

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS VETERINARIAS



EFFECTO DEL ÁCIDO ARAQUÍDONICO EN LOS PARÁMETROS DE CRECIMIENTO, QUÍMICA SANGUÍNEA, PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS, ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LIPASAS DE *Totoaba macdonaldi*

TESIS

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS VETERINARIAS

PRESENTA

L.B.A. OSCAR LUIS ALVARADO MUÑOZ

MEXICALI, BAJA CALIFORNIA

ENERO DE 2024

EFFECTO DEL ÁCIDO ARAQUÍDONICO EN LOS PARÁMETROS DE CRECIMIENTO, QUÍMICA SANGUÍNEA, PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS, ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LIPASAS DE *Totoaba macdonaldi*. Tesis presentada por L.B.A. Oscar Luis Alvarado Muñoz como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias Veterinarias ha sido aprobada por el comité particular indicado:

Dr. Miguel Arturo Cabanillas Gámez
Director de Tesis

Dr. Fernando Barreto Curiel
Co-Director de Tesis

Dra. Sawako Oshima
Sinodal

Dra. Lus Mercedes López Acuña
Sinodal

Dr. Mario Alberto Galaviz Espinoza
Sinodal

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a la Universidad Autónoma de Baja California, al Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias por permitirme estudiar en su programa de maestría en Ciencias Veterinarias y a la Facultad de Ciencias Marinas a la que considero mi segundo hogar por alojarme durante tantos años y permitirme desarrollar mi trabajo de investigación en sus instalaciones.

Al CONACYT por apoyarme con una beca (CVU 1149184) durante mi periodo de maestría y lograr realizar mi sueño de estudiar un posgrado.

Quiero agradecer a mi comité de tesis por todo su apoyo durante mi investigación, a mis directores de tesis Dr. Miguel Cabanillas y Dr. Fernando Barreto por incorporarme en el proyecto del presente estudio y su capacitación en las técnicas que se aplicaron al experimento, agradecer mis sinodales la Dra. Lus M. López y Dr. Mario Galaviz por toda la orientación y guía para desarrollar el experimento y análisis de muestras en el laboratorio de Nutrición Acuícola de la Facultad de Ciencias Marinas, y a la Dra. Sawako Oshima por su apoyo con la interpretación de datos. Así como, agradecer a la Dra. Idaly Trejo, por su apoyo en las técnicas de actividad enzimática que se ejecutaron en este trabajo.

A mis compañeros del Laboratorio de Nutrición, Samantha, Regina, Liz, Ana, Carlos, Marco, Brandon, Fernanda, Arantxa, Juan Ángel, Gustavo, Mariana, por haberme apoyado durante los muestreos, análisis químico-proximales, y todo el trabajo de laboratorio que implicó el desarrollo de mi investigación.

DEDICATORIA

A mis padres Oscar y Patricia, mi hermana Martha, Tacobelle, mi nana Tomasita que desde el cielo me va a mirar cumplir una de las metas más importantes, a ti Ana por acompañarme en este camino, maestros, que me han impulsado desde el inicio de mi carrera en la acuicultura, hasta culminar con mi grado de maestría.

CONTENIDO

LISTA DE TABLAS	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
RESUMEN	xi
ABSTRACT.....	xiii
INTRODUCCIÓN.....	1
ANTECEDENTES	7
JUSTIFICACIÓN	11
HIPÓTESIS:	12
OBJETIVO GENERAL	13
OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	13
DISEÑO EXPERIMENTAL:.....	14
Diseño de dietas experimentales	14
Siembra de organismos.....	14
METODOLOGÍA	17
Análisis de parámetros productivos.	18
Química sanguínea (hematocrito en sangre; proteína total, albumina, colesterol, triglicéridos y glucosa en plasma).....	18
Determinación de actividad de lipasas totales en hígado de <i>Totoaba macdonaldi</i> (extracción de lipasas, determinación de proteína soluble, ensayo enzimático)	19
RESULTADOS	22
Química sanguínea de juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i>	25
Perfil proximal de tejidos (músculo, hígado y pez entero)	26
Perfil de ácidos grasos de hígado y músculo (liofilizados) de juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> alimentados con distintas dietas enriquecidas de ARA.	29
Actividad enzimática de lipasas totales en hígado de <i>Totoaba macdonaldi</i> alimentados con dietas enriquecidas de ácido araquidónico (Véase cuadro 1.12).....	32
DISCUSIÓN	33
CONCLUSIÓN.....	41
BIBLIOGRAFÍA CITADA	42

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Ingredientes (g kg^{-1} materia seca) dietas experimentales con diferentes niveles de inclusión ácido araquidónico con sustitución total por aceite de pescado en juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> alimentados durante 74 días.....	16
Tabla 2 Protocolo de pruebas para química sanguínea en plasma de juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> alimentados con dietas enriquecidas de ARA.	19
Tabla 3. Curva de calibración de Albumina para determinar proteína soluble en extractos de hígado de <i>Totoaba macdonaldi</i>	20
Tabla 4. Perfil de ácidos grasos de ingredientes utilizados en la formulación de dietas (mg g^{-1}) para juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i>	22
Tabla 5. Composición proximal y perfil de ácidos grasos de dietas experimentales (mg g^{-1} alimento), utilizadas para alimentar a la <i>Totoaba macdonaldi</i> durante 74 días con distintos niveles de ácido araquidónico, n=3.....	23
Tabla 6. Perfil de aminoácidos de dietas experimentales (ajustados al % de proteína), utilizadas para alimentar a la <i>Totoaba macdonaldi</i> durante 74 días con distintos niveles de ácido araquidónico, n=3.	24
Tabla 7. Parámetros productivos evaluados en juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> alimentados con diferentes niveles de ácido araquidónico en la dieta.	25
Tabla 8. Química sanguínea de juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> alimentados con dietas enriquecidas de ácido araquidónico durante 74 días (n=9).	26
Tabla 9. Composición proximal de músculo, hígado y pez entero de juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> al inicio y final del experimento, alimentados con dietas enriquecidas de ácido araquidónico ($P<0.05$)......	28
Tabla 10. Perfil de ácidos grasos de hígado de <i>Totoaba macdonaldi</i> (mg g^{-1}) tras 74 días de alimentación con diferentes niveles de ácido araquidónico en la dieta.	30
Tabla 11. Perfil de ácidos grasos de músculo de <i>Totoaba macdonaldi</i> (mg g^{-1}) tras 74 días de alimentación con diferentes niveles de ácido araquidónico en la dieta.	31
Tabla 12. Actividad enzimática de lipasas totales en hígado de <i>Totoaba macdonaldi</i> (Unidades de enzima por gramo de hígado)	32
Tabla 13. Química sanguínea de juveniles reportada en juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> en otros estudios realizados.....	36

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Metabolismo de ARA. Katzung y Trevor (2004)..	4
Figura 2. Juvenil de <i>Totoaba macdonaldi</i> (foto Lus M. López)	5

RESUMEN de tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias Veterinarias que presenta L.B.A. Oscar Luis Alvarado Muñoz como requisito parcial para su titulación del Instituto de Ciencias Veterinarias. Mexicali, Baja California, México. Enero 2024

“EFECTO DEL ÁCIDO ARAQUÍDONICO EN LOS PARÁMETROS DE CRECIMIENTO, QUÍMICA SANGUÍNEA, PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS, ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LIPASAS DE *Totoaba macdonaldi*”

Resumen aprobado por:

Dr. Fernando Barreto Curiel

Dr. Dr. Miguel Arturo Cabanillas Gámez

El cultivo de organismos marinos presenta un reto en la formulación de alimentos balanceados, donde su principal limitante es el elevado costo de los insumos y el uso de harina (HP) y aceite de pescado (FO) como fuentes principales de aminoácidos y ácidos grasos esenciales, como son ARA (ácido araquidónico) (20:4 ω 6), EPA (eicosapentaenoico) (20:5 ω 3) y DHA (ácido docosahexaenoico) (22:6 ω 3), los cuales no pueden ser sintetizados endógenamente por el organismo. Por ello, el objetivo del trabajo fue determinar el efecto del ácido araquidónico en la dieta de juveniles de *Totoaba macdonaldi* sobre los parámetros productivos, química sanguínea, composición proximal, perfil de ácidos grasos de hígado y músculo y actividad de lipasas totales en hígado. Se elaboraron 5 dietas (isoproteicas e isolípicas, 46% proteína y 11.5% lípidos): 1 dieta control (HP y FO) y 4 dietas con niveles ascendentes de ARA con 0.7 ± 0.1 (D30+ARA), 1.3 ± 0.0 (D60+ARA), 2.0 ± 0.3 (D90+ARA), 2.2 ± 0.02 (D120+ARA) mg g⁻¹, respectivamente (tratamientos: D30+ARA, D60+ARA, D90+ARA y D120+ARA).

Se sembraron 16 organismos por unidad experimental (15 tanques = 240 organismos) con una talla promedio de 23.9 ± 0.1 g. El bioensayo se llevó a cabo durante 74 días. Los resultados obtenidos de los parámetros de crecimiento (peso inicial y final, talla inicial y final, factor de

conversión alimenticia (FCA), Tasa de crecimiento específico (TCE), tasa de eficiencia proteica (PER), porcentaje de peso ganado (%PG), índice hepatosomático (IHS) e índice viscerosomático (IVS), no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, el análisis de la química sanguínea presentó un contenido significativamente mayor ($P < 0.05$) en proteína total y albumina para DC, respecto al resto de los tratamientos. En lo que respecta al resto de parámetros sanguíneos, el contenido de triglicéridos en plasma para el tratamiento D60+ARA ($151.1 \pm 7.6 \text{ mg dL}^{-1}$) fue significativamente mayor ($P < 0.05$) comparado con el resto de los tratamientos. El contenido de colesterol en plasma fue significativamente mayor en D30+ARA y D60+ARA, y la glucosa fue significativamente menor en las dietas D60+ARA y D120+ARA respecto al resto de los tratamientos ($P < 0.05$). El ARA en el hígado y músculo mostró una acumulación progresiva en respuesta al nivel de la dieta, mientras que EPA y DHA fueron significativamente menores en las dietas enriquecidas con ARA ($P < 0.05$) respecto a DC. El contenido de EPA en hígado de los organismos alimentados con la DC fue significativamente mayor con 1.9 mg g^{-1} respecto al resto de los tratamientos enriquecidos con ARA (0.3 mg g^{-1} promedio). El contenido de DHA en hígado en el tratamiento control fue de 8.0 mg g^{-1} , significativamente mayor respecto a 4.7 mg g^{-1} promedio en dietas enriquecidas con ARA. En músculo, el tratamiento DC mostró la mayor concentración de DHA ($P < 0.05$) con 3.0 mg g^{-1} de tejido respecto a 1.7 mg g^{-1} promedio. Respecto a la actividad de lipasas en hígado, no se observaron diferencias significativas al enriquecer la dieta con ARA ($P > 0.05$).

De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede inferir que *T. macdonaldi* no parece requerir un nivel alto de ARA en la dieta; no se observó un efecto directo en el crecimiento, sin embargo, las dietas enriquecidas fueron estadísticamente similares en los parámetros evaluados (crecimiento) con la ausencia de aceite de pescado, por lo que es factible reemplazar el aceite de pescado mediante el enriquecimiento de ARA utilizando una combinación de aceite de canola y adición de fuentes de ω -3 y ω -6, sin presentar efectos negativos en la salud, corroborado también por el perfil de la química sanguínea analizado. El presente estudio sienta las bases para futuras investigaciones con el objetivo de determinar si existe un requerimiento de EPA y DHA superior a los niveles utilizados en el presente experimento.

ABSTRACT

The culture of marine organisms presents a challenge in the formulation of balanced feed, where the main limitation is the high cost of supplies and the use of fishmeal (HP) and fish oil (FO) as main sources of amino acids and essential fatty acids, such as (ARA, 20:4 ω 6), EPA (C20:5 ω 3) and DHA (22:6 ω 3), which cannot be synthesized endogenously by the organism. Therefore, the objective of this study was to determine the effect of arachidonic acid in the diet of juvenile *Totoaba macdonaldi* on productive parameters, such as: blood chemistry, proximal composition, fatty acid profile of liver and muscle and total lipase activity in liver. Five diets (isoproteic and isolipidic, 46% protein and 11.5% lipids) were formulated: 1 control diet (HP and FO) and 4 diets with ascending levels of ARA with 0.7 ± 0.1 (D30+ARA), 1.3 ± 0.0 (D60+ARA), 2.0 ± 0.3 (D90+ARA), 2.2 ± 0.02 (D120+ARA) mg g⁻¹, respectively (treatments: D30+ARA, D60+ARA, D90+ARA and D120+ARA).. Sixteen organisms per experimental unit (15 tanks = 240 organisms) with an average size of 23.9 ± 0.1 g were planted. The bioassay was carried out for 74 days. The results obtained from the biological indicators (initial and final weight, initial and final size, Feed conversion ratio, specific growth rate, protein efficiency ratio, % weight gain, hepatosomatic index and visceral index), did not show significant differences between treatments. However, the blood chemistry analysis showed a significantly higher content ($P < 0.05$) in total protein and albumin for DC, in comparison with the rest of the treatments. Regarding the rest of blood parameters, plasma triglyceride content for the D60+ARA treatment (151.1 ± 7.6 mg dL⁻¹) was significantly higher ($P < 0.05$) compared to the rest of the treatments. ARA in liver and muscle showed a progressive accumulation in response to diet level, while EPA and DHA were significantly lower in the ARA-enriched diets ($P < 0.05$) compared to DC. The EPA content in liver of organisms fed with DC was 1.9 mg g⁻¹, the rest of the ARA-enriched treatments (0.3 mg g⁻¹ average). The DHA content in liver in the control treatment was 8.0 mg g⁻¹ in comparison to 4.7 mg g⁻¹ average in ARA-enriched diets, In muscle, the DC treatment showed the highest DHA concentration ($P < 0.05$) with 3.0 mg g⁻¹ tissue with respect to 1.7 mg g⁻¹ average. Regarding liver lipase activity, no significant differences were observed when the diet was enriched with ARA ($P > 0.05$). According to the results obtained, it can be inferred that *Totoaba macdonaldi* does not seem to require a high level of ARA in the diet; no direct effect on growth was observed, however, the enriched diets

were statistically similar in the parameters evaluated (growth) with the absence of fish oil, so it is feasible to replace fish oil through ARA enrichment using a combination of canola oil and addition of ω -3 and ω -6 sources, without presenting negative effects on health, also corroborated by the blood chemistry profile analyzed. The present study lays the groundwork for future research to determine if there is a requirement for EPA and DHA higher than the levels used in the present experiment.

INTRODUCCIÓN

La acuicultura es una actividad primaria que consiste en la producción de organismos acuáticos de origen marino y dulceacuícola, misma que abarca actividades de reproducción, engorda de juveniles y cosecha. En el periodo de 1990-2020 la acuicultura mundial tuvo un crecimiento del 6.7% anual, en el año 2020 se registró una producción récord de 122.6 millones de toneladas de peso vivo, lo cual, económicamente representó un valor de 281.5 billones de dólares (USD \$): 87.5 M ton³ se cosecharon de organismos de origen acuático, representando \$264.8 billones de dólares en ingresos. Desglosando la producción anterior, de las 87.5 M ton³, 57.5 M ton³ de peces (acuicultura) representaron económicamente \$146.1 Billones de USD. Para dimensionar la producción acuícola de peces, 49.1 millones de toneladas fueron de origen continental, mientras que 8.3 M ton³ de acuicultura marina y de la costa (SeaFish, 2023). En el año 2018 la producción en México fue dominada por el camarón y la mojarra, con 158,115 y 135,571 toneladas, respectivamente, el único pez marino listado es el atún, con 10,763 ton, estos datos representaron el 80.53, 68.63 y 9.02% de la producción pesquera nacional, respectivamente. Baja California se incluye en el anuario estadístico de Acuicultura y Pesca del 2018, en los sistemas dulceacuícolas se encuentra el camarón con 193 ton, y en los sistemas de producción marina se incluye el atún con 10,763 ton (el estado de Baja California aportó el 100% de la producción nacional) y el sistema del ostión con 2,097 toneladas (CONAPESCA, 2018).

La producción de organismos acuícolas va de la mano con la formulación de dietas que cumplan los requerimientos nutricionales de la especie en cultivo. En este mismo sentido, la harina y el aceite de pescado se han utilizado como las fuentes principales de proteína y lípidos en dietas para cultivos acuícolas (Miles y Chapman, 2006). La harina de pescado tiene una alta digestibilidad y palatabilidad, una harina de pescado de alta calidad, debe tener un contenido nutricional balanceado de aminoácidos, fosfolípidos, y ácidos grasos, tal como, ARA, EPA y DHA, (FEDNA, 2023). En peces de alto nivel trófico como carnívoros marinos se han manejado porcentajes de harina/aceite de pescado de 55-65/3-18, y de 20-65/5-20, en salmónidos, de 25-40/10-25. Por otro lado, el uso de peces marinos para la elaboración de harina de pescado ha representado un reto para la sostenibilidad de la acuicultura, generalmente se procura utilizar

especies de peces pequeños y/o subproductos que incluyen muchos huesos y con alto contenido lipídico, que no tienen demanda para el consumo humano (IFFO, 2023).

El declive de la pesca en los últimos 15 años ha obligado a desarrollar investigación sobre el uso de fuentes proteicas alternativas que sustituyan el uso de harina de pescado (Tacon y Metian, 2008), ya sea de manera parcial o total, en diversas especies acuícolas (García-Ortega *et al.*, 2010), cumpliendo con los requerimientos de proteínas, vitaminas y combinado con un contenido lipídico rico en ácidos grasos poliinsaturados (Chen *et al.*, 2012). En la tilapia (*Oreochromis sp.*) y lobina europea (*Dicentrarchus labrax*) se ha logrado sustituir hasta el 50 y 85% de la harina de pescado por dieta con hidrolizado de pluma, manteniendo crecimientos similares (Peters *et al.*, 2009; Cusiynca, 2019), sin embargo, para especies carnívoras, tal como totoaba (*T. macdonaldi*) un 22% de sustitución de HP por harina de soya causó daños en el intestino distal de los organismos de estudio, lo que representa una limitante en la inclusión como fuente vegetal (Fuentes-Quesada *et al.*, 2018). En este mismo sentido, Silva-Carillo *et al.* (2012) reportaron en pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*), sustituciones por encima del 20% provocaron una disminución significativa en los parámetros peso final (PF), peso ganado (PG), tasa crecimiento específico (TCE), los mismos efectos en los parámetros anteriormente mencionados se observaron para el bagre africano (*Clarias gariepinus*) tras sustituir el 100% de la harina de pescado por pulpa de soya fermentada (Kari *et al.*, 2021).

Como se ha observado en estudios anteriores, la sustitución en un nivel alto de la harina de pescado por harinas vegetales puede representar un efecto negativo en la salud de los organismos, derivado principalmente por desbalance de aminoácidos, la variación en el perfil de ácidos grasos esenciales y una baja digestibilidad de los alimentos (Nates, 2017). Sin embargo, no toda sustitución presenta efectos negativos, ya que si se logra un balance adecuado de nutrientes con harinas proteicas de origen terrestre se pudieran obtener rendimientos similares a la harina de pescado.

Barreto *et al.* (2016) realizaron la sustitución de harina de pescado (HP) por harina de subproducto de ave (HSA) enriquecida con ensilaje de atún para *Oncorhynchus mykiss*, y reportaron un efecto positivo sobre la tasa de crecimiento específico (TCE) ($p < 0.001$) al sustituir

en un 100% la HP por HSA enriquecida (2.0%) respecto a las dietas sin enriquecer; mostrando así, que es posible diseñar dietas balanceadas sin harina de pescado para la trucha arcoíris sin comprometer los rendimientos productivos y la supervivencia.

Respecto a los lípidos, la inclusión de HP y AP aporta gran variedad de ácidos grasos saturados (FAs), monosaturados (MUFAs), y poliinsaturados (PUFAs), sin embargo, los PUFAs que destacan principalmente son el ARA (C20:4 ω 6), EPA (C20:5 ω 3) y DHA (C22:6 ω 3), reportados como esenciales para peces marinos carnívoros (Monroig *et al.*, 2011). Estos organismos poseen baja o nula capacidad de sintetizarlos de manera endógena, debido a la ausencia de elongasas y desaturasas, enzimas claves para sintetizarlos a partir de los ácidos ALA (ácido alfa-linolénico) (18:3 ω 3) y LA (ácido linoleico) (18:2 ω 6) (Tocher, 2003). Los organismos marinos carnívoros requieren altos contenidos de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPCL >20 carbonos) durante toda la ontogenia y desarrollo larval, siendo utilizado principalmente como fuente de energía y con funciones estructurales a nivel celular (Tocher, 2010).

El ARA juega un papel muy importante a nivel celular, se encuentra principalmente incorporado en los fosfolípidos de membranas celulares, afectando la permeabilidad y flexibilidad de la célula (figura 1). De manera particular, el ARA, es liberado por la fosfolipasa A2, misma que modula la función de canales iónicos, diversos receptores y enzimas, tanto en procesos de estimulación como inhibición, así como el precursor de prostaglandinas, las cuales, son hormonas que se liberan y actúan de forma local. Las rutas más comunes de catabolismo de ARA, son la vía de ciclooxygenasas (COX) y lipooxygenasas (LOX) (Katzung y Trevor, 2004). En la ruta COX se expresan 2 genes, *cox-1* y *cox-2*, el primer gen sintetiza prostanoïdes para la citoprotección epitelial gástrica, el *cox-2* por su parte, regula los factores de crecimiento, citoquinas y promotores tumorales. Ambos genes promueven efectos en la vasodilatación, aumentan el flujo sanguíneo y la permeabilidad vascular (Katzung y Trevor, 2004). La otra ruta metabólica que puede tomar la movilización de ARA es la activación del gen LOX, la cual consiste en la producción de leucotrienos mediante la enzima *5-lipooxigenasa*, los cuales cumplen la función de actuar como moduladores del sistema inmunológico, tal como *Itb4*, mismo que presenta efectos de adhesión, quimio taxis de leucocitos, estimula la agregación y liberación enzimática (Ayón *et al.*, 2018). Por otro lado, el aumento en la permeabilidad también está dado

por las quininas e histaminas (Ingraham y Ingraham, 1998). Ambos compuestos son obtenidos bajo la catálisis de enzimas lipooxigenasas (Companioni-Gásquez, 1995).

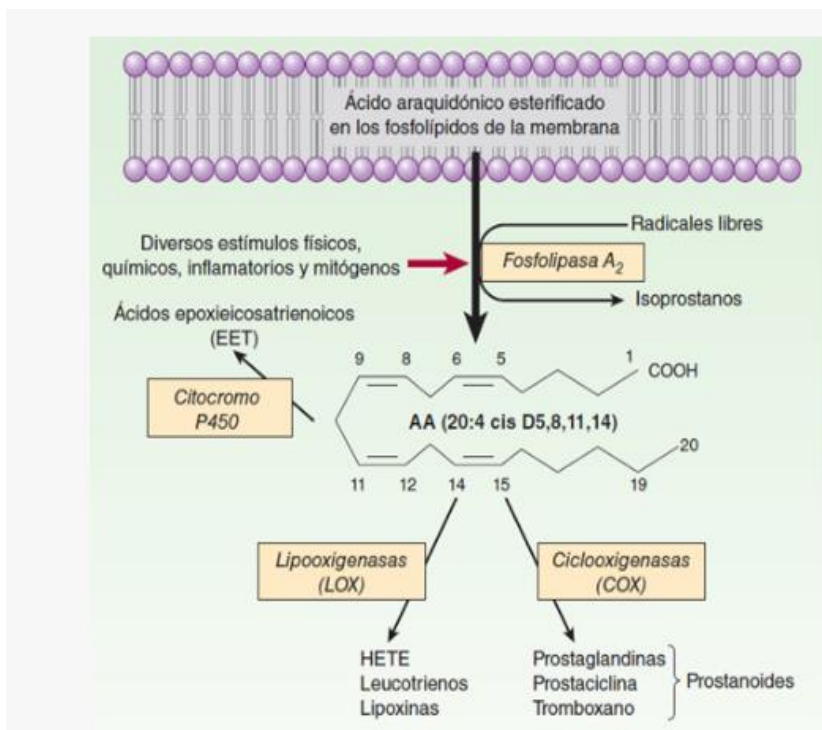


Figura 1. Metabolismo de ARA. Katzung y Trevor, 2004

La respuesta inflamatoria derivada del metabolismo de ARA es promovida por las prostaglandinas y tromboxanos, la cual consiste en una reacción local y sistémica defensiva, por lo que es posible eliminar agentes patógenos y reparar el tejido afectado. La producción de estas hormonas y leucotrienos, estimulan y activan a los macrófagos (Katzung y Trevor, 2004). Existen 2 tipos de inflamación en los organismos, aguda y crónica, la primera se caracteriza por la migración de neutrófilos, y actúan los genes de necrosis tumoral e *interleucina-1*, siendo una reacción de corta duración. En la inflamación crónica, se presenta destrucción tisular, por ello, ocurre un proceso de reparación de fibroblastos, linfocitos, eosinófilos y monocitos, activando el gen de *interleucina-12*, el cual, estimula la respuesta de linfocitos T (Ayón *et al.*, 2018; Valsecia-Maigor, 2022), además, se debe tener en cuenta que un exceso en la respuesta

inflamatoria puede ser perjudicial para la salud del organismo, pero esta dependerá de la movilización ARA y su metabolismo (Miao *et al.*, 2022). En este mismo sentido, los niveles de inclusión deben de ser determinados en base a los requerimientos metabólicos de la especie y a la etapa de crecimiento con la que se trabaje.

Otro efecto reportado para el ARA, es el aumento de la capacidad antioxidante mediante actividad enzimática, estas cumplen la función de estabilizar la estructura de electrones en radicales libres para disminuir su efecto tóxico reactivo (Harris, 1992), una de estas enzimas es la catalasa (CAT), la cual se encarga de detoxificar el H₂O₂ (peróxido de hidrógeno), resultando su catálisis en una molécula de O₂ y 2 de H₂O (Devlin, 2015).

Bajo estas premisas, en la presente investigación se trabajó con el pez marino totoba (*T. macdonaldi*) (Figura 2), la cual es una especie con gran potencial acuícola en el ámbito marino (Gonzalez-Félix *et al.*, 2018), pertenece a la familia *Scianidae* (Cuadro 1), es endémica del Golfo de California y puede distribuirse desde el delta del río Colorado hasta Bahía Concepción en Baja California Sur. Sus hábitos alimenticios son carnívoros y en el medio natural logra crecer cerca de los 2 m de longitud. La Universidad Autónoma de Baja California bajo la dirección del Dr. Conal True, fueron los pioneros en realizar el cultivo en cautiverio de esta especie, logrando llevar a cabo la reproducción exitosa y liberación de juveniles en el municipio de San Felipe (CONAPESCA, 2019).



Figura 1. Juvenil de *Totoaba macdonaldi* de la Facultad de Ciencias Marinas de la UABC, México (foto de Lus M. López).

Diversos estudios se han llevado a cabo en esta especie desde la etapa larvaria donde se ha evaluado la actividad y expresión de enzimas digestiva durante el desarrollo larval (Galaviz *al.*, 2015; Córdova -Montejo *etal.*, 2019), sustitución por fuentes proteicas con soya (López *et al.*, 2015; Trejo-Escamilla *et al.*, 2017, 2021), requerimiento de taurina en dietas para totoaba (Budy-Satriyo *et al.*, 2017), caracterización parcial de proteasas digestivas en juveniles de totoaba (Córdova-Montejo *et al.*, 2019), suplementación de triptófano en juveniles de totoaba (Cabanillas Gámez *et al.*, 2017, 2020), efecto del concentrado de proteína de soya en la modulación de la microbiota (Larios-Soriano *et al.*, 2021), así como el uso de probióticos en dietas para juveniles de totoaba (Olmos-Soto *et al.*, 2022), entre otros. Con estos estudios, los autores han buscado disminuir el uso de harina de pescado sin comprometer el aspecto productivo, sin embargo, estos estudios no han realizado un enfoque específico sobre el requerimiento de ARA. El presente estudio tiene como objetivo sentar las bases sobre el requerimiento de ARA y su efecto en el crecimiento, química sanguínea, determinar que sucede con la acumulación en tejidos como músculo e hígado, determinar si existen cambios significativos en el reemplazo de ácidos grasos, y determinar si ARA promueve un incremento en la actividad enzimática de lipasas, con todas estas variables de respuesta, se pretende englobar un requerimiento metabólico para la especie *T. macdonaldi*.

ANTECEDENTES

Dentro de los estudios enfocados en nutrición de *Totoaba macdonaldi* se pueden destacar los intentos por el reemplazo de HP y AP. De manera general, la inclusión de concentrado proteica de soya (CPS) combinado con la suplementación de Taurina al 1 %, mostró efectos significativos en la actividad enzimática glucogénica, catabolismo de aminoácidos, los autores destacaron un rol importante en la regulación del proceso metabólico y regulación del daño por estrés oxidativo en hígado (Bañuelos-Vargas *et al.*, 2014). En este mismo sentido, una sustitución del 45% de HP por CPS con 1.5% de taurina, mostró un perfil histológico similar, a partir de una sustitución del 75% hasta 100% se provocaron daños en hepáticos por infiltración de linfocitos y acumulación lipídica excesiva (Trejo-Escamilla *et al.*, 2021). Incluso se han realizado estudios con aceites y harinas vegetales a partir de microalgas (*Schizochytrium limacinum*), se probó la sustitución de aceite de pescado (FO) por aceite de soya y harina de microalgas, en filetes de *Totoaba macdonaldi* se observó una respuesta directa en el perfil de ácidos grasos de músculo e hígado, el aceite de soya incrementó los contenidos del ácido linoleico (18:2 ω 6), mientras que la harina de *Schizochytrium limacinum* incrementó los niveles de DHA (22:6 ω 3), los autores concluyeron que se puede reemplazar el 100% del FO por harinas de *Schizochytrium limacinum* sin comprometer crecimiento y conservando el valor nutricional del filete para consumo humano (Maldonado-Othón *et al.*, 2020). Enfocados en el requerimiento de ácidos grasos poliinsaturados omega 3 (ω 3 LC-PUFA) fue estudiado en juveniles de *T. macdonaldi* (1.5 g peso inicial), tras 56 días de cultivo los análisis demostraron que los organismos acumularon ω 3 LC-PUFA en respuesta a los incrementos en la dieta. DHA fue parte de los ω 3 LC-PUFA en mayor abundancia (contenido en cuerpo completo), los autores sugieren un contenido de 0.8-1.0% de ω 3 LC-PUFA en dietas de juveniles para promover un crecimiento, supervivencia y utilización del alimento en niveles adecuados (Lazo *et al.*, 2020). La suplementación de DHA en dietas libres de aceite de pescado, la inclusión de harina de subproductos de ave (HSA) y grasa de cebo, provocan un incremento en el contenido lipídico en hígado. Sin embargo, en dietas enriquecidas con DHA al 100% se observó una regulación de acumulación lipídica en hígado. La suplementación de cebo mostró un perfil significativamente menor en los contenidos de DHA y EPA en músculo, la inclusión de DHA dietético contribuyó a la deposición de DHA en músculo (Mata-Sotres *et al.*, 2018).

Respecto a otras especies, en la palometa blanca (*Trachinotus ovatus*) se estudió la relación DHA/EPA para optimizar su crecimiento y determinar su requerimiento en la dieta, tras utilizar dietas isoproteicas con niveles altos y bajos de DHA/EPA (0.53, 0.81, 1.17, 1.48, 1.69 y 2.12). Se encontró, que la dieta con la relación de 1.48 mostró diferencias significativas en la ganancia de peso y crecimiento específico, así como un incremento en la actividad de las enzimas catalasa, lisozima y superóxido dismutasa. Tras un análisis de regresión polinomial se determinó que la relación ideal DHA/EPA fue de 1.40% (Zhang *et al.*, 2019). En el lenguado chino *Cynoglossus semilaevis*, se determinó que los niveles óptimos de DHA/EPA eran de 1.02-1.46%, sin mostrar deficiencias en el crecimiento comparado con un nivel alto de 2.75%, observándose una mayor acumulación de DHA en la carne, y un efecto negativo debido al exceso de inclusión en la dieta, lo cual se relacionó con la disminución en la expresión de genes lipogénicos (Xu *et al.*, 2018). Por otro lado, en juveniles de dorada (*Sparus aurata*), se reportó que una relación de 0.6/0.6 y 0.3/1.5 de EPA/DHA se acumularon en el músculo en respuesta al nivel en la dieta, sin embargo, ARA no se acumuló en el tejido, otro efecto importante que se observó en los niveles de triglicéridos y colesterol en el plasma, fueron más altos cuando se incluyó ARA en la dieta, la proporción de ácidos grasos para estas dietas de ARA/EPA/DHA fue de 2.0/0.2/1.0 y 1.0/0.4/0.4 (Magalhães *et al.*, 2020).

Respecto a estudios enfocados en ARA, Xu *et al.* (2010) trabajaron con juveniles de la lubina japonesa (*Lateolabrax japonicus*), en un experimento de 12 semanas donde utilizaron 5 dietas experimentales isoprotéicas e isoenergéticas, se tomó como base un 0.08% de aceite enriquecido con ARA como dieta control, y 4 dietas con incrementos de ARA de 0.22, 0.36, 0.56, 1.33 y 2.12% de ARA en % de peso seco, el TCE mostró una de 0.08-0.36% de ARA fue el rango donde el crecimiento específico (TCE) mostró un incremento significativo con el incremento de ARA, los organismos de los tratamientos 0.56-2.12% experimentaron una disminución del TCE, lo que sugiere que para esta especie en etapa tempranas de juveniles, el requerimiento de ARA es relativamente bajo según los autores.

Torrecillas *et al.* (2017), experimentaron con juveniles de la lobina europea (*Dicentrarchus labrax*) utilizando 4 dietas, con niveles de inclusión de ARA de 0.5 hasta 4%, después de 60 días de prueba la dieta de 0.5% mostró el peso final y crecimiento específico menor con respecto a

las otras 3 dietas experimentales, lo que sugiere que 0.5% es una inclusión deficiente en función de los requerimientos, así como también se observó que los niveles de PG2 en el plasma basal tuvieron una correlación positiva con el incremento de ARA en las dietas experimentales, sugiriendo una mayor producción de metabolitos PG2 a mayor contenido de ARA. El uso de ARA y EPA dietético tiene efectos en el aumento de la capacidad antioxidante, en juveniles de carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idellus*) se observó que el enriquecimiento de la dieta con ARA al 0.30% disminuyó el factor de conversión alimenticia, y se observó que su incorporación fue mayor en el hígado respecto a otros órganos.

En el bagre de cola amarilla (*Pelteobagrus fulvidraco*) se experimentó con diferentes niveles de inclusión de aceite enriquecido con ARA (0.03% dieta control, 0.60, 0.90, 1.20 y 1.50% de peso seco. El contenido total de ARA en las dietas fue de 0.39, 2.47, 4.96, 7.49, 9.79 y 12.64% del contenido total de ácidos grasos. Los autores sugieren que una inclusión entre 4.96-7.79% (de ARA expresado en porcentaje total de ácidos grasos en la dieta) puede promover el crecimiento y actividad antioxidante (CAT, SOD, GSH-Px) en esta especie (Ma *et al.*, 2018), mientras que para la especie *Acanthopagrus schlegelii* se reportó que inclusiones del 1.9 y 2.4% podrían representar un exceso de ARA, provocando estrés oxidativo al disminuir la actividad enzimática (SOD, GSH y GPX), otro efecto negativo fue el exceso de producción de eicosanoides, respuesta inflamatoria excesiva e inducción de apoptosis en células del hígado (Bao *et al.*, 2023).

También se han estudiado los efectos de ARA sobre parámetros reproductivos: en el bacalao común (*Gadus morhua*) se probaron 4 dietas experimentales (0.5, 1.0, 2.0 y 4.0% respecto al total de ácidos grasos) para evaluar el desarrollo gonadal, se sacrificaron 10-20 hembras durante cada mes de junio 2005 a mayo de 2006 para cada tratamiento experimental, se evaluó el grado de madurez en ovarios, contenido de vitelogenina y esteroides en plasma, y perfil de ácidos grasos en ovarios e hígado, los niveles de ARA en ovarios tuvieron relación directa con el nivel en la dieta, en todos los muestreos. Los autores reportaron que las hembras en los tratamientos 0.5-1.0%, lograron desovar un mes previo a los otros grupos, aunque sugieren replicar el estudio para confirmar si el desove anticipado fue inducido por el nivel en la dieta (Norberg *et al.*, 2017), en la anguila asiática (*Monopterus albus*) se observó que la

suplementación de ARA (1.4 y 2.4% peso seco) en la dieta provocó un retraso en el proceso de reversión sexual en hembras y mayor desarrollo gonadal (Jiang *et al.*, 2023).

En *Paralichtys olivaceus* se utilizaron 1 dieta control (Sin ARA) y 5 dietas con niveles crecientes de ARA (0.3,0.6,0.9,1.2 y 1.5% peso seco), los autores reportaron que tras una inclusión moderada (0.6% ARA) se presentó un efecto de reducción en la inflamación causada en las vellosidades del intestino, implicando un efecto positivo en la salud del organismo (Medagoda y Lee, 2023).

En trucha arcoíris (*O. mykiss*) se evaluaron 4 niveles de ARA (0.1, 3.95, 7.67 y 14.8 % total de ácidos grasos metilados), los parámetros de crecimiento (PF, peso ganado (PG), TCE, FCA, % supervivencia, IHS no presentaron diferencias significativas, sin embargo, en la dieta 3.95% se observaron diferencias significativas en la longitud de las vellosidades respecto a la dieta 0.1% ARA, lo que implica una mayor área de superficie para la absorción de nutrientes (Hong *et al.*, 2024).

JUSTIFICACIÓN

México tiene una ubicación geográfica privilegiada para el desarrollo acuícola de especies marinas, con una extensión de litoral de 11,122 km (INEGI, 2022). De manera particular en la zona norte del país se desarrollan cultivos de atún y lobina rayada con éxito a nivel comercial. Una especie que emerge para explotación comercial es la totoaba, cuyo cultivo ha funcionado como una medida para mitigar su estatus de especie en peligro de extinción (NOM-059-SEMARNAT-2010), debido en parte, a la pesca ilegal. Para esta especie se cuenta con investigaciones sobre reproducción, cultivo larvario, engorda, nutrición, salud y genética, entre otros. La búsqueda de fuentes alternativas a la harina y aceite de pescado (HP y AP) ha representado un reto en la formulación de dietas funcionales y sostenibles con fuentes terrestres. Respecto a los lípidos, se han realizado diversas investigaciones para obtener fuentes alternativas de energía y determinar los requerimientos específicos de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) como EPA y DHA, mediante sustituciones parciales por harinas y aceites de origen animal y vegetal terrestre. Así mismo, de los PUFAs se ha estado estudiando recientemente el ácido araquidónico (ARA), el cual, ha mostrado tener efectos positivos en el crecimiento, producción de prostaglandinas que promueven una respuesta pro y antiinflamatoria, actividad enzimática antioxidante, también se han observado en estudios la modificación del perfil de ácidos grasos en músculo e hígado, sin embargo, para totoaba se desconoce el requerimiento o las posibles afecciones que genere este ácido graso.

Por todo lo anterior, la presente investigación beneficiaria al sector acuícola en la elaboración de dietas que mejoren los parámetros productivos, y en el ámbito académico se obtendría más conocimiento de la función del ácido araquidónico en *Totoaba macdonaldi* y en otros peces marinos carnívoros que deriven nuevas investigaciones.

HIPÓTESIS:

Hi: La inclusión de ácido araquidónico en la dieta de *Totoaba macdonaldi* tendrá un efecto positivo en los parámetros productivos, química sanguínea, perfil proximal de tejidos, perfil de ácidos grasos y actividad de lipasas totales.

H0 = La inclusión de ácido araquidónico en la dieta de *Totoaba macdonaldi* no mostrará un efecto positivo en los parámetros productivos, química sanguínea, perfil proximal de tejidos, perfil de ácidos grasos y actividad de lipasas totales.

Ha = Al menos un nivel de inclusión de ácido araquidónico en la dieta de *Totoaba macdonaldi* tendrá un efecto positivo en al menos uno de los parámetros de estudio: productivos, química sanguínea, perfil proximal de tejidos, perfil de ácidos grasos y actividad de lipasas totales.

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto del ácido araquidónico de juveniles de *Totoaba macdonaldi* y su efecto en los parámetros productivos, química sanguínea, contenido proximal de tejidos, perfil de ácidos grasos en tejidos y actividad de lipasas totales en hígado.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Evaluar el efecto de diferentes niveles de inclusión ARA en la dieta de juveniles de *Totoaba macdonaldi* en los parámetros productivos (peso inicial y final, talla inicial y final, factor de conversión alimenticia, tasa de crecimiento específico, tasa de eficiencia proteica, porcentaje de peso ganado, supervivencia, índice hepatosomático y viscerosomático).
- Determinar el efecto de diferentes niveles de inclusión de ARA en la dieta de juveniles de *Totoaba macdonaldi* sobre la química sanguínea del organismo.
- Determinar el contenido proximal de proteínas, lípidos, humedad, cenizas y ELN en músculo, hígado y pez entero de *Totoaba macdonaldi*.
- Determinar el perfil de ácidos grasos de músculo e hígado de *Totoaba macdonaldi*.
- Determinar el efecto de ARA sobre la actividad de lipasas totales en hígado de *Totoaba macdonaldi*.

DISEÑO EXPERIMENTAL:

Diseño de dietas experimentales

Se elaboraron 5 dietas experimentales, una dieta control a base de harina y aceite de pescado y 4 dietas con harina desgrasada, sin aceite de pescado, mismas a las que se les incluyó 4 distintos niveles de ácido araquidónico (0.73 ± 0.1 , 1.28 ± 0.01 , 1.96 ± 0.29 , 2.14 ± 0.02 mg g⁻¹, respectivamente), las dietas experimentales fueron nombradas D30+ARA, D60+ARA, D90+ARA y D120+ARA (Tabla 1). En la Tabla 2, se muestra el perfil de ácidos grasos de los ingredientes utilizados para la formulación. Las dietas fueron isopoteicas e isolipídicas, con un 46% de proteína cruda y 11.5% de lípidos. Los niveles de ARA representaron un 30, 60, 90 y 120% más que el total de ácidos grasos metilados en la dieta control. En la Tabla 3, se observa el contenido proximal de las dietas experimentales y el perfil correspondiente de ácidos grasos (mg g⁻¹ de alimento). El contenido de aminoácidos de las dietas, se muestran en Tabla 4.

Siembra de organismos

Se obtuvo un lote de 2000 juveniles de *T. macdonaldi*, los cuales fueron donados por la Unidad de Biotecnología Piscícola de la Universidad Autónoma de Baja California (UBP-UABC) de Ensenada, Baja California, México. Los organismos fueron colocados en 4 tanques de 1200 l en un sistema de recirculación, compuesto por un biofiltro de cama dinámica (1 m³ de material filtrante) una lámpara de UV de (150W), un espumador y una bomba centrífuga de ¾ HP (Sparus 160 Enegy-Efficient, Pentair) conectada a un reservorio de 1.8 m³, se realizó un recambio del 3% del volumen de agua diario. La temperatura del sistema fue mantenida a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ mediante el uso de calentador de 800 watts y una bomba de calor de 5HP (XLHP, Pentair), el oxígeno disuelto se mantuvo a $6 \text{ mg l}^{-1} \pm 1$. Se realizó una biometría inicial y se colocaron 16 organismos al azar por unidad experimental, con un peso promedio de 23.9 ± 0.3 g (se sembraron los tanques suficientes para realizar cada tratamiento por triplicado), posteriormente se asignaron los tratamientos de manera aleatoria a las unidades experimentales. Los organismos fueron alimentados a saciedad aparente 3 veces al día durante 74 días, con 5 dietas isoproteicas e

isolípicas, 1 control (HP y AP) y 4 con un incremento en el contenido de ARA (0.73, 1.28, 1.96, 2.14 mg g⁻¹ alimento).

Tabla 1. Ingredientes (g kg⁻¹ materia seca) dietas experimentales con diferentes niveles de inclusión ácido araquidónico con sustitución total por aceite de pescado en juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados durante 74 días.

Ingredientes	Dieta Control	D30%+ARA	D60+ARA	D90+ARA	D120+ARA
Harina de pescado ¹	280	0	0	0	0
Harina de pescado desgrasada ²	0	277	277	277	277
Harina pescado desgrasada/formaldehído ³	0	3	3	3	3
Grenetina	25	25	25	25	25
Harina de maíz entero ⁴	140	120	120	120	120
Harina de trigo ⁵	106	88	88	91	90
Harina subproducto ave ⁶	341	341	341	341	341
Almidón	44.3	52.1	51.8	49.1	50.3
Aceite pescado	0.6	0	0	0	0
Aceite ácido araquidónico	0	0.37	0.65	0.92	1.2
Aceite PUFA (polvo) ω-3	0	10	10	10	10
Aceite PUFA (polvo) ω-6	0	5	5	5	5
Aceite puro canola	0	12.5	10	7	4
Rovimix (mezcla vit y min)	30	30	30	30	30
Stay C	2	2	2	2	2
Lecitina	10	10	10	10	10
Taurina	5	10	10	10	10
Benzoato de sodio (antifungico)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Agavina	10	10	10	10	10
BHT (ANTIOXIDANTE) butilhidroxitoleno	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Coxan	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	1000.0	1000.0	1000.0	1000.0	1000.00

1 Harina de pescado (proteína cruda, 64.21±1.25, lípidos, 11.87±0.88, humedad 3.88±0.46, cenizas 18.71±0.47) 2 Harina de pescado desgrasada (proteína cruda, 66.46±, lípidos, 4.57±, humedad 5.86±0.46, cenizas 19.57±) 3 (proteína cruda, nd, lípidos, 4.57±, humedad 5.86±0.46, cenizas 19.57±) 4 Harina maíz entero (proteína cruda, 8.7±0.8, lípidos, 5.2±0.3, humedad 9.5±0.4, cenizas 1.6±0.2) 5 Harina trigo entero (proteína cruda, 13.5±0.0, lípidos, 2.8±0.2, humedad 5.2±0.3, cenizas 2.1±0.1) 6 Harina subproducto ave (proteína cruda, 67.7±0.5, lípidos, 17.8±0.3, humedad 2.2±0.2, cenizas 13.1±1).

METODOLOGÍA

Análisis proximales para dietas y tejidos (músculo, hígado y pez entero)

Los análisis proximales de ingredientes, dietas y tejidos se realizaron por triplicado siguiendo las metodologías propuestas por la “Association of Official Analytical Chemists” (AOAC, 1990). Se determinó la cantidad de humedad, proteínas, lípidos y cenizas para músculo e hígado utilizando muestras liofilizadas de un pool de tres organismos por unidad experimental (por repetición), mientras que para pez entero se utilizaron dos organismos por unidad experimental. Tanto las muestras de dietas como de pez entero se secaron a 65°C en un horno de convección, sin embargo, los tejidos de músculo e hígado fueron liofilizados (-50°C x 48 h). Por otro lado, el extracto libre de nitrógeno se obtuvo por medio de: $ELN = 100\% - (\%proteína + \%lípidos + \%humedad + \%cenizas)$ (Jobling, 2001).

Transmetilación de ácidos grasos de dietas y tejidos (músculo, hígado y pez entero).

La extracción y metilación de los ácidos grasos se realizó por medio de la técnica descrita por Parish *et al.* (2015). Para la solución extractora de ácidos grasos se preparó un mix de Metanol, diclorometanol y ácido clorhídrico (10:1:1, v/v), para cada muestra analizada (100 mg) se añadieron 3 ml de la solución, 50 µl de BHT (modificación), gas nitrógeno (10 segundos aproximadamente) y se colocaron a 82°C durante 2 h. El Butil-hidroxil-tolueno (BHT, C₁₅H₂₄O) corresponde a una modificación realizada para agregarlo como compuesto antioxidante. Para separar y cuantificar los ácidos grasos se analizaron las muestras por medio de cromatografía de gases, se utilizó un equipo AGILENT GC 7820A, equipado con un inyector Split/Splitless, un detector de ionización de flama (FID) y una columna capilar AGILENT 122-2361 DB-23 60 m x 0.25 mm con un diámetro interno de 15 µm. Los cálculos se efectuaron mediante el software *GC Chemstation Data Analysis*. La temperatura inicial de inyección fue de 130°C por 1 min, después fue llevado a 190°C a una tasa de 25°C por min y se mantuvo por 0 min, posteriormente se aumentó a 230°C a una tasa de 6°C por min y se utilizó nitrógeno (N₂) como gas acarreador a 0.9 mL min.

Los ácidos grasos se identificaron por comparación con los tiempos de retención del estándar 37 Component FAME Mix (Supelco/Sigma-Aldrich®), como patrón de identificación. La composición de cada ácido graso se calculó de acuerdo con el área correspondiente en el cromatograma respectivo. Se realizó una curva estándar por medio de diluciones de 1:1, hasta 8:1 con el 37 Component FAME Mix (Supelco/Sigma-Aldrich®) para la determinación de la concentración (mg/g de tejido/dieta) de cada ácido graso.

Análisis de parámetros productivos.

La obtención de los parámetros productivos se realizó mediante 3 biometrías (inicial durante la siembra, media a los 30 días y final a los 74 días). Se analizaron los parámetros de peso inicial (PI) y final (PF), talla inicial y final, % peso ganado (%PG), tasa de crecimiento específico (TCE), factor de conversión alimenticia (FCA), tasa de eficiencia proteica (PER) y supervivencia (%). Los datos se obtuvieron mediante el muestreo de toda la población y se presentan con su promedio \pm desviación estándar.

$$\begin{aligned} \text{FCA} &= \text{kg alimento} / \text{kg biomasa} \\ \text{TCE} &= \text{LN(PF)} - \text{LN(PI)} / \text{días cultivo} * 100 \\ \text{PER} &= (\text{PF} - \text{PI}) / \text{Proteína consumida} \\ \text{IVS} &= (\text{peso víscera} / \text{PF}) * 100 \\ \text{IHS} &= (\text{peso hígado} / \text{PF}) * 100 \\ \% \text{PG} &= \text{porcentaje de peso ganado.} \end{aligned}$$

Química sanguínea (hematocrito en sangre; proteína total, albumina, colesterol, triglicéridos y glucosa en plasma).

Durante la biometría final se obtuvieron muestras de sangre de 8 organismos por tanque, se utilizaron jeringas de 1 ml (0.1 ml de EDTA) donde se buscó recolectar un mínimo de 20 unidades en tubos eppendorf. Para hematocrito se colectó la sangre en un capilar de vidrio, los cuales fueron centrifugados a 10,000 rpm por 5 minutos y su lectura se realizó en el equipo *Spiracrit Lancer*. El resto de las muestras se centrifugaron a 10,000 rpm por 10 minutos a 4°C,

se separó el plasma y fue colocado a -80°C para su análisis posterior. Para las pruebas en plasma, se seleccionaron 9 muestras por tratamiento (3 por unidad experimental), las muestras se analizaron en microplaca, el protocolo se muestra en el cuadro 1.5, se presentan los resultados como promedio y desviación estándar.

Tabla 2 Protocolo de pruebas para química sanguínea en plasma de juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados con dietas enriquecidas de ARA.

Prueba	μl reactivo	μl plasma	Tiempo/T° incubación	Longitud de onda (nm)
Proteína total	250	5	5 min/T° ambiente	540
Albumina	250	2.5	1 min/T° ambiente	630
Glucosa	250	2.5	5 min/37°C	500
Triglicéridos	250	2.5	5 min/37°C	540
Colesterol	250	2.5	5 min/37°C	520

Determinación de actividad de lipasas totales en hígado de *Totoaba macdonaldi* (extracción de lipasas, determinación de proteína soluble, ensayo enzimático)

Extracción:

Se extrajeron los hígados de 6 organismos por tratamiento, los cuales fueron homogenizados con agua destilada (tejido/agua; 1:3; v:v) de acuerdo con la metodología descrita por (Nolasco-Soria et al., 2018). Para homogenizar la muestra se utilizó el OMNI International TISSUE MASTER 125, se realizó con el tejido encima de una cama de hielo para evitar desnaturalización. Se centrifugaron a $15,000 \times g$ por 10 min a 4°C y finalmente se recuperó el sobrenadante en alícuotas de 0.6 ml, los cuales fueron almacenados a -20°C hasta su análisis.

Determinación de proteína soluble:

Para la determinación de proteína soluble del extracto, se realizó una curva de calibración de albumina (A-7906, Sigma-Aldrich) con una concentración de 1 mg mL⁻¹, se leyeron las absorbancias a 595 nm (Bradford, 1976). A partir de la curva de calibración se obtuvo la ecuación de la recta ($y=2.2787x+b$, siendo b calculado para cada ácido graso) con un valor de la R² = (0.9927). En el cuadro 1.6 se muestra la curva de calibración realizada.

Tabla 3. Curva de calibración de Albumina para determinar proteína soluble en extractos de hígado de *Totoaba macdonaldi*.

# dilución	ml de solución stock	ml de H ₂ O destilada
1	0	1000
2	50	950
3	100	900
4	200	800
5	300	700
6	400	600
7	500	500

Determinación de actividad enzimática de lipasas totales:

La actividad de lipasa fue determinada por el método descrito por Nolasco *et al.* (2018). Donde se utilizó un buffer de Trizma-Base pH 7.5 y como sustrato se utilizó el Nitrofenil miristato. En una microplaca de 96 pozos, se agregaron los reactivos y el sustrato (dilución 1:10, enzima: agua destilada) para obtener la cinética, donde las lecturas fueron medidas cada 30 s en el espectrofotómetro (Thermo scientific, USA) a una longitud de onda de 405 nm. Para cuantificar la actividad de la lipasa se utilizó el coeficiente de extinción molar (CEM) previamente estimada por medio de una curva de nitrógeno (12,134). Finalmente, la

actividad de la lipasa se cuantificó en Unidades de enzima/ gramo de hígado, los datos se presentan como promedio \pm desviación estándar.

Análisis estadístico

Los resultados son presentados como media \pm desviación estándar. Para determinar la normalidad y homocedasticidad de los datos, se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk y Bartlett, utilizando un nivel de significancia de $P < 0.05$. Una vez comprobados los supuestos, se realizó una prueba paramétrica con la comparación de las medias, aplicando una ANOVA de una Vía, seguido de una prueba *aposteriori* de Tuckey para determinar diferencias significativas entre los tratamientos. Se utilizó el software R versión 4.2.2 con una significancia de 5% ($P < 0.05$).

RESULTADOS

Tabla 4. Perfil de ácidos grasos de ingredientes utilizados en la formulación de dietas (mg g^{-1}) para juveniles de *Totoaba macdonaldi*.

SFA	HP	HPdesg	AP	H.S.Ave	Omega 3	Omega 6	ARA
C12:0	6.3±1.5	3.6±0.8		5.0±0.9	**	**	**
C13:0	4.1±0.0	0.6±0.0	23.9±1.0	**	6.5±0.2	6.8±0.1	7.1±2.4
C14:0	9.2±0.9	3.4±1.2	54.9±0.4	**	2.3±0.0	**	**
C16:0	1.9±0.2	0.4±0.1	50.4±6.7	nd	7.6±0.1	2.9±0.2	7.9±0.9
C18:0	**	**	7.4±1.0	nd	1.2±0.1	0.4±0.0	14.2±0.2
C22:0	**	**	6.3±0.8	**	**	**	**
C24:0	0.3±0.1	**	**	**	**	**	0.5±0.2
Σ SFA							
MUFA							
C15:1	**	**	**	13.8±0.0	**	**	**
C16:1	1.5±0.3	0.2±0.0	21.5±0.5	3.6±0.0	1.4±0.1	**	**
C17:1	**	**	**	4.0±0.0	**	**	**
C18:1n9T	2.0±0.2	0.5±0.2	23.5±0.7	19.2±0.0	4.2±0.1	**	**
C18:1n9C	**	**	3.0±0.3	**	**	4.8±0.3	15.5±0.8
C20:1n9	**	**	7.6±0.4	**	**	**	**
Σ MUFAS							
PUFAS							
C18:2n6T	**	**		9.2±0.0			
C18:2n6C	**	**	3.2±0.2	9.6±0.0	0.5±0.1	28.8±0.6	8.8±0.03
C18:3n6	**	2.2±0.6	2.4±0.0	**	**	**	9.6±1.7
C20:4n6	0.1±0.05	nd	0.6±0.2	**	**	**	86.0±0.1
C20:5n3	6.2±0.8	2±0.6	57.7±1.1	**	1.9±0.0	**	**
C22:6n3	21.5±2.1	8.5±2.5	87.1±5.5	**	12.5±0.1	**	**

**= ácido graso no está presente en el perfil nd= no determinado HP= Harina pescado HPdesg= Harina de pescado desgrasada AP= aceite pescado H.S. Ave= Harina de subproducto de ave. ARA= aceite de ácido araquidónico (53% ARA).

Tabla 5. Composición proximal y perfil de ácidos grasos de dietas experimentales (mg g⁻¹ alimento), utilizadas para alimentar a la *Totoaba macdonaldi* durante 74 días con distintos niveles de ácido araquidónico, n=3.

	DC	D30+ARA	D60+ARA	D90+ARA	D120+ARA
Proteína cruda	46.8 ± 0.1	45.4 ± 0.3	46.3 ± 0.0	47.9 ± 0.2	46.5 ± 0.4
Lípidos totales	11.6±0.3	11.6±0.2	11.8±0.4	12.1±0.2	12.2±0.1
Humedad	3.3±0.0	3.4±0.3	3.3±0.1	3.4±0.3	3.1±0.2
Cenizas	12.9±0.3	12.9±0.9	13.6±0.3	13.0±0.5	12.9±0.5
SFA	DC	D30+ARA	D60+ARA	D90+ARA	D120+ARA
C13:0	5.2±0.5	4.9±0.5	5.4±0.3	5.4±0.8	5.2±0.2
C16:0	9.2±0.2	8.9±0.5	8.5±0.4	8.8±0.6	8.2±0.1
C18:0	1.7±0.1	2.0±0.1	1.9±0.1	2.2±0.3	2.0±0.1
ΣSFA	16.1±0.4	15.7±1.0	15.9±0.6	16.4±1.1	15.4±0.3
MUFA					
C18:1n9T	9.6±0.3	13.2±0.6	11.9±0.3	11.7±1	10.5±0.2
PUFAs					
C18:2n6	8.2±0.2	9.8±0.1	9.6±0.3	9.5±0.6	9.0±0.1
C18:3n6	2.8±0.2	3.5±0.2	3.6±0.1	3.6±0.1	3.5±0.0
C18:3n3	**	0.4±0.1	0.3±0.0	0.2±0.1	0.1±0.0
C20:4n6	**	0.7±0.1	1.3±0.1	2.0±0.3	2.1±0.0
C20:5n3	1.3±0.0	0.3±0.1	0.2±0.1	0.3±0.1	0.2±0.1
C22:6n3	4.2±0.1	2.5±0.2	2.4±0.2	2.5±0.3	2.2±1
ΣPUFAS	16.4±0.5	17.0±0.8	17.4±.8	18.0±1.2	17.1±0.1
Σn3	5.5±0.2	3.2±0.3	2.9±0.3	2.9±0.4	2.5±0.1
Σn6	2.8±0.2	4.3±0.2	4.9±0.1	5.6±0.2	5.6±0.0
ARA/EPA	**	2.9	5.9	7.7	11.7
ARA/DHA	**	0.3	0.5	0.8	1.0
EPA/DHA	0.3	0.1	0.1	0.1	0.1

Las dietas fueron preparadas en diversos lotes, por lo que se tomó 1 g de cada preparación de manera homogénea y se realizó un pool para cada dieta. .** = no determinado SFA= ácidos grasos saturados MUFA= ácidos grasos monosaturados PUFA=ácidos grasos poliinsaturados

Tabla 6. Perfil de aminoácidos de dietas experimentales (ajustados al % de proteína), utilizadas para alimentar a la *Totoaba macdonaldi* durante 74 días con distintos niveles de ácido araquidónico, n=3.

Aminoácidos	Dieta control	D30+ARA	D60+ARA	D90+ARA	D120+ARA
<i>Aminoácidos esenciales</i>					
HIS	1.3±0.4	0.8±0.0	0.9±0.3	1.0±0.4	1.4±0.0
ARG	4.0±0.1	3.8±0.1	4.0±0.1	4.1±0.1	4.2±0.0
THR	2.1±0.0	2.0±0.0	2.1±0.0	2.7±0.5	2.0±0.0
VAL	2.0±0.0	2.0±0.0	1.9±0.0	1.8±0.2	1.9±0.0
MET	1.2±0.0	1.2±0.0	1.2±0.1	1.4±0.1	1.2±0.0
LYS	3.2±0.1	3.0±0.0	2.9±0.1	2.9±0.1	2.2±0.0
ILE	1.8±0.0	1.7±0.0	1.7±0.0	1.9±0.1	1.7±0.0
LEU	3.9±0.1	3.7±0.0	3.7±0.1	3.8±0.1	3.8±0.0
PHE	2.0±0.0	2.0±0.0	1.9±0.0	1.7±0.2	2.0±0.0
Subtotal	21.6±0.2	20.2±0.1	20.4±0.3	21.4±0.5	20.6±0.1
<i>Aminoácidos no esenciales</i>					
ASP	3.1±0.0	3.2±0.1	3.0±0.1	3.2±0.1	3.1±0.0
SER	2.3±0.0	2.3±0.1	2.4±0.0	2.4±0.0	2.4±0.0
GLU	7.2±0.0	7.2±0.1	7.4±0.2	7.6±0.2	7.2±0.0
GLY	5.6±0.1	5.2±0.3	5.5±0.1	5.3±0.4	5.7±0.0
ALA	3.6±0.0	3.5±0.0	3.6±0.0	3.2±0.3	3.6±0.0
PRO	1.2±0.3	1.6±0.1	1.4±0.2	1.0±0.2	1.0±0.0
TYR	1.6±0.0	1.6±0.0	1.6±0.0	1.6±0.1	1.6±0.0
Subtotal	24.6±0.4	24.5±0.3	24.8±0.4	24.2±0.9	24.7±0.1
Otros					
TAU	0.7±0.0	1.0±0.0	1.4±0.1	1.2±0.1	1.4±0.0
Total	46.8±0.3	45.7±0.3	46.6±0.2	47.7±0.2	46.6±0.3

1.7.2. Parámetros productivos, índices hepatosomático y viscerosomático.

En la tabla 7 se presentan los parámetros evaluados en el crecimiento de juveniles de *T. macdonaldi* alimentados durante 74 días. De manera general, no se encontraron diferencias significativas en ningún parámetro productivo evaluado en totoaba ($P>0.05$), sin embargo, se mostraron FCA bajos. Por otro lado, se observó una tendencia a incrementar en la dieta de D60+ARA en los parámetros de peso final, talla final, TCE, %PG.

Tabla 7. Parámetros productivos evaluados en juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados con diferentes niveles de ácido araquidónico en la dieta.

Tratamientos	DC	D30+ARA	D60+ARA	D90+ARA	D120+ARA
<i>Peso inicial (PI)</i>	23.9 ± 0.2	24.0 ± 0.1	24.1 ± 0.3	24.0 ± 0.1	23.7 ± 0.5
<i>Peso final (PF)</i>	209.8±14.3	209.0±14.7	220.2±7.9	213.2±13.4	210.4±6.4
<i>Talla inicial</i>	14.8±0.3	14.9±0.1	14.9±0.3	14.9±0.1	15.0±0.1
<i>Talla final</i>	27.7±0.4	27.5±0.4	28.1±0.3	27.5±0.2	27.7±0.2
<i>FCA</i>	1.2±0.1	1.2±0.3	1.3±0.2	1.0±0.1	1.1±0.2
<i>TCE</i>	3.2±0.1	3.1±0.1	3.2±0.0	3.2±0.1	3.2±0.1
<i>PER</i>	2.5±0.1	2.6±0.2	2.5±0.2	2.3±0.2	2.5±0.2
<i>%PG</i>	778.5±57.5	772.8±64.6	814.7±23.3	786.8±59.4	787.1±43.3
<i>IVS</i>	3.7±0.4	4.1±0.7	3.7±0.6	3.7±0.4	3.7±0.7
<i>HIS</i>	1.4±0.4	1.5±0.5	1.4±0.3	1.5±0.3	1.4±0.5
<i>Supervivencia</i>	85.4±9.6	87.5±10.8	83.3±9.6	72.9±9.6	83.3±18.0

FCA= kg alimento/ kg biomasa TCE= $\frac{\ln(PF)-\ln(PI)}{\text{días cultivo}} \times 100$ PER= $\frac{PF-PI}{\text{Proteína consumida}}$ IVS= $\frac{\text{peso víscera}}{PF} \times 100$ IHS= $\frac{\text{peso hígado}}{PF} \times 100$ %PG = porcentaje de peso ganado. Valores P PI=0.71 PF=0.773 FCA=0.464 TCE=0.873 PER=0.405 IVS=0.638 IHS=0.957

Química sanguínea de juveniles de *Totoaba macdonaldi*

El contenido de hematocrito y hemoglobina no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos ($P>0.05$). En el plasma sanguíneo, el contenido de proteína total y albumina en la dieta control fue significativamente mayor al resto de tratamientos con un promedio de $5.38 \pm$

0.7 g dL⁻¹ y 1.71 g dL⁻¹ ± 0.5, respectivamente. El contenido de triglicéridos fue significativamente mayor (P<0.05) en la dieta D60+ARA respecto al resto de dietas con 151.1 ± 7.6 mg dL⁻¹. Respecto al contenido de colesterol, fue significativamente menor (P<0.05) en las dietas D90+ARA y D120+ARA con 33.62 ± 5.7 y 31.61 ± 3.3 respectivamente. Por último, el contenido de glucosa fue significativamente menor (P<0.05) en las dietas D60+ARA con un contenido de 34.5 ± 5.7 mg dL⁻¹ (Tabla 8).

Tabla 8. Química sanguínea de juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados con dietas enriquecidas de ácido araquidónico durante 74 días (n=9).

Parámetro	Dieta C	D30+ARA	D60+ARA	D90+ARA	D120+ARA
Hematocrito	25.1 ± 2.9	23.7 ± 2.7	24.5 ± 3.0	24.0 ± 2.6	23.4 ± 3.0
Hemoglobina g dL ⁻¹	11.7±1.1	11.9±1.2	11.7±1.2	12.3±1.4	12.1±1.4
Proteína total g dL ⁻¹	5.4±0.7 ^a	3.7±0.7 ^b	3.5±0.9 ^b	3.7±0.5 ^b	3.3±0.8 ^b
Albumina g dL ⁻¹	1.7±0.5 ^a	1.0±0.4 ^b	1.0±0.2 ^b	1.2±0.5 ^b	1.0±0.4 ^b
Triglicéridos mg dL ⁻¹	85.1±6.7 ^c	109.2±7.1 ^b	151.1±7.6 ^a	79.3±10.3 ^c	93.9±6.8 ^c
Colesterol mg dL ⁻¹	49.8±7.6 ^a	54.5±3.4 ^a	45.8±4.2 ^a	33.6±5.7 ^b	31.6±3.3 ^b
Glucosa mg dL ⁻¹	51.5±4.0 ^{ab}	59.1±2.7 ^a	34.5±5.7 ^c	49.6±3.3 ^b	47.9±3.4 ^b

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P<0.05) g/dL= gramos por decilitro mg/dL = miligramos por decilitro.

Perfil proximal de tejidos (músculo, hígado y pez entero)

Músculo:

El contenido de proteína en el músculo no mostro diferencias significativas (P <0.05) entre los tratamientos, observándose contenidos de 86% en general. El contenido de grasa cruda o lípidos mostró diferencias entre los tratamientos, D60+ARA y Control (6.5 ± 0.3 y 5.4 ± 0.6, respectivamente), mostrando el menor contenido en la dieta control. El contenido de cenizas totales fue significativamente menor en el tratamiento D120+ARA con un contenido 6.97%, mostrando diferencias con el tratamiento D30+ARA (Tabla 9).

Hígado:

El contenido de proteína cruda en el tratamiento D120+ARA fue significativamente mayor (27.0 ± 0.9) respecto a la dieta D90+ARA y dieta control (Tabla 9). El contenido de lípidos en hígado en el tratamiento D90+ARA fue significativamente mayor al resto de tratamientos con un $65.85\pm 0.7\%$. Los organismos iniciales mostraron un contenido de 21.76 ± 0.2 , lo que representó un incremento de más del 40% de grasa al término del experimento (Día 74). No se encontraron diferencias significativas en el contenido de cenizas ($P>0.05$).

Pez entero:

El contenido de proteína cruda fue significativamente mayor en el tratamiento D120+ARA respecto a los tratamientos de la dieta control, D60+ARA y D90+ARA (Tabla 9). En cuanto al contenido de lípidos en pez entero, fue significativamente menor ($P<0.05$) en el tratamiento D90+ARA con un contenido de $11.12\pm 0.8\%$, mientras que el contenido de humedad fue significativamente mayor ($P<0.05$) en el tratamiento D60+ARA con $5.92\pm 0.6\%$, y en cenizas no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($P>0.05$).

Tabla 9. Composición proximal de músculo, hígado y pez entero de juveniles de *Totoaba macdonaldi* al inicio y final del experimento, alimentados con dietas enriquecidas de ácido araquidónico (P<0.05).

Músculo	Dieta control	D30+ARA	D60+ARA	D90+ARA	D120+ARA	Organismos iniciales
Proteína total	86.0±0.7	86.8±1.3	86.2±0.8	85.7±0.5	85.6±0.7	89.8±0.5
Lípidos totales	5.4±0.6 ^b	5.5±0.8 ^{ab}	6.5±0.3 ^a	6.0±1.0 ^{ab}	5.8±0.7 ^{ab}	4.1±0.3
Humedad total	*	*	*	*	*	2.1±0.1
Cenizas totales	7.1±0.2 ^{ab}	7.3±0.2 ^a	7.1±0.2 ^{ab}	7.1±0.2 ^{ab}	7.0±0.2 ^b	6.8±0.0
Extracto libre de N.	1.5	0.6	0.2	1.2	1.6	0
Hígado	Dieta control	D30+ARA	D60+ARA	D90+ARA	D120+ARA	Organismos iniciales
Proteína total	25.1±0.6 ^b	25.8±0.9 ^{ab}	27.2±0.4 ^a	21.9±0.4 ^c	27.0±0.9 ^a	61.5±0.5
Lípidos totales	60.6±1.0 ^c	62.4±0.8 ^b	60.8±0.8 ^c	65.9±0.7 ^a	62.3±1.0 ^b	21.8±0.2
Humedad total	*	*	*	*	*	nd
Cenizas totales	2.3±0.3	2.0±0.3	2.1±0.3	1.9±0.3	2.4±0.3	nd
Extracto libre de N.	12	9.8	9.9	10.3	8.3	16.7
Pez entero	Dieta control	D30+ARA	D60+ARA	D90+ARA	D120+ARA	Organismos iniciales
Proteína total	67.8±1.1 ^{cd}	70.1±1.0 ^{ab}	68.7±0.9 ^{bc}	66.6±0.9 ^d	71.0±1.0 ^a	71.0±0.3
Lípidos totales	13.1±0.7 ^b	13.3±0.4 ^{ab}	14.4±0.3 ^a	11.1±0.8 ^c	14.3±0.6 ^{ab}	10.3±0.3
Humedad total	4.7±0.5 ^b	5.3±0.6 ^{ab}	5.9±0.6 ^a	4.8±0.2 ^b	5.0±0.6 ^b	1.5±0.1
Cenizas totales	16.3±0.4	16.4±0.2	16.1±0.7	16.9±1.0	16.6±1.0	15.4±0.3
Extracto libre de N.	0	0	0	0.6	0	1.8

letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P<0.05), no se consideró el contenido de los organismos iniciales para el análisis estadístico. El extracto libre de nitrógeno se calculó como ELN=100%- (% proteína + % lípidos+ %humedad +%cenizas). nd indica que no se determinó el contenido en el tejido.

Perfil de ácidos grasos de hígado y músculo (lío-filizados) de juveniles de *Totoaba macdonaldi* alimentados con distintas dietas enriquecidas de ARA.

El perfil de ácidos grasos fue cuantificado en mg g^{-1} de tejido en hígado y músculo al término de 74 días de alimentación con dietas enriquecidas con ARA, por medio de cromatografía de gases, Tablas 10 y 11 (hígado y músculo respectivamente).

Hígado

De manera general, los ácidos grasos saturados (SFAs) no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos. En lo que respecta a los MUFAs, el contenido de Ácido eláidico ($\text{C}_{18:1n9}$) fue el único en mostrar diferencias significativas entre los tratamientos, observándose el menor contenido en la dieta control respecto al resto de los tratamientos.

En este mismo sentido, en los PUFAs, el ácido linoleico ($\text{C}_{18:2n6c}$) mostró un contenido significativamente mayor en el tratamiento D30+ARA (27.8mg g^{-1}) respecto a la dieta control ($18.4 \pm 1.6 \text{mg g}^{-1}$). El contenido del Ácido gamma linolénico ($\text{C}_{18:3n6}$) fue significativamente menor ($P < 0.05$) en el tratamiento D30+ARA respecto a los tratamientos D90 y D120+ARA con $2.41 \pm 0.5 \text{mg g}^{-1}$. El contenido de ácido linolénico ($\text{C}_{18:3n3}$) fue significativamente mayor ($P < 0.05$) en el tratamiento D30+ARA respecto a las dietas D90+ARA y D120+ARA con $0.98 \pm 0.3 \text{mg g}^{-1}$.

Por otro lado, el contenido de ácido araquidónico (ARA, $\text{C}_{20:4n6}$) fue significativamente mayor en el tratamiento D120+ARA con $6.28 \pm 0.8 \text{mg g}^{-1}$, mientras que la Dieta Control mostró el contenido más bajo con $0.38 \pm 0.1 \text{mg g}^{-1}$. El contenido de ácido eicosopentanoico (EPA, $\text{C}_{20:5n3}$) fue significativamente mayor ($P < 0.05$) en el tratamiento control respecto al resto de los tratamientos con $1.9 \pm 0.2 \text{mg g}^{-1}$. Por último, el ácido docosahexaenoico (DHA, $\text{C}_{22:5n3}$) mostró una tendencia similar a EPA, el contenido de DHA fue significativamente mayor en el tratamiento control con $8.03 \pm 0.9 \text{mg g}^{-1}$ respecto al resto de los tratamientos.

Tabla 10. Perfil de ácidos grasos de hígado de *Totoaba macdonaldi* (mg g⁻¹) tras 74 días de alimentación con diferentes niveles de ácido araquidónico en la dieta.

SFA	D. C	D30+ARA	D60+ARA	D90+ARA	D120+ARA
C13:0	2.4±0.4	2.1±0.4	2.5±0.9	2.4±0.5	2.1±0.5
C14:0	0.9±0.1 ^a	0.3±0.2 ^b	ND	ND	0.2±0.2 ^b
C16:0	15.9±1.8	14.9±1.8	12.7±2.5	14.4±3.9	14.5±1.8
C18:0	3.1±0.3	3.9±0.6	2.8±1.9	4.1±1.3	4.2±0.8
ΣSFA	22.2±2.5	20.7±2.5	18.8±2.7	21.1±5.6	20.9±3.4
MUFA					
C16:1	6.4±1.2	5.9±0.8	5.1±1.8	6.2±2.1	5.2±0.7
C18:1n9	18.4±1.6 ^b	27.8±3.0 ^a	24.3±4.3 ^{ab}	23.9±5.4 ^{ab}	22±2.4 ^{ab}
C20:1n9	0.3±0.1	0.4±0.1	0.2±0.2	0.3±0.3	0.3±0.1
ΣMUFAS	25.0±2.7	33.2±4.1	29.5±5.3	30.7±7.8	27.4±3.3
PUFAS					
C18:2n6	11.3±0.6 ^b	16.1±2.3 ^a	14.4±2.8 ^{ab}	14.2±2.5 ^{ab}	14.9±2.3 ^{ab}
C18:3n6	2.7±0.3 ^{ab}	2.4±0.5 ^b	3.0±0.2 ^{ab}	3.2±0.5 ^a	3.1±0.4 ^a
C18:3n3	ND	1.0±0.3 ^a	0.6±0.2 ^{ab}	0.5±0.3 ^b	0.3±0.2 ^b
C20:4n6	0.4±0.1 ^c	2.2±0.4 ^b	3.8±0.6 ^{ab}	4.8±0.7 ^a	6.3±0.8 ^a
C20:5n3	1.9±0.2 ^a	0.3±0.1 ^b	0.2±0.1 ^b	0.3±0.1 ^b	0.3±0.1 ^b
C22:6n3	8.0±0.9 ^a	4.4±0.6 ^b	5.2±0.9 ^b	4.3±0.7 ^b	4.8±0.8 ^b
ΣPUFAS	22.2±4.4	26.0±3.8	24.5±6.2	27.4±4.5	29.9±4.9
ARA/EPA	0.2	7.1	16.3	17.2	24.9
ARA/DHA	0.1	0.5	0.7	1.1	1.3

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P<0.05).

Músculo:

El contenido de ácidos grasos en músculo de totoaba, se muestra en la Tabla 11. De manera general, en los SFAs, se observa que el tridecanoico (C13:0) fue significativamente menor en el tratamiento D90+ARA respecto al resto de las dietas, elucidando un contenido de 2.7 ± 0.3 mg g⁻¹. En el contenido de los MUFAs, no se presentaron diferencias significativas, mostrando sólo al C₁₈:1n9 (3.6 ± 0.6 mg g⁻¹) con presencia en el tejido muscular de la totoaba. En lo que compete a la sumatoria de los PUFAs, se mostraron contenidos en general de 6.5 ± 0.6 mg g⁻¹, sin embargo, el contenido de ARA, presentó un incremento significativo conforme se incrementó el nivel de la dieta, siendo el contenido más alto el tratamiento D120+ARA con

2.33 ± 0.3 mg g⁻¹. En cuanto al contenido de DHA fue significativamente mayor en dieta control (efecto similar al contenido en hígado) respecto al resto de tratamientos con 3.01 ± 0.6 mg g⁻¹.

Tabla 11. Perfil de ácidos grasos de músculo de *Totoaba macdonaldi* (mg g⁻¹) tras 74 días de alimentación con diferentes niveles de ácido araquidónico en la dieta.

SFA	DC	D30+ARA	D60+ARA	D90+ARA	D120+ARA
C13:0	2.9±0.2 ^{ab}	3.0±0.1 ^{ab}	3.1±0.3 ^a	2.7±0.3 ^b	2.8±0.1 ^{ab}
C16:0	2.1±0.7	2.0±0.7	1.9±0.8	2.4±1.4	2.8±0.9
C18:0	0.2±0.1	0.2±0.2	0.3±0.1	0.5±0.4	0.5±0.3
ΣSFA	5.2±0.8	5.2±0.9	5.2±1.0	4.51±0.1	5.4±0.4
MUFA					
C18:1N9	3.0±0.8	4.0±1.0	3.7±1	4.3±1.9	4.4±1.2
PUFAS					
C18:2n6	2.8±0.6	3.5±0.7	3.1±0.7	3.3±1.2	3.1±0.8
C20:4n6	nd	0.7±0.1 ^c	1.2±0.2 ^b	1.7±0.5 ^b	2.3±0.3 ^a
C20:5n3	0.3±0.2	nd	0.2±0.1	0.2±0.1	nd
C22:6n3	3.0±0.6 ^a	1.8±0.3 ^b	1.7±0.3 ^b	1.6±0.3 ^b	1.8±0.3 ^b
ΣPUFAS	6.7±0.6	5.7±0.8	6.0±1.2	5.2±0.5	5.9±0.9
ARA/DHA	nd	0.4	0.7	1.1	1.3

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P<0.05).

Actividad enzimática de lipasas totales en hígado de *Totoaba macdonaldi* alimentados con dietas enriquecidas de ácido araquidónico (Véase cuadro 1.12)

Se analizó la actividad de lipasas totales en 6 organismos por tratamiento (Tabla 12) no se encontraron diferencias significativas en la actividad de lipasas ni en el contenido de proteína soluble.

Tabla 12. Actividad enzimática de lipasas totales en hígado de *Totoaba macdonaldi* (Unidades de enzima por gramo de hígado)

Tratamiento	Dieta C	D30+ARA	D60+ARA	D90+ARA	D120+ARA
U/g de hígado	5.8±0.7	6.0±0.5	5.3±0.6	5.9±0.8	4.8±0.6
%Proteína soluble (mg ml ⁻¹)	6.2±0.9	6.0±0.6	6.4±0.8	6.6±0.7	6.4±0.7
Dilución	1:10	1:10	1:10	1:10	1:10

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P<0.05).

DISCUSIÓN

Los resultados de la presente investigación no muestran diferencias significativas ($P>0.05$) en ninguno de los parámetros productivos evaluados entre los diferentes tratamientos otorgados a los juveniles de tototaba (Tabla 7), sin embargo, estas respuestas obtenidas en el experimento difieren a lo encontrado por distintos autores, dónde el incremento del ARA en las dietas genera incremento en el crecimiento específico (TCE), peso ganado por día, supervivencia. Estas respuestas han sido observadas en *L. japonicus* (peso final y TCE) con una inclusión de 0.36% (% materia seca) de ARA, un nivel uniforme de DHA y EPA ($1.50 \text{ g } 100^{-1}$ y $0.5 \text{ g } 100^{-1}$, respectivamente), se observó un incremento significativo en el crecimiento específico entre 0.08-0.36%, mientras que los tratamientos con mayor porcentaje de ARA no mostraron esta tendencia, los autores reportaron que la inclusión de 0.32% de ARA mostró los mejores parámetros productivos para esta especie (Xu *et al.*, 2010). Nayak *et al.* (2017) reportaron para juveniles de *S. rivulatus* que la inclusión moderada de ARA (2.6% TFA) mostró un efecto significativo en los indicadores peso ganado por día y supervivencia, respecto a una inclusión de 0.6 y 4.6% de ARA, considerando esta última como un alto nivel de inclusión. En pepino de mar *A. japonicus* se probaron dietas con niveles desde 0.1 hasta 1.09% de ARA (% peso seco), reportándose una tendencia ascendente del TCE hasta 0.70% de ARA, por encima de este nivel el TCE disminuyó, sin embargo, los autores declararon que los organismos no presentaron diferencias significativas en peso final con respecto a la dieta control (dietas enriquecidas respecto a la DC) (Qi *et al.*, 2022). En *Haliotis discus* se encontró un porcentaje de peso significativamente mayor en los tratamientos de enriquecimiento de 0.31-0.44% de ARA comparados con la dieta control (0% de enriquecimiento de ARA) (Lei *et al.*, 2023). En *Paralichthys olivaceus*, se observó un efecto similar bajo la inclusión de ARA en dietas bajas en harina de pescado, una inclusión de 0.6% ARA (como reemplazo parcial del aceite de soya) indujo un aumento significativo del peso final, % de peso ganado y TCE, sin embargo, los niveles más altos (1.2 y 1.6%) disminuyeron significativamente los parámetros mencionados (Medagoda y Lee, 2023). En otras especies como *Trichopodus trichopterus* la inclusión de ARA (1-2%) no tuvo efectos en los parámetros de crecimiento, por otro lado, una inclusión de ARA del 1% aumentó los parámetros reproductivos como fecundidad y diámetro del saco vitelino

(Asil *et al.*, 2017). En subadultos de *O. mykiss* no se presentaron efectos significativos en crecimiento con niveles ARA dietético (0.1, 4.0, 7.7 y 14.8% de ácidos grasos totales metilados), los autores señalaron que, a pesar de la capacidad de la trucha para sintetizarlo, no influyó en el crecimiento como se esperaba a pesar de la disponibilidad de ARA en la dieta durante el experimento (Hong *et al.*, 2024). Por lo tanto, la ausencia de efectos significativos en los parámetros de crecimiento en el presente estudio podría indicar que para juveniles de *T. macdonaldi*, los niveles de ARA en las dietas enriquecidas no implicaron una deficiencia o exceso en la dieta, por lo que se podía concluir que el contenido presente en la HP y AP de la dieta control (0.01 ± 0.05 y 0.6 ± 0.2 respectivamente) son metabólicamente suficientes para cubrir sus necesidades en su etapa de crecimiento.

Por otra parte, los niveles de parámetros hematológicos como hemoglobina, hematocrito, conteo de células rojas y blancas, así como, los plasmáticos como las proteínas totales y la albumina pueden relacionarse con el estado de salud de los organismos (Esmaeili, 2021). En peces, la albumina participa en el transporte de diversos metabolitos, entre ellos, los ácidos grasos, hormonas, regula la presión osmótica y osmorregulación. En este mismo sentido, se ha demostrado que los niveles de albumina pueden variar por factores como niveles de alimentación, la calidad y disponibilidad de las fuentes de alimento (De Smet *et al.*, 1998; Baker, 2002; Niwa *et al.*, 2007; Kovyrshina y Rudneva, 2012; Dutta, 2017; Nurfaidah *et al.*, 2021). De manera particular, en este trabajo se encontró que la dieta control fue significativamente mayor al resto en los parámetros de proteína total y albumina, los niveles bajos de proteína total han sido observados en organismos que enfrentan estrés (como los cambios de hábitat) y en situaciones en que las proteínas pueden ser movilizadas como fuente energética (Vasanthi *et al.*, 1990; Oruc y Usta, 2007), mientras que niveles bajos de albumina afecta directamente en el mantenimiento de la presión osmótica entre la sangre circulante y los tejidos (Harper *et al.*, 1997). Respecto al plasma, un compuesto importante es la glucosa, se ha inferido que niveles altos en plasma indican una mayor deposición de lípidos en hígado (Medagoda y Lee, 2023). En el presente estudio esta aseveración no se cumplió del todo, la glucosa fue significativamente mayor en el tratamiento D30+ARA y Dieta control, respecto al resto de dietas enriquecidas, sin

embargo, el contenido en hígado de grasa total significativamente mayor fue en la dieta D90+ARA (Tabla 9).

En el contenido de triglicéridos, la dieta 60+ARA fue significativamente mayor al resto de los tratamientos, sin embargo, no se presenta algún patrón respecto a la inclusión de ARA en las dietas. Los triglicéridos funcionan como depósitos de grasa, algunas especies presentan ceras esterificadas que forman parte de las reservas de lípidos (Álves-Bezerra, M. y Cohen, D., 2017; FAO, 2023). Por otro lado, el contenido de colesterol presenta una tendencia a disminuir al incrementar el ARA en las dietas (Tabla 8). Nuestro resultado concuerda con lo encontrado por Demetz *et al.* (2004), quienes reportaron que los niveles altos de leucotrienos (metabolitos derivados del metabolismo de ARA) pueden reducir los niveles de colesterol en el plasma, incrementando la excreción en las heces fecales, este proceso se le conoce como transporte reverso de colesterol (Cuchel y Rader, 2006; Megadoga y Lee, 2023).

De manera general, los niveles observados de proteína total y triglicéridos se encuentran en un rango similar a los reportados en estudios previamente realizados en totoaba (Tabla 13). En el estudio de Budy-Satriyo *et al.* (2017), las dietas se formularon con 65% HP e incrementos de taurina, la cual se ha reportado que tiene efectos directos en la regulación de la biosíntesis de ácidos grasos, catabolismo de triglicéridos en hígado y regulación del colesterol; sin embargo, en el presente estudio para las dietas enriquecidas de ARA, se utilizó 1% de taurina (0.5 % DC), y los niveles de colesterol observados fueron inferiores a los reportados por Satriyo y colaboradores, lo que podría indicar que una producción de leucotrienos derivados del metabolismo de ARA (aunque no fue medido este metabolito) podría estar implicado en la regulación del colesterol observados en el presente estudio, tal como lo sugiere Demetz *et al.* (2014), se recomienda evaluar el contenido excretado en heces para corroborar este efecto.

Tabla 13. Química sanguínea de juveniles de *Totoaba macdonaldi* en otros estudios realizados.

Parámetro	López <i>et al.</i> , 2015	Trejo-Escamilla <i>et al.</i> , 2017	Budy-Satriyo <i>et al.</i> (2017)	Cabanillas-Gómez <i>et al.</i> , 2017	Bañuelos Vargas (2014)	Alvarado (tesis, 2022)
Hematocrito	33.5 ± 5.5	19.2 ± 1.8	19.3 ± 0.5	26.5 ± 4.6	32.8 ± 5.0	24.1 ± 0.7
Hemoglobina (g/dL)	4.3 ± 0.9	6.7 ± 0.7	5.2 ± 0.2	6.6 ± 0.3	4.6±0.6	11.9 ± 0.3
Proteína total (g/dL)	**	1.9 ± 0.3	2.6 ± 0.1	2.5±0.1	**	3.9 ± 0.8
Albumina (g/dL)	**	0.7 ± 0.1	1.1 ± 0.2	1.0±0.1	0.6±0.6	1.2 ± 0.3
Triglicéridos (mg/dL)	**	**	75. 6± 14.4	**	**	103.7 ± 28.8
Colesterol (mg/dL)	**	**	98.0 ± 10.6	**	**	43.1 ± 10.1
Glucosa (mg/dL)	**	**	50.6 ± 6.6	67.1±19.3	39.9±9.0	48.5 ± 8.9

** = no determinado

En lo que respecta al perfil de ácidos grasos, la deposición de ARA tanto en músculo como hígado se comportó en función del nivel suministrado en la dieta, observándose una concentración de ARA significativamente mayor conforme aumentó el nivel de inclusión, por tal motivo, el tratamiento D120+ARA presentó el mayor contenido de $2.3 \pm 0.3 \text{ mg g}^{-1}$ de músculo. En hígado, el contenido de ARA fue significativamente mayor en los tratamientos D120+ARA y D90+ARA respecto al resto de los tratamientos ($P < 0.05$). En ambos tejidos se presentaron perfiles de acuerdo con los niveles de ácidos grasos en la dieta, similares al efecto reportado y observado por Mata-Sotrés *et al.* (2018) y Maldonado-Othón *et al.* (2022); en *T. macdonaldi*, donde los niveles de ácidos grasos en la dieta fueron directamente proporcionales a los acumulados en los organismos. La acumulación progresiva de ARA en tejidos se ha visto en las especies *Centropristis striata* (larvas), *Solea senegalensis* (testículos), *Dicentrarchus labrax* (intestino distal) y salmón salar (eritrocitos, lípidos polares de retina, corazón, cerebro e hígado) y *P. olivaceus* (hígado) (Carrier III *et al.*, 2011; Norambuena *et al.*, 2013; Rivero-Ramírez *et al.*, 2020; Sissener *et al.*, 2020; Medagoda y Lee, 2023).

Respecto al contenido de EPA en hígado, éste fue significativamente mayor en la dieta control respecto al resto de los tratamientos, con un total de $1.9 \pm 0.18 \text{ mg g}^{-1}$. Mismo efecto se observó en contenido de DHA en hígado, el cual fue significativamente mayor en la DC con un total de $8.03 \pm 0.93 \text{ mg g}^{-1}$. En músculo, los niveles de DHA también fueron significativamente mayores

en la DC respecto al resto de tratamientos ($3.0 \pm 0.6 \text{ mg g}^{-1}$). Por lo tanto, al igual que en ARA, se observó una relación entre el contenido de EPA y DHA en los tejidos analizados y las dietas, siendo más altos los niveles de ambos ácidos grasos en la DC, misma que se formuló a base de AP y HP. En otros estudios se ha observado un efecto de inhibición de la incorporación de EPA y DHA en los tejidos por parte de ARA, el cual ha sido atribuido a la relación competitiva que mantienen estos ácidos grasos para asociarse con elongasas y desaturasas en el metabolismo de síntesis endógena (principalmente por el sustrato al cual son afines tanto EPA como ARA), ARA presenta una tendencia hacia la producción de eicosanoides y EPA para fosfoglicéridos (Bell y Sargent, 2003); sin embargo, en el presente estudio no se observó una relación clara entre los niveles de estos ácidos grasos, ya que en ambos tejidos (músculo e hígado) los niveles de EPA y DHA no presentaron diferencias significativas ni una tendencia en las dietas enriquecidas por ARA, lo cual podría indicar que la relación de ARA/EPA/DHA se encuentra dentro del rango adecuado en las dietas formuladas para la talla de los organismos durante el bioensayo.

En el presente estudio se observó que en la dieta D120+ARA los niveles de ARA en músculo fueron muy similares al nivel observado con la D30+ARA en hígado, lo cual podría indicar una mayor tasa de deposición de ARA en hígado. En la lobina europea (*Dicentrarchus labrax*) se ha reportado que la suplementación de los PUFAs anteriormente mencionados juegan un rol de regulación en el perfil de ácidos grasos en los tejidos (Torrecillas *et al.*, 2018). En el camarón blanco, *L. vannamei*, se reportó una tendencia a depositar ARA, EPA y DHA en músculo, con menor concentración de ARA en hepatopáncreas. Este último órgano posee la capacidad de acumular PUFAs y de utilizar ácidos grasos insaturados absorbidos en la dieta para realizar procesos metabólicos (Zhu *et al.*, 2023). En *Acipenser sinensis* se reportó que la inclusión de ARA incremento el contenido de vitelogenina en ovarios y en hígado, lo que implica un rol importante en la maduración sexual (Wu *et al.*, 2021). En este mismo sentido se observaron efectos directos en el metabolismo lipídico, funciones hepáticas, aumento de capacidad antioxidante en la anguila (*Monopterus albus*), permitiendo a esta especie retrasar el proceso de reversión sexual en presencia de niveles altos de ARA en la dieta (Jiang *et al.*, 2023). Los depósitos de PUFAs en el presente estudio y los observados en la literatura en hígado reflejan la capacidad para almacenar selectivamente ácidos grasos según el requerimiento del

organismo (Ferramosca y Zara, 2014), lo cual se puede observar en los resultados del análisis proximal de los tejidos (Tabla 9), los contenidos de grasa total presentaron 20% lípidos versus 60% proteínas, tras el bioensayo se invirtieron las proporciones en hígado (>60% lípidos versus >25% proteína total).

Respecto al análisis de la actividad de lipasas totales en hígado (Tabla 12), no se observó una influencia directa por parte del enriquecimiento de ARA, tanto el contenido de proteína total como unidades de enzima no presentaron diferencias significativas. Sin embargo, en juveniles de pámpano dorado (*Trachinotus ovatus*) se observó un efecto en la actividad de lipasas en intestino, incrementándose conforme al aumento de ARA dietético (Zhang *et al.*, 2019). En el presente estudio no se analizó el efecto en el intestino, debido a que parte de la hipótesis inicial era que a mayor disponibilidad ARA en la dieta, este se depositaría mayormente en el hígado (Jiang *et al.*, 2023; Medagoda y Lee, 2023), lo cual podría incrementar significativamente la actividad de lipasas totales. De manera general se sabe que el estudio de enzimas digestivas puede ampliar la información sobre el estado de salud de los organismos (Awad *et al.*, 2012; Ribeiro *et al.*, 2015; Cai *et al.*, 2016; Jenabi *et al.*, 2019), reflejando la capacidad de los organismos en la digestión y utilización de nutrientes (Bansemer *et al.*, 2016). El metabolismo de lípidos y su respectiva actividad de lipasas se ven influenciadas principalmente por la etapa de desarrollo del organismo y el tejido, algunos órganos involucrados son el hepatopáncreas, hígado, estómago y ciegos pilóricos, los niveles de actividad enzimática pueden llegar a presentar diferencias entre los órganos mencionados anteriormente (Nayak *et al.*, 2003). Para determinar si el enriquecimiento de ARA tiene una relación directa en *Totoaba macdonaldi* con la actividad de lipasas totales, se recomienda realizar el análisis en otros órganos como los que sugiere Nayak *et al.* (2003) y tener una idea más completa de la movilización de ARA en sus diversos procesos metabólicos

Otro aspecto importante que se observó en el presente estudio es que no hubo un daño visual en el hígado en ninguno de los tratamientos, sin embargo, no se complementaron estas observaciones con análisis histológicos que pudieran demostrar los efectos de ARA o por parte de EPA/DHA. Carvalho *et al.* (2018) sugieren efectos patológicos negativos tras la baja inclusión de ω -3 PUFA dietéticos, puede llegar a presentarse daños por granulomatosis en hígado, lo que

apoya la hipótesis que tanto EPA como DHA se encontraban en niveles adecuados para las dietas experimentales, al no presentarse estos efectos físicos en los tejidos analizados. De manera general se ha observado que el requerimiento de ARA se les atribuye más a especies de niveles tróficas altos como carnívoros marinos debido a su capacidad baja o nula de síntesis de PUFAs (Xu *et al.*, 2022). Sin embargo, para la etapa biológica en la que los organismos (juveniles) se encontraban, no se lograron observar los defectos de una supuesta deficiencia, pero se recomienda realizar más experimentos con enfoque por separado de EPA y DHA, y englobar un requerimiento colectivo.

Parte de los análisis que no se estudiaron en el presente estudio implican diversos efectos del ácido araquidónico adicionales, sin embargo, en la literatura se han descrito múltiples propiedades, una vez que es liberado ARA de los fosfolípidos, se han observado funciones de modulación hormonal, como señalizador de reacciones y regulación de canales iónicos en la membrana celular, la capacidad de permanecer en estado líquido a bajas temperaturas permite mantener una mejor fluidez y flexibilidad (Brash, 2001; Zambonino y Cahu, 2007; Tallima y Ridi, 2018). Todas estas reacciones son derivadas por la acción de ciclooxigenas y lipooxigenasas (*cox-2* y *lox-5* respectivamente), las cuales se conocen por su papel en la inducción de la respuesta inflamatoria y antiinflamatorio (Calder, 2006; Holen *et al.*, 2015). Tras la liberación de ARA en la membrana celular y su consecuente producción de metabolitos, se ha reportado una relación de producción dosis-dependiente en *Acanthopagrus schlegelii*, donde un exceso de ARA en la dieta de 1.94-2.42% provocó la inducción de genes que promueven apoptosis celular (*bax*, *capase 7* y *9*), por tal motivo, los autores recomiendan abordar estos genes para determinar dosis adecuadas que no comprometan la salud celular (Bao *et al.*, 2023). Otros efectos son los provocados sobre la respuesta inmune derivada de su producción de prostaglandinas, mantenimiento de la integridad intestinal, y resistencia al estrés (Bell y Sargent, 2003; Rombenso *et al.*, 2016), mediante la proliferación celular derivada por parte de ARA, se promueve la regeneración de células epiteliales ante problemas causados por factores anti nutricionales y daños mecánicos. En dietas altas en proteína vegetal se ha reportado en la especie *Paralichthys olivaceus* que niveles entre 0.9-1.5% de ARA suprime la inflamación en intestinos (Medagoda y Lee, 2023), en trucha arcoíris también se ha reportado efectos directos

en las vellosidades del intestino, las cuales participan en la absorción de nutrientes al incrementar el área de superficie (Hong *et al.*, 2024). En este mismo sentido, Fuentes-Quesada *et al.* (2018) reportaron que niveles por encima del 22% de remplazo de harina de pescado por harina de soya en Totoaba, causaba daños de enteritis en intestino distal, por tal motivo, un incremento en ARA, podría representar una opción viable en Totoaba e incrementar en la sustitución de harinas vegetales, disminuyendo los efectos por inflamación que provoca la harina de soya.

También se ha reportado que la inclusión de ARA en niveles de 0.44-0.8% afecta positivamente la actividad inmune, antioxidante y resistencia al estrés por temperatura en *Halotis discus* (Lei *et al.*, 2023). Medagoda y Lee, (2023) reportaron que ARA promovió un efecto antioxidante alto en la enzima Super óxido dismutasa (SOD) en la especie *Paralichthys olivaceus* al 0.9% de contenido de ARA. Se ha inferido que el incremento de la actividad de enzimas antioxidantes y lisosoma se activan para evitar la regeneración de especies reactivas de oxígeno (ROS) como medio para prevenir daño celular (Hong *et al.*, 2024). Los dobles enlaces de ARA en la cadena de su molécula provocan vulnerabilidad para ser atacados por ROS, por lo que se activa la producción de las enzimas antioxidantes para evitar la peroxidación lipídica y mitigar el daño celular que pudieran provocar las ROS (Anderson, 1992; Mazière *et al.*, 1999).

Tras la realización del experimento y analizar una primera aproximación de la inclusión de ARA en las dietas de juveniles de *T. macdonaldi*, se recomienda estudiar que sucede con niveles de ARA por debajo del aporte de la harina de pescado y observar si se producen efectos negativos por la ausencia de ARA, por lo que desarrollar un experimento similar a este, aportará un panorama más completo y ayudará a determinar qué tan esencial es el ARA para la totoaba, involucrando parámetros inmunes, antioxidantes, salud intestinal y estudiar depósitos en otros tejidos. Se recomienda estudiar la expresión de la ruta metabólica de eicosanoides para demostrar la respuesta inflamatoria y antiinflamatoria, sus mecanismos de regulación y evaluar los efectos de leucotrienos sobre la regulación del colesterol.

CONCLUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos en los índices biológicos, se puede inferir que un incremento en los contenidos de ARA en la dieta de *Totoaba macdonaldi*, no afecta el desempeño productivo del organismo.

El proporcionar un incremento del ARA en las dietas no propició un cambio en los parámetros de hematología ni en la actividad de las lipasas en hígado de la totoaba, lo cual implica que no hay un efecto negativo en el estado de salud del organismo.

La deposición de ARA en músculo e hígado fue directamente proporcional al nivel en la dieta ofrecida.

El contenido de EPA y DHA en hígado y músculo, no mostraron una disminución respecto a la incorporación de ARA en las dietas, por lo que se puede inferir que 0.3 y 2.5 mg g⁻¹ (EPA y DHA, respectivamente) puede ser concentraciones aceptables para las dietas formuladas de *Totoaba macdonaldi*.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- A.O.A.C. 1990. Official method of analysis. Association of Official Analytical Chemistry. 16th ed. By Hoorwitz, N., P. Chialo, y H. Reynold, Washington, USA.
- Anderson, D.P., 1992. Immunostimulants, adjuvants, and vaccine carriers in fish: applications to aquaculture. *Annu. Rev. Fish. Dis.* 2, 281-307. [https://doi.org/10.1016/0959-8030\(92\)90067-8](https://doi.org/10.1016/0959-8030(92)90067-8)
- Asil, S.M., Kenari, A.A., Miyanji, G.R., Van Der Kraak, G. 2017. The influence of dietary arachidonic acid on growth, reproductive performance, and fatty acid composition of ovary, egg and larvae in an anabantid model fish, Blue gourami (*Trichopodus trichopterus*; Pallas, 1770). *Aquaculture*, 476, 8-18.
- Awad, E., Austin, B., Lyndon, A. 2012. Effect of dietary supplements on digestive enzymes and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Journal of American Science*, 8(12), 858-864.
- Andreeva, A.M. 2011. Mechanisms of the plurality of *Scorpaena porcus* L. serum albumin. *Open Journal of Marine Science* 1: 31-35.
- Ayón, C., Mora, A., Sánchez, M., Vargas, D. Luz Chacón Jiménez (septiembre 14, 2018). Metabolismo del ácido araquidónico e Inflamación Youtube. <https://www.youtube.com/watch?v=9oj7UBq7obY>
- Alves-Bezerra, M., Cohen D.E. 2017. Triglyceride Metabolism in the Liver. *Compr Physiol.* 12;8(1):1-8. doi: 10.1002/cphy.c170012. PMID: 29357123; PMCID: PMC6376873.
- Baker, M.E. 2002. Albumin, steroid hormones and the origin of vertebrates. *Journal of Endocrinology* 175: 121-127.
- Bansemmer, M.S., Qin, J.G., Harris, J.O., Schaefer, E.N., Wang, H., Mercer, G.J., Howarth, G.S., Stone, D.A.J., 2016. Age-dependent response of digestive enzyme activities to dietary protein level and water temperature in greenlip abalone (*Haliotis laevis*). *Aquaculture*. 451, 451–456. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.10.013>.

- Bañuelos, M. 2014. Respuesta del metabolismo hepático y fisiológico de juveniles de *Totoaba macdonaldi* ante la inclusión de proteína de soya y almidón en dietas suplementadas con Taurina. Tesis de doctorado, Facultad de Ciencias Marinas, UABC.
- Bañuelos-Vargas, I., López, L., Pérez-Jiménez, A., Peres, H. 2014. Effect of fishmeal replacement by soy protein concentrate with taurine supplementation on hepatic intermediary metabolism and antioxidant status of totoaba juveniles (*Totoaba macdonaldi*), Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, Volume 170, Pages 18-25 ISSN 1096-4959, <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2014.01.003>.
(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1096495914000049>)
- Bao, Y., Shen, Y., Wu, Z. Tao, S., Yang, B., Zhu, T., Zhao, W., Zhang, Y., Zhao, X., Jiao, L., Wang, Z., Zhou, Q., Jin, M. 2023. High dietary arachidonic acid produces excess eicosanoids, and induces hepatic inflammatory responses, oxidative stress and apoptosis in juvenile *Acanthopagrus schlegelii*. Aquaculture Reports. 29. 101506. [10.1016/j.aqrep.2023.101506](https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2023.101506).
- Barreto-Curiel, F., Parés-Sierra, G., Correa-Reyes, G., Durazo-Beltrán, E., & Viana, M. T. 2016. Total and partial fishmeal substitution by poultry by-product meal (petfood grade) and enrichment with acid fish silage in aquafeeds for juveniles of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Latin American Journal of Aquatic Research, 44(2), 327-335.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical biochemistry, 72(1-2), 248-254.
- Brash, A.R., 2001. Arachidonic acid as a bioactive molecule. J. Clin. Investig. 107 (11), 1339–1345. <https://doi.org/10.1172/JCI13210>
- Bell, J.G., Sargent, J.R. 2003. Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. Aquaculture 218 (1–4), 491–499. [https://doi.org/10.1016/s0044-8486\(02\)00370-8](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(02)00370-8).

- Budy-Satriyo, T. B., Galaviz, M. A., Salze, G., López, L. M. 2017. Assessment of dietary taurine essentiality on the physiological state of juvenile *Totoaba macdonaldi*. *Aquaculture Research*, 48(11), 5677-5689.
- Cabanillas Gámez, M., López, L., Galaviz, M., True, C. Bardullas, U. 2017. Effect of L-tryptophan supplemented diets on serotonergic system and plasma cortisol in *Totoaba macdonaldi* (Gilbert, 1890) juvenile exposed to acute stress by handling and hypoxia. *Aquaculture Research*. 49. 10.1111/are.13529.
- Cabanillas-Gámez, M., Bardullas, U., Galaviz, M.A., Rodriguez, S., Rodriguez V.M., López, L.M. 2020. Tryptophan supplementation helps totoaba (*Totoaba macdonaldi*) juveniles to regain homeostasis in high-density culture conditions. *Fish Physiol Biochem*. Apr;46(2):597-611. doi: 10.1007/s10695-019-00734-2. Epub 2019 Dec 9. PMID: 31820206.
- Cai, Z., Shuoheng F., Xiaojun X., Kangsen, M., Qinghui, A. 2016. Effects of dietary phospholipid on lipase activity, antioxidant capacity and lipid metabolism-related gene expression in large yellow croaker larvae (*Larimichthys crocea*), *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, Volume 201, Pages 46-52, ISSN 1096-4959, <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2016.06.007>.
- Calder, P.C., 2006. N-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am. J. Clin. Nutr.* 83 (6), 1505S–1519S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/83.6.1505S>.
- Carrier, J., Watanabe, W., Harel, M., Rezek, T., Seaton, P., Shafer, T. 2011. Effects of dietary arachidonic acid on larval performance, fatty acid profiles, stress resistance, and expression of Na⁺/K⁺ ATPase mRNA in black sea bass *Centropristis striata*. *Aquaculture*, 319(1-2), 111-121. doi: 10.1016/j.aquaculture.2011.06.027
- Carvalho, M., Peres, H., Saleh, R., Fontanillas, R., Rosenlund, G., Oliva-Teles, A., Izquierdo, M. 2018. Dietary requirement for n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids for fast

growth of meagre (*Argyrosomus regius*, Asso 1801) fingerlings. *Aquaculture*, 488, 105-113.

Chen, K.I., Erh M.H., Su, N.W., Liu, W.H., Chou, C.C., Cheng, K.C. 2012. Soy foods and soybean products: From traditional use to modern applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2012;96:9–22.

Córdova-Montejo, M., Álvarez-González, C., López, L., True, C., Frías-Quintana, C., Galaviz, M. 2019. Changes of digestive enzymes in totoaba (*Totoaba macdonaldi* Gilbert, 1890) during early ontogeny. *Latin american journal of aquatic research*, 47(1), 102-113. <https://dx.doi.org/10.3856/vol47-issue1-fulltext-11>

Companioni-Gásquez, M. 1995. Acido araquidónico y radicales libres: su relación con el proceso inflamatorio. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 14(1), 1.

CONAPESCA. 2018. Anuario estadístico de Acuicultura y Pesca. Comisión Nacional de Pesca y Acuicultura. México.

CONAPESCA. 2019. Biofloc: una alternativa prometedora para el cultivo de totoaba *Totoaba macdonaldi* en estanques. Comisión Nacional de Pesca y Acuicultura- Disponible en: <https://acuasesor.conapesca.gob.mx/noticia.php?id=170#:~:text=La%20totoaba%20Totoaba%20macdonaldi%20es,Concepci%C3%B3n%2C%20en%20Baja%20California%20Sur>. Fecha de acceso: 28 de Febrero de 2022

Cuchel, M., Rader, D.J., 2006. Macrophage reverse cholesterol transport: key to the regression of atherosclerosis? *Circulation* 113 (21), 2548–2555. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.104.475715>.

Cusiyunca, P.E.R. 2019. Alimentación de la lubina con piensos con altos niveles de proteína vegetal. <http://hdl.handle.net/10251/120099>.

De Smet, H., Blust, R., Moens, L. 1998. Absence of albumin in the plasma of the common carp *Cyprinus carpio*: binding of fatty acids to high density lipoprotein. *Fish Physiology and Biochemistry* 19: 71-81.

- Demetz, E., Schroll, A., Auer, K., Heim, C., Patsch, J.R., Eller, P., Theurl, M., Theurl, I., Theurl, M., Seifert, M., Lener, D., Tancevski, I. 2014. The arachidonic acid metabolome serves as a conserved regulator of cholesterol metabolism. *Cell Metab.* 20 (5), 787–798. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.09.004>.
- Den Held, 2019. Fish Bladders Mean Big Business for Chinese and Mexican Smugglers. InSight Crime. Disponible en: <https://insightcrime.org/news/brief/fish-bladder-big-business-china-mexico-smugglers/> Fecha de acceso: 2 de marzo de 2022.
- De Smet, H., Blust, R. and Moens, L. 1998. Absence of albumin in the plasma of the common carp *Cyprinus carpio*: binding of fatty acids to high density lipoprotein. *Fish Physiology and Biochemistry* 19: 71-81.
- Devlin, T. M. 2015. *Bioquímica: Con aplicaciones clínicas*. Reverté. p. 417
- Dutta, H. 2017. *Fish Morphology*. Estados Unidos: CRC Press.
- Esmaeili M. 2021. Blood Performance: A New Formula for Fish Growth and Health. *Biology (Basel)*. Nov 26;10(12):1236. doi: 10.3390/biology10121236. PMID: 34943151; PMCID: PMC8698978.
- Espinosa Acevedo, H. M. 2014. Efecto del contenido de proteína de soya en la dieta sobre la hematología y química sanguínea en Juveniles de Totoaba (*Totoaba macdonaldi*). Tesis.
- FAO, 2023. Composición química. Principales constituyentes. Lípidos. Disponible en: <https://www.fao.org/3/v7180s/v7180s05.htm>. Fecha de acceso: 23 de marzo 2023.
- FEDNA, 2023. Harina de pescado, 59/9/21 Federación Española para el desarrollo de la Nutrición Animal. Fecha de acceso: 22 de septiembre de 2023.
- Ferramosca A., Zara V. 2014. Modulation of hepatic steatosis by dietary fatty acids. *World J Gastroenterol.* Feb 21;20(7):1746-55. doi: 10.3748/wjg.v20.i7.1746. PMID: 24587652; PMCID: PMC3930973.

- Fuentes-Quesada, J. P., Barón-Sevilla, B., Guerrero-Rentería, Y., Mata-Sotres, J. A., Viana, M. T., Pohlenz, C., & Lazo, J. P. 2023. The prebiotic effect of agavin inclusion levels in low fishmeal diets for *Totoaba macdonaldi* juveniles. *Animal Feed Science and Technology*, 115695.
- Fuentes-Quesada, J., Viana, M., Rombenso, A. Guerrero-Rentería, Y., Nomura-Solís, M., Gómez-Calle, V., Lazo, J., Mata-Sotres, J. 2018. Enteritis induction by soybean meal in *Totoaba macdonaldi* diets: Effects on growth performance, digestive capacity, immune response and distal intestine integrity, *Aquaculture*, Volume 495, 2018, Pages 78-89, ISSN 0044-8486, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.05.025>.
- Galaviz, M.A., López L.M., García, Gasca, A., Álvarez, González, C.A., True C., Gisbert, E. 2015. Digestive system development and study of acid and alkaline protease digestive capacities using biochemical and molecular approaches in totoaba (*Totoaba macdonaldi*) larvae. *Fish Physiol Biochem*. Oct;41(5):1117-30. doi: 10.1007/s10695-015-0073-6. Epub 2015 May 19. PMID: 25987008.
- García-Ortega, A., Muy-Rangel, D., Puello-Cruz, A., Villa-López, Y., Escalante-Rojas, M., Preciado-Iñiguez, K. 2010. Uso de ingredientes de origen vegetal como fuentes de proteína y lípidos en alimentos balanceados para peces marinos carnívoros. *Avances En Nutrición Acuicola*. Recuperado de <https://nutricionacuicola.uanl.mx/index.php/acu/article/view/112>
- González-Félix, M. L., Santana-Bejarano, E. B., Perez-Velazquez, M., Villalba-Villalba, A. G. 2018. Partial characterization, quantification and activity of pancreatic lipase in the gastrointestinal tract of *Totoaba macdonaldi*. *Archives of Biological Sciences*, 70(3), 489-496. <https://doi.org/10.2298/ABS180202009G>
- Gorski, A., Międzybrodzki, R., Borysowski, J., Dąbrowska, K., Wierzbicki, P., Ohams, M., Kłowska, D. 2012. Phage as a modulator of immune responses: practical implications for phage therapy. *Advances in virus research*, 83, 41-71.
- Harper, H.A., Rodwell V.W., Mayes P.A. 1997 Review of physiological chemistry. Lange medical publications, Los Anglos, Ca. USA.

- Harris, E. D. 1992. "Regulation of antioxidant enzymes." The FASEB Journal 6(9): 2675-2683.
- Holen, E., He, J., Espe, M., Chen, L., Araujo, P. 2015. Combining eicosapentaenoic acid, decosahexaenoic acid and arachidonic acid, using a fully crossed design, affect gene expression and eicosanoid secretion in salmon head kidney cells in vitro. Fish Shellfish Immunol. 45 (2), 695–703. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.05.017>.
- Hong, J., Ortiz, J. G., Sealey, W. M., Small, B. C. 2024. Effects of dietary arachidonic acid supplementation in low fishmeal and fish oil-free diets on growth performance, inflammatory response, gut histology, and non-specific immunity in sub-adult rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture, 580, 740272.
- Hong-na, M., Jin, M., Zhu, T., Li, C., Lu, Y., Yuan Y., Xiong, J., Zhou, Q. 2018. Effect of dietary arachidonic acid levels on growth performance, fatty acid profiles and lipid metabolism of juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*), Aquaculture, Volume 486, Pages 31-41, ISSN 0044-8486, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.11.055>.
- IFFO. 2023. Materia prima. La ORGANIZACIÓN DE INGREDIENTES MARINOS. Disponible en: <https://www.iffco.com/es/node/78> Fecha de acceso: 26 de septiembre de 2023.
- INEGI, 2022. Extensión territorial de México. Disponible en: <https://cuentame.inegi.org.mx/territorio/extension/default.aspx?tema=T> Fecha de acceso: 20 de marzo de 2022.
- Ingraham, J. L., Ingraham, C. A. 1998. *Introducción a la microbiología. II*. Reverté. 381.
- Jenabi, H., R., Sarvi-Moghanlou K., Mohseni, M., Imani, A. 2019. Effect of dietary soybean lecithin on fish performance, hemato-immunological parameters, lipid biochemistry, antioxidant status, digestive enzymes activity and intestinal histomorphometry of pre-spawning Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*), Fish & Shellfish Immunology, Volume 91, Pages 50-57, ISSN 1050-4648, <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.05.022>.

- Jiang, Y., Hu, Y., Xu, W., Luo, H., Chen, J., Tao, B., Luo, D., Han, D., Zhu, X., Xie, S., Zhu, Z., Song, Y., Hu, W. 2023. Effects of dietary arachidonic acid on growth, gonadal development, and tissue fatty acid composition in the hermaphroditic swamp eel (*Monopterus albus*), *Aquaculture Reports*, Volume 33, 101791, ISSN 2352-5134, <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2023.101791>.
- Jobling, M. 2001. Nutrient partitioning and the influence of feed composition on body composition. *Food intake in fish*, 25(4), 354-375. Katzung, B. G., Masters, S. B., & Trevor, A. J. (Eds.). . *Basic & clinical pharmacology*. 13.
- Kari, Z., Kabir, M., Mat, K., Rusli, N., Mohammad A., Nik A., Edinur, H., MohdA., Pati, S., Mahmoud A.O. Dawood, Lee W. 2021. The possibility of replacing fish meal with fermented soy pulp on the growth performance, blood biochemistry, liver, and intestinal morphology of African catfish (*Clarias gariepinus*), *Aquaculture Reports*, Volume 21, 100815, ISSN 2352-5134, <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100815>.
- Katzung, B. G., Masters, S. B., & Trevor, A. J. (Eds.). (2004). *Basic clinical pharmacology*. 13.
- Kovyrshina, T. B. and Rudneva, I. I. 2012. Comparative study of serum albumin level in round goby *Neogobius melanostomus* from Black Sea and Azov Sea. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research* 2: 203-208.
- Larios-Soriano, E, Zavala RC, López, L.M, Gómez-Gil B., Ramírez D.T., Sanchez, S., Canales, K., Galaviz, M.A. 2021. Soy protein concentrate effects on gut microbiota structure and digestive physiology of *Totoaba macdonaldi*. *J Appl Microbiol.* Feb;132(2):1384-1396. doi: 10.1111/jam.15269. Epub 2021 Sep 15. PMID: 34469017.
- Lazo, J., Fuentes-Quesada, J., Villareal-Rodarte, G., Viana, M., Baron-Sevilla., B. 2020. The effect of dietary n-3 LC-PUFA levels on growth, survival, and feed utilization in juvenile *Totoaba macdonaldi*, *Aquaculture*, Volume 525, 735350, ISSN 0044-8486,

[\(https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735350\)](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735350).(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848619333903>)

Lei, K. Cui, Z. Liu, C., Sahandi, J., Rao, W. Chen, P., Mai, K., Zhang, W. 2023. Dietary arachidonic acid affects the growth performance, fatty acid profile, immunity and resistance to heat stress in juvenile abalone *Haliotis discus hannai* Ino, *Aquaculture*, Volume 575, 2023, 739776, ISSN 0044-8486, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739776>.

López, L.M, Flores-Ibarra M, Bañuelos-Vargas I, Galaviz MA, True CD. 2015. Effect of fishmeal replacement by soy protein concentrate with taurine supplementation on growth performance, hematological and biochemical status, and liver histology of totoaba juveniles (*Totoaba macdonaldi*). *Fish Physiol Biochem*. Aug;41(4):921-36. doi: 10.1007/s10695-015-0058-5. Epub 2015 Apr 22. PMID: 25899616.

Mata-Sotres, J., Tinajero-Chavez, A., Barreto-Curiel, F., Pares-Sierra, G., Del Rio-Zaragoza, O., Viana, T. 2018. DHA (22:6n-3) supplementation is valuable in *Totoaba macdonaldi* fish oil-free feeds containing poultry by-product meal and beef tallow, *Aquaculture*, Volume 497, Pages 440-451, ISSN 0044-8486, [\(https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.08.015\)](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.08.015).(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848618313322>)

Monroig, O., Navarro, J., Tocher, D. 2011. Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids in Fish: Recent Advances on Desaturases and Elongases Involved in Their Biosynthesis. *Avances en Nutrición Acuícola XI – Memorias del Décimo Primer Simposio Internacional de Nutrición Acuícola*, 23-25 de Noviembre, San Nicolás de los Garza, N. L., México. ISBN 978-607-433-775-4. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México, pp. 257-283.

Ma, H. N., Jin, M., Zhu, T. T., Li, C. C., Lu, Y., Yuan, Y., Zhou, Q. C. 2018. Effect of dietary arachidonic acid levels on growth performance, fatty acid profiles and lipid

metabolism of juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Aquaculture*, 486, 31-41.

Magalhães, R., Guerreiro, I., Coutinho, F., Moutinho, S., Sousa, S., Delerue-Matos, C., Domingues, V., Olsen, R., Peres, H., Oliva-Teles, A. 2020. Effect of dietary ARA/EPA/DHA ratios on growth performance and intermediary metabolism of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles. *Aquaculture*. 516. 734644. [10.1016/j.aquaculture.2019.734644](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734644).

Maldonado-Othón, C., Perez-Velazquez, M., Gatlin, D., González-Félix., Mayra. 2020. Replacement of fish oil by soybean oil and microalgal meals in diets for *Totoaba macdonaldi* (Gilbert, 1890) juveniles. *Aquaculture*, Volume 529, 735705, ISSN 0044-8486, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735705>.

Maldonado-Othón, C., De La Re-Vega, E., Perez-Velazquez, M., González-Félix, M. 2022. Replacement of fish oil by camelina and black soldier fly larvae oils in diets for juvenile *Totoaba macdonaldi* and their effect on growth, fatty acid profile, and gene expression of pancreatic lipases, *Aquaculture*, Volume 552, 2022, 737985, ISSN 0044-8486, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.737985>.

Mata-Sotres, J. A., Tinajero-Chavez, A., Barreto-Curiel, F. Pares-Sierra, G., Del Rio-Zaragoza, O., Viana, M., Rombenso, A. 2018. DHA (22:6n-3) supplementation is valuable in *Totoaba macdonaldi* fish oil-free feeds containing poultry by-product meal and beef tallow, *Aquaculture*, Volume 497, Pages 440-451, ISSN 0044-8486, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.08.015>.

Mazière, C., Conte, M.A., Degonville, J., Ali, D., Mazière, J.C. 1999. Cellular enrichment with polyunsaturated fatty acids induces an oxidative stress and activates the transcription factors AP1 and NFκB. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 265 (1), 116–122. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1999.1644>.

Medagoda, N., Lee, K. 2023. Effects of dietary arachidonic acid supplementation in high plant protein diets on growth, feed utilization, and immunity of olive flounder,

Paralichthys olivaceus, Aquaculture, Volume 571,ISSN 0044-8486,
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739431>.

Miao, S., Wan, W., Hu, J., Chang, E., Zhou, Z., Zhou, Y., Sun, L. 2022. Dietary arachidonic acid effects the innate immunity, antioxidant capacities, intestinal health and microbiota in Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)

Miles, R. D., & Chapman, F. A. 2006. The Benefits of Fish Meal in Aquaculture Diets: FA122/FA122, 5/2006. EDIS, 2006(12).

Nates, S., 2017. Varios análogos tienen potencial como sustitutos de la harina de pescado y del aceite de pescado. Disponible en:
<https://www.globalseafood.org/advocate/consideraciones-para-ingredientes-alternativos-en-alimentos-acuicolas/> Fecha de acceso: 26 de febrero de 2022

Nayak, J., Viswanathan Nair, P., Ammu, K. and Mathew, S. 2003, Lipase activity in different tissues of four species of fish: rohu (*Labeo rohita Hamilton*), oil sardine (*Sardinella longiceps Linnaeus*), mullet (*Liza subviridis Valenciennes*) and Indian mackerel (*Rastrelliger kanagurta Cuvier*). J. Sci. Food Agric., 83: 1139-1142.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.1515>

Nayak, S., Koven, W., Meiri, I., Khozin-Goldberg, I., Isakov, N., Zibdeh, M., & Zilberg, D. 2017. Dietary arachidonic acid affects immune function and fatty acid composition in cultured rabbitfish *Siganus rivulatus*. Fish & Shellfish Immunology, 68, 46-53.
doi: 10.1016/j.fsi.2017.07.003

Niwa, Y., Irma, M. H., Rina, H. dan Yoyo, W. 2007. Nutrition and feed ingredients of fish cultivation. Indonesia: Jambi Freshwater Aquaculture Development Centre.

Nolasco-Soria H, Moyano-López F, Vega-Villasante F, Del Monte-Martínez A, Espinosa-Chaurand D, Gisbert E, Nolasco-Alzaga HR. 2018. Lipase and Phospholipase Activity Methods for Marine Organisms. Methods Mol Biol. 1835:139-167. doi: 10.1007/978-1-4939-8672-9_7. PMID: 30109650

- Norambuena, F., Morais, S., Estevez, A. Bell, J. Tocher, D., Navarro, J., Cerdá, J., Duncan, N. 2013. Dietary modulation of arachidonic acid metabolism in Senegalese sole (*Solea Senegalensis*) broodstock reared in captivity. *Aquaculture*. 372. 10.1016/j.aquaculture.2012.10.035.
- Norberg, B., Kleppe, L., Andersson, E., Thorsen, A., Rosenlund, G., Hamre, K. 2017. Effects of dietary arachidonic acid on the reproductive physiology of female Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) *Gen Comp Endocrinol*. 250:21-35. doi: 10.1016/j.ygcen.2017.05.020. Epub 2017 May 30. PMID: 28576420.
- Nurfaidah., Metusalach., Sukarno., Mahendradatta, M. 2021. Protein and albumin contents in several freshwater fish species of Makassar, South Sulawesi, Indonesia. *International Food Research Journal*, 28(4): 745-751
- Olmos-Soto, J., López, L., Gorriño, A., Galaviz, M., Mercado, V. 2022. *Bacillus subtilis* Effects on Growth Performance and Health Status of *Totoaba macdonaldi* Fed with High Levels of Soy Protein Concentrate. *Animals*. 12. 3422. 10.3390/ani12233422.
- Oruc E.O., Usta D. 2007. Evaluation of oxidative stress response and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio*. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 23, 48.
- Parrish, C. C., Nichols, P. D., Pethybridge, H., Young, J. W. 2015. Direct determination of fatty acids in fish tissues: quantifying top predator trophic connections. *Oecologia*, 177(1), 85–95. <http://www.jstor.org/stable/43672920>
- Pawan Kumar Maurya, 2014. Chapter 10 - Animal Biotechnology as a Tool to Understand and Fight Aging, Editor(s): Ashish S. Verma, Anchal Singh, Animal Biotechnology, Academic Press, Pages 177-191, ISBN 9780124160026, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416002-6.00010-9>.
- Peters, R. R., Hernández, J. L., Mejías, D. A., León, A. E. 2009. Determinación del nivel óptimo de sustitución de la harina de pescado por harina de hidrolizado de plumas en el alimento para tilapia roja, *Oreochromis sp.* *Ciencia*, 12(1).

- Qi, C., Lin, H., Huang, Z., Zhou, C., Wang, Y., Wang, J., Niu, J., Tan, X., Zhao, S. 2016. Effects of dietary arachidonic acid levels on growth performance, whole-body proximate composition, digestive enzyme activities and gut morphology of juvenile golden pompano *Trachinotus ovatus*. Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh. 68. 10.46989/001c.20819.
- Qi, H., Liu, Y., Jian, F., Xing, X., Wang, J., Li, C. 2022. Effects of dietary arachidonic acid (ARA) on immunity, growth and fatty acids of *Apostichopus japonicus*. Fish & Shellfish Immunology, 127, 901-909.
- Ribeiro, L., Moura, J., Santos, M., Colen, R., Rodrigues, V., Bandarra, N., Florbela, Soares., Patrícia, Ramalho., Marisa, Barata., Paula, Moura., Pedro, Pousão-Ferreira., Jorge, Dias. 2015. Effect of vegetable based diets on growth, intestinal morphology, activity of intestinal enzymes and haematological stress indicators in meagre (*Argyrosomus regius*), Aquaculture, Volume 447, Pages 116-128, ISSN 0044-8486, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.12.017>.
- Rivero-Ramírez, F., Torrecillas, S., Betancor, M.B. 2020. Effects of dietary arachidonic acid in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) distal intestine lipid classes and gut health. Fish Physiol Biochem 46, 681–697 <https://libcon.rec.uabc.mx:4440/10.1007/s10695-019-00744-0>.
- Rombenso, A.N., Trushenski, J.T., Jirsa, D., Drawbridge, M. 2016. Docosahexaenoic acid (DHA) and arachidonic acid (ARA) are essential to meet LC-PUFA requirements of juvenile California yellowtail (*Seriola dorsalis*). Aquaculture 463, 123–134. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.05.004>.
- Rueda-López, S., Lazo, J.P., Reyes, G.C., Viana, M.T. 2011. Effect of dietary protein and energy levels on growth, survival and body composition of juvenile *Totoaba macdonaldi*. Aquaculture, 319(3-4), 385-390.
- Silva-Carrillo, Y., Hernández, C., Hardy, R., Gonzáles -Rodríguez, B., Castillo-Vargasmachuca, S., 2012. The effect of substituting fish meal with soybean meal on growth, feed

- efficiency, body composition and blood chemistry in juvenile spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). *Aquaculture*, 364–365, 180–185.
- Sissener, N., Araujo, P., Sæle, Ø., Rosenlund, G., Stubhaug, I., Sanden, M. 2020. Dietary 18:2n-6 affects EPA (20:5n-3) and ARA (20:4n-6) content in cell membranes and eicosanoid production in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 522, 735098. doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.735098
- Spanopoulos, M. 2013. Evaluación de la condición nutricional y estado de salud en reproductores de *Mycteroperca rosácea* y su relación con la calidad de la progenie. Tesis de Maestría, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
- Tacon, A., Metian, M. 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture* 285, 146–158.
- Tacon, A. G., Hasan, M. R., Metian, M. 2011. Demand and supply of feed ingredients for farmed fish and crustaceans: trends and prospects. FAO Fisheries and Aquaculture technical paper, (564),
- Tallima, H., Ridi, R.E., 2018. Arachidonic acid: physiological roles and potential health benefits—a review. *J. Adv. Res.* 11, 33–41. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2017.11.004>.
- Tocher, D.R. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Rev Fish Sci* 11, 107–184.
- Tocher, D.R. 2010. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. *Aquaculture Research*, 41: 717-732. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02150.x>
- Torrecillas, S., L. Román, F. Rivero-Ramírez, M.J. Caballero, C. Pascual, L. Robaina, M.S. Izquierdo, F. Acosta and D. Montero. 2017. Supplementation of arachidonic acid rich oil in European sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*) diets: Effects on leucocytes and plasma fatty acid profiles, selected immune parameters and circulating prostaglandins levels.

- Torrecillas, S., Betancor, M.B., Caballero, M.J., Rivero, F., Robaina, L., Izquierdo, M., Montero, D. 2018. Supplementation of arachidonic acid rich oil in European seabass juveniles (*Dicentrarchus labrax*) diets: effects on growth performance, tissue fatty acid profile and lipid metabolism. *Fish. Physiol. Biochem.* 44 (1), 283–300. <https://doi.org/10.1007/s10695-017-0433-5>.
- Trejo-Escamilla, I., Galaviz, M.A., Flores-Ibarra, M., Alvarez Gonzalez, C.A., López, L.M. 2017. Replacement of fishmeal by soya protein concentrate in the diets of *Totoaba macdonaldi* (Gilbert, 1890) juveniles: effect on the growth performance, in vitro digestibility, digestive enzymes and the hematological and biochemistry parameters. *Aquaculture Research*, 48(8), 4038-4057.
- Trejo-Escamilla, I., López, L., Gisbert, E., Sanchez, S., Rodarte-Venegas, D., Álvarez, C., Galaviz, M. 2021. Soybean protein concentrate as a protein source for totoaba (*Totoaba macdonaldi*) juveniles: Effect on intermediary metabolism and liver histological organization, *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, Volume 262, 2021, 111062, ISSN 1095-6433, <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2021.111062>.
- University of Florida, 2023. Fatty acid naming & food sources. Disponible en: <https://files.distance.ufl.edu/FoHN/documents/textbook/ch2/2.33FattyAcidNamingFoodSources.pdf>. Fecha de acceso: junio 8, 2023.
- Valsecia, M. 2022. Farmacología de los eicosanoides. Universidad Nacional del Nordeste. Disponible en: https://med.unne.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/0000cap6_prostag.pdf Fecha de acceso: 1 de marzo de 2022.
- Van Weerd, J. H., Komen, J. 1998. The effects of chronic stress on growth in fish: a critical appraisal. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 120(1), 107-112.
- Vasanthi, R., Baskaran, P., Palanichamy, S. 1990. Influence of carbofuran on growth and protein conversion efficiency in some freshwater fish. *J. Ecobiol.* 2, 85.

- Villanueva-Gutiérrez, E., Rodríguez-Armenta, C., González-Félix, M. L., Pérez-Velázquez, M. 2022. Incorporating hydrolyzed soy protein or black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal into feeds for *Totoaba macdonaldi*. *Aquaculture*, 554, 738152.
- Wu, Jp, Yang, Dq, Du, H., Yu, T., Luo, J., Xu, Q., Zhu, J., Wei, Q. 2021. The influence of dietary arachidonic acid on growth, fatty acid profile and sex steroid hormones of F2 generation Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*). *Aquac. Rep.* 21, 100818 <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100818>.
- Xu, H., Ai, Q., Mai, K., Xu, W., Wang, J., & Ma, H. 2010. Effects of dietary arachidonic acid on growth performance, survival, immune response and tissue fatty acid composition of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture*, 307(1-2), 75-82. doi: 10.1016/j.aquaculture.2010.07.001
- Xu, H., Cao, L., Wei, Y., Zhang, Y., & Liang, M. 2018. Lipid contents in farmed fish are influenced by dietary DHA/EPA ratio: a study with the marine flatfish, tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*). *Aquaculture*, 485, 183-190.
- Xu, H., Meng, X., Wei, Y., Ma, Q., Liang, M., Turchini, G.M., 2022. Arachidonic acid matters. *Rev. Aquac.* 14 (4), 1912–1944. <https://doi.org/10.1111/raq.12679>.
- Yang, P., Huang, S., Xu, A. 2016. The oxidative burst system in amphioxus. Chapter 8. Academic Press. 153-165.
- Zambonino-Infante, J.L., Cahu, C.L. 2007. Dietary modulation of some digestive enzymes and Metabolic processes in developing marine fish: Applications to diet formulation, *Aquaculture*, Volume 268, Issues 1–4, Pages 98-105, ISSN 0044-8486, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.04.032>.
- Zhang, M., Chen, C., You, C., Chen, B., Wang, S., Li, Y. 2019. Effects of different dietary ratios of docosahexaenoic to eicosapentaenoic acid (DHA/EPA) on the growth, non-specific immune indices, tissue fatty acid compositions and expression of genes related to LC-PUFA biosynthesis in juvenile golden pompano *Trachinotus ovatus*. *Aquaculture*, 505, 488-495.

Zhu, W., Dong, R., Ge, L., Yang, Q., Lu, N., Li, H., Feng, Z. 2023. Effects of dietary n-6 polyunsaturated fatty acids (PUFA) composition on growth performances and non-specific immunity in pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Aquaculture Reports, 28, 101436.

ANEXO 1: NOMBRES DE ÁCIDOS GRASOS. (University of Florida, 2023).

TIPO:	NOMBRE EN INGLÉS	ESTRUCTURA
SATURADO	Methyl butyrate	4:0
SATURADO	Methyl hexanoate	6:0
SATURADO	Methyl octanoate	8:0
SATURADO	Methyl decanoate	10:0
SATURADO	Methyl undecanoate	11:0
SATURADO	Methyl dodecanoate	12:0
SATURADO	Methyl tridecanoate	13:0
SATURADO	Methyl myristate	14:0
MONOSATURADO	Methyl myristoleate	14:1n-5
SATURADO	Methyl pentadecanoate	15:0
MONOSATURADO	Methyl cis-10-pentadecenoate	15:1
SATURADO	Methyl palmitate	16:0
MONOSATURADO	Methyl palmitoleate	16:1n-7
SATURADO	Methyl heptadecanoate	17:0
MONOSATURADO	Methyl cis-10-heptadecenoate	17:1
SATURATED	Methyl stearate	18:0
MONOSATURADO	Methyl oleate	18:1n-9c
MONOSATURADO	Methyl elaidate	18:1n-9T
POLIINSATURADO	Methyl linoleate	18:2n-6c
POLIINSATURADO	Methyl linolelaidate	18:2n-6T
POLIINSATURADO	Methyl γ -linolenate	18:3n-6
POLIINSATURADO	Methyl linolenate	18:3n-3
SATURADO	Methyl arachidate	20:0
MONOUNSATURADO	Methyl cis-11-eicosenoate	20:1n-9
POLIINSATURADO	cis-11,14-Eicosadienoic acid methyl ester	20:2n-6
POLIINSATURADO	cis-11,14,17-Eicosatrienoic acid methyl ester	20:3n-6
SATURADO	Methyl heneicosanoate	21:0 *
POLIINSATURADO	Methyl arachidonate (ARA)	20:4n-6*
POLIINSATURADO	cis-8,11,14-Eicosatrienoic acid methyl ester	20:3n-3
POLIINSATURADO	cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic acid methyl ester (EPA)	20:5n-3
SATURADO	Methyl behenate	22:0
MONOINSATURADO	Methyl cis-13-docosenoate	22:1n-9
INSATURADO	cis-13,16-Docosadienoic acid methyl ester	22:2
SATURATED	Methyl tricosanoate	23:00
POLIINSATURADO	cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic acid methyl ester (DHA)	22:6n-3
SATURADO	Methyl tetracosanoate	24:0
MONOINSATURADO	Methyl cis-15-tetracosenoate	24:1n-9