes letras mayúsculas indican las diferencias entre estadios. Blástula (BLA), vesícula óptica (VO), néurula (NE) y eclosión (ECL).

#### **7.4.2.1. Influencia del bioensayo y la temperatura oscilante en la composición bioquímica de la larva en la eclosión**

Nuevamente, al realizar el análisis de varianza bifactorial con el fin de evaluar si el efecto del régimen de oscilación térmica era consistente para los diferentes bioensayos, únicamente para los lípidos se observó una diferencia significativa indicativa de una influencia del desove sobre el efecto de la variación térmica. Así, los niveles mayores de lípidos totales se observaron en la OIA en el bioensayo 2, mientras que en el bioensayo 4 fue lo contrario, con los menores niveles para este tratamiento (Fig. 20C).

Respecto a las diferencias entre bioensayos, se obtuvieron mayores contenidos de masa seca, proteína y TAG en el bioensayo 2 con respecto al bioensayo 4 (Fig. 20A, B y E, respectivamente). De manera contraria, el nivel de carbohidratos fue significativamente mayor en el bioensayo 4 comparado con el bioensayo 2 (Fig. 20D). El efecto del régimen térmico ya se describió en la sección 7.4.2. para el bioensayo 2 y no es necesario volver a resaltar las variaciones y dado que hubo consistencia entre bioensayos para la mayoría de las variables analizadas.

## ECLOSIÓN



**Figura 20.** Influencia del bioensayo y la temperatura oscilante en la composición bioquímica de la larva a la eclosión. Promedio  $\pm$  E. E. Los resultados del ANOVA bifactorial (bioensayo  $\times$  temperatura) están insertados en la figura. En caso de interacción significativa, las diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas (Tukey) entre medias individuales para las distintas combinaciones bioensayo-temperatura. Para los efectos significativos de cada factor, las letras mayúsculas indican las diferencias significativas entre las medias globales de cada bioensayo, independientemente de las temperaturas (dentro de la gráfica) así como para las medias globales de cada temperatura, independientemente del bioensayo (en la leyenda fuera de la gráfica). Sólo se analizaron los datos de los bioensayos 2 y 4, dado que en el bioensayo 3 sólo se obtuvo un dato de composición bioquímica.

#### 7.4.2.2. Influencia de la temperatura oscilante en la composición bioquímica de la larva a la apertura de boca

Este análisis solo se realizó en el bioensayo 4, en el cuál fue posible hacer el seguimiento de las larvas eclosionadas hasta el estadio de apertura de la boca. Así, estas larvas tuvieron un mayor contenido de lípidos totales y de carbohidratos en el tratamiento control, intermedio en la OIA y más bajo en la OID. De manera similar, el contenido de triacilglicéridos también fue mayor en el grupo control, aunque en este caso los niveles menores se observaron en la OIA (Tabla 12).

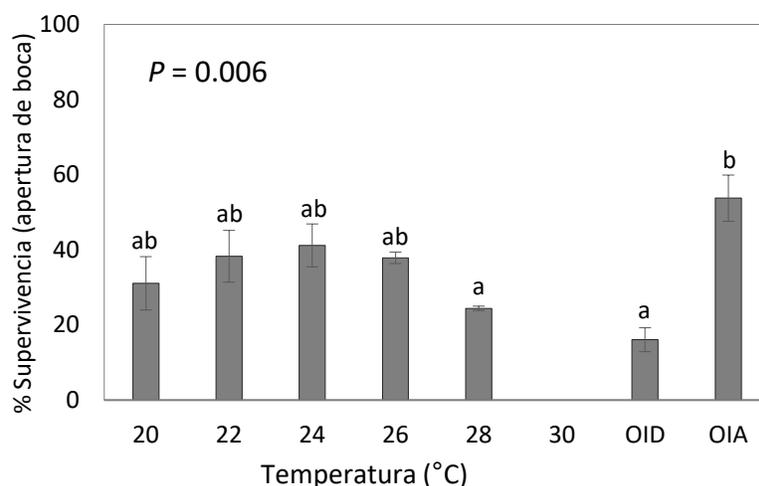
**Tabla 12.** Influencia de la temperatura oscilante en la composición bioquímica de la larva a la apertura de boca (bioensayo 4). Promedio  $\pm$  E. E. Las letras minúsculas muestran las diferencias significativas obtenidas del análisis unifactorial. Post hoc Tukey. El tratamiento control representa el promedio de los datos a 24 y 26°C constante.

	Control (24 y 26°C)	OID	OIA
Masa seca ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	26.0 $\pm$ 1.2	19.6 $\pm$ 4.1	20.5 $\pm$ 1.2
Proteína ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	5.1 $\pm$ 0.3	4.2 $\pm$ 0.8	4.2 $\pm$ 0.4
Lípidos totales ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	7.0 $\pm$ 0.8 <sup>b</sup>	2.4 $\pm$ 1.0 <sup>a</sup>	6.3 $\pm$ 0.6 <sup>ab</sup>
Carbohidratos ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	0.45 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.29 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	0.32 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>
Triacilglicéridos ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	1.14 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	0.92 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	0.72 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>
Gota de aceite ( $\times 10^{-3} \text{ mm}^3$ )	1.03 $\pm$ 0.07	0.96 $\pm$ 0.05	0.82 $\pm$ 0.04

### 7.5. Efecto de la temperatura constante y oscilante en un mismo desove

#### 7.5.1. Supervivencia a la apertura de boca

La supervivencia larvaria a la apertura de boca evaluada en el bioensayo 4, la cual fue nula a 30°C. Para las demás temperaturas tanto constantes como oscilantes, la supervivencia más alta se obtuvo en la OIA (54%), y las más bajas a 28°C y en la OID (24 y 16%, respectivamente), con valores intermedios a 20, 22, 24 y 26°C (31, 38, 41 y 38%, respectivamente) (Fig. 21).



**Figura 21.** Tasa de supervivencia larvaria a la apertura de boca (bioensayo 4). Promedio  $\pm$  E. E. Anova unifactorial. Post hoc Tukey. Las letras minúsculas muestran las diferencias significativas.

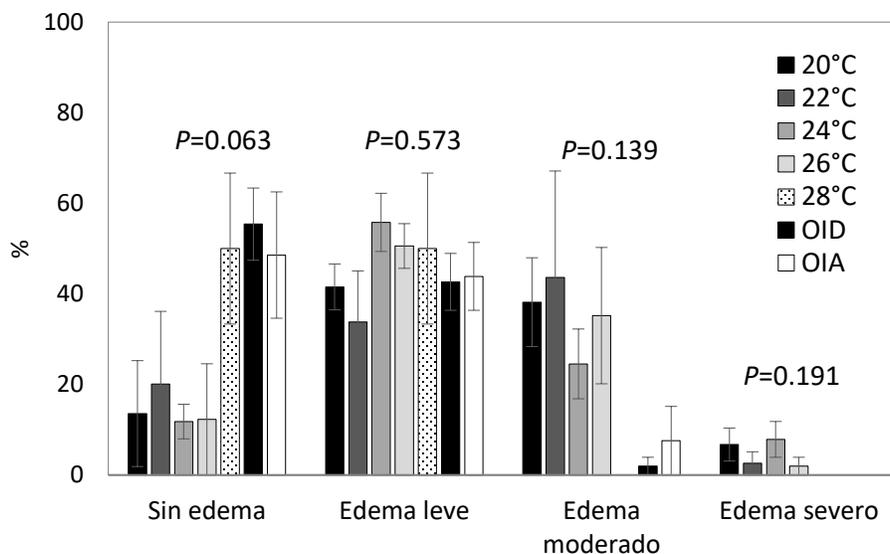
### 7.5.2. Incidencia de edema pericardico/vitelino en la larva a la apertura de boca

No se detectaron diferencias significativas en el porcentaje de larvas *sin edema*, sin embargo la comparación del porcentaje más bajo obtenido de 20 a 26°C (media global: 14.4%  $\pm$  5.1) y el más alto obtenido a 28°C y en ambos tratamientos con oscilación térmica (media global: 51.5%  $\pm$  6.2) resultó significativamente diferente ( $P < 0.01$ ) (Fig. 22).

El porcentaje de larvas con edema *leve* alcanzó una incidencia del 45.7% (media global) sin diferencias significativas entre tratamientos.

Por otro lado, el porcentaje de larvas con edema *moderado* fue más alto de 20 a 26°C (media global: 35.4%  $\pm$  6.8) y más bajo a 28°C y en los tratamientos con oscilación térmica (media global: 3.6%  $\pm$  2.8) ( $P < 0.01$ ).

Por último, el edema *severo* se presentó solamente de 20 a 26°C con una baja incidencia.



**Figura 22.** Porcentaje de larvas con edema en pericardio/vitelo a la apertura de boca (bioensayo 4). Promedio  $\pm$  E.E. Fue realizado un ANOVA unifactorial entre los tratamientos en cada grado de edema.

### 7.5.3. Morfología larval y crecimiento compensatorio

En el bioensayo 3, las diferencias significativas en longitud total que se observaron en la eclosión fueron menos evidentes al tercer día de desarrollo. Se observó que las larvas a 20°C, control (25°C) y en el tratamiento de OID tuvieron un crecimiento compensatorio evidente durante la absorción del vitelo, equiparando a las larvas a 22 y 24°C. Las larvas a 26°C y OIA fueron marginalmente más pequeñas, mientras que las larvas más pequeñas ocurrieron a 30°C. Cabe resaltar que el desarrollo de la cabeza y su proporción con respecto a la longitud del tronco fue óptimo entre 24 y 26°C y la OID. A temperaturas más bajas (20 y 22°C) se observó una tendencia en larvas con un tronco más largo y una cabeza más pequeña, mientras que en más altas (28 y 30°C y la OIA), un tronco más pequeño con una cabeza marginalmente menor que el óptimo. Finalmente, no se observó un patrón evidente en la aleta caudal (Tabla 13).

En el bioensayo 4, la longitud total de la larva eclosionada alcanzó tallas mayores a 20, 22, 24°C y en la OID, intermedias a 28°C y en la OIA, y más pequeñas a 26 y 30°C. Sin embargo, el saco vitelino tendió a ser significativamente mayor en temperaturas altas y en las oscilaciones. La longitud de la aleta caudal fue mayor a 24°C y menor a 26°C. Por otro lado, la longitud de la cabeza fue mayor

a 20, 22, 24°C y en la OID, y más pequeña a 30°C. La altura de la cabeza solo se diferenció entre 20 y 30°C, con una talla más grande y más pequeña, respectivamente. El diámetro de pigmentación del ojo fue mayor a 24, 28°C y en la OIA, y más pequeño a 26°C (Tabla 14).

**Tabla 13.** Mediciones morfométricas a las temperaturas constantes y oscilantes del bioensayo 3. Promedio  $\pm$  D. E. Análisis unifactorial. Post hoc Tukey. Letras minúsculas diferentes, indican diferencias significativas entre tratamientos. DPE: día post-eclosión

	mm	20°C	22°C	24°C	26°C	28°C	30°C	CTRL	OID	OIA
ECLOSIÓN	LT	2.77 $\pm$ 0.06 <sup>bc</sup>	2.97 $\pm$ 0.14 <sup>e</sup>	2.97 $\pm$ 0.10 <sup>e</sup>	2.91 $\pm$ 0.04 <sup>de</sup>	2.73 $\pm$ 0.06 <sup>bc</sup>	2.83 $\pm$ 0.07 <sup>cd</sup>	2.69 $\pm$ 0.06 <sup>ab</sup>	2.61 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	2.63 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>
	LAC	1.16 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>	1.35 $\pm$ 0.08 <sup>d</sup>	1.33 $\pm$ 0.05 <sup>d</sup>	1.32 $\pm$ 0.03 <sup>d</sup>	1.20 $\pm$ 0.05 <sup>bc</sup>	1.25 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>	1.14 $\pm$ 0.05 <sup>ab</sup>	1.12 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	1.11 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>
	LC	0.32 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.34 $\pm$ 0.01 <sup>cd</sup>	0.35 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	0.33 $\pm$ 0.02 <sup>bc</sup>	0.33 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.30 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.33 $\pm$ 0.01 <sup>bc</sup>	0.32 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.32 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>
	AC	0.215 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.255 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	0.240 $\pm$ 0.02 <sup>bc</sup>	0.230 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.220 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.236 $\pm$ 0.01 <sup>abc</sup>	0.225 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.222 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.218 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>
	DPO	0.13 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.17 $\pm$ 0.01 <sup>cd</sup>	0.17 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	0.16 $\pm$ 0.01 <sup>bcd</sup>	0.15 $\pm$ 0.01 <sup>bc</sup>	0.15 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.15 $\pm$ 0.01 <sup>bc</sup>	0.15 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.15 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>
	VSV	0.20 $\pm$ 0.06 <sup>ab</sup>	0.16 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.20 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>	0.18 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.21 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>	0.18 $\pm$ 0.05 <sup>ab</sup>	0.21 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>	0.24 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	0.24 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>
	VGA	3.60 $\pm$ 0.18 <sup>ab</sup>	3.25 $\pm$ 0.45 <sup>a</sup>	3.71 $\pm$ 0.47 <sup>ab</sup>	3.26 $\pm$ 0.40 <sup>a</sup>	3.86 $\pm$ 0.41 <sup>b</sup>	3.53 $\pm$ 0.24 <sup>ab</sup>	3.52 $\pm$ 0.54 <sup>ab</sup>	4.00 $\pm$ 0.56 <sup>b</sup>	3.99 $\pm$ 0.56 <sup>b</sup>
3 DPE	LT	3.69 $\pm$ 0.09 <sup>cd</sup>	3.67 $\pm$ 0.14 <sup>cd</sup>	3.72 $\pm$ 0.11 <sup>d</sup>	3.45 $\pm$ 0.10 <sup>bc</sup>	3.42 $\pm$ 0.14 <sup>b</sup>	3.10 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	3.63 $\pm$ 0.13 <sup>bcd</sup>	3.58 $\pm$ 0.24 <sup>bcd</sup>	3.44 $\pm$ 0.14 <sup>b</sup>
	LAC	1.83 $\pm$ 0.06 <sup>bcd</sup>	1.88 $\pm$ 0.08 <sup>cd</sup>	1.92 $\pm$ 0.04 <sup>d</sup>	1.71 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	1.72 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>	1.54 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	1.83 $\pm$ 0.08 <sup>bcd</sup>	1.77 $\pm$ 0.17 <sup>bc</sup>	1.74 $\pm$ 0.10 <sup>bc</sup>
	AAC	0.50 $\pm$ 0.06 <sup>ab</sup>	0.56 $\pm$ 0.03 <sup>bc</sup>	0.60 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	0.55 $\pm$ 0.03 <sup>bc</sup>	0.51 $\pm$ 0.05 <sup>ab</sup>	0.49 $\pm$ 0.05 <sup>ab</sup>	0.50 $\pm$ 0.06 <sup>ab</sup>	0.47 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.49 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>
	LC	0.38 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.42 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>	0.49 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>	0.49 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>	0.49 $\pm$ 0.04 <sup>bc</sup>	0.44 $\pm$ 0.04 <sup>abc</sup>	0.52 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>	0.52 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	0.51 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>
	AC	0.436 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.522 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	0.629 $\pm$ 0.05 <sup>d</sup>	0.576 $\pm$ 0.04 <sup>bcd</sup>	0.553 $\pm$ 0.02 <sup>bc</sup>	0.519 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	0.579 $\pm$ 0.05 <sup>bcd</sup>	0.567 $\pm$ 0.04 <sup>bcd</sup>	0.609 $\pm$ 0.05 <sup>cd</sup>
	LTRO	1.44 $\pm$ 0.06 <sup>e</sup>	1.40 $\pm$ 0.06 <sup>de</sup>	1.32 $\pm$ 0.06 <sup>cd</sup>	1.27 $\pm$ 0.04 <sup>bc</sup>	1.23 $\pm$ 0.04 <sup>abc</sup>	1.14 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	1.31 $\pm$ 0.09 <sup>bcd</sup>	1.31 $\pm$ 0.10 <sup>bcd</sup>	1.21 $\pm$ 0.05 <sup>ab</sup>
	DPO	0.23 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.24 $\pm$ 0.01 <sup>abc</sup>	0.25 $\pm$ 0.02 <sup>abc</sup>	0.24 $\pm$ 0.02 <sup>abc</sup>	0.24 $\pm$ 0.01 <sup>abc</sup>	0.23 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.26 $\pm$ 0.01 <sup>bc</sup>	0.23 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.26 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>
VGA	2.09 $\pm$ 0.63 <sup>b</sup>	1.95 $\pm$ 1.04 <sup>b</sup>	0.81 $\pm$ 0.73 <sup>a</sup>	0.51 $\pm$ 0.60 <sup>a</sup>	0.28 $\pm$ 0.52 <sup>a</sup>	0.86 $\pm$ 0.91 <sup>ab</sup>	0.43 $\pm$ 0.53 <sup>a</sup>	0.33 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	0.72 $\pm$ 0.69 <sup>a</sup>	

Longitud total (LT); longitud estándar (LE); longitud de aleta caudal (LAC); longitud de la cabeza (LC); altura de cabeza (AC); longitud del tronco (LTRO); diámetro de pigmentación del ojo (DPO); volumen del saco vitelino (VSV $\pm$ mm<sup>3</sup>); volumen de la gota de aceite (VGA  $\times$  10<sup>3</sup> $\pm$ mm<sup>3</sup>).

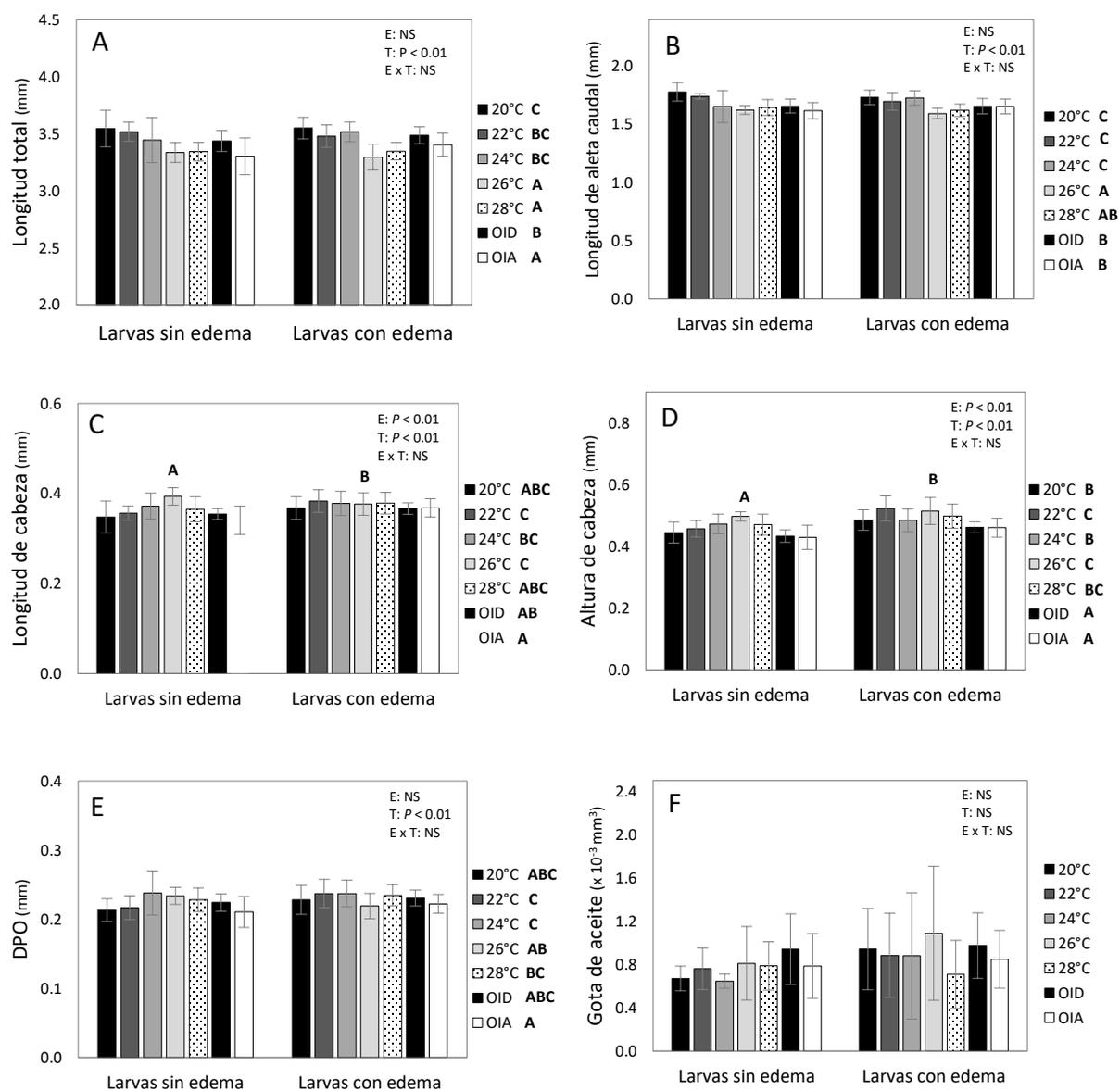
**Tabla 14.** Mediciones morfométricas a las temperaturas constantes y oscilantes del bioensayo 4. Prom.  $\pm$  D.E. Análisis unifactorial. Post hoc Tukey. Letras minúsculas diferentes, indican diferencias significativas entre tratamientos.

	mm	20°C	22°C	24°C	26°C	28°C	30°C	OID	OIA
ECLOSIÓN	LT	2.91 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	2.94 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	2.96 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>	2.80 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	2.89 $\pm$ 0.20 <sup>ab</sup>	2.81 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	2.94 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	2.89 $\pm$ 0.07 <sup>ab</sup>
	LAC	1.26 $\pm$ 0.05 <sup>ab</sup>	1.30 $\pm$ 0.07 <sup>abc</sup>	1.33 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>	1.24 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	1.30 $\pm$ 0.12 <sup>abc</sup>	1.26 $\pm$ 0.08 <sup>ab</sup>	1.29 $\pm$ 0.06 <sup>abc</sup>	1.31 $\pm$ 0.05 <sup>bc</sup>
	LC	0.35 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.35 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.34 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.33 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.33 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.33 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.34 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.34 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>
	AC	0.246 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.234 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.239 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.234 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.243 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.231 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.241 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.233 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>
	DPO	0.16 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.17 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.17 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.16 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.17 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.16 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.16 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.17 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>
	VSV	0.15 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>	0.15 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.14 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.17 $\pm$ 0.04 <sup>abc</sup>	0.16 $\pm$ 0.06 <sup>abc</sup>	0.18 $\pm$ 0.04 <sup>bc</sup>	0.18 $\pm$ 0.06 <sup>bc</sup>	0.19 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>
	VGA	2.67 $\pm$ 0.56 <sup>a</sup>	2.63 $\pm$ 0.51 <sup>a</sup>	2.78 $\pm$ 0.36 <sup>ab</sup>	3.07 $\pm$ 0.73 <sup>abc</sup>	3.23 $\pm$ 0.84 <sup>bc</sup>	3.12 $\pm$ 0.54 <sup>abc</sup>	2.92 $\pm$ 0.59 <sup>abc</sup>	3.26 $\pm$ 0.70 <sup>c</sup>
BOCA	LT	3.55 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>	3.49 $\pm$ 0.10 <sup>bc</sup>	3.51 $\pm$ 0.09 <sup>bc</sup>	3.30 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	3.35 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>		3.47 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	3.36 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>
	LAC	1.74 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>	1.70 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>	1.72 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>	1.60 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	1.63 $\pm$ 0.06 <sup>ab</sup>		1.66 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	1.64 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>
	LC	0.37 $\pm$ 0.03 <sup>abc</sup>	0.38 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	0.38 $\pm$ 0.03 <sup>bc</sup>	0.38 $\pm$ 0.02 <sup>bc</sup>	0.37 $\pm$ 0.03 <sup>abc</sup>		0.36 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.36 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
	AC	0.480 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	0.513 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>	0.487 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	0.513 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>	0.487 $\pm$ 0.04 <sup>bc</sup>		0.449 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.447 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>
	DPO	0.23 $\pm$ 0.02 <sup>abc</sup>	0.23 $\pm$ 0.02 <sup>cd</sup>	0.24 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>	0.22 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.23 $\pm$ 0.02 <sup>bcd</sup>		0.23 $\pm$ 0.01 <sup>a-d</sup>	0.22 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>
	VGA	0.91 $\pm$ 0.36	0.87 $\pm$ 0.37	1.00 $\pm$ 0.68	1.07 $\pm$ 0.60	0.74 $\pm$ 0.28		0.96 $\pm$ 0.31	0.82 $\pm$ 0.28

Longitud total (LT); longitud estándar (LE); longitud de aleta caudal (LAC); longitud de la cabeza (LC); altura de cabeza (AC); diámetro de pigmentación del ojo (DPO); volumen del saco vitelino (VSV $\pm$ mm<sup>3</sup>); volumen de la gota de aceite (VGA  $\times$  10<sup>-3</sup> $\pm$ mm<sup>3</sup>).

### **7.5.3.1. Efecto del edema en deformaciones corporales**

El análisis de varianza bifactorial (presencia de edema × régimen de temperatura) indicó que la presencia de edema no afectó la longitud total, longitud de aleta caudal y el diámetro de pigmentación del ojo a la apertura de boca y la gota de aceite (Fig. 23A, B, E y F). Tal como ya se había indicado (sección 7.5.3.), la temperatura provocó tallas mayores de longitud total entre 20 y 24°C y más pequeñas a 26, 28 y la OIA, independientemente del edema. El efecto de la temperatura ya descrito previamente se observó también para la aleta caudal, la longitud y la altura de la cabeza, así como para el diámetro de pigmentación del ojo. Sin embargo, la presencia de edema sí afectó significativamente las dimensiones de la cabeza (longitud y altura) (Fig. 23C y D), provocando tallas mayores debido a deformaciones de estos caracteres.



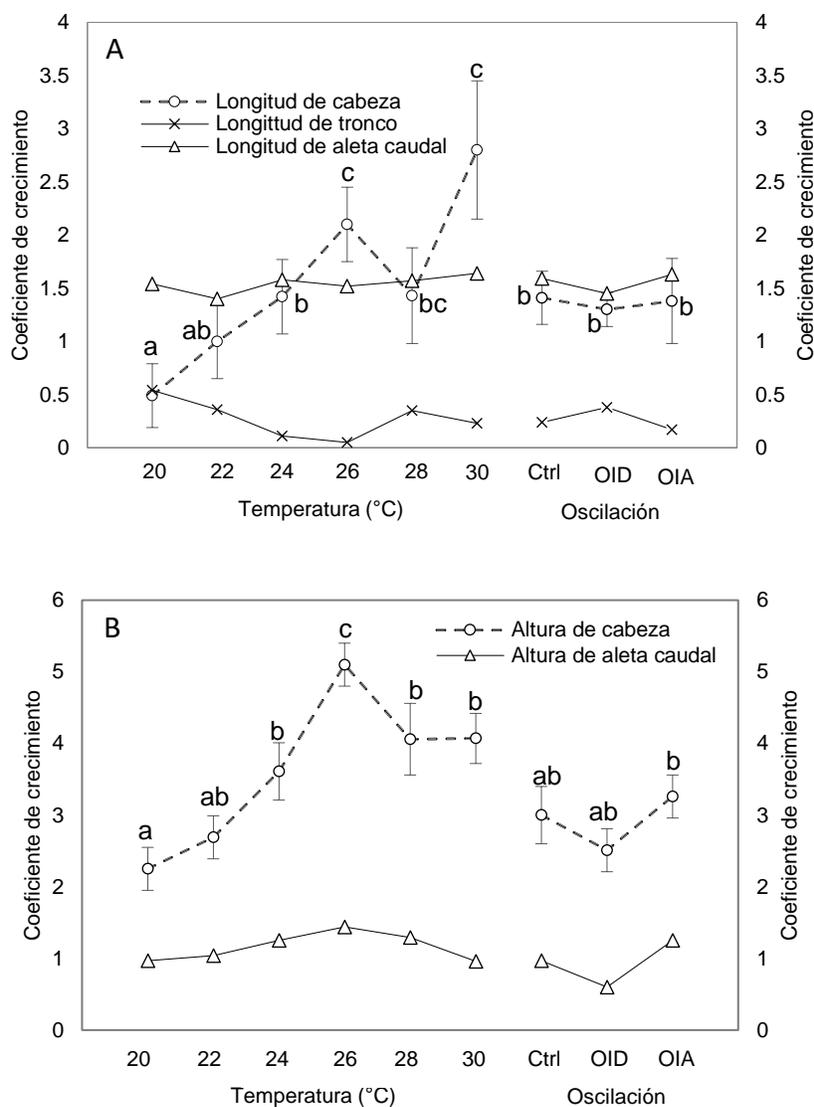
**Figura 23.** Influencia del edema pericárdico/vitelino y la temperatura en la morfología larval a la apertura de boca (bioensayo 4). Promedio  $\pm$  D. E. Los resultados del ANOVA bifactorial (edema  $\times$  temperatura) están insertados en la figura. En caso de interacción significativa, las diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas (Tukey) entre medias individuales para las distintas combinaciones edema-temperatura. Para los efectos significativos de cada factor, las letras mayúsculas indican las diferencias significativas entre las medias globales de las larvas sin y con edema, independientemente de las temperaturas (dentro de la gráfica) así como para las medias globales de cada temperatura, independientemente del edema (en la leyenda fuera de la gráfica). DPO: diámetro de pigmentación del ojo.

### 7.5.3.2. Crecimiento alométrico

Todas las mediciones estuvieron correlacionadas significativamente con la LT ( $P < 0.05$ ). Paralelas al eje: la LE y la LAC fueron las más altas ( $R^2 = 0.98$  y  $0.95$ ), seguido de BA ( $R^2 = 0.80$ ), DPO y LC ( $R^2 = 0.66$ ) y LTRO ( $R^2 = 0.57$ ). Perpendiculares: AC y AM2 ( $R^2 = 0.80$ ), AM3 ( $R^2 = 0.79$ ), AAC ( $R^2 = 0.75$ ) y AM1 ( $R^2 = 0.53$ ).

En el bioensayo 3, el crecimiento alométrico (ver sección 6.9. para sustento matemático) en las larvas mostró diferentes coeficientes de crecimiento en las longitudes corporales en paralelo al eje longitudinal. El diámetro promedio del ojo y la longitud de la aleta caudal (DPO y LAC) fueron positivamente alométricos, mientras que la longitud de la boca al ano (BA) y el tronco (LTRO) fueron negativamente alométricos. Todos los coeficientes de crecimiento de estas longitudes corporales fueron similares entre los tratamientos de temperatura. Sin embargo, los coeficientes de crecimiento para la longitud de la cabeza (LC) mostraron una gran variación con la temperatura. Fueron negativos a  $20^{\circ}\text{C}$ , isométricos a  $22^{\circ}\text{C}$  y positivamente alométricos de  $24$  a  $30^{\circ}\text{C}$  y en los tratamientos oscilantes OID y OIA. Adicionalmente, LC mostró diferencias significativas entre  $20$  y  $24^{\circ}\text{C}$  vs  $26$  a  $30^{\circ}\text{C}$ , en donde  $26$  y  $30^{\circ}\text{C}$  tuvieron el mayor desarrollo de LC (Fig. 24).

Las longitudes corporales perpendiculares del miotómo (AM2) y la altura de la aleta caudal (AAC) fueron prácticamente isométricos, mientras que AM1 fue alométrico negativo. El resto de las longitudes corporales fueron positivamente alométricas. Los coeficientes de crecimiento para la altura de la cabeza (AC) tuvieron una variación significativa con la temperatura. El mayor coeficiente de crecimiento se observó a  $26^{\circ}\text{C}$ , seguido de  $28$  y  $30^{\circ}\text{C}$ ; luego de  $22$  y  $24^{\circ}\text{C}$  y el valor más bajo a  $20^{\circ}\text{C}$ . El coeficiente de crecimiento para AC en el tratamiento OID fue similar a  $24^{\circ}\text{C}$ , mientras que en el tratamiento OIA fue similar a  $22^{\circ}\text{C}$  (Fig. 24).



**Figura 24.** Coeficientes de crecimiento alométrico en longitudes paralelas (a) y perpendiculares (b) al eje longitudinal en el desove 3 a temperaturas constantes (20 a 30°C) y oscilantes. Oscilación inicial descendente (OID), oscilación inicial ascendente (OIA) y control (25°C). Diferentes letras indican diferencias significativas (prueba de *t* y 95% intervalos de confianza de las pendientes).

### 7.5.3.3. Absorción del vitelo y gota de aceite

En larvas del bioensayo 3, la mayor parte de la absorción del saco vitelino (70 a 84%) ocurrió en el transcurso de las primeras 24 h (día 1) después de la eclosión en todos los tratamientos. El análisis de ANOVA en el día 1 mostró una diferencia significativa en el volumen del saco vitelino ( $P < 0.05$ ), pero el análisis posterior de las medias indicó que la mayoría de los tratamientos no fueron significativamente diferentes entre sí, excepto por un valor más alto para la OID pero sin

diferencia con respecto a los grupos del mismo bioensayo (control y OIA). No obstante, el porcentaje promedio de la tasa de absorción del saco vitelino por hora a las 24 h (%SVH24) aumentó de 3% a 20°C a 3.5% a 28°C, disminuyendo a 3.35% a 30°C. El control a 25°C (3.3%) y el tratamiento de oscilación inicial ascendente (OIA) (3.2%) fueron similares, mientras que el tratamiento inicial descendente (OID) (2.9%) fue similar a las larvas a 20°C. Al día 2 (48 h), las larvas absorbieron 84, 86 y 92% a 20, 22 y 24°C, respectivamente, mientras que en el resto de los tratamientos el saco vitelino ya estaba agotado (Tabla 15), prevaleciendo únicamente la gota de aceite, tal como se describe mas adelante.



Las tasas de utilización de la gota de aceite dependieron de la temperatura y fueron significativamente diferentes en las larvas a 20°C, que tuvieron la tasa de utilización más lenta ( $P < 0.05$ ), seguida de las larvas a 22°C ( $P < 0.05$ ) y 24°C ( $P < 0.05$ ). No se obtuvieron diferencias significativas entre larvas a 26, 28 y 30°C ( $P > 0.05$ ), y entre tratamientos oscilantes y el control a 25°C ( $P > 0.05$ ) (Tabla 16). Después de 24 h, la gota de aceite se absorbió de un 40 al 64 % en todos los tratamientos larvarios, excepto en las larvas a 20°C (11%). El porcentaje promedio de tasa de absorción de la gota de aceite por hora aumentó progresivamente de 0.5% a 20°C a 2.7% a 30°C. Se observaron valores similares entre el control a 25°C (1.8%) y el tratamiento OID (1.7%), mientras que se obtuvo un valor mayor en el tratamiento OIA (2.2%), similar a las larvas a 24°C en temperatura constante (2.2%) y 26°C (2.4%). Después de 48 h, la absorción de la gota de aceite no cambió mucho en la mayoría de los tratamientos (57 a 63%), aunque las larvas a 20°C utilizaron solo el 34.9%. A las 72 h, las larvas de 24 a 30°C, el control a 25°C y los tratamientos oscilantes estuvieron próximos al agotamiento de la gota de aceite (75 a 93%), mientras que las larvas a 20 y 22°C apenas absorbieron alrededor del 40% solamente.

**Tabla 16.** Utilización de la gota de aceite (bioensayo 3). Volumen de la gota de aceite ( $\times 10^3 \pm$  DE  $\text{mm}^3$ ) en la eclosión ( $\text{VGA}_0$ ), y a las 24, 48 y 72 h post-eclosión ( $\text{VGA}_{24}$ ,  $\text{VGA}_{48}$  y  $\text{VGA}_{72}$ , respectivamente). Porcentaje de absorción de la gota de aceite a partir de la eclosión hasta las 24, 48 y 72 h post eclosión ( $\% \text{GA}_{24}$ ,  $\% \text{GA}_{48}$  y  $\% \text{GA}_{72}$ , respectivamente). Porcentaje de tasa de absorción por hora ( $\% \text{GA}^{\text{H}}$ ) a partir de la eclosión hasta las 24, 48 y 72 h post eclosión ( $\% \text{GA}^{\text{H}24}$ ,  $\% \text{GA}^{\text{H}48}$  y  $\% \text{GA}^{\text{H}72}$ , respectivamente). Temperaturas constantes (20 to 30°C), control (25°C) y temperaturas oscilantes durante la incubación de huevos (OID y OIA), las cuales se mantuvieron a 25 °C después de la eclosión. En el último renglón se presentan las tasas de utilización del VGA mediante una regresión lineal logarítmica hasta las 72 h y analizados con un ANCOVA, utilizando los grados-día como covariable. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

	20°C	22°C	24°C	26°C	28°C	30°C	Control	OID	OIA
$\text{VGA}_0$	3.6±0.2 <sup>ab</sup>	3.3±0.5 <sup>a</sup>	3.7±0.5 <sup>ab</sup>	3.3±0.4 <sup>a</sup>	3.9±0.4 <sup>b</sup>	3.5±0.2 <sup>ab</sup>	3.5±0.5 <sup>ab</sup>	4.0±0.5 <sup>b</sup>	3.9±0.6 <sup>b</sup>
$\text{VGA}_{24}$	3.18 <sup>c</sup>	1.53 <sup>ab</sup>	1.75 <sup>ab</sup>	1.38 <sup>b</sup>	1.60 <sup>ab</sup>	1.24 <sup>a</sup>	1.97 <sup>ab</sup>	2.38 <sup>bc</sup>	1.80 <sup>ab</sup>
$\text{VGA}_{48}$	2.34 <sup>b</sup>	1.39 <sup>a</sup>	1.41 <sup>ab</sup>	1.28 <sup>a</sup>	1.55 <sup>ab</sup>	1.36 <sup>a</sup>	1.33 <sup>a</sup>	1.60 <sup>ab</sup>	1.46 <sup>ab</sup>
$\text{VGA}_{72}$	2.09 <sup>b</sup>	1.95 <sup>b</sup>	0.80 <sup>a</sup>	0.50 <sup>a</sup>	0.27 <sup>a</sup>	0.86 <sup>ab</sup>	0.43 <sup>a</sup>	0.33 <sup>a</sup>	0.71 <sup>a</sup>
$\% \text{GA}_{24}$	11.32	53.63	52.67	52.42	58.48	64.6	43.72	40.43	53.96
$\% \text{GA}_{48}$	34.91	57.87	61.98	60.65	59.76	61.44	62.12	59.98	62.80
$\% \text{GA}_{72}$	41.85	40.00	78.21	84.46	92.84	75.53	87.66	91.68	81.79
$\% \text{GA}^{\text{H}24}$	0.47	2.23	2.19	2.39	2.43	2.69	1.82	1.68	2.24
$\% \text{GA}^{\text{H}48}$	0.72	2.41	1.29	1.26	1.24	1.28	1.29	1.24	1.30
$\% \text{GA}^{\text{H}72}$	0.58	0.55	1.08	1.17	1.28	1.04	1.21	1.27	1.13
GA	-0.11 <sup>a</sup>	-0.15 <sup>b</sup>	-0.35 <sup>c</sup>	-0.45 <sup>cd</sup>	-0.58 <sup>d</sup>	-0.37 <sup>cd</sup>	-0.47 <sup>cd</sup>	-0.43 <sup>cd</sup>	-0.38 <sup>cd</sup>

#### 7.5.4. Composición bioquímica y gota de aceite

Debido a que en el bioensayo 3 solo se obtuvo una réplica por tratamiento, no fue posible obtener el análisis estadístico de la composición bioquímica, sin embargo debido al bajo efecto de la temperatura observado en los bioensayos anteriores, fueron promediadas las temperaturas para obtener la dinámica de los componentes respecto al desarrollo embrionario y larvario temprano de este bioensayo. Como se observa en la Tabla 17, el contenido de masa seca se mantuvo estable en el embrión, una disminución significativa se tuvo en la eclosión y otra al día 1 post eclosión, manteniéndose estable al día 2 post-eclosión. El contenido de proteína disminuyó significativamente hasta la eclosión, manteniéndose sin cambios en los primeros dos días post-eclosión. Los lípidos totales tuvieron una acumulación significativa en el embrión en néurula, con una disminución significativa en la eclosión y otra al día 2 post-eclosión. El contenido de TAG disminuyó progresivamente del embrión en VO hasta la eclosión, manteniéndose sin cambios en la larva. La gota de aceite tuvo un aumento significativo de VO a NE, y una disminución progresiva fue observada de PRE al día 2 post-eclosión.

**Tabla 17.** Dinámica de los parámetros medidos durante la alimentación endógena de *S. rivoliiana* en el bioensayo 3. Promedio  $\pm$  E. E. de los tratamientos 28°C, 30°C, control, OID y OIA. Letras minúsculas diferentes muestran diferencias significativas obtenidas del análisis unifactorial. Post hoc Tukey. DPE: día post-eclosión

	Blástula	Ves. Óptica	Néurula	Pre-eclosión	Eclosión	1 DPE	2 DPE
Masa seca ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	71	68.2 $\pm$ 0.8 <sup>c</sup>	67.8 $\pm$ 0.6 <sup>c</sup>	69.6 $\pm$ 1.2 <sup>c</sup>	42.8 $\pm$ 1.3 <sup>b</sup>	35.3 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	33.2 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>
Proteína ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	17	16.3 $\pm$ 0.7 <sup>b</sup>	16.2 $\pm$ 0.8 <sup>b</sup>	16.2 $\pm$ 0.4 <sup>b</sup>	11.4 $\pm$ 1.0 <sup>a</sup>	10.4 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	11.1 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>
Lípidos totales ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	9	11 $\pm$ 0.4 <sup>bc</sup>	11.8 $\pm$ 0.5 <sup>c</sup>	10.0 $\pm$ 0.6 <sup>bc</sup>	9.3 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	5.5 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	3.9 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>
Carbohidratos ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	11	0.47 $\pm$ 0.11	0.56 $\pm$ 0.07	0.53 $\pm$ 0.04	0.42 $\pm$ 0.05	0.49 $\pm$ 0.00	0.44 $\pm$ 0.06
Triacilglicéridos ( $\mu\text{g}/\text{ind}$ )	8	7.5 $\pm$ 1.1 <sup>c</sup>	5.6 $\pm$ 0.3 <sup>bc</sup>	4.4 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	0.9 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	0.6 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	0.4 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>
Gota de aceite ( $\times 10^{-3} \text{ mm}^3$ )	4.3	2.6 $\pm$ 0.0 <sup>c</sup>	4.3 $\pm$ 0.0 <sup>e</sup>	4.3 $\pm$ 0.1 <sup>e</sup>	3.8 $\pm$ 0.1 <sup>d</sup>	2.1 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	1.3 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>

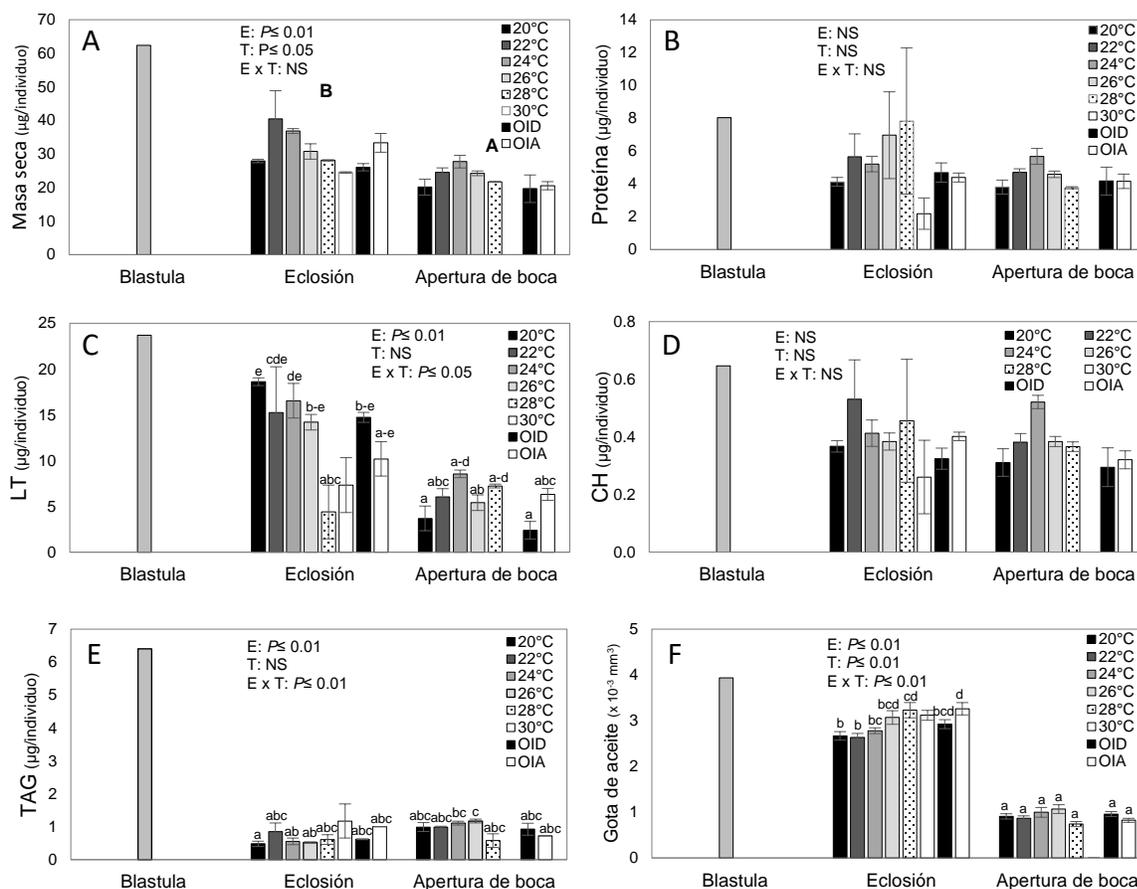
En el bioensayo 4, los cambios bioquímicos a la largo del desarrollo embrionario se reportan en la sección 7.5.4., mientras que en esta sección se reportan los datos obtenidos posteriores a la eclosión. El contenido de masa seca fue influenciado por el estadio de desarrollo ( $P < 0.05$ ), presentando una disminución significativa de la larva eclosionada ( $32.1 \pm 1.6 \mu\text{g}/\text{ind}$ ) a la larva con apertura de boca ( $22.7 \pm 0.9 \mu\text{g}/\text{ind}$ ) (Fig. 25A, Tabla 18). Adicionalmente, la masa seca

también fue influenciada de manera significativa por la temperatura ( $P<0.05$ ), con un contenido mayor a 22°C ( $32.5 \pm 5.2 \mu\text{g/ind}$ ), intermedio a 20, 24, 26, 28 y OIA ( $24.0 \pm 2.0$ ,  $32.3 \pm 2.2$ ,  $27.5 \pm 1.8$ ,  $25.0 \pm 1.9$  y  $26.9 \pm 3.2 \mu\text{g/ind}$  respectivamente) y más bajo en OID ( $22.8 \pm 2.4 \mu\text{g/ind}$ ). El contenido de proteína se mantuvo sin cambios significativos (Fig. 25B). El nivel de lípidos totales fue influenciado significativamente por el estadio ( $P<0.01$ ), con una disminución significativa de la eclosión ( $14.0 \pm 1.2 \mu\text{g/ind}$ ) a la larva con apertura de boca ( $5.6 \pm 0.5 \mu\text{g/ind}$ ); sin embargo, la interacción ( $P<0.05$ ) indicó que esta disminución no fue homogénea para todas las temperaturas (Fig. 25C). Los niveles de carbohidratos se mantuvieron sin cambios significativos (Fig. 25D).

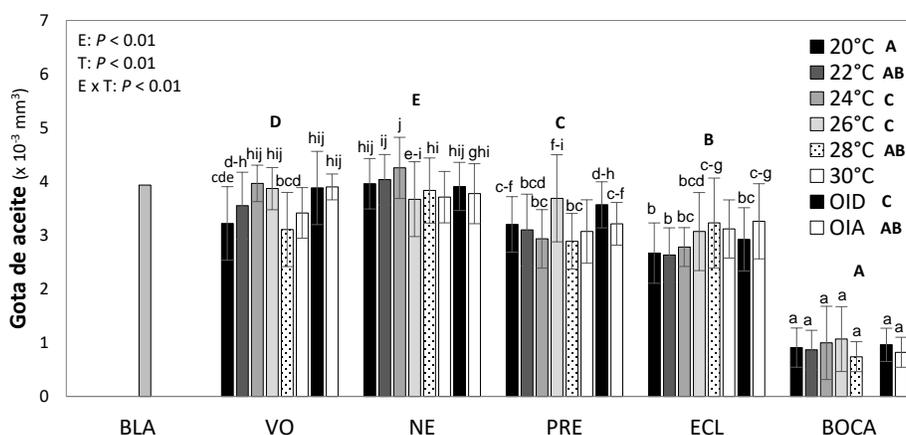
El contenido de triacilglicéridos fue influenciado por el estadio ( $P<0.01$ ) con un aumento de la eclosión ( $0.7 \pm 0.06 \mu\text{g/ind}$ ) a la larva con apertura de boca ( $0.9 \pm 0.05 \mu\text{g/ind}$ ), aunque la interacción significativa ( $P<0.01$ ) indicó que este aumento no fue homogéneo para todas las temperaturas (Fig. 25E). Por último, el volumen de la gota de aceite fue influenciado tanto por el estadio ( $P<0.01$ ), la temperatura ( $P<0.01$ ) y su interacción ( $P<0.01$ ). El volumen de la gota de aceite disminuyó significativamente de la larva eclosionada ( $2.9 \times 10^{-3} \text{ mm}^3 \pm 0.04$ ) a la larva con apertura de boca ( $0.9 \times 10^{-3} \text{ mm}^3 \pm 0.03$ ). Por otro lado, a nivel de la larva eclosionada fue mayor en OIA, intermedio a 28°C y más bajo a 20, 22, 24, 26°C y OID. El seguimiento más particular de la gota de aceite desde el embrión (Fig. 25), indicó que hubo un aumento de VO a NE y posteriormente fue observada una disminución progresiva hasta la apertura de boca.

**Tabla 18.** Dinámica de los parámetros medidos durante la alimentación endógena de *S. rivoliana* en el bioensayo 4. Promedio  $\pm$  E. E. Letras minúsculas diferentes muestran diferencias significativas obtenidas del análisis bifactorial por efecto del estadio. Post hoc Tukey.

	Blástula	Eclosión	Apertura de boca
Masa seca ( $\mu\text{g/ind}$ )	62	$31.4 \pm 1.5^b$	$22.7 \pm 0.9^a$
Proteína ( $\mu\text{g/ind}$ )	8	$4.8 \pm 0.4$	$4.4 \pm 0.2$
Lípidos totales ( $\mu\text{g/ind}$ )	23.7	$13.7 \pm 1.0^b$	$5.6 \pm 0.5^a$
Carbohidratos ( $\mu\text{g/ind}$ )	0.65	$0.39 \pm 0.03$	$0.37 \pm 0.02$
Triacilglicéridos ( $\mu\text{g/ind}$ )	6.4	$0.7 \pm 0.08^a$	$0.9 \pm 0.05^b$
Gota de aceite ( $\times 10^{-3} \text{ mm}^3$ )	3.9	$2.9 \pm 0.6^b$	$0.9 \pm 0.5^a$



**Figura 25.** Valores bioquímicos y gota de aceite en embriones de *Seriola rivoliana* expuestos a temperatura constante (20-30°C) y oscilante (21°C  $\rightleftharpoons$  29°C) durante la incubación dentro de un mismo desove (Bioensayo 4). (A) masa seca, (B) proteína, (C) lípidos, (D) carbohidratos, (E) triacilglicéridos y (F) volumen de gota de aceite ( $\times 10^{-3} \text{ mm}^3$ ). Promedio  $\pm$  E. E. Los resultados del ANOVA bifactorial están mostrados en la figura. Siguiendo un post hoc Tukey, las diferentes letras minúsculas representan la interacción significativa entre el estadio (E) y la temperatura (T), mientras que las letras mayúsculas indican las diferencias significativas entre estadios.



**Figura 26.** Dinámica de la gota de aceite en el desarrollo embrionario y larvario temprano de *S. rivoliiana* bajo temperaturas constantes y oscilantes (bioensayo 4). Promedio  $\pm$  D. E. Los resultados del ANOVA bifactorial (estadio  $\times$  temperatura) están insertados en la figura. En caso de interacción significativa, las diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas (Tukey) entre medias individuales para las distintas combinaciones bioensayo-temperatura. Para los efectos significativos de cada factor, las letras mayúsculas indican las diferencias significativas entre las medias globales de los estadios, independientemente de las temperaturas (dentro de la gráfica) así como para las medias globales de cada temperatura, independientemente del estadio (en la leyenda fuera de la gráfica). A 30°C la supervivencia a la apertura de boca fue nula, debido a esto no fue considerada dicha temperatura para el análisis estadístico. Control: 25°C constante; OID: oscilación inicial descendente; OIA: oscilación inicial ascendente. Blástula (BLA), vesícula óptica (VO), néurula (NE), pre-eclosión (PRE), eclosión (ECL) y apertura de boca (BOCA).

### 7.6. Principales diferencias bioquímicas y morfológicas entre los bioensayos

El diámetro, la masa seca y los carbohidratos del huevo fueron mayores en el bioensayo 3 (Junio de 2019), a su vez en este bioensayo se observaron las larvas eclosionadas con mayor contenido de carbohidratos y una mayor altura de cabeza a la apertura de boca. Por el contrario los huevos y las larvas eclosionadas del bioensayo 2 (Septiembre 2018) presentaron el más bajo contenido de carbohidratos y la altura de cabeza más pequeña a la apertura de boca (Tabla 19).

Por otro lado, el volumen de la gota de aceite y el contenido de proteína en el huevo fueron mayores en el bioensayo 2, a su vez las larvas eclosionadas de este bioensayo presentaron el más alto contenido de proteína y TAG, además de una mayor longitud de la aleta caudal a la apertura de boca. Por el contrario los huevos y las larvas del bioensayo 4 presentaron los valores más bajos de estos parámetros

**Tabla 19.** Principales diferencias bioquímicas y morfológicas de los bioensayos. Promedio  $\pm$  D. E. (morfología) ó E. E. (bioquímica). Anova unifactorial. Post-hoc Tukey. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre los bioensayos 2, 3 y 4 (09-2018, 06-2019 y 02-2020, respectivamente). Masa seca (MS), proteína (PT), lípidos totales (LT), carbohidratos (CH) y triacilglicéridos (TAG).

B	HUEVO							ECLOSION *					APERTURA DE BOCA *	
	Díámetro ( $\mu\text{m}$ )	Gota de aceite ( $\times 10^{-3} \text{ mm}^3$ )	MS ( $\mu\text{g}$ )	PT ( $\mu\text{g}$ )	LT ( $\mu\text{g}$ )	CH ( $\mu\text{g}$ )	TAG ( $\mu\text{g}$ )	MS ( $\mu\text{g}$ )	PT ( $\mu\text{g}$ )	LT ( $\mu\text{g}$ )	CH ( $\mu\text{g}$ )	TAG ( $\mu\text{g}$ )	Longitud de aleta caudal (mm)	Altura de cabeza (mm)
2	1055 $\pm$ 16 <sup>AB</sup>	4.7 $\pm$ 0.2 <sup>C</sup>	60	47	15	0.08	7.6	50 $\pm$ 3.3 <sup>B</sup>	21.7 $\pm$ 2.4 <sup>B</sup>	12.8 $\pm$ 0.9	0.21 $\pm$ 0.03 <sup>A</sup>	1.17 $\pm$ 0.1 <sup>B</sup>	1.82 $\pm$ 0.11 <sup>C</sup>	0.39 $\pm$ 0.06 <sup>A</sup>
3	1068 $\pm$ 24 <sup>B</sup>	4.3 $\pm$ 0.3 <sup>B</sup>	71	17	9	11	8	59 $\pm$ 9.0 <sup>B</sup>	12.5 $\pm$ 1.2 <sup>A</sup>	10.9 $\pm$ 1.0	0.56 $\pm$ 0.09 <sup>C</sup>	0.75 $\pm$ 0.2 <sup>AB</sup>	1.76 $\pm$ 0.09 <sup>B</sup>	0.51 $\pm$ 0.07 <sup>C</sup>
4	1039 $\pm$ 22 <sup>A</sup>	3.9 $\pm$ 0.6 <sup>A</sup>	62	8	23.7	0.65	6.4	32 $\pm$ 1.4 <sup>A</sup>	5.3 $\pm$ 0.7 <sup>A</sup>	13.9 $\pm$ 0.9	0.38 $\pm$ 0.02 <sup>B</sup>	0.67 $\pm$ 0.1 <sup>A</sup>	1.65 $\pm$ 0.07 <sup>A</sup>	0.48 $\pm$ 0.05 <sup>B</sup>

Valores tomados de las temperaturas oscilantes (\*)

## 8. DISCUSIÓN

### 8.1. Cambios influenciados por el desarrollo en el periodo de alimentación endógena de *Seriola rivoliana*

La masa seca (MS) del huevo de *S. rivoliana* fue de ~64  $\mu\text{g}$ , muy similar al de otras especies que desovan huevos pelágicos como en rodaballo *Scophthalmus maximus* (Finn *et al.*, 1996) y el atún *Thunnus albacares* (Tanaka *et al.*, 2022).

Durante el desarrollo embrionario de los peces, la masa seca puede disminuir como en el besugo *Pagrus major* (Seoka *et al.*, 1997), aumentar como en la cobia *Rachycentron canadum* (Huang *et al.*, 2021), o mantenerse relativamente constante como en el rodaballo *Scophthalmus maximus* (Finn *et al.*, 1996). Este último fue el caso de los huevos de *Seriola rivoliana*, con una disminución del 31 y 39% desde los embriones en pre-eclosión a la larva eclosionada en el bioensayo 1 y 3, respectivamente. Dicha disminución correspondió principalmente a la pérdida del corion (envoltura proteinácea) y de los coloides perivitelinos asociados. Sin embargo, estos valores fueron mayores al obtenido en el rodaballo *Scophthalmus maximus* de 17-19% (Finn *et al.*, 1996). Del mismo modo, la magnitud del corion aislado en huevos más grandes como en el bacalao *Gadus morhua* (Solberg y Tilseth, 1984) y el lenguado *Hippoglossus hippoglossus* (Finn *et al.*, 1991) presentaron pesos del corion equivalentes al 17 y al 11% de la masa seca del huevo, respectivamente. Por lo tanto, se sugiere que la disminución de la masa seca en la larva eclosionada podría explicarse además por la pérdida de peso de la misma durante la eclosión, debido al esfuerzo mecánico (muscular), evento asociado a la ruptura del corion (García-Guerrero *et al.*, 2003; Wen *et al.*, 2013), en donde se esperaría una posible pérdida de energía. Sin embargo, utilizando un enfoque experimental en donde se removió el corion en huevos de la trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* antes de la eclosión, se concluyó que el costo energético en la larva, tanto aeróbico como anaeróbico asociado a la ruptura del corion fue mínimo (Ninness *et al.*, 2006a; 2006b), lo cual concordó con los resultados de la carga energética adenílica que se discuten más adelante.

Comparativamente a la masa seca, la proteína no cambió durante el desarrollo del embrión en *Seriola rivoliana*, mientras que la disminución en la eclosión también se asoció a la pérdida del corion. Sin embargo, el corion aislado en huevos del lenguado *Hippoglossus hippoglossus* contenían el 84% de la masa seca como proteína (Finn *et al.*, 1991), en comparación con solamente el 28 y 34% en los bioensayos 1 y 3, respectivamente. Lo anterior sugiere que la cuantificación de la proteína se pudo haber subestimado en este estudio, debido posiblemente a las proteínas insolubles en NaOH, como son las glicoproteínas (Riis-Vestergaard, 2002), lo cual requerirá de análisis más precisos de contenido proteico en los huevos y larvas de *Seriola*. Los cálculos anteriores no se realizaron en los bioensayos 2 y 4, porque no se obtuvieron muestras en el estadio de pre-eclosión. Sin embargo, la disminución de los valores de masa seca después de la eclosión en los tratamientos oscilantes, sugiere que podría existir tanto una pérdida de masa seca asociada al peso diferencial del corión, así como una posible pérdida de reservas energéticas en general como parte del peso seco de la larva eclosionada asociada al esfuerzo muscular de la larva de romper el mismo (eclosión).

Los lípidos totales aumentaron ligeramente en el estadio de néurula (bioensayo 1, 2 y 3), lo cual concordó con lo observado en el pez blanco de lago *Coreogonus clupeaformis* (Mueller *et al.*, 2017) y en la cobia *Rachycentron canadum* (Huang *et al.*, 2021), lo que indicó que se utilizaron otros componentes del huevo como fuentes de energía o bien a la utilización diferencial de ciertas clases de lípidos con respecto a otros. Así, los lípidos neutros, específicamente los ésteres de cera y los triacilglicéridos (TAG) son los principales combustibles durante la embriogénesis y la eclosión (Finn *et al.*, 1996; Rønnestad *et al.*, 1998). De acuerdo con lo anterior, los TAG fueron uno de los principales constituyentes del huevo, alcanzando un 56% de los lípidos totales (promedio de todos los bioensayos). Los TAG disminuyeron ligeramente durante la embriogénesis y luego se desplomaron bruscamente en la eclosión. Ésta dinámica fue similar a la observada en el atún aleta azul *Thunnus thynnus*, en donde el contenido de TAG disminuyó notablemente después de la fase de la formación del embrión (Takii *et al.*, 1997). Por otro lado, en el atún aleta amarilla *Thunnus albacares* el contenido de TAG disminuyó drásticamente antes de la eclosión (Tanaka *et al.*, 2022), lo cual correspondería al estadio de pre eclosión en este estudio. Cabe hacer notar que los huevos de estas especies de atún comparten características similares con los de *S. rivoliana* al ser ricos

en TAG, con un agotamiento hasta la eclosión y en donde su incubación se lleva a cabo a temperaturas cálidas de 27 y 29°C en el caso de *T. thynnus* y *T. albacares*, respectivamente. Por lo tanto, el aumento de los lípidos totales en los embriones en este trabajo correspondió más bien a un aumento de los fosfolípidos (PL), como se observó en el pez blanco *Chirostoma estor*, lo que sugiere que los PL se sintetizaron a partir de los ácidos grasos de TAG (Palacios *et al.*, 2007). Sin embargo, los PL fueron uno de los principales combustibles (60%) identificados en los huevos de *Seriola lalandi* (Hilton *et al.*, 2008).

Los lípidos en los huevos pelágicos pueden estar presentes en dos formas distintas: los lípidos del vitelo y los presentes en la gota de aceite (Silversand, 1996). A pesar de su importancia, pocos estudios presentan resultados de cambios en el tamaño o la composición de la gota de aceite durante la embriogénesis (Finn *et al.*, 1996; Santamaría-Miranda *et al.*, 2021). En general, la gota de aceite está compuesta por lípidos no polares (triacilglicéridos, ésteres de colesterol y ésteres de cera) (Silversand, 1996; Wiegand, 1996; Finn *et al.*, 1996). Aunque no se midió la composición exacta de la gota de aceite en los embriones de *Seriola rivoliana*, la disminución de TAG entre los embriones antes de la eclosión y las larvas eclosionadas (83% en el bioensayo 1) no coincidió totalmente con la disminución del volumen de la gota de aceite (35% en el bioensayo 1), lo que indicó que los niveles de TAG se utilizaron preferentemente sobre otros componentes de la gota de aceite, debido a la alta demanda de energía requerida para la eclosión.

El contenido de nucleótidos adenílicos y la carga energética adenílica (CEA) resultante a lo largo del desarrollo del embrión reflejarían la capacidad para ajustar la energía celular derivada de la oxidación de diferentes reservas a la energía consumida para los diferentes procesos que tienen lugar durante el desarrollo (homeostasis energética). Por lo tanto, la constancia general de altos índices de la CEA observada en este trabajo reflejaría un equilibrio energético óptimo en los embriones, excepto en el momento de la eclosión en el bioensayo 1, como se discute más adelante. En estudios anteriores se obtuvieron resultados variables, con un aumento de la CEA o del ATP (el principal determinante de la CEA) en medaka *Oryzias latipes* (Pincetich *et al.*, 2005) y el bacalao del Atlántico *Gadus morhua* (Jung *et al.*, 2012), valores constantes en la dorada *Sparus*

*aurata* (Lahnsteiner y Patarnello, 2003) y una disminución en el corvinón rojo *Sciaenops ocellata* (Vetter *et al.*, 1983). Una posible explicación de estas diferencias se atribuyó a las diferencias intraespecíficas sobre la duración del desarrollo (Lahnsteiner y Patarnello, 2003; Jung *et al.*, 2012), con una disminución de CEA y ATP en las especies que presentan un periodo de incubación corto (menos de 24 h), como el corvinón rojo (Vetter *et al.*, 1983) y ningún cambio o un aumento en las especies con períodos de incubación más largos (de 4.5 a 8 días), como medaka, el bacalao y el besugo (Lahnsteiner y Patarnello, 2003; Pincetich *et al.*, 2005; Jung *et al.*, 2012). El tiempo hasta la eclosión en los huevos de *Seriola rivoliana* osciló entre 22 y 52 horas, dependiendo de las temperaturas de incubación, por lo que podría considerarse más bien un periodo de incubación corto, con valores constantes de la CEA. Otro estudio sugirió que los diferentes patrones de variación de ATP y CEA en la trucha *Salmo gairdneri* en comparación con la carpa locha *Misgurnus fossilis* podrían estar relacionados con las diferentes temperaturas de desarrollo entre las especies (Boulekbache, 1981). Sin embargo, no se observó tal efecto a diferentes regímenes de temperatura en *Seriola rivoliana*, como se discute más adelante. Se sugiere que la expresión del denominador utilizado en las concentraciones bioquímicas podría explicar las diferencias de ATP o CEA en embriones y larvas. Los nucleótidos se expresan en base molar por peso húmedo o seco en todos los estudios anteriores citados. Sin embargo, si el peso del embrión disminuye, puede sesgar los resultados expresados con base al peso. Si los datos bioquímicos se expresan por microgramo de contenido de ADN, éstos puede aumentar debido a la proliferación celular y, por lo tanto, los resultados de CEA aumentarían cuando se expresan por mg de embriones o disminuirían cuando se expresan por  $\mu\text{g}$  de ADN (Podrabsky y Hand, 1999).

La CEA disminuyó ligeramente en el momento de la eclosión, pasando de 0.86 a 0.80 en el bioensayo 1, pero no en el bioensayo 2 (aunque no se obtuvieron datos en la pre eclosión). No obstante, dicha disminución se atribuyó principalmente al aumento de los niveles de ADP y AMP, lo que indicó una mayor necesidad de energía durante la eclosión, con un mayor uso de ATP. A pesar de los niveles relativamente constantes de nucleótidos adenílicos, se observó un aumento de los niveles de IMP en la pre eclosión (bioensayo 1) y, sobre todo, después de la eclosión (ambos bioensayos 1 y 2). Es bien sabido que el IMP es el principal metabolito de la degradación de los nucleótidos adenílicos que se produce principalmente post-mortem (Tejada, 2009) pero también

durante el consumo intenso de energía (Wang *et al.*, 1994; Robles-Romo *et al.*, 2016). En tales condiciones, el ATP se restablece a partir del ADP a través de la adenilato quinasa con una acumulación de AMP que se transforma en IMP por la AMP deaminasa, evitando una acumulación excesiva de AMP que alteraría el equilibrio energético celular (Atkinson, 1977). Este aumento de IMP también se observó en la embriogénesis de los peces con una disminución concomitante del ATP y de los nucleótidos adenílicos totales (NAT) (Vetter *et al.*, 1983). Por el contrario, en el presente estudio, el NAT aumentó en ambos bioensayos, lo que sugiere que aunque el IMP estuviera implicado en dicho equilibrio adenílico celular, también se estaba produciendo la síntesis *de novo* de nucleótidos adenílicos. De hecho, el IMP también está involucrado en la síntesis de purinas (Zalkin y Dickson, 1992) reflejando la síntesis activa de ADN que ocurre durante la embriogénesis (Podrabsky y Hand, 1999). Más concretamente, la síntesis de purinas está implicada de forma importante en la pigmentación y la formación ocular en el pez zebra (Ng *et al.*, 2009). La síntesis *de novo* de purinas (adenina y guanina) comienza con el precursor 5-fosfo-D-ribosil-1-pirofosfato (PRPP) y este se convierte en monofosfato de inosina (IMP) a través de diez pasos enzimáticos. El IMP entonces alimenta las vías que conducen a la formación de AMP y GMP, los cuales a su vez, sirven como precursores de sus formas di- o tri-fosfato de alta energía en la vía de ATP y la vía de GTP (Zalkin y Dixon, 1992).

Posterior a la eclosión, las larvas tuvieron una pérdida del 21 y 28 % de la masa seca a la apertura de boca en los bioensayos 3 y 4, respectivamente, mientras que las proteínas no disminuyeron en este mismo periodo (ver Tabla 17 y 18). Respecto a los lípidos, su utilización se produce principalmente después de la eclosión, lo que posiblemente refleja una mayor demanda energética de las larvas vitelinas que nadan libremente en comparación con el desarrollo embrionario (Tocher, 2003). Al respecto, una pérdida del 52 y 41% del contenido de lípidos se presentó en las larvas de *S. rivoliana* en los bioensayos 3 y 4, similar a la disminución del 49% de en el mismo periodo en la especie de pez piedra *Inimicus japonicus*. La pérdida de lípidos además se vio reflejada en una disminución del 74, 66 y 69% del volumen de la gota de aceite en los bioensayos 2, 3 y 4, respectivamente.

Las larvas de *Seriola rivoliana* absorbieron la mayoría de su vitelo durante las primeras 24 h. Similarmente, en *Seriola lalandi*, la mayoría de la absorción del vitelo ocurrió después de las 18 h post-eclosión desde 21 a 25°C (Yu *et al.*, 2017). Lo anterior sugiere una respuesta de rápido crecimiento después de la eclosión en ambas especies. Así, este fenómeno puede ser común entre las especies *Seriola*.

En segundo lugar, la gota de aceite fue conspicua y distingible después de las 24, 48 y 72 h post-eclosión y las tasas de utilización después de la eclosión y el porcentaje de la velocidad de absorción de la gota de aceite por hora después de las 24 h estuvieron inversamente correlacionados a la temperatura.

## **8.2. Influencia de la temperatura en el periodo de alimentación endógena de *S. rivoliana***

### **8.2.1. Efecto de la temperatura constante**

Los tiempos de incubación en *Seriola rivoliana* estuvieron inversamente relacionados a la temperatura, lo que está de acuerdo con muchas especies de peces marinos ampliamente estudiadas (Blaxter, 1969; Pauly y Pullin, 1988; Kamler, 2012). Esta especie presentó un rango viable de incubación del huevo de 20 a 30°C, en donde la tasa de desarrollo termo-dependiente de los embriones para eclosionar se duplicó con un  $Q_{10}$  de ~2.4. Un valor más pequeño comparado al de *Seriola lalandi* con un  $Q_{10}$  de 5 y un rango viable de incubación del huevo de 16 a 24°C (Moran *et al.*, 2007b). Una menor sensibilidad o mayor plasticidad a la variación de temperatura (menor  $Q_{10}$ ) sugiere que *S. rivoliana* tiene posiblemente una mayor tolerancia a esta variación, de acuerdo a su distribución latitudinal más amplia ocurriendo en océanos tropicales y subtropicales.

Las tasas de eclosión en *Seriola rivoliana* fueron >75% dentro su rango viable, disminuyendo solamente a 30°C, sugiriendo que el rango más viable ocurrió entre 20 y 28°C, reflejando también una amplia tolerancia térmica de la especie. A la apertura de boca las larvas a 30°C no sobrevivieron, mientras que no se observó un efecto significativo de edema entre 20 y 28°C (media global= 35%, Fig. 21). Adicionalmente, las larvas a 28°C tuvieron un mayor porcentaje de

larvas normales ( $50\% \pm 16.7$ ) y menor a 20, 22, 24 y 26°C (media global:  $14.4\% \pm 5.1$ ) (Fig. 22). Lo anterior puede estar asociado parcialmente a lo observado en larvas de la anguila japonesa *Anguilla japonica*, las cuales presentaron una mayor incidencia de edema en pericardio a temperaturas bajas de incubación (Kurokawa *et al.*, 2008).

En cuanto a la morfología, la longitud de la larva es la principal determinante en cuanto a la capacidad de alimentación (China y Holzman, 2014). En la eclosión, la longitud total y la longitud de la aleta caudal tuvieron una disminución significativa a 26°C, mientras que a 28°C fue similar a las demás temperaturas, en los bioensayos 1 y 4 (desoves de épocas cercanas: Marzo-2019 y Febrero-2020, respectivamente) (Fig. 13A, C). Lo anterior podría relacionarse a la respuesta del recuento de vertebras (carácter merístico que se fija en la embriogénesis) de peces frente a la temperatura. Como argumenta Fowler (1970) en su revisión, el número más bajo de vertebras a una temperatura intermedia se ha asociado a menudo con una tasa de crecimiento óptima o con el mayor porcentaje de supervivencia en peces, mientras que se obtienen números más altos a ambos lados del rango de temperaturas. Garside (1966) sugirió que la aparente respuesta en forma de V o U de los recuentos vertebrales a la temperatura podría ser en parte un artefacto de los métodos de enumeración de las vértebras anormales. Las vértebras anormales suelen ser más comunes en los extremos de la temperatura (Lindsey, 1998). En el presente estudio si bien no se contabilizaron las vertebras, la respuesta observada en la longitud a la eclosión podría estar asociada a la de dicho carácter merístico, lo cual requerirá de más investigación.

Tras la eclosión, las larvas cuentan con un saco vitelino relativamente grande con el que desarrollan rápidamente el esqueleto de la cabeza y el tracto gastrointestinal (Tanaka *et al.*, 2022). El desarrollo de la cabeza está asociado con el desarrollo del cerebro y los órganos sensoriales y concomitante a las capacidades depredadoras en la morfología de la boca, por lo cual, un retardo en el desarrollo puede resultar en un mal funcionamiento de los órganos sensoriales y de alimentación (Osse *et al.*, 1997). Aunque muchas especies de larvas de peces muestran un mayor desarrollo caudal para asegurar el rendimiento de nado (Fuiman, 1983; Osse *et al.*, 1997), la larva de *Seriola rivoliana* parece desarrollar la cabeza como una prioridad, como se observó también en *Seriola lalandi* (Martínez-Montaña *et al.*, 2016). Además, el desarrollo de

la cabeza pareció ser dependiente de la temperatura hasta cierto punto, o al menos, susceptible a la temperatura con variaciones significativas. Visto desde el análisis de las tallas a la apertura de boca (Fig. 23C, D) y de los coeficientes de crecimiento alométrico (Fig. 24), un crecimiento óptimo de la cabeza se produjo a 26 °C, lo que coincide con la temperatura de desove de esta especie.

El análisis bifactorial de la composición bioquímica develó el bajo coste energético que presentan los embriones de *S. rivoliana* durante su desarrollo frente a las temperaturas constantes (bioensayo 1, Fig. 14). Solo el volumen de la gota de aceite y los TAG se vieron afectados por las temperaturas constantes por sí solas o por la interacción entre la temperatura y el estadio de desarrollo. Para TAG, la disminución cuantitativa entre los estadios de néurula a pre-eclosión y luego a la eclosión fue más acentuada a bajas temperaturas (20-24°C), lo que podría estar relacionado con una mayor duración del desarrollo y con larvas más grandes. Al contrario en la utilización de TAG, la gota de aceite pareció no utilizarse durante la eclosión a bajas temperaturas (por ejemplo, 20°C), por lo que se observó un mayor volumen de gota de aceite en las larvas eclosionadas en comparación con las altas temperaturas (26-30°C).

El efecto de la temperatura sobre los niveles de nucleótidos se observó principalmente en la eclosión, con una mayor acumulación de ADP, AMP, NAT e IMP, en el rango de temperaturas bajas (Fig. 15). Por el contrario, la disminución de CEA en este estadio fue ligeramente más pronunciada a estas temperaturas bajas. Estos resultados apuntan a un mayor uso de energía ligado a una mayor duración de la embriogénesis con más tejido formado (larvas eclosionadas más grandes) a baja temperatura, aunque no comprometió seriamente la disponibilidad global de energía en la eclosión (ATP y AEC), incluso cuando los TAGs estaban casi agotados. Por otro lado, cabe señalar que el contenido a la eclosión de ADP e IMP tuvo una disminución a 26°C, y 28°C siendo similar a las demás temperaturas (Fig. 15B, E), respuesta muy similar a la longitud total y longitud de aleta caudal de los bioensayos 1 y 4 (Fig. 13A, C).

Concerniente a la comparación entre temperaturas frías y cálidas (Tabla 7), algunos datos sugieren que durante la embriogénesis temprana (estadio de VO y NE) las temperaturas cálidas podrían inducir una mayor deposición de tejido. Por ejemplo, los embriones en VO tuvieron un contenido mayor de carbohidratos, mientras que embriones en NE tuvieron un contenido alto de proteína, y simultáneamente un mayor agotamiento de TAG, y una tendencia de una mayor deposición de lípidos totales. En contraste, las temperaturas más frías pueden producir una más alta deposición de lípidos totales en los estadios posteriores (PRE y ECL), lo cual se enlaza a una mayor disminución de TAG en estas temperaturas, reafirmando su uso para síntesis de lípidos estructurales. Por lo que, cabe esperar que las larvas de *S. rivoliana* más grandes a bajas temperaturas (20-24°C), podrían relacionarse al contenido de lípidos totales en los embriones en pre eclosión y en las larvas eclosionadas (Tabla 7a, b).

Llegando a la composición bioquímica de la larva a la apertura de boca (bioensayo 4, Fig. 25), se observó que si bien las larvas fueron más grandes en longitud total a las temperaturas bajas (20 a 24°C), éstas no fueron necesariamente más grandes en peso (masa seca). Analizando el patrón que siguió la masa seca de la larva a la apertura de boca en temperaturas constantes (Fig. 25A), este se asemejó más al de la longitud y altura de la cabeza de las larvas sin edema (Fig. 23C, D) que al de la longitud total (Fig. 23A). Lo anterior confirmaría que la larva invirtió gran parte del vitelo para la formación de la cabeza a la temperatura de 26°C.

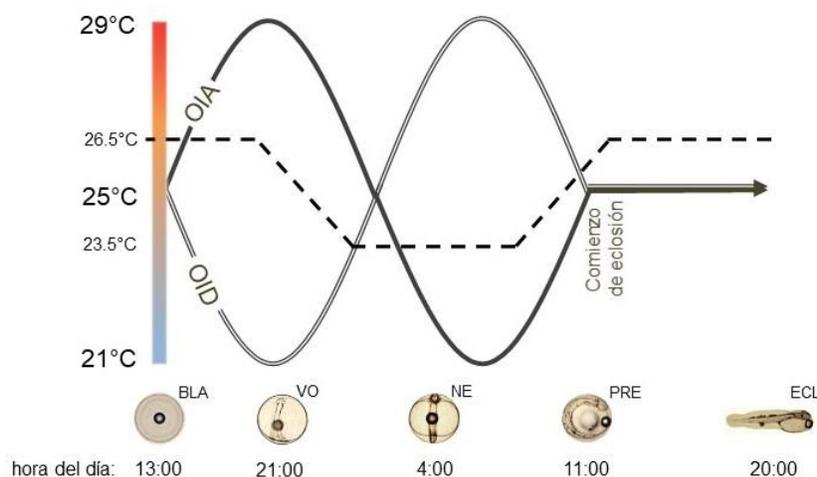
### **8.2.2. Efecto de la temperatura oscilante**

La influencia de los cambios de temperatura durante la incubación de embriones se ha examinado en estudios anteriores para evaluar las ventanas críticas para el desarrollo y reflejar posibles fluctuaciones térmicas naturales o antropogénicas (Eme *et al.*, 2015; Mueller *et al.*, 2015; Lim *et al.*, 2017; Eme *et al.*, 2018). A temperaturas constantes, los embriones no tendrían que ajustar respuestas fisiológicas mayores y por lo tanto, podrían seguir una vía metabólica específica. Es decir, los embriones a cualquier temperatura constante dentro del rango de viabilidad se desarrollarían progresivamente según su respuesta a una temperatura específica constante. Sin

embargo, si un cambio de temperatura ocurre, los embriones tendrían que adaptar su metabolismo al nuevo ambiente cambiante (Mueller *et al.*, 2015).

En el presente trabajo, las amplias oscilaciones térmicas inducidas en la incubación (blástula a pre-eclosión), no afectaron la velocidad de desarrollo embrionario. Dicha respuesta a la temperatura fluctuante ha sido ampliamente observada en peces (Lindsey, 1954; Blanco-Vives *et al.*, 2010; Villamizar *et al.*, 2012; Coulter *et al.*, 2015; Lim *et al.*, 2017; Pisano *et al.*, 2019).

Las oscilaciones térmicas además incidieron positivamente en el desarrollo al provocar una mayor proporción de larvas normales (sin edema) en comparación con las temperaturas constantes (Fig. 22). Sin embargo, el régimen de oscilación inicial descendente (OID) disminuyó significativamente la supervivencia a la apertura de boca, mientras que la oscilación inicial ascendente (OIA) la aumentó (Fig. 21). Al respecto, *Seriola rivoliana* desova en la mañana, cuando la temperatura del agua está aumentando, por lo que la dirección adecuada de la fluctuación podría ser inicialmente ascendente partiendo del desove (Fig. 27). Lo anterior coincide con el estudio de Blanco-Vives *et al.* (2010) en donde se observó que la fluctuación térmica que simulaba las condiciones del medio natural (inicial ascendente en la mañana) bajó la incidencia de deformidades y aumentó el crecimiento de las larvas a partir del día 25 post-eclosión en el lenguado *Senegal sole*. Cabe señalar, que la respuesta mucho más temprana en las larvas del jurel pudo deberse a la magnitud de las oscilaciones más amplias de  $\Delta 8^{\circ}\text{C}$  comparada con la utilizada en las larvas del lenguado ( $\Delta 3^{\circ}\text{C}$ ).



**Figura 27.** Tratamientos de oscilación de temperatura ( $21 \rightleftharpoons 29^{\circ}\text{C}$ , líneas continuas) durante la embriogénesis y fluctuación natural estimada ( $23.5 \rightleftharpoons 26.5^{\circ}\text{C}$ , línea discontinua). La amplitud de  $\Delta 3^{\circ}\text{C}$  de la fluctuación fue basada en las variaciones diarias de la temperatura superficial del mar en la región reportadas (Sicard-González *et al.*, 2012).

El análisis bifactorial de la morfología a la eclosión mostró que la respuesta a la temperatura oscilante dependió del desove (bioensayo 2, 3 y 4). Por otro lado, a la apertura de boca la longitud total fue influenciada por la temperatura fluctuante por sí sola, en donde las larvas en la OID alcanzaron una mayor talla con respecto al control y la OIA. En contraste, la longitud de la cabeza y el diámetro de pigmentación del ojo fueron menores en la OIA.

Analizando la morfología de la larva a la apertura de boca a temperaturas constantes y oscilantes dentro de un mismo desove (bioensayo 4, Tabla 14), las larvas de la OID presentaron una longitud total similar a la encontrada a 22 y 24°C, mientras que las larvas en la OIA fueron más pequeñas como a 26 y 28°C. Por lo anterior, se sugiere que el primer periodo de desarrollo que fue de la blástula a la vesícula óptica determinó la plasticidad fenotípica de estos caracteres a las fluctuaciones de temperatura.

De las observaciones en el bioensayo 3 se infiere que las larvas más pequeñas a temperaturas cálidas y en la OIA podrían ser el resultado de un avance en las etapas de desarrollo y cambios en la estructura corporal, órganos y tejidos con otras necesidades fisiológicas (Ojanguren y Braña,

2003), así como un retraso de la primera alimentación (Shan *et al.*, 2008). Es decir, el desarrollo más rápido por temperatura alta disminuye la ventana de tiempo en que la larva es capaz de atrapar presas en la alimentación exógena. En algunas especies, la temperatura viable más alta puede afectar el desarrollo larval, como en el lenguado japonés flounder *Paralichthys olivaceus* (Seikai *et al.*, 1986). En este contexto, las larvas de *Seriola rivoliana* a 30°C fueron más pequeñas a las 72 hr, lo cual puede indicar que algunas larvas se debilitaron después de varias horas de alimentación retardada produciendo inanición y un desarrollo estresante que fue evidente con la baja supervivencia obtenida al día 3.

Por otro lado, en el bioensayo 4 se observó que ambas oscilaciones indujeron una reducción de las dimensiones de la cabeza a la apertura de boca en comparación con las temperaturas constantes (Tabla 14). Dicha reducción podría ser particularmente importante en el inicio de la alimentación exógena, debido a un menor desarrollo de órganos sensoriales y de la boca, como se ha discutido anteriormente.

Analizando la utilización del saco vitelino y la gota de aceite se observó que la oscilación de temperatura durante la incubación del huevo al parecer no influenció la utilización de las reservas (Bioensayo 3, Tabla 15 y 16). Sin embargo, algunos resultados en la absorción del saco vitelino y la gota de aceite podrían indicar una disminución e incremento en el metabolismo: en la OID (larva similar a 20°C en %VS<sup>H24</sup>) y en OIA (larva similar a 24 y 26°C en %GA<sup>H24</sup>), respectivamente, los cuales requerirán de más investigación. Después de 48 hr, los resultados en absorción de saco vitelino sugieren que la larva a 20 y 22°C todavía no había agotado su saco vitelino, las larvas a 24°C estuvieron cerca del agotamiento, mientras que las larvas desde 25 a 30°C y ambas oscilaciones ya habían absorbido por completo el vitelo. Por lo tanto, ensayos posteriores requieran muestreos de larvas más frecuentemente durante las primeras 24 y 48 hr para obtener resultados más precisos.

El análisis bifactorial de la composición bioquímica del huevo reveló el bajo coste energético que presentan los embriones de *S. rivoliana* durante su desarrollo frente a la temperatura oscilante

(bioensayo 2, Fig. 18). Solo los carbohidratos fueron influenciados significativamente por la temperatura oscilante por sí sola, en donde la oscilación inicial descendente disminuyó significativamente el contenido. Dado que no se observaron diferencias estadísticas para los nucleótidos adenílicos, la CEA y el IMP (Fig. 19), no fue posible relacionar los diferentes regímenes oscilantes con la eficiencia energética o la disponibilidad. No obstante, al momento de la eclosión, el valor absoluto de CEA en el bioensayo 2, para OID y OIA (0.82-0.83) fue similar a los valores más altos obtenidos en el bioensayo 1 a 26 y 30°C.

El análisis bifactorial de la composición bioquímica a la eclosión (bioensayo 2 y 4), mostró una constancia del efecto de la temperatura oscilante en donde el régimen de OID disminuyó significativamente el contenido de peso seco y carbohidratos (Fig. 20A, D), lo que podría estar relacionado con una mayor utilización de las reservas en este tratamiento dado que las larvas fueron más grandes en longitud total. Adicionalmente, a la larva a la apertura de boca las larvas sometidas a la OID tuvieron menor contenido de lípidos totales y carbohidratos (bioensayo 4, Tabla 12).

Los resultados de incubación de embriones en temperaturas oscilantes sugieren que la ventana de crecimiento se puede retrasar, promover, o mantenerse sin cambio dependiendo de la respuesta fisiológica de los embriones en desarrollo. Lo anterior estuvo asociado con la calidad misma de cada desove, en donde factores como el de la resistencia a cambios térmicos y la utilización de energía en la formación de tejido parecen ser muy específicos (desove-específico). Si un cambio de temperatura ocurre, los embriones tendrían que adaptar su metabolismo al nuevo ambiente cambiante (Mueller *et al.*, 2015). Por lo tanto, dependiendo de la calidad natural de los huevos (desove) y la respuesta adaptativa a la temperatura, podría haber señales ambientales para retardar o estimular la ventana de crecimiento embrionario antes del comienzo de la eclosión, lo cual podría explicar las diferencias entre los desoves.

Para fines prácticos (por ejemplo, la acuicultura), se sugiere que un régimen oscilante podría tener las ventajas de una temperatura particular en ciertos caracteres durante el desarrollo sin posibles efectos perjudiciales en otros. Esta "larva ideal" también dependería de los cambios particulares

de temperatura durante las ventanas críticas del desarrollo. Al respecto, Shulman y Love, (1999) argumentan que muchos peces viven a temperaturas que fluctúan durante el día; tal condición es claramente beneficiosa para su actividad vital y puede considerarse como un caso de compensación de temperatura de su metabolismo.

### 8.3. Crecimiento compensatorio

Aunque los factores ambientales pueden producir variabilidad fenotípica larval en la eclosión, varias especies han mostrado alcanzar un tamaño similar al llegar a la primera alimentación, indicando un crecimiento larval compensatorio y una alta plasticidad para adaptarse a la variabilidad ambiental. Este fenómeno se ha observado en el jurel cola amarilla *Caranx mate* (Santerre, 1976), el arenque *Clupea harengus* (Geffen, 2002), el eglefino *Melanogrammus aeglefinus* (Martell *et al.*, 2005), el jurel rey de cola amarilla *Seriola lalandi* (Moran *et al.*, 2007b), la trucha café *Salmo trutta* (Réalis-Doyell *et al.*, 2018), el salmón del Atlántico *Salmo salar* (Peterson *et al.*, 1977) y también se ha observado en poblaciones naturales de la anchoveta Peruana *Engraulis ringens* (Llanos- Rivera y Castro, 2006). De igual manera en *Seriola rivoliana*, las larvas a 20°C, control (25°C) y en OID en el bioensayo 3, tuvieron un crecimiento compensatorio evidente durante la absorción del vitelo, equiparando a las larvas a 22 y 24°C, una leve diferencia más pequeña ocurrió en las larvas a 26°C constante y en la OIA, mientras que las larvas más pequeñas ocurrieron a 30°C. Sin embargo, las larvas a 20 y 22°C retardaron el desarrollo de la cabeza, y estas tuvieron una estructura inusual de la cabeza-tronco (cabeza más pequeña y tronco más largo), lo cual quizás estuvo relacionado a una baja eficiencia en la absorción de la gota de aceite (solo un 40% comparado con un >75% en larvas a temperaturas de 24 a 30°C), la cual fue la única reserva endógena disponible.

En otro ejemplo, el análisis bifactorial (bioensayo x temperatura constante) de la longitud total y de aleta caudal de la larva eclosionada de *S. rivoliana* fueron mayores dentro de un rango de temperaturas (22 y 24°C). Sin embargo, cuando el vitelo se agotó y la larva abrió la boca, se encontró un patrón más concreto, en donde las larvas a temperaturas bajas presentaron las tallas mayores (20, 22 y 24°C) y más pequeñas a 26 y 28°C. Un fenotipo similar fue encontrado en larvas del pez piedra *Inimicus japonicus* durante la evaluación de cinco temperaturas constantes (18, 21,

24, 27 y 30°C) (Wen et al., 2013). En ese estudio, las temperaturas de 22, 24 y 27°C dieron larvas más grandes en la eclosión; sin embargo, a la apertura de boca, las larvas incubadas a las temperaturas bajas tuvieron una mayor longitud (18, 21 y 24°C) con respecto a las temperaturas altas (27 y 30°C) en aquella especie.

Por lo tanto, aunque pueda ocurrir un crecimiento compensatorio en el tamaño del cuerpo, las larvas pueden mostrar variaciones en la estructura del cuerpo que pudieran ser importantes en la eficiencia en la primera alimentación, lo que requerirá de más investigación acuícola.

#### **8.4. Influencia del desove en el periodo de alimentación endógena de *S. rivoliana***

En la naturaleza, *Seriola rivoliana* tiene una temporada reproductiva larga, que expone a los huevos a una gran variedad de temperaturas a medida que aumentan desde la primavera hasta el verano y subsecuentemente disminuyen de otoño a invierno. Sin embargo, los peces en cautiverio se mantienen a una temperatura constante durante casi todo el año y solo periódicamente se efectúan cambios en la temperatura que están definidos por las observaciones en los reproductores por parte de los acuicultores, en cuanto a su salud, limpieza de los tanques y una baja frecuencia de desoves o desoves de mala calidad en donde ocurre una muy baja supervivencia, entre muchos otros factores de manejo. En general, los desoves de *Seriola rivoliana* presentan una alta fertilización >95% y alrededor de un 80% son huevos flotantes y viables y un 20% son huevos no viables que se hunden. Sin embargo, aún no hay un marcador bioquímico o morfológico que permita predecir si un desove tendrá una alta supervivencia larval, aunado a un desempeño alto durante la fase de transición a juveniles. En este estudio se presentaron las principales diferencias entre los desoves utilizados en donde el componente más variable fue el contenido de proteína (de 8 a 47 µg/ind). Sin embargo, como se ha discutido anteriormente, dicho contenido pudo haber estado subestimado, lo cual requerirá de más investigación con un número considerablemente mayor de desoves y con alta variabilidad entre ellos en cuanto a su porcentaje de eclosión y supervivencia larvaria subsecuente. Por otro lado, el diámetro de la gota de aceite fue el segundo factor más variable, posiblemente asociado con la edad de los reproductores, su estatus reproductivo y el tipo de alimentación, lo cual también requerirá de más investigación en los mismos términos ya mencionados. La calidad específica de

cada desove se comprobó con las diferencias significativas que ocurrieron entre bioensayos y más aún, la interacción significativa obtenida entre ellos, tanto en temperaturas constantes y oscilantes. Por ejemplo, las larvas del bioensayo 3 sometidas a temperatura oscilante tuvieron una longitud total larval significativamente menor con un saco vitelino más grande y un tiempo de eclosión similar, en comparación a los bioensayos 2 y 4 (Fig. 17A, K), lo cual hizo evidente un crecimiento embrionario diferencial al momento de la eclosión. Sin embargo, a la apertura de la boca, las larvas del bioensayo 4 resultaron más pequeñas (Fig. 17B) y con variaciones de otros caracteres en comparación a los otros dos bioensayos. Lo anterior sugiere una alta variabilidad fenotípica en cada desove con pocos cambios bioquímicos por efecto de temperatura, aunado también a una alta capacidad adaptativa a distintos regímenes de temperatura dentro del rango viable, con lo cual, se rechaza la hipótesis nula. La gran variación entre desoves posiblemente ha contribuido a que la producción continua de juveniles sea tan difícil de lograr en *Seriola rivoliana*, por lo cual se requiere que la investigación se enfoque a analizar los factores endógenos, nutricionales y ambientales, adicionales a la temperatura, que contribuyen a esta alta variabilidad.

## 9. CONCLUSIONES

El rango viable de eclosión de *Seriola rivoliana* se obtuvo entre 20 y 28°C con una tasa de eclosión superior al 70%.

Se observó un efecto significativo de temperaturas constantes y oscilantes en la morfología larval en el momento de la eclosión de *Seriola rivoliana*. En los embriones incubados a 22 y 24°C eclosionaron larvas con una longitud total significativamente mayor que el resto de los tratamientos. Adicionalmente, la oscilación inicial ascendente también produjo larvas de mayor tamaño. Sin embargo, el efecto del tratamiento térmico dependió del desove utilizado.

Los efectos de temperaturas oscilantes durante la incubación de los huevos, podrían beneficiar o afectar a la incidencia de la primera alimentación exógena de las larvas, lo cual, requerirá de más investigación. Sin embargo, de acuerdo a este estudio, las temperaturas oscilantes presentaron ciertas ventajas fisiológicas sin efectos energéticos o morfológicos perjudiciales.

La mayor incidencia de edema fue a temperaturas entre 20 y 26°C, mientras que a 28°C y en los tratamientos de oscilaciones la incidencia fue más baja, lo cual sugiere el aumentar la temperatura gradualmente a 26°C después de la eclosión.

El crecimiento alométrico de la cabeza con respecto a la longitud total fue óptimo a 26°C. El desarrollo de la cabeza y su proporción con respecto al tronco fue óptimo entre 24 y 26°C.

Durante la embriogénesis de los huevos de *Seriola rivoliana*, el aumento en los niveles de energía (ATP) soportó la alta demanda energética requerida por el embrión, en donde las reservas energéticas se regularon en respuesta al entorno, dando como resultado una alta viabilidad larvaria. La constancia de la carga energética (CEA) en niveles óptimos iguales o superiores a 0.8 durante la embriogénesis sugieren un equilibrio energético óptimo en esta especie.

El momento de la eclosión fue la etapa más crítica del desarrollo, en la que los componentes bioquímicos y la utilización de la energía cambiaron significativamente. La eclosión representó

una gran utilización de energía, que podría definirse como un evento muy dinámico y quizás estresante para las larvas, en el que incluso la CEA podría disminuir marginalmente, indicando una mayor necesidad de energía, en donde las larvas podrían perder algo de masa corporal, adicionalmente al corión.

La disminución en el contenido de proteínas en la eclosión se debió en buena medida a la ruptura y eliminación del corion. Sin embargo, es necesario implementar nuevas técnicas en la determinación de este componente para discernir el posible uso energético de proteína en este proceso.

Los triacilglicéridos (TAG) fueron un combustible crítico para los huevos durante la eclosión, y el aumento de los lípidos totales (cuando se observó), sugirió que a partir de los TAG se sintetizaron fosfolípidos. Además, los TAG se utilizaron preferentemente sobre los demás componentes de la gota de aceite.

Las larvas eclosionadas después de un régimen constante en temperaturas más frías (20 a 24°C) podrían tener una mayor disponibilidad de lípidos, en comparación a temperaturas constantes más altas (26 a 30°C) y oscilantes.

La ausencia general de cambios bioquímicos críticos derivados de los efectos de la temperatura confirma que esta especie tiene una alta capacidad de adaptación y plasticidad en respuesta a temperaturas constantes y fluctuantes.

## 10. LITERATURA CITADA

- AquaMaps. (2019). Computer generated distribution maps for *Seriola rivoliana* (Longfin yellowtail), with modelled year 2050 native range map based on IPCC RCP8.5 emissions scenario. Retrieved from <https://www.aquamaps.org>.
- Atkinson, DE. (1968). The energy charge of the adenylate pool as a regulatory parameter. Interaction with feedback modifiers. *Biochemistry*, 7(11): 4030-4034. doi: 10.1021/bi00851a033
- Atkinson, DE. (1977). Cellular energy metabolism and its regulation. *Academic Press*, New York, NY, USA, 1st edition
- Avendaño-Villamar, U. y Pazos-Noriega, F. (2017). Factibilidad de la maricultura de Huayaibe (*Seriola* sp) como medida de adaptación ante el incremento de temperatura del mar por efectos del cambio climático para el sector pesquero-caso de estudio Jaramijó. Trabajo final para la obtención del título: Magíster en Cambio Climático Espol FIMCBOR, Guayaquil. 95
- Avila, EM. y Juario, J V. (1987). Yolk and oil globule utilization and developmental morphology of the digestive tract epithelium in larval rabbitfish, *Siganus guttatus* (Bloch). *Aquac.*, 65(3-4): 319-331. doi: 10.1016/0044-8486(87)90244-4
- Avilés-Quevedo, A. y Castellói Orvay, F. (2004). Manual parra el cultivo de *Seriola lalandi* (Pisces: Parangidae) en Baja California Sur, México. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación, Instituto Nacional de la Pesca. 64 pp.
- Barnes, H., y Blackstock J. (1973). Estimation of lipids in marine animals and tissues: detailed investigation of the sulphophosphovanillin method for 'total' lipids. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 12 (1):103-118. doi: 10.1016/0022-0981(73)90040-3
- Battaglione, SC., y Cobcroft, JM. (2007). Advances in the culture of striped trumpeter larvae: a review. *Aquac.*, 268(1-4), 195-208. doi: 10.1016/j.aquaculture.2007.04.048
- Bermudes, M., Ritar, A.J. (1999). Effects of temperature on the embryonic development of the striped trumpeter (*Latris lineata* Bloch and Schneider, 1801). *Aquac.*, 176: 245–255. doi: 10.1016/S0044-8486(99)00117-9

- Blacio, E., y Alvarez, R. (2002). Propuesta de selección de especies de peces y moluscos para diversificación de la Acuicultura Marina. *Fundación CENAIM-ESPOL*.
- Blacio, E. (2004). Outdoor tank culture of almaco jacks in Ecuador. *Global Aquaculture Advocate*, 7(7): 38-39
- Blanco-Vives, B., Villamizar, N., Ramos, J., Bayarri, MJ., Chereguini, O. y Sánchez-Vázquez, FJ. (2010). Effect of daily thermo- and photo-cycles of different light spectrum on the development of Senegal sole (*Solea senegalensis*) larvae. *Aquac.*, 306(1-4): 137-145. doi: 10.1016/j.aquaculture.2010.05.034
- Blaxter, JT. (1969). 4 Development: Eggs and Larvae. In *Fish physiology*, (3): 177-252. Academic Press.
- Blaxter, JHS. y Hempel, G. (1963). The influence of egg size on herring larvae (*Clupea harengus* L.). *J. Cons. Int. Explor. Mer.*, 28(2): 211-240. doi: 10.1093/icesjms/28.2.211
- Blaxter, JHS. (1992). The effect of temperature on larval fishes. *Neth. J. Zool.*, 42 (2-3): 336–357. doi: 10.1163/156854291X00379
- Boulekbache, H. (1981). Energy metabolism in fish development. *Am. Zool.*, 21(2): 377-389. doi: 10.1093/icb/21.2.377
- Boulekbache, H., Bastin, J., Andriamihaja, M., Lefebvre, B. y Joly, C. (1989). Ageing of fish oocytes: Effects on adenylic nucleotides content, energy charge and viability of carp embryo. *Comp. Biochem. Physiol. B, Biochem. Mol. Biol.*, 93(2): 471-476. doi: 10.1016/0305-0491(89)90109-0
- Cetta, CM., y Capuzzo, JM. (1982). Physiological and biochemical aspects of embryonic and larval development of the winter flounder *Pseudopleuronectes americanus*. *Mar. Biol.*, 71(3), 327-337. doi: 10.1007/BF00397049
- China, V. y Holzman, R. (2014). Hydrodynamic starvation in first-feeding larval fishes. *PNAS*, 111(22): 8083-8088. doi: 10.1073/pnas.1323205111
- Choo, KC., y Liew, HC. (2006). Morphological development and allometric growth patterns in the juvenile seahorse *Hippocampus kuda* Bleeker. *J. Fish Biol.* 69(2): 426–445. doi: 10.1111/j.1095-8649.2006.01105.x

- Cobcroft, JM., Pankhurst, PM., Poortenaar, C., Hickman, B. y Tait, M. (2004). Jaw malformation in cultured yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) larvae. *N. Z. J. Mar. Fresh. Res.*, 38(1): 67-71. doi: 10.1080/00288330.2004.9517218
- Coulter, DP., Höök, TO., Mahapatra, CT., Guffey, SC. y Sepúlveda, MS. (2015). Fluctuating water temperatures affect development, physiological responses and cause sex reversal in fathead minnows. *Environ. Sci. Technol.*, 49(3): 1921-1928. doi: 10.1021/es5057159
- Eme, J., Mueller, CA., Lee, AH., Melendez, C., Manzon, RG., Somers, CM., Boreham, DR. y Wilson, JY. (2018). Daily, repeating fluctuations in embryonic incubation temperature alter metabolism and growth of Lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*). *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.*, 226: 49-56. doi: 10.1016/j.cbpa.2018.07.027
- Eme, J., Mueller, CA., Manzon, RG., Somers, CM., Boreham, DR. y Wilson, JY. (2015). Critical windows in embryonic development: Shifting incubation temperatures alter heart rate and oxygen consumption of Lake Whitefish (*Coregonus clupeaformis*) embryos and hatchlings. *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.*, 179: 71-80. doi: 10.1016/j.cbpa.2014.09.005
- Espinoza, N., Escala, E. y Blacio, E. (2009). Estudio de la factibilidad técnica del cultivo del huayaípe (*Seriola rivoliana*) en piscinas con y sin geomembranas. *Esc. Super. Politec. del Litroal Guayaquil*.
- FAO. (2022). Estadísticas de pesca y acuicultura. Producción mundial de acuicultura 1950-2020 (FishStatJ). In: FAO División de Pesca y Acuicultura [en línea]. Roma. Actualización 2022. [www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj/es](http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj/es)
- Fawcett, TW. y Frankenhuis, WE. (2015). Adaptive explanations for sensitive windows in development. *Front. Zool.*, 12(1): 1-14. doi: 10.1186/1742-9994-12-S1-S3
- Finn, RN., Fyhn, HJ., y Evjen, MS (1991). Respiration and nitrogen metabolism of Atlantic halibut eggs (*Hippoglossus hippoglossus*). *Mar. Biol.*, 108(1), 11-19. doi: 10.1007/BF01313466
- Finn, RN., Fyhn, HJ., y Evjen, MS. (1995a). Physiological energetics of developing embryos and yolk-sac larvae of Atlantic cod (*Gadus morhua*). I. Respiration and nitrogen metabolism. *Mar. Biol.*, 124(3), 355-369. doi: 0.1007/BF00363909

- Finn, RN., Henderson, JR., y Fyhn, HJ. (1995b). Physiological energetics of developing embryos and yolk-sac larvae of Atlantic cod (*Gadus morhua*). II. Lipid metabolism and enthalpy balance. *Mar. Biol.*, 124(3), 371-379. doi: 10.1007/BF00363910
- Finn, RN., Fyhn, HJ., Henderson, R.J., y Evjen, MS. (1996). The sequence of catabolic substrate oxidation and enthalpy balance of developing embryos and yolk-sac larvae of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.*, 115(2), 133-151. doi: 10.1016/0300-9629(96)00026-6
- Fowler, JA. (1970). Control of Vertebral Number in Teleosts- an Embryological Problem. *Q. Rev. Biol.*, 45(2): 148-167. doi: 10.1086/406492
- Fraher, D., Sanigorski, A., Mellett, NA., Meikle, P.J., Sinclair, A.J. y Gibert, Y. (2016). Zebrafish embryonic lipidomic analysis reveals that the yolk cell is metabolically active in processing lipid. *Cell Rep.*, 14(6): 1317-1329. doi: 10.1016/j.celrep.2016.01.016
- Froese, R. and D. Pauly. Editors. (2017) FishBase. World Wide Web electronic publication. [www.fishbase.org](http://www.fishbase.org)
- Fuiman, LA. (1983). Growth gradients in fish larvae. *J. Fish Biol.*, 23(1): 117-123. doi: 10.1111/j.1095-8649.1983.tb02886.x
- Fujimoto EK, Goeke NM, Olson BJ, Klenk DC (1985): Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal. Biochem.*, 150: 76-85. doi: 10.1016/0003-2697(85)90442-7
- Galgani, J., y Ravussin, E. (2008). Energy metabolism, fuel selection and body weight regulation. *Int. J. obes.*, 32 (7): 109-19. doi:10.1038/ijo.2008.246
- García-Guerrero, M., Racotta, IS., y Villarreal, H. (2003). Variation in lipid, protein, and carbohydrate content during the embryonic development of the crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae). *J. Crustac. Biol.*, 23(1), 1-6. doi: 10.1163/20021975-99990308
- Garside, ET. (1966). Developmental rate and vertebral number in salmonids. *J. Fish Res. Board Can.*, 23(10), 1537-1551. doi: 10.1139/f66-14

- Garrido, S., Ben-Hamadou, R., Santos, AMP., Ferreira, S., Teodósio, MA., Cotano, U., Irigoien, X., Peck, MA., Saiz, E., Ré, P. (2015) Born small, die young: intrinsic, size-selective mortality in marine larval fish. *Sci. Rep.*, 5: 17065. doi: 10.1038/srep17065.
- Gasparini, JL., y Floeter, SR. (2001). The shore fishes of Trindade Island, western south Atlantic. *J. Nat. Hist.*, 35(11), 1639-1656. doi: 10.1080/002229301317092379
- Geffen, AJ. (2002). Length of herring larvae in relation to age and time of hatching. *J. Fish Biol.*, 60(2): 479-485. doi: 10.1006/jfbi.2001.1859
- Gisbert E., Merino G., Muguet JB., Bush D., Piedrahita RH. y Conklin DE. (2002). Morphological development and allometric growth patterns in hatchery-reared California halibut larvae. *J. Fish Biol.*, 61: 1217–1229. doi: 10.1111/j.1095-8649.2002.tb02466.x
- Gisbert E. (1999). Early development and allometric growth patterns in Siberian sturgeon and their ecological significance. *J. Fish Biol.*, 54: 852–862. doi: 10.1111/j.1095-8649.1999.tb02037.x
- Gisbert, E., Piedrahita, RH., Conklin, DE. (2004). Ontogenetic development of the digestive system in California halibut (*Paralichthys californicus*) with notes on feeding practices. *Aquac.*, 232:455–470. doi: 10.1016/S0044-8486(03)00457-5
- Grossi-Dopico, E. (2010). Primeras experiencias de cultivo larvario del medregal negro (*Seriola rivoliana*, Valenciennes 1833) en Canarias. Tesis de maestría.
- Gould, SJ. (1966). Allometry and size in ontogeny and phylogeny. *Biol. rev. Camb. Phil. Soc.*, 41: 587–640.
- Hasan, R., y Qasim, SZ. (1961). Studies on fish metabolism. In *Proc. Indian Acad. Sci.*, 53 (5): 230-239. doi: 10.1007/BF03051061
- Heming, TA., Buddington, RK. (1988). Yolk sac absorption in embryonic and larval fishes pp. 407–446. In *Fish Physiol.* Vol. 11 (Hoar, W.S. and Randall, D. J., eds), New York: Academic Press. doi: 10.1016/S1546-5098(08)60203-4
- Henderson, RJ., y Tocher, DR. (1987). The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Prog. lipid res.*, 26 (4): 281-347. doi: 10.1016/0163-7827(87)90002-6
- Hilton, Z., Poortenaar, CW. y Sewell, MA. (2008). Lipid and protein utilisation during early development of yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*). *Mar. Biol.*, 154 (5): 855-865. doi:

10.1007/s00227-008-0978-z

Holt, GJ. (2002). Ecophysiology, growth and development of larvae and juveniles for aquaculture. *Fish. Sci.*, 68: 867-871. doi: 10.2331/fishsci.68.sup1\_867

Hou, Z. y Fuiman, LA. (2021). Maternal diet affects utilization of endogenous lipids by red drum *Sciaenops ocellatus* embryos and early larvae. *Comp. Biochem. Physiol. B, Biochem. Mol. Biol.*, 256: 110639. doi: 10.1016/j.cbpb.2021.110639

Hu, J., Liu, Y., Ma, Z., Qin, JG. (2018). Feeding and Development of Warm Water Marine Fish Larvae in Early Life. In: Yúfera, M. (eds) Emerging Issues in Fish Larvae Research. Springer, Cham. doi: 10.1007/978-3-319-73244-2\_10

Huang, J sheng., Amenyogbe, E., Chen, G. y Wang, W zheng. (2021). Biochemical composition and activities of digestive and antioxidant enzymes during the egg and yolk-sac larval development of the cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquac. Res.*, 52(4): 1643-1656. doi: 10.1111/are.15017

Imsland, AKD., Danielsen, M., Jonassen, TM., Hangstad, TA. y Falk-Petersen, IB. (2019). Effect of incubation temperature on eggs and larvae of lumpfish (*Cyclopterus lumpus*). *Aquac.*, 498: 217-222. doi: 10.1016/j.aquaculture.2018.08.061

Jaroszewska, M. y Dabrowski, K. (2011). Utilization of yolk: transition from endogenous to exogenous nutrition in fish. *Larval fish nutrition*: 183-218

Jerez HS. (2013). Cultivo de carángidos: la *Seriola* y el Jurel Dentón. En: Diversificación de especies en la piscicultura marina Española. Publicaciones científicas y tecnológicas de la Fundación observatorio Español de acuicultura. Madrid España.

Jeuthe, H., Brännäs, E. y Nilsson, J. (2016). Effects of variable egg incubation temperatures on the embryonic development in Arctic charr *Salvelinus alpinus*. *Aquac. Res.*, 47(12): 3753-3764. doi: 10.1111/are.12825

Johnson, DW., Grorud-Colvert, K., Sponaugle, S., Semmens, BX. (2014). Phenotypic variation and selective mortality as major drivers of recruitment variability in fishes. *Ecol. Lett.* 17: 743–755. doi: 10.1111/ele.12273

- Johnson, DW., Christie, MR., Moye, J., Hixon, MA. (2011). Genetic correlations between adults and larvae in a marine fish: potential effects of fishery selection on population replenishment fishery selection may reduce recruitment. *Evol. Appl.*, 4: 621–633. doi: 10.1111/j.1752-4571.2011.00185.x
- Johnson, DW., Christie, MR., Moye, J. (2010). Quantifying evolutionary potential of marine fish larvae: heritability, selection, and evolutionary constraints. *Evolution*, 64: 2614–2628. doi: 10.1111/j.1558-5646.2010.01027.x
- Jonsson, N. y Hansen, MM. (2022). Knock-on effects of environmental influences during embryonic development of ectothermic vertebrates. *Q. Rev. Biol.*, 97(2), 95-139. doi: 10.1086/720081
- Jung, KM., Svoldal, AM., Eide, T., Thorsen, A. y Kjesbu, OS. (2012). Seasonal trends in adenylate nucleotide content in eggs of recruit and repeat spawning Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) and implications for egg quality and buoyancy. *J. Sea Res.*, 73: 63-73. doi: 10.1016/j.seares.2012.06.007
- Kamler, E. (1992). Early life history of fish: An energetics approach. Fish and Fisheries. Series 4, Pitcher T.J. (Ed.), 267p. London.
- Kamler, E. (2012). *Early life history of fish: an energetics approach* (Vol. 4). Springer Science & Business Media.
- Kato, K., Okamura, Y., Kimura, J., Yoshida, K., Takenouchi, T. y Miki, M. (1990). Gonadal maturation of carangid *Seriola rivoliana* from Ogasawara Islands waters, Southern Japan. *Aquac. Sci.* 38(1): 81-87
- Kawabe, K., Kato, K., Kimura, J., Okamura, Y., Takenouchi, T. y Yoshida, K. (1997). Rearing of Brood fish and Egg-taking from the Carangid fish *Seriola rivoliana* in Chichi-jima, Ogasawara Islands, Southern Japan. *Aquac. Sci.*, 45(2): 201-206. doi: 10.11233/aquaculturesci1953.45.201
- Khemis IB., Gisbert E., Alcaraz C., Zouiten D., Besbes R., Zoutien A., Masmoundi AS. y Cahu C. (2013). Allo-metric growth patterns and development in larvae and juvenile of thick-lipped grey mullet *Chelon labrosus* reared in mesocosm conditions. *Aquac. Res.* 44: 1872–1888. doi: 10.1111/j.1365-2109.2012.03192.x.
- Kinne, O. (1962). Irreversible nongenetic adaptation. *Comp. Biochem. Physiol.*, 5(4): 265-282. doi:

10.1016/0010-406X(62)90056-7

- Kinne, O., Kinne, EM. (1962). Rates of development in embryos of a cyprinodont fish exposed to different temperature–salinity–oxygen combinations. *Can. J. Zool.*, 40:231–253. doi: 10.1139/z62-025
- Koditschek L K, Umbreit, E.E. (1969).  $\alpha$ -Glycerophosphate Oxidase in *Streptococcus faecium* F 24 *J Bacteriol. Res.*, 98: 1063-1068. doi: 10.1128/jb.98.3.1063-1068.1969
- Klingenberg, CP., Froese, R. (1991). A multivariate analysis of allometric growth patterns. *Sys. Biol.*, 40: 410-419. doi: 10.1093/sysbio/40.4.410
- Kolkovski, S., Sakakura, Y. (2004). Yellowtail kingfish, from larvae to mature fish—problems and opportunities. *Avances en Nutrición Acuícola VII: 17*
- Koumoundouros, G., Divanach, P., Kentouri, M. (1999). Ontogeny and allometric plasticity of *Dentex dentex* (Osteichthyes: Sparidae) in rearing conditions. *Mar. Biol.*, 135: 561–572. doi: 10.1007/s002270050657
- Kupren, K., Mamcarz, A. y Kucharczyk, D. (2011). Effect of variable and constant thermal conditions on embryonic and early larval development of fish from the genus *Leuciscus* (Cyprinidae, Teleostei). *Czech. J. Anim. Sci.*, 56(2): 70-80. doi: 10.17221/312/2009-cjas
- Kurokawa, T., Okamoto, T., Gen, K., Uji, S., Murashita, K., Unuma, T. y Tanaka, H. (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. doi: 10.1111/j.1749-7345.2008.00208.x
- Lahnsteiner, F. (2005). Carbohydrate metabolism of eggs of the whitefish, *Coregonus spp.* during embryogenesis and its relationship with egg quality. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.*, 142(1): 46-55. doi: 10.1016/j.cbpc.2005.05.015
- Lahnsteiner, F., Kletzl, M. y Weismann, T. (2012). The effect of temperature on embryonic and yolk-sac larval development in the burbot *Lota lota*. *J. Fish Biol.*, 81(3): 977-986. doi: 10.1111/j.1095-8649.2012.03344.x
- Lahnsteiner, F. y Patarnello, P. (2003). Investigations on the metabolism of viable and nonviable gilthead sea bream (*Sparus aurata*) eggs. *Aquac.*, 223(1-4): 159-174. doi: 10.1016/S0044-8486(03)00159-5

- Laurel, BJ., Hurst, TP., Copeman, LA., Davis, MW. (2008). The role of temperature on the growth and survival of early and late hatching Pacific cod larvae (*Gadus macrocephalus*). *J. Plankton Res.*, 30: 1051–1060. doi: 10.1093/plankt/fbn057
- Laidley, CW., Shields, R. J., y Ostrowski, AO. (2004). Progress in amberjack culture at the Oceanic Institute in Hawaii. *Glob. Aquacult. Advocate*, 7, 42-43.
- Lieske, E., Myers, R., (1994). Collins pocket guide. Coral reef fishes indo-pacific and caribbean: including the red sea. Haper Collins Publishers, London
- Lim, MYT., Manzon, RG., Somers, CM., Boreham, DR. y Wilson, JY. (2017). The effects of fluctuating temperature regimes on the embryonic development of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*). *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.*, 214: 19-29. doi: 10.1016/j.cbpa.2017.08.010
- Lindsey, CC. (1954). Temperature-Controlled Meristic Variation in the Paradise Fish *Macropodus Opercularis* (L.) . *Can. J. Zool.*, 32(2): 87-98. doi: 10.1139/z54-011
- Lindsey, CC. (1988). Factors controlling meristic variation. In *Fish physiology*, 11: 197-274. Academic Press.
- Llanos-Rivera, A. y Castro, LR. (2006). Inter-population differences in temperature effects on *Engraulis ringens* yolk-sac larvae. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 312: 245-253. doi: 10.3354/meps312245
- Lugowska, K. y Kondera, E. (2018). Early development of vimba (*Vimba vimba*) at different temperatures and temperature-related anomalies. *Aquac. Res.*, 49(6): 2336-2344. doi: 10.1111/are.13670
- Lugowska, K. y Witeska, M. (2018). The effect of temperature on early development of barbel *Barbus barbus* (L.). *Aquac. Res.*, 49(7): 2495-2502. doi: 10.1111/are.13709
- Martell, DJ., Kieffer, JD. y Trippel, EA. (2005). Effects of temperature during early life history on embryonic and larval development and growth in haddock. *J. Fish Biol.*, 66(6): 1558-1575. doi: 10.1111/j.0022-1112.2005.00699.x
- Martínez-Montaña, E., González-Álvarez, K., Lazo, JP., Audelo-Naranjo, JM. y Vélez-Medel, A. (2016). Morphological development and allometric growth of yellowtail kingfish *Seriola*

- lalandi* V. larvae under culture conditions. *Aquac. Res.*, 47(4): 1277-1287. doi: 10.1111/are.12587
- Moal, J., Le Coz, JR., Samain, JF., Daniel, JY. (1989). Nucleotides in bivalves: extraction and analysis by high-performance liquid chromatography (HPLC). *Comp. Biochem. Physiol. B, Biochem.*, 93: 307–316. doi: 10.1016/0305-0491(89)90086-2
- Mommsen, TP. y Hochachka, PW. (1988). The purine nucleotide cycle as two temporally separated metabolic units: A study on trout muscle. *Metabolism*, 37(6): 552-556. doi: 10.1016/0026-0495(88)90170-9
- Moran, D., Smith, CK., Brendan G., y Poortenaar, CW. (2007a). Reproductive behaviour and early development in yellowtail kingfish (*Seriola lalandi* Valenciennes 1833). *Aquaculture*, 262, 95-104. doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.10.005.
- Moran, D., Gara, B., y Wells, RM. (2007b). Energetics and metabolism of yellowtail kingfish (*Seriola lalandi* Valenciennes 1833) during embryogenesis. *Aquac.*, 265(1-4), 359-369. doi: 10.1016/j.aquaculture.2007.02.003
- Moreno-Alva, M. (2018) México comienza la producción de jurel con fines alimentarios. [http://www.ipacuicultura.com/noticias/en\\_portada/64622/mexico\\_comienza\\_la\\_produccion\\_de\\_jurel\\_con\\_fines\\_alimentarios\\_.html](http://www.ipacuicultura.com/noticias/en_portada/64622/mexico_comienza_la_produccion_de_jurel_con_fines_alimentarios_.html)
- Moser, HG., Charter, RL., Smith, PE., Ambrose, DA., Charter, SR., Meyer, CA., Sandknop, EM., y Watson, W. (1993). Distributional atlas of fish larvae and eggs in the California Current region: taxa with 1000 or more total larvae, 1951-1984. CalCOFI Atlas No.31, 233 pp.
- Mueller, CA., Doyle, L., Eme, J., Manzon, RG., Somers, CM., Boreham, DR. y Wilson, JY. (2017). Lipid content and fatty acid profile during lake whitefish embryonic development at different incubation temperatures. *Comp. Biochem. Physiol. A, Mol. Int. Physiol.*, 203: 201-209. doi: 10.1016/j.cbpa.2016.09.018
- Mueller, CA., Eme, J., Manzon, RG., Somers, CM., Boreham, DR. y Wilson, JY. (2015). Embryonic critical windows: changes in incubation temperature alter survival, hatchling phenotype, and cost of development in lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*). *J. Comp. Physiol. B*, 185(3): 315-331. doi: 10.1007/s00360-015-0886-8

- Murua, H. y Saborido-Rey, F. (2003). Female reproductive strategies of marine fish species of the north Atlantic. *J. of N. Atl. Fish. Sc.*, 33: 23-31.
- Ng, A., Uribe, RA., Yieh, L., Nuckels, R. y Gross, JM. (2009). Zebrafish mutations in gart and paics identify crucial roles for de novo purine synthesis in vertebrate pigmentation and ocular development. *Development.*, 136(15): 2601-2611. doi: 10.1242/dev.038315
- Ninness, M. M., Don Stevens, E., and Wright, P. A. (2006a). Removal of the chorion before hatching results in increased movement and accelerated growth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) embryos. *J. Exp. Biol.*, 209: 1874-1882. doi:10.1242/jeb.02200.
- Ninness, M. M., Stevens, E. D., & Wright, P. A. (2006b). Energy expenditure during hatching in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) embryos. *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, 63(6), 1405-1413. doi: 10.1139/f06-036
- Ojanguren, AF. y Braña, F. (2003). Thermal dependence of embryonic growth and development in brown trout. *J. Fish Biol.*, 62(3): 580-590. doi: 10.1046/j.1095-8649.2003.00049.x
- Osse, JWM. (1990). Form changes in fish larvae in relation to changing demands of function. *Neth. J. Zool.*, 40: 362-385.
- Osse, JWM., y Van den Boogaart, JGM. (1995). Fish larvae, development, allometric growth, and the aquatic environment. International Council for the Exploration of the Sea Marine Science Symposium, 201: 21-34.
- Osse, JWM., Van den Boogaart, JGM., Van Snik, GMJ., Van der Sluys, L. (1997). Priorities during early growth of fish larvae. *Aquac.*, 155: 249-258. doi: 10.1016/S0044-8486(97)00126-9
- Osse JWM., Van den Boogaart, JGM. (1999). Dynamic morphology of fish larvae, structural implications of friction forces in swimming, feeding and ventilation. *J. Fish. Biol.*, 55: 156-174. doi: 10.1111/j.1095-8649.1999.tb01053.x
- Ottesen, OH. y Bolla, S. (1998). Combined effects of temperature and salinity on development and survival of Atlantic halibut larvae. *Aquac. Int.*, 6(2): 103-120. doi: 10.1023/A:1009234122861
- Pacheco Carlón, N. (2016). Protocolos innovadores de criterios de calidad larvaria de ostión japonés que permitan incrementar el rendimiento en cultivo y mejorar los sistemas de producción de semilla. Tesis de maestría.

- Palacios, E., Racotta, IS., Aparicio, B., Arjona, O. y Martínez-Palacios, CA. (2007). Lipid classes and fatty acids during embryogenesis of captive and wild silverside (*Chirostoma estor estor*) from Pátzcuaro Lake. *Fish Physiol. Biochem.*, 33(1): 81-91. doi: 10.1007/s10695-006-9119-0
- Pauly, D. y Pullin, RSV. (1988). Hatching time in spherical, pelagic, marine fish eggs in response to temperature and egg size. *Environ. Biol. Fishes*, 22(4): 261-271. doi: 10.1007/BF00004892
- Pedersen, BH. (1997). The cost of growth in young fish larvae, a review of new hypotheses. *Aquac.*, 155: 259-269. doi: 10.1016/S0044-8486(97)00127-0
- Peña R. y Dumas S. (2009). Development and allometric growth patterns during early larval stage of the spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* (Percoidei: Serranidae). *Sci. Mar.* 73, 183–189. doi: 10.3989/scimar.2009.73s1183
- Pepin, P. (1991). Effects of temperature and size on the development, mortality, and survival rates of the pelagic early life history stages of marine fish. *Can. J. Fish. Aquac. Sci.*, 48: 503–518. doi: 10.1139/f91-06
- Peterson, R. H., Spinney, H. C. E., & Sreedharan, A. (1977). Development of Atlantic salmon (*Salmo salar*) eggs and alevins under varied temperature regimes. *J. Fish. Res. Board Can.*, 1: 31-43. doi: 10.1139/f77-004
- Pincetich, CA., Viant, MR., Hinton, DE. y Tjeerdema, RS. (2005). Metabolic changes in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) during embryogenesis and hypoxia as determined by in vivo <sup>31</sup>P NMR. *Comp. Biochem. Physiol. - C: Toxicol. Pharmacol.*, 140(1): 103-113. doi: 10.1016/j.cca.2005.01.010
- Pisano, OM., Kuparinen, A., y Hutchings, JA. (2019). Cyclical and stochastic thermal variability affects survival and growth in brook trout. *J. Therm. Biol.*, 84: 221-227. doi: 10.1016/j.jtherbio.2019.07.012
- Pittman, K., Skiftesvik, AB., y Berg, L. (1990). Morphological and behavioural development of halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L.) larvae. *J. Fish Biol.*, 37(3): 455-472. doi: 10.1111/j.1095-8649.1990.tb05876.x
- Podrabsky, JE. y Hand, SC. (1999). The bioenergetics of embryonic diapause in an annual killifish, *Austrofundulus limnaeus*. *J. Exp. Biol.*, 202(19): 2567-2580. doi: 10.1242/jeb.202.19.2567

- Puvanendran, V., Falk-Petersen, IB., Lysne, H., Tveiten, H., Toften, H. y Peruzzi, S. (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(1): 226-235. doi: 10.1111/are.12173
- Quiñones-Arreola, MF. (2015). Estudio de la reproducción y calidad de la progenie de los jureles *Seriola lalandi* y *Seriola rivoliana*. Tesis doctoral. ITSON.
- Quiñones-Arreola, MF., Fabiola Arcos-Ortega, G., Gracia-López, V., Casillas-Hernández, R., Weirich, C., Morris, T., Díaz-Tenorio, M. y Ibarra-Gómez, C. (2015). Desempeño reproductivo y calidad de huevos en reproductores de origen silvestre y domesticado-F1 de jurel *Seriola rivoliana* bajo las mismas condiciones de cultivo. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 43(5): 953-962. doi: 10.3856/vol43-issue5-fulltext-15
- Réalís-Doyelle, E., Pasquet, A., De Charleroy, D., Fontaine, P., Teletchea, F. (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). doi: 10.1371/journal.pone.0155487
- Réalís-Doyelle, E., Gisbert, E., Alcaraz, C., Teletchea, F., & Pasquet, A. (2018). Temperature affects growth allometry and developmental patterns in the brown trout (*Salmo trutta*) fry: a multi trait approach. *Can. J. Aquat. Sci.*, 75(5): 714-722. doi: 10.1139/cjfas-2017-0037
- Reyes, BA., Pendergast, JS. y Yamazaki, S. (2008). Mammalian peripheral circadian oscillators are temperature compensated. *J. Biol. Rhythms.*, 23(1): 95-98. doi: 10.1177/0748730407311855
- Riis-Vestergaard, J. (2002). Energy density of marine pelagic fish eggs. *J. Fish Biol.*, 60(6), 1511-1528. doi: 10.1111/j.1095-8649.2002.tb02444.x
- Robles-Romo, A., Zenteno-Savín, T. y Racotta, IS. (2016). Bioenergetic status and oxidative stress during escape response until exhaustion in whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 478: 16-23. doi: 10.1016/j.jembe.2016.01.016
- Roe, JH., Bailey, JM., Gray, RR. y Robinson, JN. (1961). Complete Removal of Glycogen from Tissues by Extraction with Cold trichloroacetic Acid Solution. *J. Biol. Chem.* 236(5):1244-1246. doi: 10.1016/S0021-9258(18)64157-2

- Roo, J., Izquierdo, M., Socorro Cruz, JA., y Caballero Cansino, MJ. (2001). Caracterización histológica del desarrollo del sistema visual en larvas de Dorada *Sparus aurata* (Linnaeus 1758).
- Roo, J., Fernández-Palacios, H., Hernández-Cruz, CM., Mesa-Rodríguez, A., Schuchardt, D. y Izquierdo, M. (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(4): 689-700. doi: 10.1111/are.12007
- 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*). *Aquac.*, 162(1-2), 157-170. doi: 10.1016/S0044-8486(98)00203-8
- Santamaría-Miranda, A., Dumas, S., Pérez-Urbiola, JC., Peña, R., Treviño, L., Moguel-Hernández, I., Arjona, O. y Palacios, E. (2021). Fatty acid composition and spawning quality in wild and captive broodstock of Pacific red snapper *Lutjanus peru*. *Aquac.*, 538. doi: 10.1016/j.aquaculture.2021.736577
- Santerre, MT. (1976). Effects of temperature and salinity on the eggs and early larvae of *Caranx mate* (Cuv. & Valenci.) (pisces: carangidae) in Hawaii. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 21(1): 51-68. doi: 10.1016/0022-0981(76)90068-X
- Scoppettone, GG., Buettner, ME. y Rissler, PH. (1993). Effect of four fluctuating temperature regimes on cui-ui, *Chasmistes cujus*, survival from egg fertilization to swim-up, and size of larvae produced. *Env. Biol. Fish.*, 38(4): 373-378. doi: 10.1007/BF00007531
- Seikai, T., Tanangonan, JB. y Tanaka, M. (1986). Temperature Influence on Larval Growth and Metamorphosis of the Japanese Flounder *Palalichthys olivaceus* in the Laboratory. *Nippon Suisan Gakkaishi.*, 52:977-982. doi: 10.2331/suisan.52.977
- Seoka, M., Takii, K., Takaoka, O., Nakamura, M., y Kumai, H. (1997). Biochemical phases in embryonic red sea bream development. *Fish.sci.*, 63(1), 122-127. doi: doi.org/10.2331/fishsci.63.122

- Solberg, TS., y Tilseth, S. (1984). Growth, energy consumption and prey density requirements in first feeding larvae of cod (*Gadus morhua* L.). In: The propagation of cod *Gadus morhua* L.: an international symposium, Arendal, 14-17 June 1983.
- Shan, X., Quan, H. y Dou, S. (2008). Effects of delayed first feeding on growth and survival of rock bream *Oplegnathus fasciatus* larvae. *Aquac.*, 277(1-2): 14-23. doi: 10.1016/j.aquaculture.2008.01.044
- Shulman, G. E., & Love, RM. (1999). Molecular and Metabolic Aspects of Life Cycles. *Advances in Mar. Biol.*, 36: 89-137. doi: 10.1016/S0065-2881(08)60153-4
- Sicard-González, MT., Tripp-Valdez, MA., Maeda-Martínez, A. y Lluch-cota, SE. (2012). Coastal sea surface temperature records along the Baja California peninsula. *CICIMAR Oceanides*, 27(2): 65-69. doi: 10.37543/oceanides.v27i2.118
- Silversand, C. (1996). Fatty-acid composition of ovulated eggs from wild and cultured turbot (*Scophthalmus maximus*) in relation to yolk and oil globule lipids. *Mar. Biol.*, 125(2): 269-278. doi: 10.1007/BF00346307
- Smith, PE. (1981). Fisheries in coastal pelagic schooling fish 1–21 pp. In: Marine fish larvae, morphology, ecology and relation to fisheries, Lakser, R. (Ed.), Univ. of Wash. Press Seattle, London.
- Sims, NA. (2019). The status of Almaco Jack, *Seriola rivoliana*, as a commercially ready species for US marine aquaculture [Video]. <https://www.youtube.com/watch?v=RQ9NPknUMI8>
- Skaalsvik, TH., Bolla, SL., Thornqvist, PO. y Babiak, I. (2015). Quantitative characteristics of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) egg quality throughout the reproductive season. *Theriogenology*, 83(1): 38-47. doi: 10.1016/j.theriogenology.2014.07.043
- Takii, K., Miyashita, S., Seoka, M., Tanaka, Y., Kubo, Y. y Kumai, H. (1997). Changes in Chemical Contents and Enzyme Activities during Embryonic Development of Bluefin Tuna. *Fish. Sci.*, 63(6): 1014-1018. doi: 10.2331/fishsci.63.1014
- Tanaka, T., Honryo, T., Sawada, Y., Marguilies, D., Scholey, V., Wexler, J., Stein, M., Biswas, A. y Takii, K. (2022). Biochemical changes occurring in Yellowfin tuna eggs during embryonic development. *Fishes*, 7(2): 1-10. doi: 10.3390/fishes7020062

- Tanning, ÅV. (1952). Experimental study of meristic characters in fishes. *Biol. Rev.*, 27(2), 169-193. doi: 10.1111/j.1469-185X.1952.tb01392.x
- Tejada, M. 2009. ATP-derived products and K-value determination. In: Fishery Products: Quality, Safety and Authenticity. H., Rehbein, and J. Oehlenschläger (Eds.). Chichester, UK: Blackwell. : 68–88.
- Turner, C. (1979). Metabolism and energy conversion during early development. *Fish Physiol.*, 8: 261-278. doi: 10.1016/S1546-5098(08)60028-X
- Tocher, DR. (2003). Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews Fish. Sci.*, 11(2): 107-184. doi: 10.1080/713610925
- Vetter, RD., Hodson, RE. y Arnold, C. (1983). Energy metabolism in a rapidly developing marine fish egg, the red drum (*Sciaenops ocellata*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 40(5): 627-634. doi: 10.1139/f83-082
- Viader-Guerrero, M., Guzmán-Villanueva, LT., Spanopoulos-Zarco, M., Estrada-Godínez, JA., Maldonado-García, D., Gracia-López, V., Omont, A. y Maldonado-García, M. (2021). Effects of temperature on hatching rate and early larval development of longfin yellowtail *Seriola rivoliana*. *Aquac. Rep.* doi: 10.1016/j.aqrep.2021.100843
- Villamizar, N., Ribas, L., Piferrer, F., Vera, LM. y Sánchez-Vázquez, FJ. (2012). Impact of Daily Thermocycles on Hatching Rhythms, Larval Performance and Sex Differentiation of Zebrafish. *PLoS ONE*, 7(12): 1-9. doi: 10.1371/journal.pone.0052153
- Wang, Y., Heigenhauser, G.J., Wood, C.M., 1994. Integrated responses to exhaustive exercise and recovery in rainbow trout white muscle: acid–base, phosphogen, carbohydrate, lipid, ammonia, fluid volume and electrolyte metabolism. *J. Exp. Biol.* 195: 227–258. doi: 10.1242/jeb.195.1.227
- Wen, W., Huang, X., Chen, Q., Feng, L. y Wei, L. (2013). Temperature effects on early development and biochemical dynamics of a marine fish, *Inimicus japonicus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 442: 22-29. doi: 10.1016/j.jembe.2013.01.025
- Wendling, NC., Bencic, DC., Nagler, JJ., Cloud, JG. y Ingermann, RL. (2004). Adenosine triphosphate levels in steelhead (*Oncorhynchus mykiss*) eggs: An examination of turnover,

- localization and role. *Comp. Biochem. Physiol.-A, Mol. Int. Physiol.*, 137(4): 739-748. doi: 10.1016/j.cbpb.2004.02.009
- Wiegand, MD. (1996). Utilization of yolk fatty acids by goldfish embryos and larvae. *Fish Physiol. Biochem.*, 15(1): 21-27. doi: 10.1007/BF01874834
- Wieser, W. (1995). Energetics of fish larvae, the smallest vertebrates. *Acta Physiol. Scand.*, 154(3), 279-290. doi: 10.1111/j.1748-1716.1995.tb09912.x
- Yu, G., Ma, Z., Hu, J., Liu, Y., Yang, Q. y Yang, R. (2017). Water temperature affects the ontogenetic development of yellowtail amberjack *Seriola lalandi* (Gill 1863). *Insights Aquac. Biotech.*, 1(13): 1-8
- Yúfera, M. y Darias, MJ. (2007). The onset of exogenous feeding in marine fish larvae. *Aquac.*, 268: 53-63. doi: 10.1016/j.aquaculture.2007.04.050
- Zalkin, H. and Dixon, J. E. (1992). De novo purine nucleotide biosynthesis. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* 42: 259-287. Doi: 10.1016/S0079-6603(08)60578-4