

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFÍA COSTERA



**DISEÑO Y VALIDACIÓN DE UNA CÁMARA DE RESPIROMETRÍA
PARA MEDIR INDICADORES DE METABOLISMO DIURNO EN
ORGANISMOS CALCIFICADORES**

TESIS

PRESENTA

CATHERIN LIZETH DÁVILA CHUGA

Ensenada, Baja California, México

Noviembre, 2025

**FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS
POSGRADO EN OCEANOGRAFIA COSTERA**

**DISEÑO Y VALIDACIÓN DE UNA CÁMARA DE RESPIROMETRÍA PARA
MEDIR INDICADORES DE METABOLISMO DIURNO EN ORGANISMOS
CALCIFICADORES**

T E S I S

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

MAESTRO EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFÍA COSTERA


PRESENTA:

CATHERIN LIZETH DÁVILA CHUGA

Aprobada por:



Dr. Carlos Orión Norzagaray López
Director de tesis



Dr. José Martín Hernández Ayón
Sinodal



Dr. Rafael Andrés Cabral Tena
Sinodal



Dr. Guillermo Alberto Samperio Ramos
Sinodal

RESUMEN

El metabolismo comprende el conjunto de reacciones químicas que sustentan las funciones vitales de los organismos y, en ambientes marinos, está estrechamente vinculado a los ciclos biogeoquímicos del carbono, oxígeno, nitrógeno y fósforo. Aunque suele ser específico, el metabolismo puede mostrar cierta flexibilidad fisiológica frente a los estresores ambientales y variar en escalas diurnas o estacionales. Su estudio se ha facilitado mediante el uso de cámaras de respirometría, herramientas que permiten cuantificar procesos como la respiración, fotosíntesis y calcificación. En organismos calcificadores, especialmente en moluscos bivalvos como los ostiones, la medición de tasas metabólicas permite evaluar su balance energético y su sensibilidad frente a la acidificación oceánica y otros efectos del cambio climático. Comprender estos procesos es fundamental tanto para la fisiología de los bivalvos como para su importancia ecológica y económica en la acuicultura.

El presente estudio tuvo como objetivo diseñar una cámara de respirometría para la cuantificación de indicadores metabólicos en organismos calcificadores. El diseño incorporó sensores de oxígeno ($\pm 8 \mu\text{M}$; Optodo, Aanderaa, USA), pH (± 0.01 unidades; Metrohm, Suiza) y temperatura ($\pm 0.05 \text{ }^\circ\text{C}$; PT-1000, Atlas Scientific, USA), además de una bomba de recirculación para homogeneizar el agua y evitar lecturas erróneas. Se desarrolló también un software específico para registrar oxígeno disuelto, saturación de oxígeno, pH, temperatura, fecha y hora, verificándose la exactitud y precisión de los sensores antes de las mediciones.

Como prueba experimental, se realizó un estudio de caso con semillas de ostión (*Crassostrea gigas*), agrupadas en dos tamaños (“grandes” y “pequeños”), con sus respectivas réplicas yseudoréplicas. Los ensayos se efectuaron bajo dos condiciones experimentales: agua del sistema de recirculación (ASR) y agua filtrada control (AFC), con una duración de 15 min por incubación. Durante la depuración de los datos se identificaron cinco cortes en las series de tiempo; el corte 4 mostró el mejor ajuste a una regresión lineal y fue seleccionado para el análisis detallado. Además, se tomaron muestras discretas al inicio y al final de cada incubación para determinar la alcalinidad total (AT) y la concentración de carbono inorgánico disuelto (CID).

Los resultados del corte 4 evidenciaron un consumo de oxígeno en todas las réplicas, siendo mayor en los ostiones grandes ($-0.25 \mu\text{M O}_2 \text{ g}^{-1}\text{min}^{-1}$) que en los pequeños ($-0.16 \mu\text{M O}_2 \text{ g}^{-1}\text{min}^{-1}$). El pH disminuyó en promedio 0.28 unidades, mientras que la temperatura se mantuvo estable entre 21 y 26 °C. Las tasas de calcificación fueron más altas en los ostiones pequeños ($16.07 \pm 10.56 \mu\text{mol CaCO}_3 \text{ g}^{-1} \text{ min}^{-1}$) que en los grandes ($1.35 \pm 0.68 \mu\text{mol CaCO}_3 \text{ g}^{-1} \text{ min}^{-1}$), aunque la AT no mostró variaciones significativas asociadas a este proceso. En el sistema de carbonatos (CaCO_3 , HCO_3^- y CO_2), los valores fueron generalmente más altos en el agua filtrada, salvo para el CO_2 , que presentó mayores concentraciones en el agua recirculada. El índice de saturación de aragonita (Ω_{ar}) mostró diferencias finales-iniciales más marcadas en el agua recirculada, lo que sugiere que en este medio los procesos metabólicos y del sistema carbonato fueron más intensos, posiblemente por la presencia de otros microorganismos. Los resultados obtenidos

confirman que la cámara de respirometría diseñada es precisa, replicable y útil para evaluar tasas metabólicas en organismos calcificadores.

Palabras clave: metabolismo, cámara de respirometría, oxígeno, pH, temperatura, tasa de consumo de oxígeno (TACO), tasa de calcificación, semillas de ostión (*Crassostrea gigas*).

ABSTRACT

Metabolism comprises the set of chemical reactions that sustain the vital functions of organisms and, in marine environments, is closely linked to the biogeochemical cycles of carbon, oxygen, nitrogen, and phosphorus. Although generally specific, metabolism can exhibit physiological flexibility in response to environmental stressors and may vary on diurnal or seasonal scales. Its study has been facilitated through the use of respirometry chambers, tools that allow the quantification of processes like respiration, photosynthesis, and calcification. In calcifying organisms, particularly bivalve mollusks like oysters, measuring metabolic rates helps evaluate their energy balance and sensitivity to environmental stressors, including ocean acidification and climate change. Understanding these processes is essential not only for bivalve physiology but also their ecological and economic importance in aquaculture.

The aim of this study was to design a respirometry chamber for quantifying of metabolic indicators in calcifying organisms. The design incorporated oxygen sensors (± 8 μM ; Optodo, Aanderaa, USA), pH sensors (± 0.01 units; Metrohm, Switzerland), and temperature sensors (± 0.05 $^{\circ}\text{C}$; PT-1000, Atlas Scientific, USA), as well as a recirculation pump to homogenize the water and prevent measurement errors. A specific software program was developed to record dissolved oxygen, oxygen saturation, pH, temperature, date, and time, and the accuracy and precision of the sensors were verified prior to use.

As an experimental test, a case study was conducted using oyster (*Crassostrea gigas*) seeds, grouped into two size classes (“large” and “small”), with corresponding replicates and pseudo-replicates. The assays were carried out under two experimental

conditions: water from the recirculating system (ASR) and filtered control water (AFC), with each incubation lasting 15 minutes. During data processing, five segments were identified in the time series; segment 4 showed the best fit to a linear regression and was selected for detailed analysis. Additionally, discrete samples were collected at the beginning and end of each incubation to determine total alkalinity (TA) and dissolved inorganic carbon (DIC).

The results from segment 4 showed oxygen consumption in all replicates, which was higher in large oysters ($-0.25 \mu\text{M O}_2 \text{ g}^{-1}\text{min}^{-1}$) than in small ones ($-0.16 \mu\text{M O}_2 \text{ g}^{-1}\text{min}^{-1}$). The pH decreased on average by 0.28 units, while temperature remained stable between 21 and 26 °C. Calcification rates were higher in small oysters ($16.07 \pm 10.56 \mu\text{mol CaCO}_3 \text{ g}^{-1} \text{ min}^{-1}$) compared to large ones ($1.35 \pm 0.68 \mu\text{mol CaCO}_3 \text{ g}^{-1} \text{ min}^{-1}$), although TA did not show significant variations associated with calcification. In the carbonate system (CaCO_3 , HCO_3^- , and CO_2), values were generally higher in filtered water, except for CO_2 , which exhibited greater concentrations in recirculated water. The aragonite saturation index (Ω_{ar}) showed larger final–initial differences in recirculated water, suggesting that metabolic and carbonate system processes were more intense in this medium, possibly due to the presence of additional organisms. The results confirmed that the designed respirometry chamber is precise, reproducible, and suitable for evaluating metabolic rates in calcifying organisms.

Keywords: metabolism, respirometry chamber, oxygen, pH, temperature, oxygen consumption rate (TACO), calcification rate, oyster spat (*Crassostrea gigas*).

CONTENIDO

1 INTRODUCCIÓN	18
1.1. Metabolismo	18
<i>Interacción entre el Metabolismo y los Procesos Biogeoquímicos en el Medio Marino</i>	21
<i>Cuantificación de los Principales Componentes del Metabolismo</i>	24
<i>Indicadores de Metabolismo</i>	26
<i>El Metabolismo de Calcificadores en el Contexto de Estresores y su Variabilidad</i>	27
2 ANTECEDENTES	30
3 JUSTIFICACIÓN	37
4 HIPÓTESIS	38
5 OBJETIVOS	39
5.1. General.....	39
5.2. Específicos.....	39
6 METODOLOGÍA	40
6.1. Diseño de Cámara.....	40
6.2. Selección de Sensores.....	41
6.3. Evaluación del Desempeño de los Sensores: Exactitud y Precisión	43
<i>Sensor de pH</i>	43

<i>Sensor de Oxígeno</i>	45
<i>Inclusión de Blancos</i>	46
<i>Cuantificación de Ruido</i>	47
6.4. Limpieza de Datos de las Series de Tiempo	47
6.4. Caso de Estudio para Evaluar el Desempeño de los Sensores: Experimentos con Semillas de Ostión	48
<i>Tasa de Consumo de Oxígeno (TACO)</i>	50
<i>Tasa de Calcificación</i>	50
<i>Análisis Estadístico</i>	55
7 RESULTADOS	57
7.1. Desempeño de la Cámara de Respirometría.....	58
<i>Variabilidad en el Diseño</i>	59
7.2. Desempeño de Sensores en la Colecta de Datos: Exactitud y Precisión	60
<i>Sensor de pH</i>	61
<i>Sensor de Oxígeno</i>	62
<i>Blancos</i>	63
<i>Ruido</i>	65
7.3. Caso de Estudio: Desempeño de los Sensores Dentro de la Cámara de Incubación	66

<i>Series de Tiempo del OD</i>	66
<i>Series de Tiempo de pH</i>	68
<i>Desempeño de las Series de Tiempo de OD: Criterios de Inclusión</i>	69
<i>Resultados por Réplica del Caso de Estudio: Incubaciones de Semillas de Ostión</i>	73
<i>TACO</i>	78
<i>Tasa de Calcificación</i>	81
8 DISCUSIÓN	83
8.1. Funcionamiento del equipo como prototipo.....	83
<i>Estabilidad</i>	83
<i>Ruido</i>	85
<i>Replicabilidad</i>	87
8.2. Diseño: Comparando con Otras Cámaras de Respirimetría	89
8.3. Factores experimentales que influyen en el metabolismo	92
8.4. Caso de estudio: otros estudios de larvas de ostión.....	97
9 CONCLUSIONES	100
10 RECOMENDACIONES	100
11 BIBLIOGRAFÍA	103
12 ANEXOS	121

AGRADECIMIENTOS

A Dios por guiar mis pasos, darme paciencia para sobrellevar los momentos difíciles y bendecirme con la oportunidad de alcanzar esta meta.

A mi familia, por su amor, sacrificio, su apoyo constante y por enseñarme que cualquier objetivo en la vida es alcanzable con esfuerzo y dedicación. Gracias por siempre creer en mí y brindarme palabras de aliento cuando más las necesitaba. Este logro también es de ustedes.

A mi pareja, por acompañarme con amor y paciencia en cada etapa de este camino. Gracias por ser esa persona en la que puedo confiar incondicionalmente, por su infinita paciencia y por llenarme de confianza en cada paso que doy. Tu compañía y amor han sido fundamentales para alcanzar esta meta.

A mi director de tesis, Dr. Carlos Orión Norzagaray López por su guía, su paciencia y su invaluable apoyo académico durante todo este proceso. Gracias por compartir su experiencia y motivarme a superar los desafíos que surgieron durante la investigación.

A mis sinodales de tesis, Dr. José Martín Hernández Ayón, Dr. Rafael Andrés Cabral Tena y Dr. Guillermo Alberto Samperio Ramos por su valiosa retroalimentación, tiempo y orientación durante la elaboración de este trabajo. Sus comentarios y sugerencias enriquecieron significativamente esta investigación.

A la Dra. Gabriela Yareli Cervantes Díaz, por su valioso apoyo y guía durante el desarrollo de esta tesis, especialmente en la toma de datos, las pruebas de laboratorio y la asesoría brindada a lo largo del proceso.

Al grupo de laboratorio “Sistema del CO₂”, por su constante apoyo, compañerismo y disposición para ayudarme en cada etapa de este trabajo.

A SECIHTI, por la beca otorgada (número de beca 650130222254f61d9a938cf0) y al proyecto que apoyo al desarrollo de esta investigación. Su respaldo económico y logístico fue fundamental para la realización y culminación de esta tesis titulada “DISEÑO Y VALIDACIÓN DE UNA CÁMARA DE RESPIROMETRÍA PARA MEDIR INDICADORES DE METABOLISMO DIURNO EN ORGANISMOS CALCIFICADORES”.

A todos ustedes, les expreso mi más profundo agradecimiento. Cada avance en este proyecto ha sido posible gracias a su amor, apoyo incondicional y confianza. Gracias por estar siempre a mi lado y compartir conmigo este logro.

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 1. Modelo esquemático de la química del carbono involucrada en la calcificación de bivalvos.....	24
Figura 2. Diagrama esquemático mostrando de forma resumida los componentes del metabolismo en ostiones.....	30
Figura 3. Diagrama de flujo del uso de la cámara de incubación indicando el procedimiento experimental seguido en las pruebas y experimentos con la cámara de incubación.	42
Figura 4. Diagrama esquemático de la limpieza de datos de cada variable de las series de tiempo por réplica.....	48
Figura 5. Diseño de la cámara de respirometría para medir indicadores metabólicos de organismos calcificadores. (A) Vista general del diseño de la cámara, con los números que indican los distintos componentes; (B) prueba de la cámara en laboratorio; (C) toma de datos en semillas de ostión.....	58
Figura 6. Exactitud del sensor de pH. A) El voltaje medido (mV) con los valores de pH de las soluciones amortiguadoras (pH 4, 7 y 10) a 25 °C). B) Evaluación del comportamiento del sensor a tres temperaturas distintas (25, 28 y 30 °C) para verificar la estabilidad y respuesta del pH (en este caso, pH 7; ver inset A) ante cambios térmicos. El ajuste del modelo fue significativo ($p < 0.05$), es decir que el modelo describió bien la relación entre mV y el pH, así como la temperatura.....	60

Figura 7. Blancos en AFC del día 1 de marzo (línea verde claro) y en ASR del día 27 de febrero (línea celeste). Ambas líneas muestran una ligera tendencia, siendo mayor en ASR que en AFC (-1.26 vs. -0.45 $\mu\text{M min}^{-1}$, respectivamente) 63

Figura 8. Ruido asociado a los valores del blanco en AFC para: A) OD (μM), B) pH (escala NBS) y C) temperatura ($^{\circ}\text{C}$), cada uno acompañado de su correspondiente media móvil..... 65

Figura 9. Series de tiempo de OD en ASR (27 y 28 de febrero del 2025) donde se observa una marcada disminución en concentración de oxígeno en grupos grandes (GR; inciso A) y pequeños (PR; inciso B), con tres replicas cada uno..... 67

Figura 10. Series de tiempo de OD en AFC (1 y 2 de marzo del 2025) en grupos grandes (GR; inciso A) y pequeños (PR; inciso B) 68

Figura 11. Serie de tiempo de pH de los grupos grandes y pequeños en ASR (27 y 28 de febrero) 69

Figura 12. Serie de tiempo de pH de los grupos grandes y pequeños en AFC (1 de marzo) 70

Figura 13. Identificación de los segmentos (cortes) de datos de oxígeno disuelto (OD), tomando como ejemplo la réplica PR1_FEB27, correspondiente a una incubación con ASR. Las líneas representan la serie original (azul), el suavizado mediante media móvil (aguamarina) y la regresión lineal aplicada al segmento de consumo (datos del corte 4; línea roja). En el recuadro se observa la ecuación del modelo y el buen ajuste de los datos.

El color de los recuadros indica el número de datos incluidos en cada sección identificada.....	71
Figura 14. Series de tiempo de OD de los cortes 4, A) representa al grupo de grandes réplicas 3 del 27 de febrero y B) representa a pequeños replica 1 del día 28 de febrero, ambas en ASR.....	73
Figura 15. Diagramas de caja y bigotes de la TACO ($\mu\text{M g}^{-1}\text{min}^{-1}$). En A se muestra el contraste de la TACO entre organismos grandes y pequeños, con el color indicando el tipo de agua en los días de muestreo. Mientras que en B se muestra la comparación de TACO entre experimentos realizados con AFC y ASR, donde el color representa el grupo de organismos (grandes o pequeños)	72
Figura 16. Diagramas de densidad de la TACO normalizado por peso ($\mu\text{M g}^{-1}\text{min}^{-1}$). En A se muestra la comparación de la TACO entre organismos grandes y pequeños. Y en B, el contraste de la TACO entre tratamientos con AFC y ASR. La línea punteada representa la media considerando todos los datos de TACO.....	73
Figura 17. Análisis de la relación entre CID y pH del corte 4 de las réplicas. Se muestra los resultados de las réplicas A) GR3_FEB28 en ASR y B) GR2_MAR1 en AFC.....	75

CONTENIDO DE TABLAS

Tabla I. Técnicas para la medición de tasas metabólicas en organismos marinos.....	25
Tabla II. Promedio (\bar{x}) y desviación estándar (\pm SD) de los datos de las variables concentración de OD, mV y temperatura, con su desviación estándar, por réplica del corte 4	66
Tabla III. Promedio (\bar{x}) y desviación estándar (\pm SD) de los datos de las variables concentración de OD, mV y temperatura, con su desviación estándar, por réplica del corte 4	68
Tabla IV. Valores máximos, mínimos y la diferencia entre el valor final (Fin.) y el inicial (In.) de las concentraciones de OD por réplica para el corte 4. Además, de la ecuación del modelo, R^2 , TACO en μM y nTACO normalizada por peso en $\mu\text{M g}^{-1}\text{min}^{-1}$	70

CONTENIDO DE ECUACIONES

Ecuación 1. reacción general (y simplificada) del metabolismo asociado a la producción (fotosíntesis) y remineralización (respiración) de la materia orgánica.....	19
Ecuación 2: ecuación derivada de la relación de Nernst para calcular pH	44
Ecuación 3: regresión lineal simple para estimar la tasa de consumo de oxígeno (TACO).....	50
Ecuación 4: estimar la tasa de calcificación neta a partir del cambio en la AT durante el periodo de incubación	52

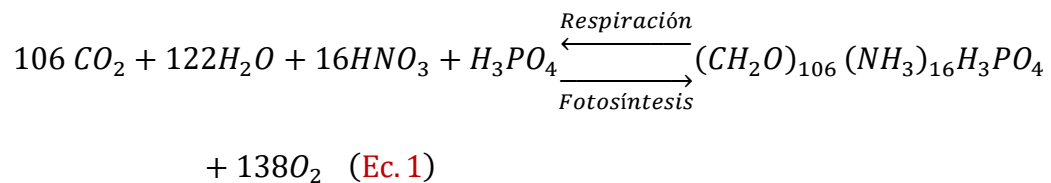
1 INTRODUCCIÓN

1.1. Metabolismo

El metabolismo consiste en un conjunto de reacciones, o cambios químicos, que ocurren en el entorno celular, las cuales son necesarias para llevar a cabo todas las funciones que se realizan en los organismos vivos. A través del metabolismo, los seres vivos son capaces de sintetizar moléculas complejas a partir de otras más simples (anabolismo), o bien, degradar moléculas complejas en moléculas más simples (catabolismo; [Pérez-Urria y Ávalos-García, 2009](#); [Peña, 2013](#)). El metabolismo comprende el conjunto de actividades fisiológicas que sostienen la vida de los organismos y, para su estudio, suele clasificarse en distintos tipos, basal, estándar, de rutina o normal, y bajo condiciones de estrés ([Auer et al., 2018](#); [Kuti et al., 2022](#)). Entre ellos, el metabolismo estándar ([Mao et al., 2006](#)), que se emplea comúnmente en organismos ectotermos (no regulan su temperatura corporal), se define como la tasa metabólica medida en reposo, en condiciones estándar de temperatura controlada, sin actividad física, ni procesos digestivos ([Auer et al., 2015](#)). En contraste, se encuentra el metabolismo de rutina o normal, que representa la tasa metabólica en la vida cotidiana del organismo, donde se incluye tanto reposo como actividades diarias ([Auer et al., 2015](#); [Chabot et al., 2016](#)).

En organismos aerobios, el gasto energético del metabolismo implica la conversión de oxígeno molecular y sustrato (o energía almacenada en forma de lípidos, glucógeno, proteínas, etc.) en dióxido de carbono, agua, calor y la capacidad de realizar un trabajo, o energía ([Libes, 2009](#)). La **ecuación 1** muestra la reacción general (y simplificada) del

metabolismo asociado a la producción (fotosíntesis) y remineralización (respiración) de la materia orgánica, donde se consumen/producen a una razón molecular constante, o razón estequiométrica. Por ejemplo, la oxidación de ácidos grasos y carbohidratos para la síntesis de ATP, molécula clave en el almacenamiento y transferencia de energía:



(Libes, 2009)

A nivel de organismo, el metabolismo es un proceso que opera de manera específica sobre alguna función, e idealmente este debe ser lo suficientemente dinámico para adaptarse a los cambios del entorno celular (estado fisiológico del mismo organismo) y ambiente circundante (Allen y Young, 2019).

La interacción entre el ambiente y el metabolismo es bidireccional, dado que los procesos biológicos pueden modificar la condición del ambiente y viceversa. Por ejemplo, en los ambientes acuáticos, las variaciones diurnas en las concentraciones de oxígeno disuelto (OD) reflejan el balance neto entre la producción biológica (produce oxígeno) y la remineralización (consume oxígeno) de compuestos orgánicos por parte de la comunidad biológica (dirección de la reacción en la Ec.1), así como el intercambio del oxígeno entre el agua y la atmósfera (Padulles et al., 2022). Este metabolismo a nivel de comunidad/ecosistema varía en escalas diurnas a estacionales (Padulles et al., 2022), con la acumulación de sus productos derivados de múltiples ciclos ocurriendo a distintas escalas. Sin embargo, a nivel de organismo, el metabolismo también puede verse afectado por estresores, como son la disponibilidad de insumos, el estado de salud del organismo

(por ejemplo, la presencia de enfermedades modifica su respuesta ante algún estrés), así como por la respuesta de las mismas reacciones a las condiciones del entorno, todos conocidos como estresores metabólicos (Penié et al., 2003).

En el contexto de potenciales estresores metabólicos en organismos aerobios, resulta importante definir el concepto de metabolismo normal como el conjunto de procesos biogeoquímicos y fisiológicos que permiten a un organismo mantener la homeostasis, crecer, reproducirse y responder adecuadamente al entorno sin ningún estrés, como los factores/estresores del medio mencionados en el anterior párrafo (Mares, 2024). En cambio, bajo un metabolismo basal, la mayoría de las células cumplen eficazmente sus funciones específicas de forma coordinada, lo que contribuye al mantenimiento de un estado óptimo de salud, donde los procesos metabólicos están equilibrados (Penié et al., 2003; Liu et al., 2025). Cuando este equilibrio se ve alterado, el estado de salud del organismo se convierte en subóptimo, donde las funciones vitales se mantienen alteradas, debido a cambios metabólicos que dificultan o impiden una regulación eficiente de la homeostasis (Liu et al., 2020). Entre los dos tipos de metabolismo mencionados en este párrafo, el normal se caracteriza por su flexibilidad para adaptarse a diferentes fuentes de energía (p. ej., proteínas, lípidos, carbohidratos) según la disponibilidad de nutrientes y la demanda fisiológica (Mares, 2024; Smith et al., 2023). Esta capacidad de adaptación permite que el metabolismo normal funcione como metabolismo energético, mediante el cual los organismos convierten la energía química (p. ej., moléculas orgánicas) en ATP, necesario para mantener las funciones vitales, especialmente en condiciones extremas (Sokolova et al., 2012; Pan et al., 2022).

Interacción entre el Metabolismo y los Procesos Biogeoquímicos en el Medio Marino

La biogeoquímica es una disciplina que investiga los mecanismos, o formas, en que interactúan los seres vivos con su entorno, mediante el uso de técnicas y métodos químicos (Bianchi, 2020). La actividad metabólica de los organismos está estrechamente vinculada con los ciclos biogeoquímicos de su hábitat, como los ciclos del carbono, nitrógeno, fósforo y oxígeno (Grossart et al., 2019; Bianchi, 2020). Esta disciplina busca entender los ciclos naturales de estos elementos y como la actividad de los organismos influye en la composición química y la dinámica de los ecosistemas (Bianchi, 2020).

Los organismos vivos realizan procesos metabólicos, que afectan y son afectados por los ciclos biogeoquímicos. Por ejemplo, la respiración aeróbica consume oxígeno y libera CO₂, lo que en ambientes acuáticos altera la química del carbono en el agua (esto es, la composición de las especies químicas disueltas). La acumulación de CO₂ promueve la disminución del pH del medio acuático al formar ácido carbónico. Cuando esta señal se acumula, ya sea por procesos metabólicos de la comunidad/organismo, como por efecto antropogénico, puede dar lugar a condiciones de acidificación (menor pH respecto un valor de referencia), la cual puede afectar negativamente en procesos como la calcificación (Robinson, 2019).

Asimismo, la calcificación en organismos marinos como los moluscos, influyen en el ciclo del carbono y el balance ácido-base del océano (Arshad et al., 2017; Grossart et al., 2019). La calcificación es realizada por ciertos grupos de organismos, englobando a todos los taxones calcificadores, y en un proceso mediante el cual depositan carbonato de calcio (CaCO₃) como parte de su metabolismo (Herrera-Mujica et al., 2012). Este proceso

implica transformar bicarbonato en carbonato, ya sea fuera o dentro de sus células, dependiendo del grupo al que pertenezcan ([Bach, 2015](#); [Toyofuku et al., 2017](#); [Leung et al., 2022](#)). Este mecanismo tiene un impacto directo en el ciclo del carbono marino, ya que la precipitación de CaCO_3 influye en la concentración de bicarbonato y afecta el equilibrio ácido-base del agua ([Gattuso et al., 2015](#)). También influye en la dinámica de otros ciclos asociados ([Leung et al., 2022](#)). Sin embargo, su papel en el ciclo del carbono es a veces poco considerado, porque históricamente se ha priorizado el estudio de la producción primaria y el secuestro de carbono orgánico en la bomba biológica, mientras que la bomba carbónica y sus efectos en la retroalimentación climática han recibido menor atención.

En este contexto, los organismos calcificadores desempeñan un papel fundamental en el ciclo del carbono, ya que a través del proceso de calcificación pueden precipitar o disolver CaCO_3 . No obstante, son altamente sensibles a las variaciones en las condiciones químicas del agua, como el pH, la disponibilidad de carbonato y la temperatura ([Leung et al., 2022](#)). Además, se consideran indicadores biológicos clave para comprender los efectos del cambio climático, en particular en relación con la acidificación oceánica (AO; [Gattuso et al., 2015](#)).

Varios grupos de moluscos calcifican sus conchas para protección, especialmente los bivalvos marinos, en los cuales la calcificación comienza con la formación de una matriz orgánica sobre la cual se depositan pequeños cristales de CaCO_3 , que posteriormente crecen y se organizan en estructuras minerales más grandes ([Marin et al., 2012](#)). Este proceso ocurre en la zona entre el epitelio del manto y el agua de mar, donde

estos tejidos controlan una serie de reacciones transcelulares para modificar la química del carbonato en la matriz orgánica, de tal manera que se promueva la precipitación de estructuras de CaCO_3 en distintos arreglos cristalinos, pero de manera general, son cristales de CaCO_3 en forma de aragonita y/o calcita (Louis et al., 2024), necesaria para la formación de la concha (Marin et al., 2012). La formación de conchas en bivalvos es un proceso metabólicamente activo que depende de una adecuada disponibilidad de energía, principalmente en forma de glucosa, lípidos y proteínas, las cuales suministran el ATP necesario para la síntesis de la matriz orgánica y la deposición de carbonato de calcio (Matias et al., 2011; Lu et al., 2019). Si bien algunos de estos compuestos pueden ser biosintetizados por los organismos (fuentes endógenas) para distintas funciones (estructura, respiración, almacenamiento de energía, etc.), algunos otros sustratos/compuestos dependen en gran medida de las fuentes dietéticas (fuentes exógenas; Strugnell, 2003; Balbi et al., 2023). Estas fuentes de energía las adquiere el ambiente (agua de mar), y pueden variar, pero es importante recalcar que el carbono no es un componente limitante, por lo que la especiación del carbono en el ambiente no afecta directamente a este proceso (como la AO, donde se modifican la proporción de las especies de carbono que componen el carbono inorgánico disuelto; Fig. 1), pero si pueden afectar tanto en las reacciones que transportan y producen el ion carbonato en la matriz orgánica, como en la forma en que el organismo destina energía, para el proceso de calcificación (Louis et al., 2022; Peng et al., 2024).

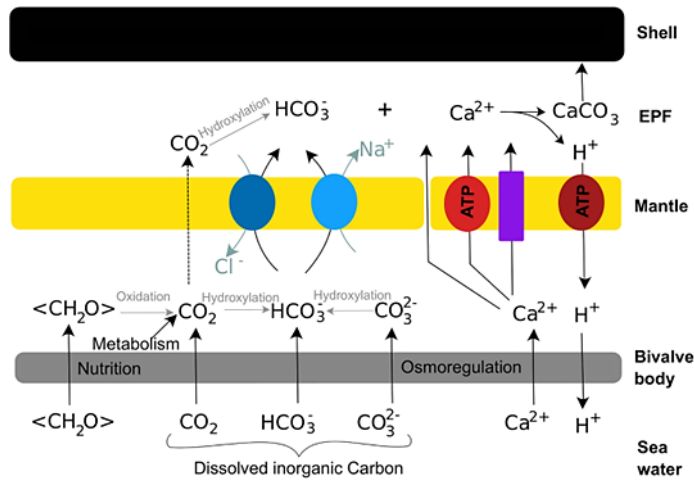


Figura 1. Modelo esquemático de la química del carbono involucrada en la calcificación de bivalvos. Tomada de [Louis et al. \(2022\)](#).

Cuantificación de los Principales Componentes del Metabolismo

En la literatura se describen diversas técnicas para la cuantificación del metabolismo en organismos marinos, cada una enfocada a medir distintas tasas metabólicas, como respiración, fotosíntesis y/o calcificación. Estas metodologías presentan diferentes principios de funcionamiento, que determinan su aplicabilidad según el tipo de organismo, la escala temporal de estudio y las condiciones experimentales. Asimismo, cada técnica posee ventajas y desventajas, que deben ser consideradas al momento de seleccionar el método más adecuado para un estudio. La Tabla 1 resume las principales técnicas empleadas, indicando la tasa o tasas metabólicas que miden, su principio de funcionamiento, así como sus ventajas y desventajas, junto con las referencias bibliográficas.

Tabla 1.

Técnicas para la medición de tasas metabólicas en organismos marinos.

Técnica	Proceso evaluado	Funcionamiento	Ventajas	Desventajas	Ref.
Peso boyante	Calcificación	Determina cambios de masa calcificada en el organismo.	Simple, directa, no destructivo, detecta variaciones ambientales, permite un seguimiento a largo plazo, útil en corales y moluscos	Depende de la densidad del agua, requiere manipulación física, Sensibilidad a factores externos (sedimento, mucus, biofilms).	Büscher et al., 2023 ; Gutiérrez-Zárate et al., 2024
Incubaciones herméticas midiendo AT	Calcificación	Diferencia de alcalinidad total antes y después de incubación; cada mol de CaCO ₃ disminuye 2 eq de AT	Precisa para calcificación neta, cuantitativa, comparable con otros estudios oceánicos.	Requiere incubaciones controladas, tiempo de análisis, requerimientos técnicos, necesidad de correcciones adicionales	Gazeau et al., 2015 ; Cohen et al., 2017
Isotopos tipo radiactivo (¹⁴ C) y estable (¹³ C)	Calcificación	Rastrea incorporación de carbono en esqueletos de CaCO ₃	Muy sensible, permite rastrear flujos de carbono	Costosa, avanzada, manejo de isótopos radiactivos, técnica invasiva, requiere laboratorio especializado	Nishida et al., 2020 ; Curley et al., 2023
Química del carbono (AT y CID)	Calcificación, respiración y fotosíntesis	Mide AT y carbono inorgánico disuelto para estimar procesos metabólicos	Permite evaluar múltiples procesos simultáneamente, metodología robusta, cobertura espacial y temporal	Interpretación compleja, requiere análisis químico preciso	McMahon et al., 2018 ; Palacio-Castro et al., 2023
Producción de O ₂ con sensores/electrodos ópticos	Fotosíntesis	Mide oxígeno producido durante la fotosíntesis	No invasivo, medición en tiempo real, medición continua de O ₂ , alta resolución, relevancia ecológica	Sensible a interferencias ambientales, requiere calibración, escala espacial limitada	Haas et al., 2013 ; Linsmayer et al., 2020
Fluorescencia de clorofila	Fotosíntesis	Evalúa eficiencia del fotosistema II	Rápido, no invasivo, alta sensibilidad,	Necesita calibración según organismo,	Gorbunov y Falkowski, 2021 ;

		de forma no invasiva	resolución temporal, evaluación de estrés y fotoinhibición	indirecto, interferencias ambientales, limitaciones en profundidad y campo abierto	Bhagooli, 2021
Intercambio gaseoso (CO ₂)	Fotosíntesis	Mide captación de CO ₂ en tiempo real con sensores	Medición directa, en tiempo real, cuantitativo, aplicable in situ	Equipos costosos, sensible a condiciones ambientales, no distingue entre especies individuales	Tokoro et al., 2014; Ordoñez et al., 2019
Consumo de O ₂ con respirometría	Respiración	Mide consumo de oxígeno en cámaras (estáticas o de flujo continuo)	Preciso, aplicable a estrés y condiciones normales	Limitado por tamaño de muestra, equipo especializado	Hughes et al., 2022; Carranza, 2025
Producción de CO ₂ (sensores/espectrometría)	Respiración	Cuantifica CO ₂ producido, complementario a O ₂	Complementa datos de respiración, permite inferir AO, alta precisión y sensibilidad, monitoreo en tiempo real	Equipos especializados, interpretación compleja, interferencia de factores ambientales	Song et al., 2024; Pernet, 2025;
Cámaras de respirometría con múltiples sensores	Fotosíntesis, respiración, calcificación	Mide O ₂ , pH, T°, etc., para evaluar varios procesos simultáneamente	Evaluación integral, permite correlacionar procesos	Costosa, compleja, requiere calibración y análisis de datos avanzados	Roth et al., 2019; Dellisanti et al., 2020; Mallon et al., 2022
Razones estequiométricas (C:O, N:O)	Integrativo / Dominancia de procesos	Analiza relaciones entre elementos para inferir procesos biogeoquímicos dominantes	Permite interpretación de interacción de procesos	Requiere datos precisos de múltiples parámetros, indirecto	Tanaka et al., 2018; Villnäs et al., 2022

Indicadores de Metabolismo

Uno de los principales indicadores del metabolismo en organismos acuáticos es el consumo de oxígeno. Desde los estudios pioneros de [Fry \(1947\)](#), se ha reconocido que el oxígeno disuelto (OD) regula la actividad metabólica al influir directamente en la capacidad de los organismos para realizar procesos biológicos esenciales como la respiración (consumo de oxígeno; [Claireaux y Chabot, 2016](#)). Otros indicadores son (1)

el CO₂, cuya concentración o presión parcial (pCO₂) puede medirse para inferir la tasa de respiración a diferentes escalas (Edmunds y Wall, 2014; Goldman et al., 2017); (2) el CID, que permite evaluar el equilibrio entre la fotosíntesis y la respiración en sistemas cerrados o en comunidades acuáticas (Champenois et al., 2021); (3) y otros indicadores químicos como la concentración de amonio (NH₄⁺), que refleja el metabolismo proteico (Chew et al., 2017), los niveles de fosfato (PO₄³⁻), que pueden relacionarse con la actividad celular general (Green et al., 2016); (4) cambios en la AT, que reflejan la precipitación/disolución de CaCO₃ (Cyronak et al., 2018; Evans et al., 2024); y finalmente, (5) el pH, que su aumento o disminución indica la dominancia de la fotosíntesis o la respiración, respectivamente (Wallace et al., 2021).

El Metabolismo de Calcificadores en el Contexto de Estresores y su Variabilidad

El aumento de las emisiones de CO₂ atmosférico está afectando el funcionamiento de los océanos, provocando un incremento en la temperatura y alteraciones en la química del agua (Venegas et al., 2023; Bunsen et al., 2024). La absorción de CO₂ por el océano, produce un proceso conocido como la AO, donde el CO₂ disuelto reacciona con el agua de mar formando ácido carbónico (Doney et al., 2009). Esta reacción reduce la concentración de iones carbonato (CO₃²⁻), ya que estos son consumidos por el exceso de protones para formar iones bicarbonato (HCO₃⁻) (Keyplas et al., 2006; Doney et al., 2009). Como consecuencia, disminuye la disponibilidad de iones de carbonato, lo cual afecta negativamente a los organismos calcificadores, como se mencionó en secciones anteriores. Esto se debe a que, aunque el bicarbonato es la forma principal de carbono inorgánico en el agua de mar, la precipitación eficiente de CaCO₃ y la saturación respecto a aragonita o

calcita ($\Omega > 1$) dependen directamente de la concentración de iones carbonato (Bach et al., 2015).

El CaCO_3 es un compuesto abundante en los océanos que desempeña un papel fundamental en el ciclo del carbono, y es precipitado por diversos organismos marinos, conocidos como calcificadores (Balch et al., 2022). Estos organismos lo fabrican para formar sus conchas y exoesqueletos, las cuales están compuestas principalmente por la aragonita o calcita, las formas minerales más comunes del CaCO_3 , y cuya proporción varía según su etapa de desarrollo (Balch et al., 2022; Gazeau et al., 2013). La aragonita es más soluble que la calcita, lo que hace que los bivalvos aragoníticos sean más vulnerables a la disolución bajo condiciones de AO (Nehrke et al., 2012).

El estado de saturación del CaCO_3 en el agua de mar (Ω) indica la relación entre los iones disponibles de carbonato y la solubilidad del mineral. Cuando $\Omega < 1$, el agua se considera subsaturada, lo que favorece la disolución de las estructuras calcáreas; en contraste, cuando $\Omega > 1$, el medio está sobresaturado, lo que promueve la precipitación del carbonato y, por tanto, la calcificación (Bressan et al., 2014; Waldbusser et al., 2015). Sin embargo, la AO reduce tanto el pH como la saturación de carbonato en el agua, lo cual incrementa el riesgo de disolución de las estructuras ya calcificadas (como las conchas) cuando Ω desciende por debajo de 1 (Waldbusser et al., 2015). Pero también, se ha reportado que la AO pudiera afectar las reacciones internas del organismo necesarias para llevar a cabo esta calcificación de forma adecuada (su metabolismo; Zhao et al., 2017; Liao et al., 2019).

Entre los organismos calcificadores, un grupo importante son los bivalvos, vulnerables a la AO debido a su dependencia del CaCO_3 para formar sus conchas (Gazeau et al., 2007; Waldbusser et al., 2016). Aunque algunas especies de este grupo pueden ajustar parcialmente la composición de sus conchas e incorporar más materia orgánica como mecanismo compensatorio, aún se desconoce el límite de esta capacidad adaptativa (Leung et al., 2022). Bajo condiciones de AO, se ha observado que los bivalvos priorizan funciones esenciales como la respiración y la alimentación, ralentizando otras funciones como su crecimiento (Waldbusser et al., 2016; Siegfried y Johnson, 2023). En bivalvos, como *Crassostrea spp.*, la AO también puede alterar la proporción entre aragonita y calcita en sus conchas, modificando su dureza, rigidez y microestructura (Fitzer et al., 2018; Hahn et al., 2014).

Por otra parte, el cambio climático constituye otro estresor importante, ya que ha provocado variaciones en las propiedades químicas y físicas del océano. La mayoría de las investigaciones sobre los efectos del cambio climático se han centrado en variables específicas como el aumento de la temperatura, la disminución de OD, la intensificación de la variabilidad del clima, los cambios en la precipitación de CaCO_3 (especialmente en zonas costera, debido a procesos más intensos y la influencia antropogénica) y la AO han incrementado las demandas metabólicas de los organismos marinos (Poloczanska et al., 2016). Entre las respuestas ecofisiológicas observadas se encuentran cambios en las tasas de calcificación y crecimiento, la demografía, la abundancia y el tamaño corporal, así como en la fenología de especies (Poloczanska et al., 2016). Estos cambios, en

consecuencia, también pueden repercutir en la distribución y la dinámica poblacional de estos grupos (Mayor et al., 2015; Poloczanska et al., 2016).

2 ANTECEDENTES

El metabolismo de bivalvos conlleva una serie de reacciones orientadas a la producción de compuestos específicos, interactuando así con componentes del entorno. En la figura 2, se presentan un resumen de los principales componentes del metabolismo de los ostiones. Estos organismos realizan diversas funciones vitales dentro del hábitat marino donde se desarrollan y crecen. La alimentación a partir del plancton les proporciona la energía necesaria para llevar a cabo funciones metabólicas vitales, como la respiración y la calcificación. Durante su metabolismo, los ostiones liberan desechos como amonio y urea. En el proceso de respiración, consumen O_2 y liberan CO_2 , además de energía.

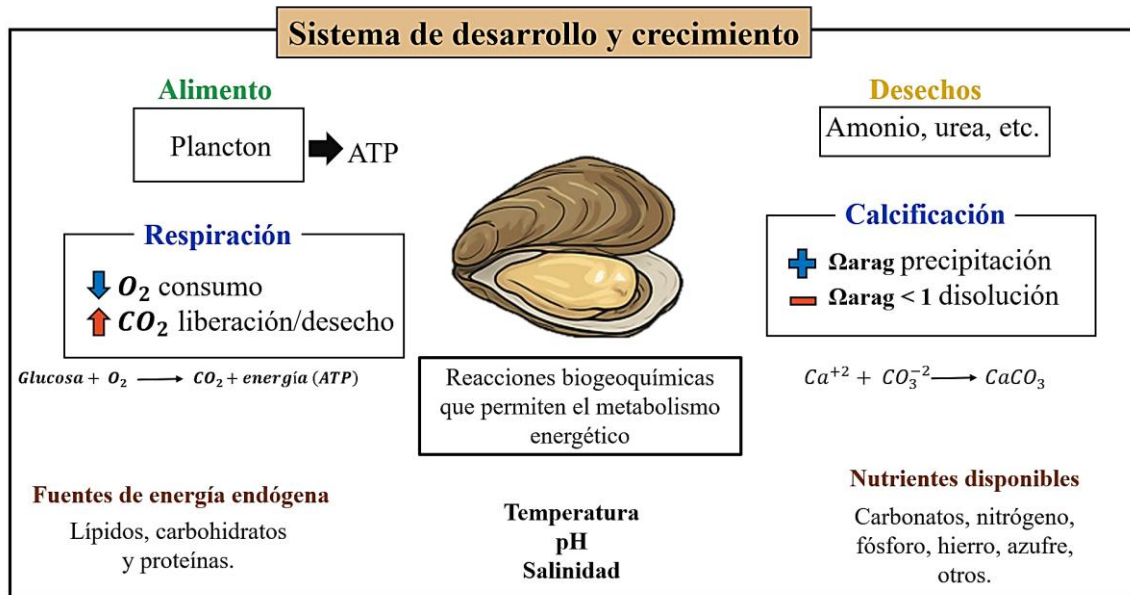


Figura 2. Diagrama esquemático mostrando de forma resumida los componentes del metabolismo en ostiones.

Como se enfatizó antes, una función clave en estos organismos es la calcificación. Por ejemplo, los ostiones precipitan este mineral para formar su concha, es decir, concentran iones de calcio (Ca^{2+}) y carbonato (CO_3^{2-}) en su matriz orgánica, donde se combinan para formar cristales de CaCO_3 , el principal componente estructural de sus valvas (Fujii et al., 2023). Este proceso ocurre de manera eficiente cuando el valor de Ω en el agua de mar donde se desarrolla, es mayor que 1. Sin embargo, cuando $\Omega < 1$, en lugar de precipitarse, el CaCO_3 tiende a disolverse. Esto compromete la integridad estructural de la concha, en dos potenciales maneras, ya sea que el equilibrio químico favorece la disolución del CaCO_3 existente, debilitando o erosionando progresivamente las estructuras calcificadas de los ostiones (Fujii et al., 2023), así como se ha propuesto que pudiera afectar el metabolismo asociado a este proceso.

Los nutrientes disponibles modulan directa e indirectamente el metabolismo asociado a la calcificación de bivalvos, como la disponibilidad de los carbonatos que favorece la tasa de calcificación. Además, las condiciones ambientales, como la temperatura, el pH y la salinidad, ejercen una influencia significativa sobre el metabolismo de los ostiones (Yu et al., 2023; Chen et al., 2022). En situaciones de estrés causadas por condiciones desfavorables, como la hipoxia, la AO, o cambios bruscos de temperatura y salinidad, muchos organismos marinos activan rutas metabólicas alternativas para mantener su homeostasis (Sokolova et al., 2012). Estas rutas, que conforman lo que se conoce como metabolismo energético adaptativo, permiten utilizar fuentes de energía

endógenas (por ejemplo, glucógeno, lípidos o proteínas almacenadas en tejidos existentes) cuando los recursos externos escasean o no pueden ser aprovechados eficientemente (Dong et al., 2016; Sokolova et al., 2012).

Por otra parte, la respiración es un proceso metabólico esencial en los organismos marinos, incluidos los bivalvos como los ostiones, ya que les permite liberar la energía contenida en los compuestos orgánicos que consumen, como carbohidratos, lípidos y proteínas provenientes del fitoplancton y otros detritos presentes en el agua (Lee et al., 2018). En este proceso, el oxígeno no es una fuente de energía en sí mismo, sino que actúa como aceptor final de electrones, facilitando la producción de ATP necesario para sus funciones vitales (Steffen et al., 2023). En estos organismos, la tasa de respiración, que refleja el nivel de actividad metabólica, depende de diversos factores como la etapa de desarrollo, la disponibilidad de alimento y el grado de estrés ambiental (Zhao et al., 2021; Steffen et al., 2023). Por ello, la respiración se considera un indicador metabólico clave para evaluar el estado fisiológico de los bivalvos y su capacidad de adaptación frente a variaciones en las condiciones ambientales, como los cambios en temperatura, concentración de OD y la composición química del agua (Montero del Pino, 2018; Pelegrí et al., 2019). En este contexto, un incremento de la temperatura y una mayor disponibilidad de oxígeno suelen estimular la tasa respiratoria al aumentar la demanda energética y facilitar el metabolismo. Por el contrario, la disminución del OD, el enfriamiento del agua o alteraciones químicas desfavorables tienden a reducir la respiración, lo que compromete la eficiencia metabólica y, en escenarios extremos, puede limitar el crecimiento o amenazar la supervivencia de los organismos.

Estudios realizados muestran que la temperatura es uno de los principales factores ambientales que regulan el metabolismo, incluyendo la respiración en organismos (por ejemplo, en ostiones). Durante el verano, cuando las temperaturas son elevadas y el alimento es abundante, la tasa de respiración aumenta significativamente, lo que permite una mayor producción de ATP, utilizado en procesos energéticamente costosos como el crecimiento, la reproducción y la calcificación (Mao et al., 2006). En contraste, durante el invierno la tasa respiratoria disminuye, lo que reduce la producción de ATP y limita el gasto energético a las funciones esenciales de mantenimiento (respiración y alimentación) en condiciones de reposo absoluto o metabolismo basal (Mao et al., 2006).

En condiciones oceánicas normales, es decir, sin los efectos de la AO, los bivalvos como los ostiones presentan tasas de calcificación óptimas y estables con la adecuada disponibilidad de iones carbonato (CO_3^{2-}) y calcio (Ca^{2+}) en el agua, en los ostiones se favorece la formación y mantenimiento de conchas resistentes y con mejor calidad estructural, además permite su crecimiento, supervivencia y éxito ecológico (Waldbusser et al., 2016; Gazeau et al., 2007). En condiciones naturales, los factores como la temperatura, salinidad, concentración de nutrientes y disponibilidad de alimento, cuando se encuentran en niveles óptimos para organismos calcificadores, presentan una correlación positiva (precipitación) con la tasa de calcificación (Vriesman et al., 2022; Tomaru et al., 2020).

Sin embargo, la calcificación es un proceso metabólico particularmente sensible a los efectos de la AO y las respuestas fisiológicas pueden variar según la especie, la etapa de desarrollo, la capacidad de adaptación y otros factores biológicos (Kroeker et al., 2013;

[Hendriks et al., 2015](#)). La AO reduce la saturación de CO_3^{-2} en el agua, lo que dificulta la precipitación del CaCO_3 y la biomineralización ([Rajan et al., 2020](#)). Como consecuencia, se pueden observar disminuciones en las tasas de calcificación, debilitamiento de las conchas y retrasos en la formación de la capa calcárea, comprometiendo el desarrollo, la integridad estructural y la resistencia de los bivalvos ([Waldbusser et al., 2016](#)). Sin embargo, estos efectos no son únicamente observados en ostiones. En las almejas juveniles (*Magallana angulata*), por ejemplo, se ha reportado que la AO conduce a microestructuras más porosas y menor densidad de la concha, disminuyendo la dureza y rigidez ([Meng et al., 2018](#)). De forma similar, se ha observado que los ostiones juveniles ante una exposición a la AO muestran un deterioro irreversible en el crecimiento, incluso después de volver a condiciones normales ([Muller et al., 2023](#)).

Una de las técnicas más efectivas y ampliamente utilizadas para la cuantificación del metabolismo en organismos acuáticos es el uso de cámaras de respirometría, debido a su precisión, facilidad de uso y capacidad para medir procesos metabólicos como el consumo de oxígeno, la calcificación, entre otros ([Svendsen et al., 2016](#); [Killen et al., 2021](#)). Aunque los fundamentos de respirometría moderna, aplicando cámaras de respirometría, fueron desarrollados en 1914 por Ege y Krogh en peces ([Svendsen et al., 2016](#)), también sirve para medir tasas metabólicas de organismos calcificadores como los corales, moluscos, entre otros. Este método es considerado confiable y replicable; sin embargo, su diseño requiere tener en cuenta diversos factores, como el volumen de la cámara, el peso o tamaño de los organismos, la eficiencia en la mezcla del agua, tiempos

de medición, el control de la temperatura y el tipo de material utilizado en su construcción (Svendsen et al., 2016; Killen et al., 2021).

El diseño de las cámaras de respirometría debe adaptarse a las necesidades del estudio, permitiendo una identificación precisa de los indicadores metabólicos. Diversos trabajos han propuesto distintos modelos de cámaras, entre ellos el de Yates y Halley (2003), quienes desarrollaron la cámara de respirometría a la que llamaron SHARQ. Esta cámara, fue construida con aluminio y vinilo, cuenta con un sistema de recirculación y se fija al sustrato mediante bolsas de arena, lo que permite medir pH, OD, salinidad y temperatura en arrecifes de coral durante 24 horas. Su diseño portátil y seguro facilita la obtención de datos homogéneos de múltiples variables sin dañar el hábitat. Sin embargo, su uso está limitado a periodos cortos, depende del correcto funcionamiento del sistema de recirculación, puede alterar el flujo natural del agua y requiere transporte cuidadoso y mantenimiento, lo que implica costos adicionales.

Por otra parte, la cámara portátil autónoma propuesta por Murphy et al. (2012) permite medir de forma no destructiva la respiración y fotosíntesis en corales, contando con un pequeño volumen aislado para detectar cambios en pH y oxígeno, flujo de agua, control de iluminación y extracción discreta de muestras. Su diseño facilita estudios precisos y continuos sin dañar los corales, pero su capacidad limitada de volumen y dependencia del flujo y control de luz restringen la duración del monitoreo, y el equipo requiere cuidado en su manejo y mantenimiento.

La cámara de respirometría desarrollada por Camp et al. (2015) para corales está hecha con una bolsa médica transparente de 3 L, impermeable a los gases, con válvula

sellada mediante costura térmica y cierre hermético de neopreno, permitiendo medir tasas de calcificación, fotosíntesis y respiración. Su diseño es sencillo, económico y asegura un ambiente controlado para mediciones precisas, aunque su volumen limitado y materiales flexibles pueden restringir estudios prolongados, y requiere cuidado en el sellado y manipulación para evitar fugas o daños al coral.

El diseño de respirometría portátil propuesto por [Dellisanti et al. \(2020\)](#) para buceadores consiste en un anillo de neopreno, cámara interna, luz LED, sonda de oxígeno, sensor de pH, fibra de temperatura y sistema de recirculación, permitiendo medir in situ y a corto plazo la respiración, fotosíntesis y calcificación de corales a distintas horas del día. Su diseño facilita mediciones precisas y no destructivas directamente en el arrecife, aunque está limitado a periodos cortos, requiere manipulación cuidadosa y depende del correcto funcionamiento de los sensores y del sistema de recirculación.

Finalmente, el diseño de cámara de respirometría de [Mallon et al. \(2022\)](#) combina materiales plásticos flexibles con bases rígidas de acrílico, incluye agitadores magnéticos para asegurar mezcla homogénea y sensores ópticos de oxígeno disuelto para medir la respiración y productividad primaria bruta en sedimentos, macroalgas y corales. Su enfoque económico y accesible facilita estudios precisos en campo, pero el uso de materiales flexibles puede limitar su durabilidad, requiere cuidado en la manipulación y mantenimiento de sensores, y su tamaño puede restringir la observación de organismos más grandes.

3 JUSTIFICACIÓN

El estudio de las tasas metabólicas en organismos calcificadores es fundamental para comprender su funcionamiento energético, su respuesta a los cambios ambientales (por ejemplo, AO) y su papel en el funcionamiento de los ecosistemas marinos (Kelly et al., 2013). El conjunto de compuestos orgánicos presentes en sus tejidos y fluidos varía en función de procesos internos, así como de factores externos (como la temperatura, la disponibilidad de alimento, entre otros; Bundy et al., 2009; Mayor et al., 2015). Su presencia es crítica para la conservación de la biodiversidad y el sostenimiento de los servicios ecosistémicos que proveen los ecosistemas marinos (Beaver et al., 2020; Johnson et al., 2022), ya que sus estructuras generadas a partir del CaCO_3 constituyen un componente importante del ciclo del carbono en los ecosistemas donde se desarrollan, pero además forman parte de intrincadas redes tróficas.

El acoplamiento de los procesos biogeoquímicos en ambientes marinos depende en gran medida de las condiciones ambientales y fisiológicas de los organismos (Saraiva et al., 2017). Dentro de estos sistemas, los bivalvos suelen dominar las comunidades bentónicas en zonas costeras y desempeñan un papel crucial en los ciclos biogeoquímicos (Brenner et al., 2008). Su influencia se manifiesta a través de las redes tróficas, la regeneración de nutrientes mediante la excreción de amonio y fósforo, la filtración del material en suspensión, y llevan a cabo la calcificación, entre otros (McKindsey et al., 2006; Troost et al., 2015). Estos procesos impactan directamente en la producción primaria y microbiana en los sistemas acuáticos (Marimoto et al., 2017; Saraiva et al., 2017). Además, una amplia gama de especies de bivalvos es de importancia comercial

(McLeod et al., 2013; Hughes et al., 2017). En particular, los ostiones proveen servicios ecosistémicos esenciales, incluyendo filtración y mejora de la calidad del agua, reciclaje de nutrientes, hábitat para otras especies, y apoyo a la biodiversidad y a actividades culturales y recreativas asociadas a los ecosistemas marinos (Oliver et al., 2020).

La producción de bivalvos en México constituye una actividad relevante dentro del sector acuícola, no solo por su demanda económica, sino también por su impacto social y en la producción de alimentos. En 2020, México produjo 15,278 toneladas de ostión, incluyendo tanto cultivo como captura silvestre (CONAPESCA, 2021). De manera más reciente, los datos preliminares reportan que en 2023 la producción alcanzó aproximadamente 20,238 toneladas, con una importante contribución de estados como Veracruz, Tabasco, Nayarit, Baja California Sur y Tamaulipas (CONAPESCA, 2024). Esta actividad generó un valor considerable para el sector, representando una fuente de ingresos fundamentales para miles de familias que dependen directa o indirectamente de la acuicultura y pesca de ostión en México. El interés económico y ecológico de los ostiones resalta la importancia de comprender su metabolismo, lo que justifica el desarrollo y la validación de cámaras de respirometría para evaluar sus tasas metabólicas. Estas herramientas pueden contribuir a optimizar la producción, garantizar la continuidad económica de esta actividad acuícola y apoyar la conservación de la especie.

4 HIPÓTESIS

1. El prototipo de cámara de incubación diseñado para medir indicadores metabólicos en organismos calcificadores es funcional y preciso, permitiendo la medición

confiable de variables clave como temperatura, pH y oxígeno disuelto bajo condiciones experimentales controladas, comparables con los con estándares reportados por otras cámaras.

2. En el diseño experimental con semillas de ostión japonés (*Crassostrea gigas*) de diferentes tamaños (grandes y pequeñas), se espera que se observen cambios significativos en sus tasas metabólicas, incluyendo el consumo de oxígeno, la evolución del sistema de carbonatos, el pH y la tasa de calcificación, los cuales podrán ser cuantificados de manera confiable mediante la cámara de incubación diseñada. Asimismo, se plantea que las mediciones realizadas en agua filtrada resulten más limpias y consistentes que aquellas registradas en agua recirculada, medio en el que habitualmente crecen y se desarrollan los organismos.

5 OBJETIVOS

5.1. General

Diseño de una cámara de respirometría para cuantificar indicadores de metabolismo de calcificadores.

5.2. Específicos

- Diseñar un sistema portátil y de fácil manejo para la evaluación de indicadores metabólicos en organismos calcificadores, asegurando su funcionalidad y precisión en la medición de variables clave como la temperatura, pH y oxígeno disuelto.

- Evaluar los indicadores metabólicos de semillas de *C. gigas* de diferentes tamaños (grandes y pequeños) mediante la cámara de respirometría diseñada, determinando las tasas de consumo de oxígeno, evolución del sistema de carbonatos, pH y tasa de calcificación (ΔAT), y comparando la calidad de los datos obtenidos en agua filtrada en contraste con agua recirculada.

6 METODOLOGÍA

6.1. Diseño de Cámara

La cámara de incubación fue construida con acrílico transparente con una capacidad ≈ 1 L, que al incluir los sensores fue de ≈ 820 mL. No obstante, el volumen efectivo puede variar según el espacio que ocupen los organismos durante cada incubación. El diseño cuenta con una tapa que se sella herméticamente mediante un o-ring y tornillos. En la tapa se perforaron orificios para la instalación de sensores de temperatura, oxígeno y pH, así como para una bomba de agua sumergible. Como parte de su diseño, se incluyó una bomba de agua en sustitución de un agitador magnético, con el fin de recircular el agua dentro de la cámara a una velocidad constante (≈ 1.52 L min^{-1}) regulada por un controlador manual de voltaje. La finalidad de esta bomba fue mantener el volumen de agua de la cámara homogenizada, para reducir potenciales gradientes entre secciones de la cámara, inducidos por los organismos y evitar la formación de capas inertes sobre las membranas de los sensores que generen datos erróneos y/o ruidosos (Camp et al., 2015; Pereira y Espinoza, 2021; Pereira et al., 2024). Los sensores de la cámara fueron integrados por un software diseñado a solicitud (“Vb_Oxígeno” en Visual-Basic V6), el

cual proporcionaba energía, registraba datos y los sincronizaba en tiempo real, proporcionando series de tiempo con datos sobre la fecha, hora, concentración de OD (μM) y saturación (%) del oxígeno, potencial de pH (mV) y temperatura ($^{\circ}\text{C}$).

6.2. Selección de Sensores

La selección de sensores se basó en los indicadores de metabolismo que se deseaba medir. En este caso, se usaron sensores de oxígeno (para medir la tasa de consumo de oxígeno; TACO), pH y la temperatura (factor abiótico que controla el metabolismo). Estos sensores, su marca, función, unidades de medición, precisión y exactitud se describen a continuación.

Para medir el pH se seleccionó un electrodo de membrana de vidrio combinado (± 0.01 unidades de pH; Metrohm, Suiza). Para medir el OD se seleccionó un sensor óptico de oxígeno ($\pm 8 \mu\text{Mol}$; Optodo, Aanderaa, USA). Brevemente, el funcionamiento del optodo de oxígeno Aanderaa se basa en la fluorescencia de un luminóforo de porfirina de platino incrustado en una lámina permeable al oxígeno y expuesta al agua (D'Asaro y McNeil, 2013; Bittig et al., 2018; Aanderaa Data Instruments AS., 2024). La fluorescencia se mide por el desfase de la excitación de luz azul modulada por una corriente alterna a la señal roja fluorescente (D'Asaro y McNeil, 2013; Bittig et al., 2018; Aanderaa Data Instruments AS., 2024). Al ser excitado por luz azul-verde, el luminóforo fluoresce a menor energía (luz roja). La presencia de moléculas de oxígeno disminuye tanto la intensidad de la luminiscencia como el tiempo de decaimiento (D'Asaro y McNeil, 2013; Bittig et al., 2018).

Para medir la temperatura se seleccionó un sensor de uso industrial (± 0.05 °C; PT-1000, Atlas Scientific, USA). Estos sensores están fabricados principalmente con platino debido a sus prioridades térmicas estables, lo que permite obtener mediciones consistentes a lo largo de un amplio rango de temperatura (Sarkar, 2018) y son ampliamente utilizados en investigación (Kako, 2023).

En la figura 3 se puede observar el paso a paso del uso de la cámara de incubación, que va desde el software en la PC, hasta la obtención de la base de datos (serie de tiempo) por cada experimento.

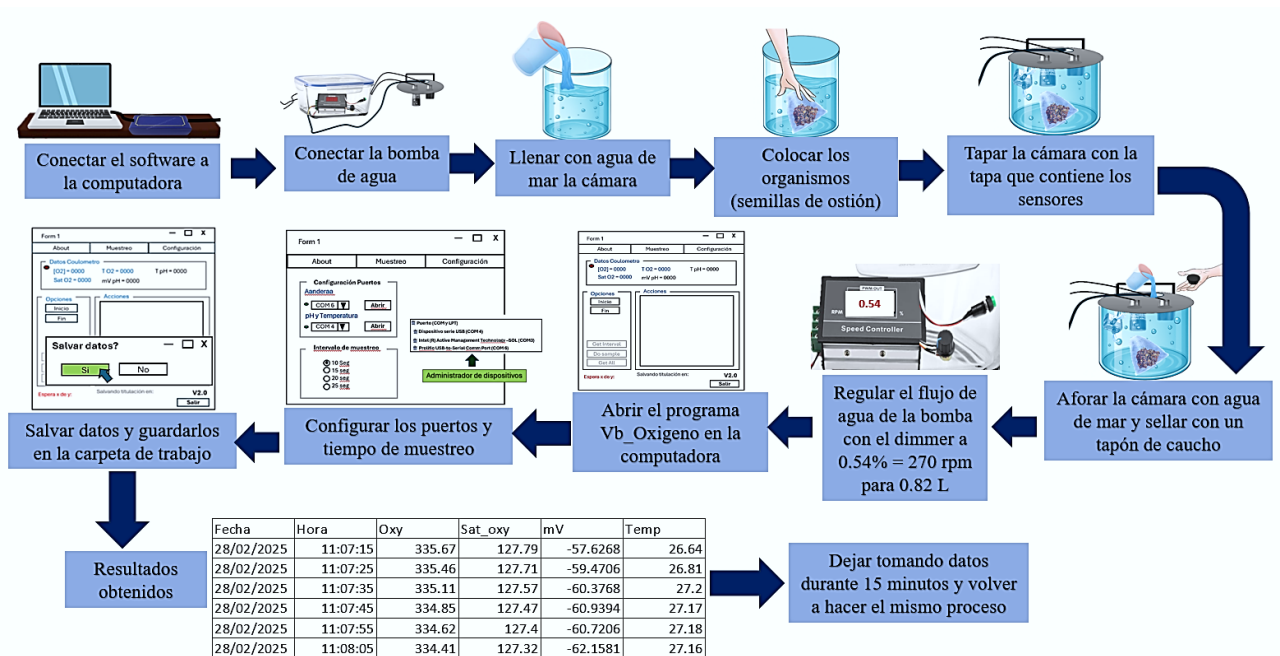


Figura 3. Diagrama de flujo del uso de la cámara de incubación indicando el procedimiento experimental seguido en las pruebas y experimentos con la cámara de incubación. Elaboración propia.

6.3. Evaluación del Desempeño de los Sensores: Exactitud y Precisión

Se evaluó el desempeño de los sensores con el objetivo de garantizar que los resultados obtenidos fueran lo más precisos y exactos posible, factor relevante para la medición de indicadores del metabolismo. Para el sensor de pH, la exactitud se determinó en condiciones de laboratorio mediante la elaboración de una curva Nernstiana, mientras que en el caso del sensor de oxígeno se estimó midiendo agua a 100 % y 0 % de saturación. En ambos casos se observaron corrimientos (offsets de aquí en adelante), los cuales fueron entendidos como errores sistemáticos constantes que desplazan los valores medidos respecto al valor esperado. La precisión de los sensores se obtuvo a partir de evaluar la variabilidad de múltiples mediciones, complementada con el análisis de mediciones en blanco y de las fluctuaciones de la señal. Estas fluctuaciones erráticas, que se presentan alrededor del valor real, para este trabajo representan el ruido instrumental, equivalente a un error aleatorio. A continuación, se detallan los procedimientos empleados.

Sensor de pH

Con el objetivo de verificar la exactitud de la respuesta electroquímica del sensor de pH, es decir, su sensibilidad a variaciones controladas frente a soluciones de pH conocidas, se siguieron las recomendaciones metodológicas propuestas por [Dickson et al. \(2007\)](#). Para ello, se evaluó el comportamiento nernstiano del sensor, mediante soluciones búffer de pH 4 y 7 en escala NBS, a una temperatura controlada de 25 °C, usando un termocirculador.

El procedimiento consistió en estabilizar la temperatura de las soluciones búffer dentro de una celda de vidrio, sumergida en un termocirculador previamente calibrado. La

temperatura del sistema fue verificada con un termómetro de vidrio de alta precisión (± 0.01 °C). El electrodo de pH se sumergió en cada solución amortiguadora durante un período de 10 min, permitiendo su estabilización antes de registrar los potenciales eléctricos (en mV) mediante un potenciómetro Metrohm, Suiza de laboratorio.

La pendiente de la respuesta entre ambas soluciones búffer se determinó a partir de la diferencia de potencial medida, expresada en mV por unidad de pH. Este valor debe situarse dentro del margen aceptable respecto a la pendiente teórica Nernstiana (-59.16 mV a 25 °C).

Respecto a la calibración de las mediciones de pH (conversión de mV a unidades de pH) durante los experimentos en condiciones de laboratorio y en presencia de organismos, los valores de pH se calcularon utilizando la ecuación derivada de la relación de Nernst:

$$pH(x) = pH(S) + \frac{E_S - E_x}{RT \ln 10 / F} \text{ (Ec.2)}$$

(Dickson et al., 2007)

Donde R es la constante de los gases ideales (8.314 J/Kmol), T es la temperatura en Kelvin, $\ln 10$ logaritmo natural en base 10 y F es la constante de Faraday (96485 C/mol). El $pH(x)$ es el valor de pH de la muestra y $pH(S)$ es el pH de la solución conocida (en este caso, solución búffer de pH 7). E_S indica el voltaje de la solución y E_x representa el voltaje de la muestra. El cálculo para obtener los datos de pH a partir de mV, se realizó implementando la fórmula en el software R (versión 4.3.2; R Core Team, 2023).

Posteriormente, para validar la exactitud, también se realizaron en el laboratorio mediciones con el sensor de pH a diferentes temperaturas (25, 28, 30 °C), las cuales fueron medidas durante 10 minutos a cada temperatura. En la toma de estos valores de pH se usó el software de la cámara (Vb_Oxígeno), obteniendo series de tiempo de mV (milivoltaje de pH) y temperatura. En la limpieza de estos datos se realizaron diferentes cortes donde la señal era estable, para proceder a hacer una regresión lineal. El resultado del modelo debe contener en el eje x las tres temperaturas y en el eje y los promedios de milivoltaje (mV pH) en cada temperatura.

Finalmente, para validar la precisión del sensor de pH se realizaron varias repeticiones para verificar la repetibilidad de las mediciones iniciales, así como para que los datos mostraran el comportamiento esperado en condiciones controladas (por ejemplo, tipo de agua empleada y temperatura).

Sensor de Oxígeno

Para verificar la exactitud del sensor óptico de oxígeno, a menudo se dispone únicamente de dos puntos de referencia (0 % y 100 %) de saturación de O₂ ([Fusión Flow Technologies, s.f.](#)). Siguiendo el protocolo del fabricante ([Aanderaa, 2025](#)) y en concordancia con otros modelos de sensores ópticos de oxígeno disuelto ([RBR, 2025](#)), el procedimiento de calibración consistió en medir agua destilada saturada con aire mediante burbujeo durante aproximadamente 15 min para alcanzar el 100 % de saturación, y agua tratada con gas nitrógeno bajo las mismas condiciones para obtener 0 % de saturación. Este procedimiento se realizó por triplicado, registrando la temperatura del agua en todo momento. Las mediciones se tomaron utilizando el software Vb_Oxígeno, registrando los

datos en unidades de μM . A partir de estas mediciones se calcularon dos offsets, correspondientes a los puntos de 0 % y 100 % de saturación, que fueron comparados con los valores teóricos ajustados según el procedimiento de calibración de [Henry Bittig \(versión 19.04.2018\)](#), el cual es ampliamente utilizado en estudios oceanográficos ([Bittig et al., 2018](#)). Adicionalmente, se realizaron múltiples repeticiones para evaluar la consistencia de las concentraciones iniciales y el comportamiento de los datos, de manera similar a lo realizado con el sensor de pH.

Inclusión de Blancos

Con el fin de garantizar la fiabilidad y calidad de los datos obtenidos durante las incubaciones, se incluyeron blancos, sin la presencia de organismos. Esto es relevante, especialmente cuando interactúan organismos marinos y sus procesos biogeoquímicos como la respiración, calcificación o fotosíntesis.

Las repeticiones en blanco permitieron identificar y corregir posibles interferencias en las mediciones, como aquellas derivadas de procesos biogeoquímicos asociados a microorganismos presentes en el medio, que podrían alterar los valores registrados, como la TACO. Además, estos ensayos facilitaron la evaluación de la repetibilidad y precisión del sensor entre blancos y en contraste con cada incubación.

Por otra parte, las repeticiones con organismos, también permitieron evaluar la repetibilidad y precisión de las mediciones, tanto a nivel natural como experimental en y entre incubaciones. Asimismo, se emplearon para cuantificar la respuesta biológica bajo condiciones controladas, como el control de la temperatura y del tiempo de medición en cada incubación.

Cuantificación de Ruido

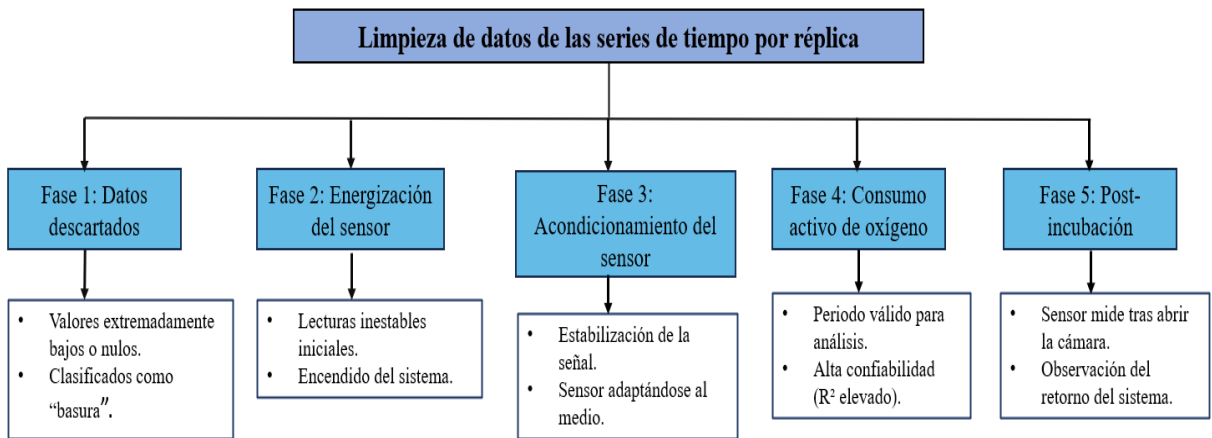
El ruido instrumental para este trabajo fue el error aleatorio que se presentó en la señal medida. Comúnmente, el error aleatorio, se aprecia como fluctuaciones de alta frecuencia y que no presentan un patrón marcado, y que son el resultado de factores como las respuestas de los sensores a variaciones ambientales y capacidades analíticas (Kizil, 2021). En este estudio, el ruido de los sensores se evaluó aplicando un suavizado con un promedio móvil y usando una ventana de tres datos. Posteriormente, se calcularon las desviaciones de los valores originales respecto a la señal suavizada. Finalmente, el rango de estas diferencias se definió a partir de los valores extremos (máximo y mínimo) de las fluctuaciones, utilizándolos como indicador del ruido en cada sensor o del error aleatorio.

6.4. Limpieza de Datos de las Series de Tiempo

El análisis exploratorio de los datos obtenidos en las pruebas de laboratorio y durante los días del experimento, realizado con el software Vb_Oxígeno, permitió identificar que las mediciones de las distintas variables exhibían un patrón lineal en su comportamiento, lo que coincide con lo esperado al evaluar la tasa de respiración durante el período de muestreo (o incubación), incluyendo cambios de pendiente y variabilidad aleatoria. Con esto, y con el fin de analizar series de tiempo, se implementó un procedimiento de segmentación por réplica o incubación (en adelante, “cortes”), basado en el valor del coeficiente de determinación (R^2), lo que permitió identificar y separar segmentos con comportamientos de las series de tiempo no consistentes.

En total, se identificaron cinco tipos de secciones de cortes en los datos: (1) fase de datos descartados por valores extremadamente bajos o nulos (considerados “datos

basura”), (2) fase de datos correspondientes a la etapa inicial energización del sensor, (3) fase de acondicionamiento del sensor, (4) fase con periodo activo de TACO, y (5) fase de



datos registrados tras la apertura de la cámara de incubación. Este último segmento fue registrado intencionalmente, permitiendo que el sensor continuara midiendo después de concluido el tiempo de incubación, con el propósito de observar el comportamiento del sistema una vez finalizado la medición experimental.

Figura 4. Diagrama esquemático de la limpieza de datos de cada variable de las series de tiempo por réplica. Elaboración propia.

6.4. Caso de Estudio para Evaluar el Desempeño de los Sensores: Experimentos con Semillas de Ostión

Con el fin de probar la cámara antes descrita, se realizaron incubaciones de organismos para cuantificar los indicadores de la actividad metabólica. Para esto se seleccionaron semillas de ostión del Pacífico (*Crassostrea gigas*), las cuales eran diploides y seleccionadas con un factor de tamaño (dos grupos: grandes y pequeños), en función a su masa corporal en gramos. Esta etapa de desarrollo se seleccionó porque es clave en la

formación de conchas. Este diseño experimental usando como factor el tamaño, fue elegido por simplicidad. La cantidad de organismos incluidos por incubación (n=15) y el tiempo de incubación (15 min) fueron definidos por literatura citada de evaluación del metabolismo de semillas y adultos de ostión como, por ejemplo, [Le Molluca et al., 2007](#); [Comeau et al., 2010](#); [Laning et al., 2010](#).

Con respecto a las mediciones de los indicadores de actividad metabólica, una práctica común en este tipo de experimentos es cuantificarlos evaluando las diferencias en variables clave al inicio y final de la incubación, para lo cual se homogenizan (lo más posible) las condiciones iniciales (conseguir en el agua de mar una misma condición de saturación de oxígeno, salinidad, temperatura, pH, etc.), sin embargo, pocas veces se reportan si los sistemas de medición detectan las condiciones iniciales del experimento. Con el fin de valorar si la cámara y sus sensores de oxígeno y pH detectaban las distintas condiciones iniciales de las incubaciones, los experimentos se realizaron en dos condiciones con respecto al agua: (1) usando agua del sistema de recirculación donde se encontraban creciendo, así como (2) en agua de mar filtrada (80 micras) y pasada por lámparas de UV. La razón principal para haber elegido estos dos tipos de agua es que en el sistema de recirculación existe la presencia de microorganismos y materia particulada, mientras que el agua filtrada esta tratada y busca representar una condición más controlada y libre de contaminantes biológicos. En este estudio, a los tipos de agua se les nombra de aquí en adelante, como: agua recirculada del sistema (ARS) y agua filtrada control (AFC).

Con el fin de mantener a los organismos a la misma temperatura del sistema de recirculación durante las incubaciones, al agua usada en la cámara de incubación (ya sea

ARS o AFC) se le acondicionó la temperatura a 25 °C, previo al inicio de la incubación y sin organismos, sumergiéndola en agua hasta alcanzar la misma temperatura del sistema de recirculación donde se desarrollan las semillas de ostión.

Tasa de Consumo de Oxígeno (TACO)

El indicador metabólico de la respiración se evaluó mediante la TACO empelando los datos limpiados (corte 4) de cada réplica. Para cuantificar la TACO por réplica realizada por grupos en ASR (27 y 28 de febrero) y AFC (1 y 2 de marzo), se aplicó una regresión lineal simple, para obtener una ecuación similar a esta (Ec.3):

$$O_2 = -Tasa\ de\ consumo\ de\ oxígeno * minutos + Intercepto \quad (Ec.3)$$

Los valores de la TACO se normalizaron por el peso húmedo total (g) de los organismos, específicamente, la TACO para el grupo de pequeños (n=15) se dividió entre el peso total de 0.261 g, y para el grupo de grandes (n=15) se dividió entre su peso total de 2.484 g.

Tasa de Calcificación

Recolecta y Análisis de Muestras Discretas de AT y CID

Las muestras para los análisis de AT y CID fueron recolectadas diariamente durante el experimento y al finalizar cada periodo de incubación. Se tomó una única muestra inicial al comenzar la primera incubación, mientras que las muestras finales se obtuvieron inmediatamente después de cada incubación subsecuente.

La recolección se realizó en botellas de borosilicato de 125 mL, previamente enjuagadas con agua de mar filtrada y posteriormente con la misma muestra a recolectar,

para evitar contaminación cruzada. Cada botella fue identificada con la fecha, el grupo experimental, el número de réplica y el tipo de muestra (inicial o final).

Para preservar la muestra de la actividad biológica post-recolección, se adicionaron 100 μ L de una solución saturada de cloruro de mercurio (HgCl₂) a cada muestra, conforme a los protocolos estandarizados descritos por [Dickson et al. \(2007\)](#). Posteriormente, estas muestras se almacenaron hasta su análisis, realizado aproximadamente dos meses después.

En el laboratorio de CO₂ marino del IIO, a las muestras discretas se les midió la AT mediante titulación potenciométrica a temperatura constante de 25 °C, y el CID, fue cuantificado mediante coulometría. En ambos análisis se emplearon materiales de referencia certificados (Certified Reference Materials, CRM) producidos conforme a los estándares internacionales de calibración del sistema de carbonato ([Dickson et al., 2007](#)), y actualmente suministrados para este estudio por el Instituto Scripps de Oceanografía de San Diego (Dr. A. Dickson). Estas muestras discretas permitieron monitorear la evolución de parámetros clave del sistema de carbonato.

Cálculo de la Tasa de Calcificación

La determinación de la AT del agua de mar, como se mencionó anteriormente, se llevó a cabo mediante el método de titulación potenciométrica. Para esto, se tituló una alícuota de 60 mL con una solución estándar de ácido clorhídrico (HCl; 0.1 M), mientras se registraba de forma continua el cambio de pH mediante un electrodo previamente calibrado. A medida que se añadía el ácido, los principales componentes alcalinos de la muestra, principalmente bicarbonato (HCO₃⁻) y carbonato (CO₃²⁻), reaccionaban

progresivamente, y la alcalinidad se calculaba a partir del volumen de ácido requerido para alcanzar el punto de inflexión de la curva de titulación, generalmente próximo a pH 4.5. Este valor representa la capacidad de la muestra para neutralizar los protones, o alcalinidad total. La titulación se realizó bajo condiciones controladas de temperatura (25 °C), utilizando un termocirculador acoplado a una celda de flujo continuo donde se colocaba la muestra. Además, se mantuvo una agitación constante durante todo el proceso para asegurar una mezcla homogénea y obtener resultados fiables.

Una vez obtenidos los valores de AT inicial y final, se procedió a calcular las tasas de calcificación correspondientes a cada incubación. Para ello, se utilizó la siguiente ecuación (Ec. 4; adaptada para este estudio a partir de [Mallon et al., 2022](#)), que permite estimar la tasa de calcificación neta a partir del cambio en la AT durante el periodo de incubación:

$$G(t) = \frac{\Delta AT * \rho * 0.5 * V}{t * PH} \quad (Ec. 4)$$

Donde G(t) es la tasa de calcificación en $\mu\text{mol CaCO}_3 \text{ g}^{-1} \text{ min}^{-1}$, ΔAT es el cambio (final-inicial) en la AT ($\mu\text{mol kg}^{-1}$), ρ es la densidad del agua de mar (kg L^{-1}), típicamente $\sim 1.023 \text{ kg L}^{-1}$, 0.5 es el factor de conversión (por cada mol de CaCO_3 formado se reduce 2 mol de AT), V es el volumen del agua en la cámara de incubación (L), t es el tiempo de incubación (min) y PH es el peso en húmedo del organismo más el peso de la concha (g), sobre la cual se normaliza la tasa.

Los resultados de calcificación se presentan en una tabla incluida en la sección de resultados, la cual contiene el promedio de la tasa de calcificación, junto con su

desviación estándar, para organismos grandes y pequeños. Estos datos están organizados en función del tipo de agua utilizada durante los días del experimento: ASR (correspondiente a los días 27 y 28 de febrero del 2025) y AFC (correspondiente a los días 1 y 2 de marzo del 2025).

Evolución del Sistema de CO₂ en Experimentos de Incubaciones

La evolución del sistema del CO₂ en este estudio se refiere al cambio en las porciones de estas especies en cada incubación. Estas son: dióxido de carbono disuelto (CO₂ aq), ácido carbónico (H₂CO₃), bicarbonato (HCO₃⁻) y carbonato (CO₃²⁻; [Dickson et al., 2007](#)). El equilibrio depende de la temperatura, la salinidad, la presión y el pH del agua. En este estudio, además, las porciones de estas especies químicas también estuvieron influenciada por los procesos biológicos, como la respiración que consume O₂ y libera CO₂, y la calcificación, que reduce tanto la AT como el CO₂.

En este estudio se midieron y calcularon las tres variables principales del sistema del CO₂, estas son la AT, DIC y el pH. Los valores de estas variables, junto con los valores de salinidad, temperatura y presión, se introdujeron en el software CO₂SYS ([Lewis y Wallace, 1998](#)). Los valores de algunas de estas variables se presentan en una tabla en la sección de anexos en condiciones iniciales y finales, tomando en cuenta la salinidad y la temperatura. También, se incluyó en resultados un contraste del comportamiento del pH con el CID durante la réplica.

Muestras Discretas para Calibrar Series de Tiempo de pH

Con el objetivo de garantizar la precisión y trazabilidad de las series de tiempo de pH registradas por el sensor, se recolectaron muestras discretas de agua de mar al inicio

del día experimental y al final de cada incubación. De las muestras discretas se calcularon AT y CID en el laboratorio con las técnicas antes mencionadas. Los datos de AT y CID obtenidos en estos puntos se utilizaron para validar las mediciones de pH de cada incubación mediante el programa CO₂SYS. Este procedimiento permitió calcular los valores de pH en la escala NBS, considerando la temperatura, salinidad, AT y CID. La validación se realizó primero con los valores iniciales y luego con los finales, lo que facilitó determinar los cambios de pH ocurridos durante cada incubación.

Estimación de Series de Tiempo de CID

Para estimar las series de tiempo de CID a partir de las condiciones experimentales, se utilizó una combinación de datos de pH medidos continuamente por sensores autónomos y valores interpolados de AT determinados a partir del proceso de titulación potenciométrica en muestras discretas. La estimación del CID se realizó aplicando el software CO₂SYS (Lewis y Wallace, 1998), a partir del pH y AT, junto con la temperatura y salinidad.

Adicionalmente, los valores obtenidos por el método de coulometría (dato inicial y final), se emparejaron con los valores de pH, usando en el software CO₂SYS, para tener un análisis más robusto de las variables y validar su comportamiento en el tiempo de incubación.

Análisis Estadístico

Inclusión y Análisis de Datos para el Caso de Estudio

Los datos del corte 4 de cada réplica se graficaron en series de tiempo juntas de acuerdo con el tipo de agua empleada (ASR y AFC). Este procedimiento se usó con las variables OD, mV de pH y temperatura en contraste con el tiempo (minutos). Además, se realizó un análisis estadístico, con gráficos (histogramas) y medidas de tendencia central de los datos del corte 4 para cada una de las réplicas. El análisis estadístico de medias y medianas permitió hacer comparaciones entre réplicas, entre grupo y entre ASR o AFC, para identificar diferencias estadísticas. Estos datos se encuentran en tablas con su respectivo análisis en la parte de resultados. En la elaboración de gráficas y el análisis de los datos se usaron los softwares Excel y R (versión 4.3.2; R Core Team, 2023).

TACO

En el análisis de la TACO se normalizó por gramo de organismo, considerando individualmente cada réplica, grupo experimental (organismos grandes y pequeños) y tipo de agua utilizada (ARS o AFC). El procesamiento de los datos se realizó en el software R (versión 4.3.2; R Core Team, 2023). La TACO se calculó a partir de la pendiente de la regresión lineal correspondiente y posteriormente se normalizó según el peso promedio de los organismos: 2.484 g para el grupo de mayor tamaño y 0.261 g para el grupo de menor tamaño. El análisis de la TACO se presenta como valores, absolutos como normalizados por peso.

Para el análisis anterior, se evaluaron los datos de OD correspondientes a cada réplica en los diferentes días experimentales. La verificación del supuesto de normalidad

se efectuó mediante la prueba de Shapiro–Wilk, complementada con histogramas de distribución. En todas las réplicas, se rechazó la hipótesis nula, evidenciando que los datos de oxígeno no siguen una distribución normal. Posteriormente, en el análisis de residuales se reveló una distribución no aleatoria alrededor de cero, indicando la existencia de patrones sistemáticos y posibles factores no contemplados por el modelo lineal. Sin embargo, dado que el tiempo se considera una variable independiente que no se espera tenga un comportamiento normal, se continuó con la estimación de la pendiente en la regresión lineal simple, la cual representó la tasa de consumo de oxígeno durante el tiempo de incubación.

Posteriormente, con el fin de comparar la variable TACO para los grupos “grandes” y “pequeños”, se evaluó la normalidad mediante la prueba de Shapiro–Wilk. En ambos casos, no se rechazó la hipótesis nula, lo que indica que los datos cumplen con el supuesto de normalidad. El mismo análisis se realizó considerando el factor “tipo de agua” (ARS y AFC), donde sí se rechazó la hipótesis nula, evidenciando que los datos no presentan una distribución normal. Finalmente, se examinó la normalidad de TACO para los grupos “grandes” y “pequeños” exclusivamente en AFC, dado que en esta condición las series de datos y las regresiones lineales tienen una mayor claridad. En este caso, la prueba confirmó que ambos grupos cumplen con el supuesto de normalidad en AFC.

El supuesto de homocedasticidad no fue evaluado debido al tamaño reducido de muestra de la TACO.

Para el factor “grupo”, considerando todos los datos de la TACO y seleccionando en el análisis los correspondientes de AFC, y considerando que se cumplió el supuesto de

normalidad, se aplicó una prueba t de Student para dos muestras independientes con el objetivo de contrastar sus medias. En contraste, para el factor “tipo de agua”, al no cumplirse con normalidad, se empleó la prueba no paramétrica U de Mann–Whitney a fin de determinar diferencias significativas entre grupos. Adicionalmente, se calcularon los intervalos de confianza con 95% para las variables medidas. En todos los contrastes y estimaciones se adoptó un nivel de significancia estadística de $\alpha = 0.05$.

7 RESULTADOS

Los resultados se presentan en dos secciones. En una primera sección se describen los resultados con los criterios utilizados para evaluar el desempeño y la calidad de las mediciones obtenidas de los sensores en la cámara de incubación, mientras que la segunda sección se enfoca en el análisis de las mediciones de indicadores y tasas de la actividad metabólica en el caso de estudio.

7.1. Desempeño de la Cámara de Respirometría

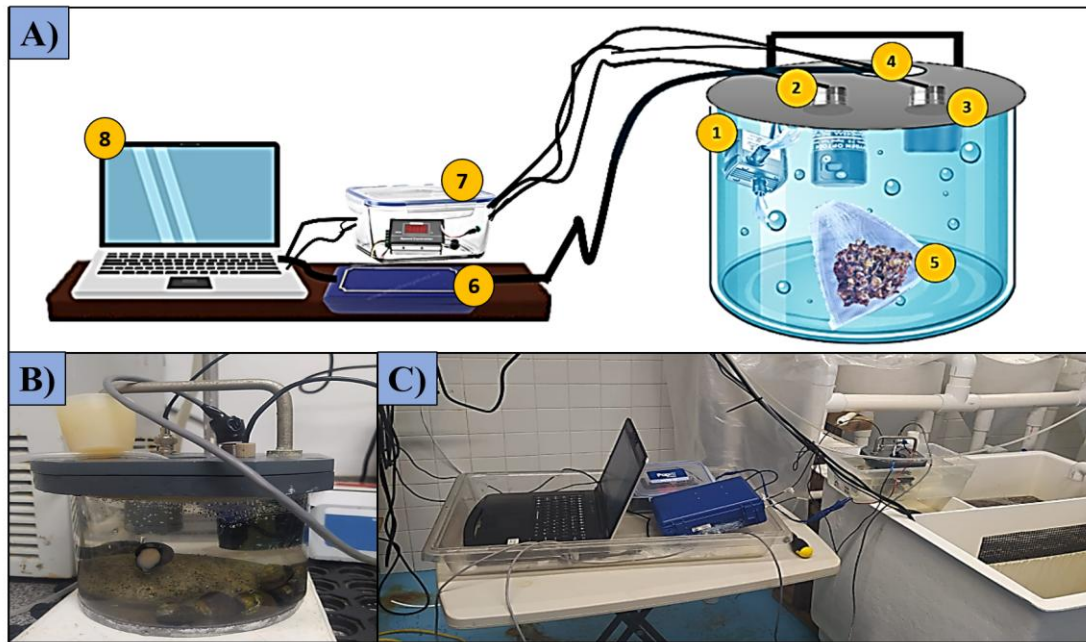


Figura 5. Diseño de la cámara de respirometría para medir indicadores metabólicos de organismos calcificadores. (A) Vista general del diseño de la cámara, con los números que indican los distintos componentes; (B) prueba de la cámara en laboratorio; (C) toma de datos en semillas de ostión. Elaboración propia.

La cámara de incubación diseñada para medir indicadores metabólicos de organismos calcificadores, nos proporcionó información sobre la evolución de O_2 , pH y temperatura en el tiempo. En la figura 5, en el inciso (A) se observa el diseño de la cámara de incubación elaborada de acrílico transparente y sus componentes/partes. Esta tiene una bomba de agua sumergible (1) para mantener el agua recirculando dentro de la cámara y reducir errores en las mediciones. Sensor de oxígeno Aanderaa (2) para medir el consumo de oxígeno en el tiempo dentro de la cámara. Sensor de pH (3), para medir el cambio de pH en el tiempo, debido al aumento de la concentración de CID liberado por el

proceso biológico de la respiración. Sensor de temperatura (4) para tener un sistema más controlado, porque la temperatura regula el metabolismo de los organismos. Muestra con semillas de ostión (5) colocadas en una bolsa elaborada de malla de polietileno. Software diseñado a solicitud (6) que conecta la computadora y los sensores. Dimmer (7) para regular manualmente el flujo de agua de la bomba dentro de la cámara. Computadora (8) está conectada al software y recopila los datos en un programa que se llama Vb_Oxígeno.

(B) Cámara de incubación en una prueba medición en el laboratorio con caracoles de mar.

C) Diseño completo tomando datos de metabolismo de semillas de ostión.

Con el fin de evaluar el desempeño del diseño de la cámara y del software de adquisición de datos, se realizaron diversas pruebas de funcionamiento. Los resultados indicaron que ambos sistemas operaron de manera óptima para la realización de incubaciones, asegurando un registro confiable de las variables experimentales necesarias para el cálculo de las tasas de respiración y calcificación. A continuación, se presentan las pruebas realizadas y sus respectivos resultados.

Variabilidad en el Diseño

La variabilidad en el sistema de medición debe ocurrir naturalmente (fig.8). En el contexto de este estudio observamos una TACO en el tiempo de incubación (15 min por réplica; fig. 9 y 10). El modelo de regresión lineal entre el oxígeno y el tiempo fue negativo, es decir, a medida que el tiempo aumentaba, el oxígeno disminuía. Este patrón era el esperado, ya que indica la dominancia del proceso de respiración.

En el caso del mV fue disminuyendo a valores negativos en el tiempo, lo cual fue una señal de una disminución del pH básico de agua de mar a valores más ácidos (fig. 11

y 12). Sin embargo, los valores de mV se comportaron muy fluctuantes indicando una disminución leve en el pH, además representa un aumento en el CID y sus variables del sistema del carbono.

Con respecto a la temperatura, esta se mantuvo más estable entre valores de 21 a 26 °C en los días de muestreo, indicando que existió un buen control en el sistema para la recolección de datos (anexo 2 y 3). Cabe mencionar que esta baja variabilidad en las series de tiempo recolectadas por los sensores fue posible por la bomba de agua que mantuvo una buena mezcla (homogénea) del agua dentro de la cámara de incubación.

7.2. Desempeño de los Sensores en la Colecta de Datos: Exactitud y Precisión

En la evaluación del desempeño de los sensores se observó que el sensor de pH presentó un comportamiento nernstiano cercano al teórico, confirmando su adecuada respuesta bajo diferentes concentraciones de protones (Fig. 6). El sensor de oxígeno mostró una exactitud aceptable a los esperados en un 100 % como a 0 % de saturación de O₂. En ambos casos se identificaron offsets, correspondientes a errores constantes, los cuales fueron aceptables para la aplicación experimental. La precisión de los sensores se reflejó en una baja variabilidad entre réplicas, mientras que el ruido o error aleatorio, se mantuvo en niveles bajos. Estos resultados apoyan que las mediciones realizadas de indicadores de metabolismo son confiables. Los valores para cada sensor, los blancos y el ruido se presentan y detallan a continuación.

Sensor de pH

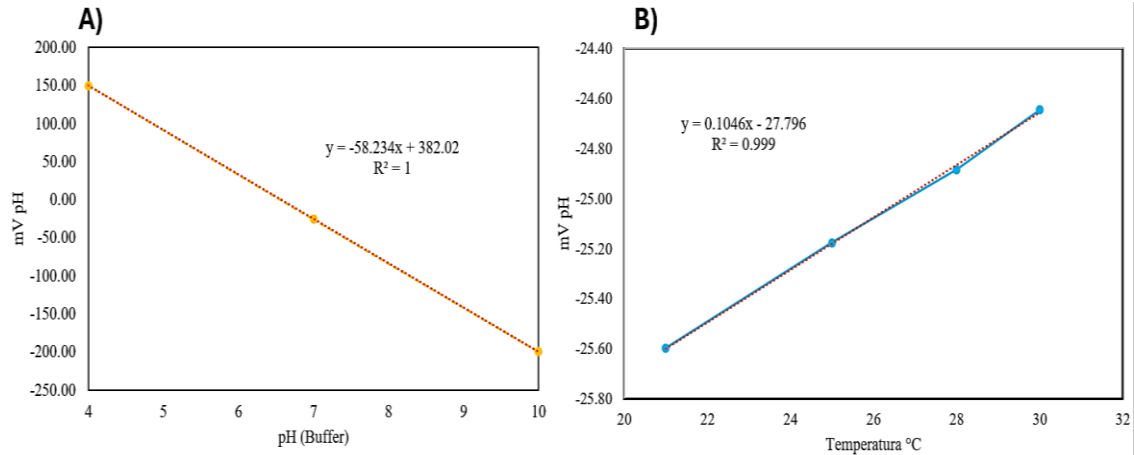


Figura 6. Exactitud del sensor de pH. A) El voltaje medido (mV) con los valores de pH de las soluciones amortiguadoras (pH 4, 7 y 10) a 25 °C). B) Evaluación del comportamiento del sensor a tres temperaturas distintas (25, 28 y 30 °C) para verificar la estabilidad y respuesta del pH (en este caso, pH 7; ver inset A) ante cambios térmicos. El ajuste del modelo fue significativo ($p < 0.05$), es decir que el modelo describió bien la relación entre mV y el pH, así como la temperatura.

En la figura 6, inciso A podemos observar que la ecuación es $y = -58.234x + 382.02$, que comparado con el valor de la ecuación ideal Nernts (-59.16 mV por unidad de pH a 25 °C) el offset encontrado es de -0.93 mV (Dickson et al., 2007). Este resultado sugiere que el sensor estaba funcionando correctamente, además de que sus resultados fueron adecuados respecto al diseño de la cámara de incubación, y por lo tanto, para la evaluación de las tasas metabólicas. En el inciso B se observan los valores de mV del pH 7 en el eje y, en contraste con las temperaturas 25, 28, 30 °C en el eje x. El resultado de la ecuación del inciso B, indica que a medida que la temperatura aumenta el pH cambia en 0.1046 unidades de $\text{pH } ^\circ\text{C}^{-1}$.

La precisión del sensor de pH se validó por la baja variabilidad observada en los valores iniciales de cada incubación, así como por la consistencia de los datos durante la repetibilidad a lo largo de cada período de incubación. Al analizar las series de tiempo, el pH no presentó variaciones significativas (Fig. 11 y 12; Tabla 1). Además, los valores iniciales registrados en los blancos del 27 de febrero (ASR) y del 1 de marzo (AFC) se mantuvieron constantes, dentro de un pH de 7 y una diferencia 0.2 unidades de pH entre el valor final e inicial (Anexo 1). El rango del ruido del sensor estuvo entre -0.007 y 0.01 unidades de pH, lo que corresponde a un error de ± 0.008 unidades de pH (inciso B, figura 8). Además, las anomalías más grandes se encontraron a 3 y 2 desviaciones estándar respecto a la media suavizada, y localizadas principalmente en los minutos 0, 1 y 3.

Sensor de Oxígeno

El offset del sensor de oxígeno Aanderaa fue de 10 % y 27 % respecto al valor teórico para saturaciones de oxígeno del 0 % y 100 %, respectivamente. Esto representa una sobreestimación de 23 μM y 62 μM para las saturaciones mencionadas. Los valores teóricos se calcularon considerando una salinidad de 35, 21 °C, presión hidrostática de 0 atm (nivel del mar) y presión atmosférica estándar de 1 atm (1013.25 hPa).

La precisión del sensor se verificó mediante la similitud de valores iniciales y la tendencia de disminución de oxígeno a lo largo de cada incubación (figuras 9 y 10, las cuales incluyen el corte 4 de cada incubación). En la figura 9, correspondiente a las réplicas en ASR, los valores iniciales oscilan entre 334 y 341 μM , lo cual es consistente con el valor del blanco registrado el 27 de febrero, de 340 μM (figura 9). Por otro lado, en AFC (figura 10) la variación inicial fue mayor, con valores entre 370 y 410 μM , aunque

estos también son comparables con el valor del blanco de 385 μM registrado el 1 de marzo y una diferencia de 7.49 μM entre el valor final e inicial (figura 7). El rango del ruido del sensor estuvo entre -0.087 a $+0.11$ μM , lo que corresponde a un error de ± 0.098 μM (inciso A, figura 8). Las anomalías más significativas de aproximadamente dos desviaciones estándar de la media suavizada, se presentaron en los minutos 0 y 3.

Blancos

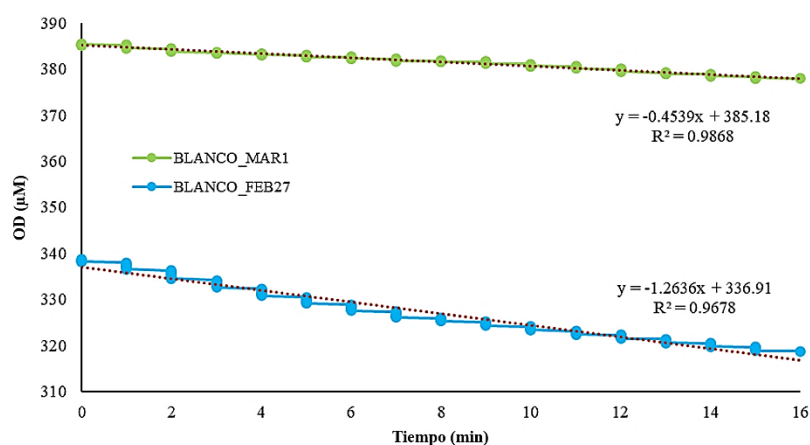


Figura 7. Blancos en AFC del día 1 de marzo (línea verde claro) y en ASR del día 27 de febrero (línea celeste). Ambas líneas muestran una ligera tendencia, siendo mayor en ASR que en AFC (-1.26 vs. -0.45 $\mu\text{M min}^{-1}$, respectivamente).

En la figura 7 se presentan dos blancos a manera de ejemplo, uno correspondiente al AFC del 1 de marzo (línea verde) y otro al ASR del 27 de febrero (línea azul). La serie azul muestra concentraciones de oxígeno más altas y una varianza menor, lo que indica que los datos están más próximos a la media y presentan menor dispersión. En contraste, la serie verde presenta concentraciones de oxígeno más bajas y una varianza mayor, lo cual refleja una mayor dispersión de los datos respecto a su media. Esta diferencia sugiere que

en el blanco de ARS existe un consumo adicional de oxígeno, probablemente causado por la presencia de microorganismos distintos a las semillas de ostión, como alguna comunidad bacteriana que habita en el sistema de recirculación. Estos microorganismos también fueron observados en todas las réplicas de este tipo de agua. Por ello, las series de tiempo de oxígeno fueron corregidas por réplica, utilizando como referencia el blanco de agua filtrada.

En el blanco en AFC del día 1 de marzo, el análisis de regresión lineal fue estadísticamente significativo ($F(1,92) = 6872.48, p < 0.05$). El modelo explicó el 98.7% de la variabilidad del oxígeno ($R^2 = 0.987$). Los resultados mostraron que el OD disminuye $-0.45 \text{ uM min}^{-1}$ significativamente con el tiempo. La pendiente estimada fue de -0.4539 (IC 95%: -0.4648 a -0.4430), lo cual da certeza sobre la tendencia descendente observada del OD, también en el blanco.

En el blanco de ASR del día 27 de febrero, el análisis de regresión lineal mostró una relación significativa entre el tiempo y el OD ($F(1,92) = 2764.60, p < 0.05$). El modelo explicó el 96.8% de la variabilidad del oxígeno ($R^2 = 0.968$). La pendiente del modelo fue de -1.2636 (IC95%: $[-1.3114, -1.2159]$), lo que sugiere que el OD disminuyó en promedio $-1.26 \text{ uM min}^{-1}$. Estos resultados evidencian un patrón de descenso constante del oxígeno a lo largo del tiempo.

Los resultados de las reducciones de OD en el tiempo indican que hay más evidencia de actividad biológica en el ASR ($-1.26 \text{ uM min}^{-1}$) que en el AFC ($-0.45 \text{ uM min}^{-1}$). Esto indica que TACO fue mayor en ASR que en AFC.

Ruido

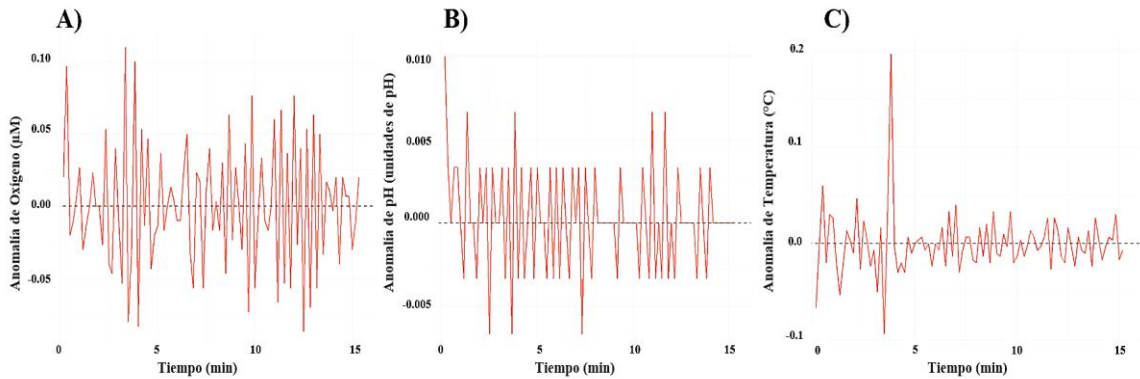


Figura 8. Ruido asociado a los valores del blanco en AFC para: A) OD (μM), B) pH (escala NBS) y C) temperatura ($^{\circ}\text{C}$), cada uno acompañado de su correspondiente media móvil.

La media móvil (anexo 2) fue empleada para calcular el ruido del sensor. Al comparar la señal original con la media móvil, se logró una identificación más precisa de las variaciones aleatorias (ruido), lo que facilitó interpretar la tendencia del oxígeno, desligada de procesos biológicos y atribuible solamente al sensor.

En la figura 8 se muestran las fluctuaciones del OD, pH y temperatura en relación con su media móvil durante una incubación sin organismos (blanco) en AFC, y que representan el ruido característico de cada sensor. Las anomalías, ruido, error y diferencias entre el valor final e inicial, del pH y OD se mencionan en la sección correspondiente a cada sensor. En cuanto a la temperatura en el blanco del 1 de marzo, las anomalías se encontraron a ± 2 SD, el ruido osciló entre -0.093 y $+0.197$ $^{\circ}\text{C}$, correspondiente a un error de ± 0.145 $^{\circ}\text{C}$ y la diferencia fue de 1.25 $^{\circ}\text{C}$.

7.3. Caso de Estudio: Desempeño de los Sensores Dentro de la Cámara de Incubación

Esta sección de resultados muestra el análisis de las series de tiempo, el cual se realizó de forma independiente para cada variable registrada en las bases de datos por tipo de incubación, separándose estas por condición de agua en: (a) ARS durante los días 27 y 28 de febrero, y (b) AFC durante los días 1 y 2 de marzo. Las variables obtenidas en cada base de datos fueron: fecha, hora, OD, saturación de oxígeno, mV de pH y temperatura. El análisis se centró en evaluar las TACO a lo largo del tiempo (horas/minutos) y el cambio de pH, dado que este último influye en el sistema de carbonatos y, por ende, en la tasa de calcificación. La temperatura se consideró como una variable de control en cada incubación, con el fin de evitar alteraciones no lineales en el metabolismo que pudieran distorsionar la interpretación de los resultados.

Series de Tiempo del OD

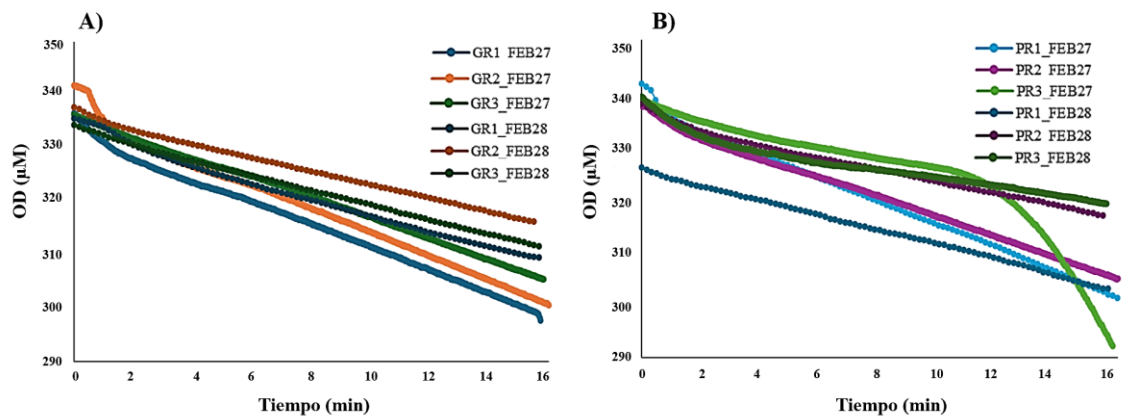


Figura 9. Series de tiempo de OD en ARS (27 y 28 de febrero del 2025) donde se observa una marcada disminución en concentración de oxígeno en grupos grandes (GR; inciso A) y pequeños (PR; inciso B), con tres replicas cada uno.

La evolución temporal del OD en el ASR (figura 9), muestra un comportamiento similar entre las diferentes series de tiempo. Además, en la figura 9 se puede observar que la mayoría de series de tiempo empiezan con valores iniciales de OD, entre 334 a 341 μM , a excepción de una réplica (PR1, día 28 de febrero), la cual empieza en niveles más bajos. Otra serie de tiempo de OD que resalta es PR3 (réplica 3 del grupo de ostiones pequeños del día 27 de febrero), incluso después de realizar el corte 4, aún no presentaba un tiempo de acondicionamiento, debido a que su comportamiento no fue lineal. La réplica PR1_FEB27 representa la TACO más baja de todas las réplicas con 0.16 μM .

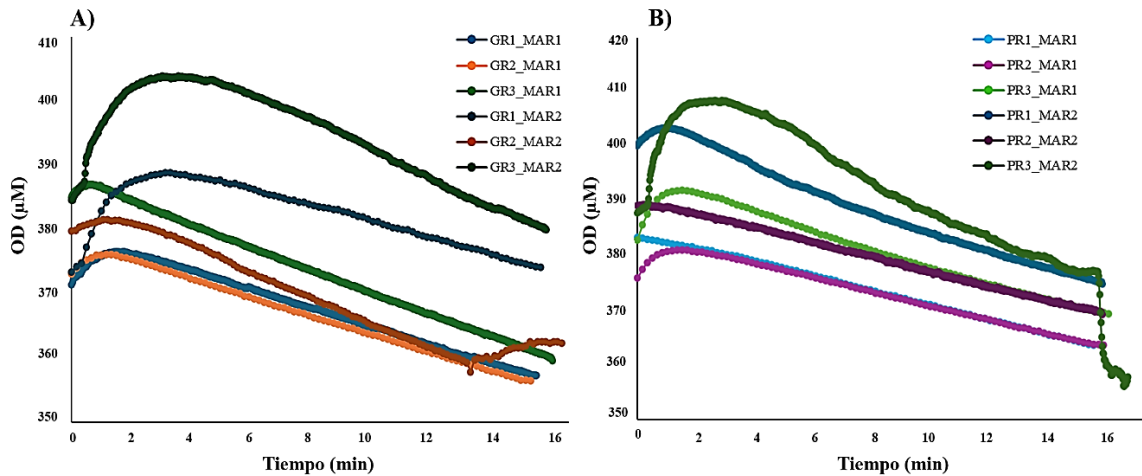


Figura 10. Series de tiempo de OD en AFC (1 y 2 de marzo del 2025) en grupos grandes (GR; inciso A) y pequeños (PR; inciso B).

El comportamiento de las series de tiempo de OD de los días 1 y 2 de marzo, que corresponden a mediciones con AFC, mostraron un comportamiento lineal similar a los datos de ASR. Sin embargo, la concentración inicial de OD mostró una mayor variabilidad entre réplicas. Esa variabilidad no se debió a una deriva del sensor de OD, ya que los blancos no mostraron este patrón. Un factor relacionado con el tiempo de

acondicionamiento del AFC, el diferente ajuste de la temperatura entre réplicas, o el burbujeo de oxígeno, pueden explicar la variabilidad observada. Con respecto a su funcionamiento, como se aprecia en la figura 10, el aumento de la TACO es evidente en el tiempo, en todas las réplicas.

Series de Tiempo de pH

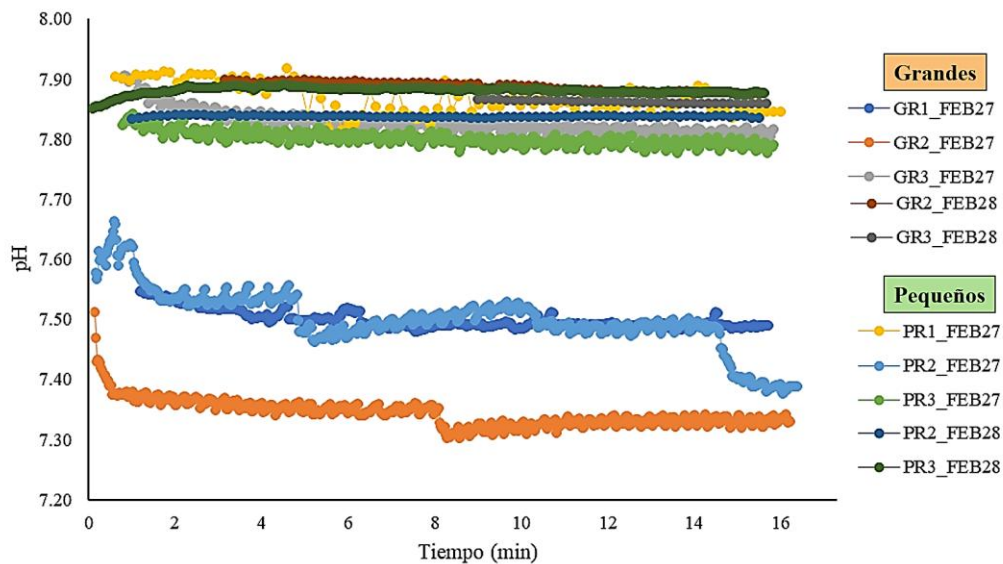


Figura 11. Serie de tiempo de pH de los grupos grandes y pequeños en ASR (27 y 28 de febrero).

En la figura 11 se observa los datos de pH en el ASR. Los datos de la mayoría de replicas indican que su variabilidad es pequeña y sus valores se encuentran entre 7.77 a 7.90 unidades de pH. Exceptuando a las incubaciones (esto es, GR1_FEB27, GR2_FEB27 y PR2_FEB27), las cuales mostraron un comportamiento muy variable, en comparación con el resto de las pruebas.

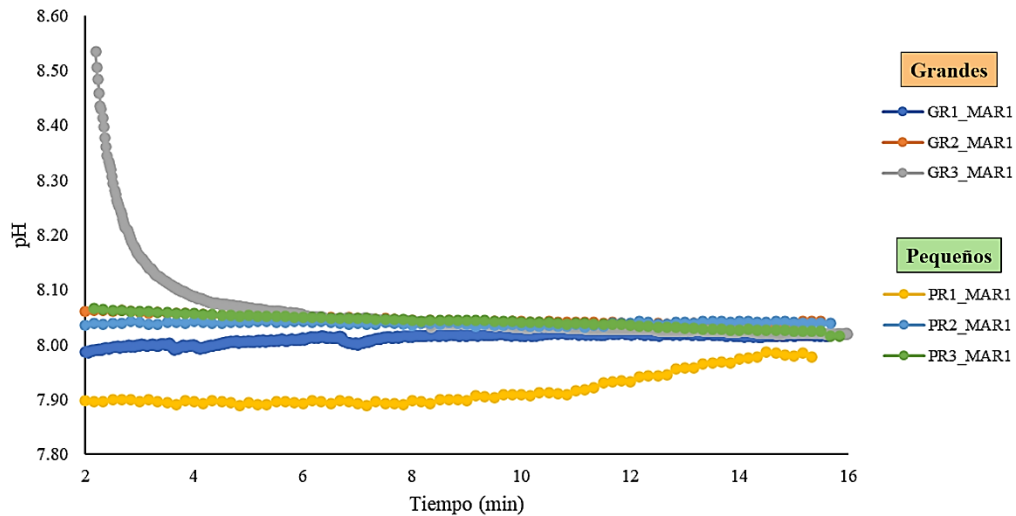


Figura 12. Serie de tiempo de pH de los grupos grandes y pequeños en AFC (1 de marzo).

Por otra parte, en la figura 12 se observa los datos de pH de las réplicas en AFC. En este tratamiento, se observa poca variabilidad en los datos, manteniéndose en un rango entre 8.00 a 8.10, similar al valor de agua de mar, con un pH de ~8. Esto con excepción de algunas réplicas (PR1_MAR1) en las cuales los datos de pH son relativamente más bajos o donde el pH fluctúa fuertemente (GR1_MAR1).

Desempeño de las Series de Tiempo de OD: Criterios de Inclusión

En el análisis de las series de tiempo de OD y pH se determinó el patrón de las TACO y la dinámica del pH a lo largo del tiempo. Para optimizar la interpretación de las tendencias, las series fueron segmentadas en cortes definidos en función del coeficiente de determinación (R^2) obtenido mediante un ajuste de regresión lineal. Se identificaron cortes numerados del 4 al 5, aunque no todas las series contienen la totalidad de ellos. El corte 4 resultó interesante, ya que presenta el mayor valor de R^2 , lo que indica un ajuste más robusto al modelo lineal y, por tanto, mayor confiabilidad.

En la siguiente sección se describen los criterios de inclusión de cada corte, ilustrados con el caso de la incubación PR1_FEB27 en ASR.

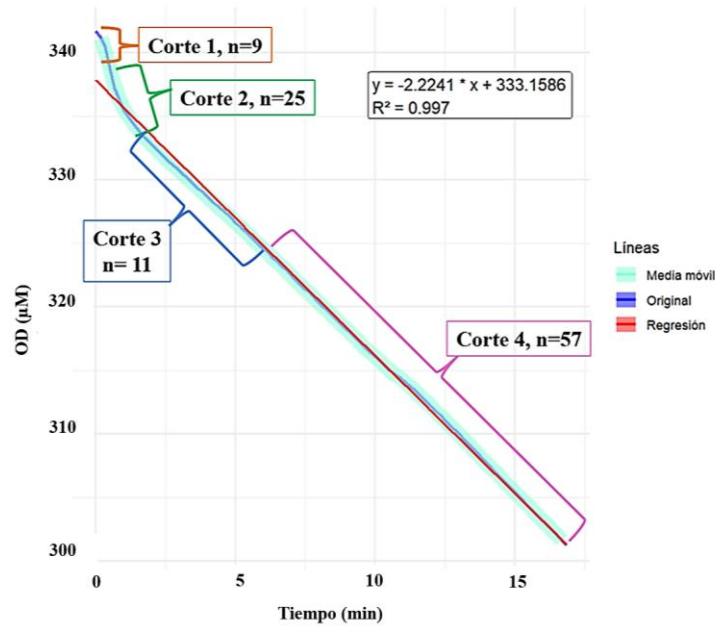


Figura 13. Identificación de los segmentos (cortes) de datos de oxígeno disuelto (OD), tomando como ejemplo la réplica PR1_FEB27, correspondiente a una incubación con ASR. Las líneas representan la serie original (azul), el suavizado mediante media móvil (aguamarina) y la regresión lineal aplicada al segmento de consumo (datos del corte 4; línea roja). En el recuadro se observa la ecuación del modelo y el buen ajuste de los datos. El color de los recuadros indica el número de datos incluidos en cada sección identificada.

En la figura 13, para serie temporal de OD (μM), se muestra un ejemplo de la limpieza de datos con cuatro cortes, cada uno representando una cantidad de muestra (n) y una fase específica del experimento:

- **Corte 1 (n=9):** Corresponde a datos de basura o ruido inicial del sensor, que fueron descartados por su alta variabilidad e inconsistencia con el comportamiento esperado.
- **Corte 2 (n=25):** Incluye los primeros valores estables del sensor, pero antes del acondicionamiento completo, por lo que pueden presentar una ligera deriva.
- **Corte 3 (n=11):** Representa el periodo de estabilización o acondicionamiento del sensor, donde el OD comienza a mostrar una tendencia más consistente y con una variación significativamente pequeña.
- **Corte 4 (n=57):** Es el tramo principal de interés, que muestra un descenso progresivo y lineal en la concentración de OD, correspondiente al consumo metabólico en la cámara de incubación. Este segmento es el que se utiliza para el cálculo de tasas metabólicas, debido a su alto ajuste con el modelo lineal aplicado.

Las líneas representan la serie original (azul), el suavizado mediante media móvil (aguamarina) y la regresión lineal aplicada al segmento de consumo (línea roja). Este análisis detallado permitió una selección objetiva de los datos útiles y una mejora de la precisión en la estimación de las TACO y de las demás variables. Esto se observa como un excelente ajuste de los datos en el modelo con un 99.7%. En consecuencia, la banda del intervalo de confianza es estrecha, indicando una alta precisión del modelo.

Es importante mencionar que aun después de los 4 cortes realizados en el control de calidad de datos las réplicas PR3_MAR2 y GR2_MAR2 muestran un comportamiento errático al final de la serie de tiempo. Estas réplicas tienen datos que fueron registrados después de la incubación, cuando la cámara se abrió para tomar datos de la réplica siguiente, dichos datos fueron descartados y no se incluyeron en el análisis de las tasas metabólicas. En la figura 14, se muestran dos ejemplos de regresiones lineales de la variable OD y las réplicas GR3_FEB27 y PR1_FEB28, solo con datos del corte 4.

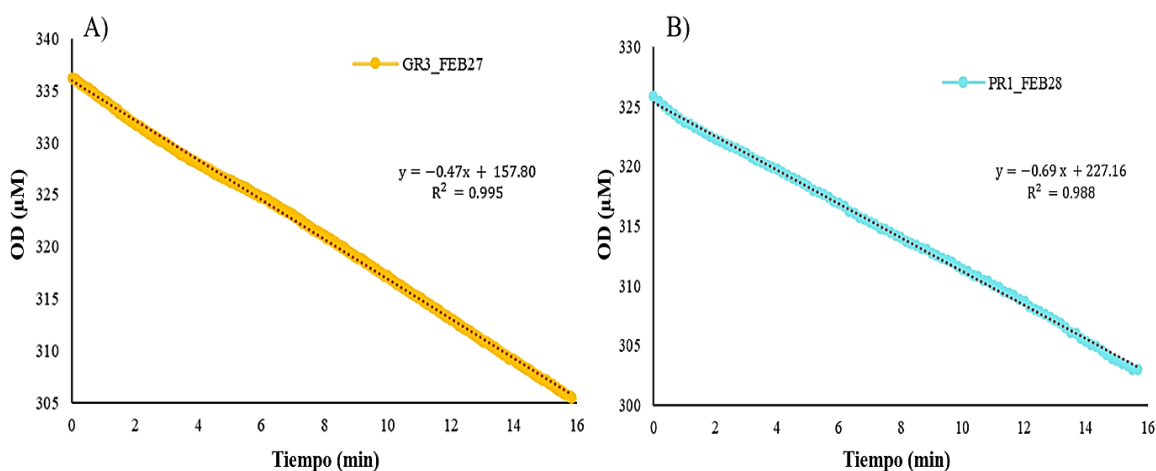


Figura 14. Series de tiempo de OD de los cortes 4, A) representa al grupo de grandes réplicas 3 del 27 de febrero y B) representa a pequeños replica 1 del día 28 de febrero, ambas en ASR.

Adicionalmente, el análisis de regresión lineal para la sección denominada “corte 4” de cada réplica mostraron un buen ajuste de los datos al modelo lineal propuesto. En la figura 14, inciso A, se observa una regresión significativa de $OD = -0.47 \cdot \text{min} + 157.80$, con una R^2 de 0.995. Mientras que, en la figura 14, inciso B, la ecuación de la regresión lineal es $OD = -0.69 \cdot \text{min} + 227.16$, con una R^2 de 0.988. En ambos casos la pendiente de la ecuación muestra el valor negativo, indicando la TACO. Este patrón es el mismo

para todas las réplicas en ASR o AFC, estos datos se pueden ver en la tabla 3, por lo que se asumió que tanto el diseño de la cámara como el software de adquisición de datos funcionaron adecuadamente.

Resultados por Réplica del Caso de Estudio: Incubaciones de Semillas de Ostión

Tabla 2

Promedio (\bar{x}) y desviación estándar ($\pm SD$) de los datos de la variable pH de cada réplica del corte 4.

Grupo	Agua	Fecha	Réplica	pH ($\bar{x} \pm SD$)
GRANDES	ASR	27/02/2025	GR1_FEB27	7.49 \pm 0.01
			GR2_FEB27	7.34 \pm 0.01
			GR3_FEB27	7.83 \pm 0.01
		28/02/2025	GR1_FEB28	7.79 \pm 0.03
			GR2_FEB28	7.89 \pm 0.007
			GR3_FEB28	7.86 \pm 0.002
AFC	1/3/2025	GR1_MAR1	8.01 \pm 0.01	
		GR2_MAR1	8.05 \pm 0.008	
		GR3_MAR1	8.05 \pm 0.01	
PEQUEÑOS	ASR	27/02/2025	PR1_FEB27	7.87 \pm 0.01
			PR2_FEB27	7.49 \pm 0.01
			PR3_FEB27	7.80 \pm 0.01

		28/02/2025	PR1_FEB28	8.32 ± 0.44
			PR2_FEB28	7.84 ± 0.001
			PR3_FEB28	7.88 ± 0.006
	AFC	1/3/2025	PR1_MAR1	7.70 ± 0.01
			PR2_MAR1	8.04 ± 0.002
			PR3_MAR1	8.04 ± 0.01

**Se excluyeron los valores de pH del día 2 de marzo por un error técnico a la hora de tomar las mediciones.*

En la Tabla 1 se presentan los valores de pH del corte 4. Se observa que, durante los días en los que se utilizó ASR, el pH del sistema se mantuvo consistentemente por debajo de 8. En contraste, durante los días en los que se utilizó AFC (carente de organismos presentes en el agua que pudieran alterar significativamente la química del sistema) los valores de pH se mantuvieron cercanos a un valor promedio del agua de mar en equilibrio con la atmósfera. Cabe destacar que estas observaciones concuerdan con las tendencias visualizadas en las figuras 12 y 13, donde se analiza la variación temporal del pH bajo ambos regímenes de tratamiento.

Tabla 3

Promedio (\bar{x}) y desviación estándar ($\pm SD$) de los datos de las variables concentración de OD, mV y temperatura, con su desviación estándar, por réplica del corte 4.

Grupo	Agua	Réplica	OD ($\bar{x} \pm SD$)	mV ($\bar{x} \pm SD$)	Temperatura ($\bar{x} \pm SD$)
G R	AS	GR1_FEB27	314.7±8.92	-52.03±0.89	26.46±0.66

		GR2_FEB27	311.4±6.47	-42.76±1.29	26.35±0.47
		GR3_FEB27	320.5±8.54	-71.28±1.18	24.88±0.06
		GR1_FEB28	318.9±5.94	-69.74±2	28.05±0.79
		GR2_FEB28	321.8±3.31	-74.93±0.47	25.55±0.67
		GR3_FEB28	321.8±6.08	-73.36±0.94	25.03±0.05
		GR1_MAR1	362.7±3.26	-82.06±0.64	24.47±0.27
	AFC	GR2_MAR1	363±3.99	-84.34±0.51	25.13±0.03
		GR3_MAR1	383.5±2.48	-84.47±4.93	24.6±0.05
		GR1_MAR2	380.6±3.79	---	21.64±0.30
		GR2_MAR2	368.1±5.28	---	21.51±0.25
		GR3_MAR3	391.7±6.93	---	21.64±0.16
		PEQUEÑOS	ASR	PR1_FEB27	311.5±5.92
PR2_FEB27	319.1±8.57			-51.79±3.13	25.58±0.49
PR3_FEB27	292.2±9.94			-69.82±0.67	25.38±0.14
PR1_FEB28	310.5±4.38			---	25.39±0.33
PR2_FEB28	324.5±4.47			-72.2±0.08	26.67±0.05
PR3_FEB28	324.7±3.17			-74.47±0.36	25.08±0.03
AFC	PR1_MAR1		373.3±5.66	-76.47±1.80	24.19±0.17
	PR2_MAR1		369.6±3.72	-83.9±0.16	25.18±0.09
	PR3_MAR1		375.4±3.75	-84.13±0.73	25.44±0.22
	PR1_MAR2		384.9±6.19	---	21.57±0.26
	PR2_MAR2		379.1±5.60	---	21.86±0.08

		PR3_MAR2	390.7±9.73	---	21.33±0.17
--	--	----------	------------	-----	------------

**Se excluyeron los valores de promedio (\bar{x}) y desviación estándar ($\pm SD$) de mV de varias réplicas por un error técnico a la hora de tomar las mediciones del sensor de pH.*

En la Tabla 2 se presentan los valores promedio, junto con su desviación estándar, de las variables de OD, mV de pH y temperatura del corte 4. Al igual que los resultados en la tabla 1, durante los días del experimento con ASR, las concentraciones promedio de OD fueron menores en comparación con las obtenidas con AFC. Este mismo patrón se observa para los valores de mV, donde los promedios en ASR son más bajos que en AFC. Cabe destacar que, para el día 2 de marzo, se registraron valores anómalamente altos de mV debido a un error técnico durante la toma de datos, por esta razón, dichos datos no fueron incluidos en la tabla 1.

En cuanto a la temperatura, se observa que el AFC fue, en general, ligeramente más fría que el ASR utilizada en el sistema de cultivo de semillas de ostión, con la excepción de la réplica GR3_FEB27.

Tabla 4

Valores máximos, mínimos y la diferencia entre el valor final (Fin.) y el inicial (In.) de las concentraciones de OD por réplica para el corte 4. Además, de la ecuación del modelo, R^2 , TACO en μM y nTACO normalizada por peso en $\mu\text{M g}^{-1}\text{min}^{-1}$.

Réplica	Fin. (μM)	In. (μM)	Dif. (μM)	Ecuación del modelo	TACO (μM)	nTACO ($\mu\text{M g}^{-1}$)	R^2
GR1_FEB27	330.8	397.7	33.1	$y = -0.47x + 157.80$	-0.47	-0.19	0.9945
GR2_FEB27	322.5	300.1	22.4	$y = -0.44x + 149.67$	-0.44	-0.18	0.9901

GR3_FEB27	335.5	305.4	30.1	$y = -0.52x + 176.09$	-0.52	-0.21	0.995
GR1_FEB28	329.9	309.6	20.3	$y = -0.66x + 219.55$	-0.66	-0.27	0.9925
GR2_FEB28	327.4	316.3	11.1	$y = -0.79x + 265.28$	-0.79	-0.32	0.9977
GR3_FEB28	332.8	311.6	21.2	$y = -0.72x + 238.98$	-0.72	-0.29	0.995
GR1_MAR1	368.4	357.3	11.1	$y = -0.71x + 269.26$	-0.71	-0.29	0.9827
GR2_MAR1	369.7	356.6	13.1	$y = -0.72x + 271.36$	-0.72	-0.29	0.9896
GR3_MAR1	387.1	379.1	8	$y = -0.57x + 222.73$	-0.57	-0.23	0.9945
GR1_MAR2	387	374.2	12.8	$y = -0.79x + 312.66$	-0.79	-0.32	0.99
GR2_MAR2	377.4	359.3	18.1	$y = -0.51x + 195.11$	-0.51	-0.21	0.9873
GR3_MAR2	402.9	380	22.9	$y = -0.46x + 192.14$	-0.46	-0.19	0.9892
PR1_FEB27	321.4	301.3	20.1	$y = -0.45x + 151.01$	-0.47	-1.72	0.9875
PR2_FEB27	334.9	302.4	32.5	$y = -0.53x + 176.96$	-0.53	-2.03	0.9946
PR3_FEB27	325.4	292.2	33.2	$y = -0.16x + 62.88$	-0.16	-0.61	0.9231
PR1_FEB28	317.9	303	14.9	$y = -0.69x + 227.16$	-0.69	-2.64	0.9885
PR2_FEB28	332.6	316.8	15.8	$y = -0.88x + 293.97$	-0.88	-3.37	0.9983
PR3_FEB28	331	319.1	11.9	$y = -1.21x + 400.51$	-1.21	-4.64	0.9868
PR1_MAR1	382.5	363.7	18.8	$y = -0.74x + 285.25$	-0.74	-2.84	0.9945
PR2_MAR1	376	363.7	12.3	$y = -0.77x + 296.30$	-0.77	-2.95	0.9892
PR3_MAR1	382.1	369.4	12.7	$y = -0.68x + 265.07$	-0.68	-2.61	0.9846
PR1_MAR2	397	374.9	22.1	$y = -0.55x + 222.07$	-0.55	-2.11	0.9869
PR2_MAR2	388.6	369.4	19.2	$y = -0.74x + 288.69$	-0.74	-2.84	0.9945
PR3_MAR2	408	377	31	$y = -0.36x + 150.73$	-0.36	-1.38	0.9903

***Nota:** En la columna grandes empieza con GR y pequeños con PR. El agua ARS son de los días FEB27 y FEB28, mientras que el AFC son los días MAR1 y MAR2. Los valores en negritas corresponden a la ecuación del modelo de su respectiva réplica. En particular, PR3_FEB27 presenta el valor mínimo y PR3_FEB28 el máximo. Estas réplicas no son comparables entre sí ni con los demás días, por lo que su interpretación debe realizarse con precaución, ya que reflejan fallos técnicos durante la medición con el sensor de oxígeno.

En la Tabla 3 se observa que las concentraciones iniciales de OD fueron mayores en los días del experimento que utilizaron AFC, en comparación con aquellos en los que se usó ASR. Esta diferencia puede atribuirse a la TACO por parte de los organismos presentes (semillas de ostión y otros microorganismos presentes en el agua de mar) en el ASR, mientras que, en el caso del AFC, tomada directamente desde una manguera, el proceso de llenado pudo haber inducido una sobreoxigenación por burbujeo, elevando así las concentraciones iniciales de OD. Respecto a las concentraciones finales de OD, que representan los valores mínimos en las series de tiempo, se observan mayores variaciones entre réplicas. No obstante, en todos los casos fue evidente una disminución del OD a lo largo del tiempo, como resultado del proceso biológico de respiración. Además, el coeficiente de determinación (R^2), indica un buen ajuste de cada modelo de los datos por réplica, donde todas las TACO de las diferentes réplicas fueron significativas (< 0.05) dentro de cada conjunto de datos.

TACO

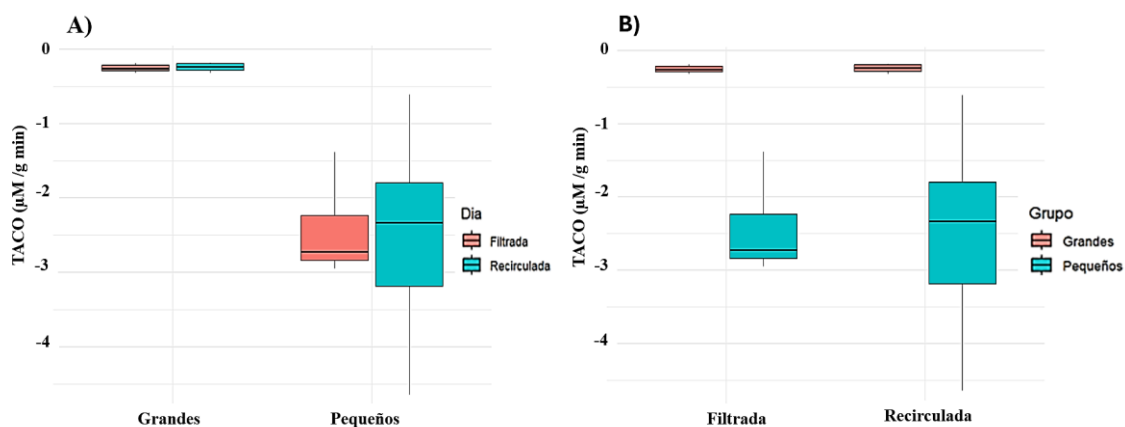


Figura 15. Diagramas de caja y bigotes de la TACO ($\mu\text{M g}^{-1}\text{min}^{-1}$). En A se muestra el contraste de la TACO entre organismos grandes y pequeños, con el color indicando el tipo

de agua en los días de muestreo. Mientras que en B se muestra la comparación de TACO entre experimentos realizados con AFC y ASR, donde el color representa el grupo de organismos (grandes o pequeños).

En la figura 15 se presenta TACO estandarizado por el peso de los organismos. En el inciso A, se observa que los organismos pequeños exhiben una mayor TACO, especialmente bajo condiciones de ASR, donde también se evidencia una mayor variabilidad. En el inciso B, TACO normalizado por unidad de peso muestra un comportamiento similar entre los tratamientos con ASR y AFC. En ambas figuras, el color de los puntos representa el valor de TACO, indicando que los organismos pequeños presentaron un valor TACO mayor. Estos resultados sugieren una posible interacción entre el tipo de agua y el tamaño de los organismos, siendo los efectos del tratamiento más notorios en individuos pequeños. Este patrón fue consistente en ambos gráficos, lo que resalta una sensibilidad distintas respecto al tipo de agua utilizada.

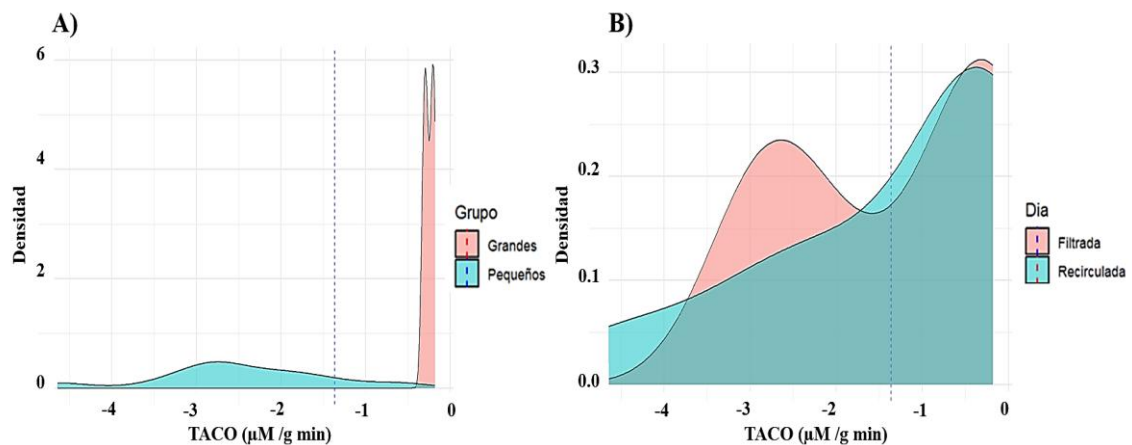


Figura 16. Diagramas de densidad de la TACO normalizado por peso ($\mu\text{M g}^{-1}\text{min}^{-1}$). En A se muestra la comparación de la TACO entre organismos grandes y pequeños. Y en B,

el contraste de la TACO entre tratamientos con AFC y ASR. La línea punteada representa la media considerando todos los datos de TACO.

La Figura 16 complementa el análisis presentado en la Figura 15, mostrando las curvas de densidad de la TACO. En el panel A se observa que los organismos del grupo pequeños presentan una distribución más amplia y asimétrica hacia valores negativos, lo que refleja una mayor variabilidad y valores más elevados de TACO. En contraste, el grupo grandes exhibe una distribución más estrecha y bimodal, con valores concentrados en torno a cero, lo que sugiere una menor actividad metabólica. El reducido solapamiento entre ambas curvas evidencia diferencias marcadas en la TACO de acuerdo con el tamaño de los organismos. Además, en la prueba t-Student para el análisis de los todos los datos TACO con el factor de grupo, se obtuvo que las medias de los dos grupos, grandes y pequeños son diferentes significativamente, con un estadístico $t_{11}=3.624$, $p < 0.05$.

En el panel B, la curva de densidad del tratamiento con ASR está desplazada hacia valores más negativos, con una distribución amplia, lo que sugiere una mayor TACO y una mayor dispersión de los datos. Por el contrario, la distribución del tratamiento con AFC es más simétrica y presenta una mayor concentración de valores en torno a la media. Aunque existe cierto solapamiento entre ambas curvas, la diferencia en la forma y el desplazamiento de las curvas sugiere un efecto del tipo de agua sobre la TACO. En ambos paneles, la línea punteada vertical representa la media global de TACO, que se sitúa en torno a $-0.2 \mu\text{M g}^{-1}$. Además, con respecto al análisis de contraste de medias de los datos TACO con el factor tipo de agua, los resultados sugieren que no existen diferencias

estadísticamente significativas entre los datos de TACO correspondiente al AFC y ASR, con $U = 74.5$ y $p = 0.907$, siendo > 0.05 .

Tasa de Calcificación

Las tasas de calcificación de las semillas de ostión se determinaron bajo dos condiciones de agua: ASR y AFC. En ASR, los datos mostraron una alta variabilidad y falta de repetibilidad entre réplicas, lo que impidió obtener estimaciones confiables; por ello, no fueron considerados en el análisis ni en la discusión. En cambio, con la condición de AFC se obtuvieron resultados consistentes que permitieron el cálculo de las tasas de calcificación. Conforme a la **ecuación 4**, la tasa promedio de calcificación en el grupo de grandes fue de $1.35 \pm 0.68 \mu\text{mol CaCO}_3 \text{ g}^{-1} \text{ min}^{-1}$, mientras que en el grupo de pequeños alcanzó $16.07 \pm 10.56 \mu\text{mol CaCO}_3 \text{ g}^{-1} \text{ min}^{-1}$.

Sin embargo, a pesar de las tasas de calcificación estimadas mediante la **ecuación 4**, se observó que el peso húmedo (PH) y las variaciones en la alcalinidad total (ΔAT , Anexo 6) ejercieron una influencia determinante en los resultados. En este contexto, las diferencias de AT estuvieron cercanos al umbral de error reportado para el método de titulación potenciométrica ($\pm 3 \mu\text{mol kg}^{-1}$). En consecuencia, dado que ΔAT constituye un indicador directo de la calcificación, se infiere que no existió una señal clara que respaldara la detección de una tasa de calcificación.

Contraste de CID con pH

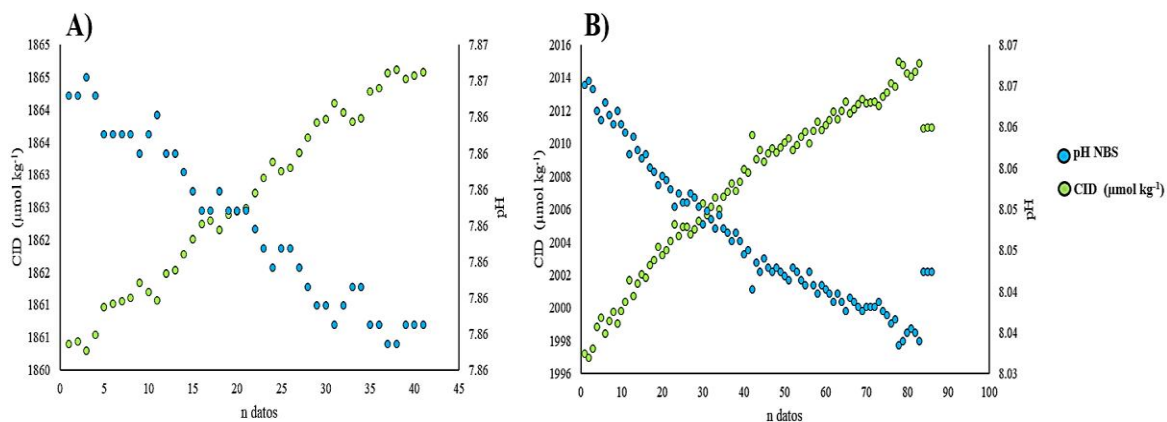


Figura 17. Análisis de la relación entre CID y pH del corte 4 de las réplicas. Se muestra los resultados de las réplicas A) GR3_FEB28 en ASR y B) GR2_MAR1 en AFC.

En la figura 17, podemos observar cómo el CID y el pH tienen un comportamiento inverso esperado durante las incubaciones, es decir, a medida que el CID sube el pH disminuye. El CID para cada réplica se obtuvo usando el CO₂SYST y las variables de AT interpolada y el pH. En el inciso A que representa una réplica en ASR, se observa que tiene valores de CID más bajos que en el inciso B, que corresponde a una réplica en el AFC. Este comportamiento también se observa en el pH entre ASR y AFC. La relación encontrada entre CID y pH indica que con el aumento de 1 µmol kg⁻¹ en CID, el pH disminuye en 0.0018 ± 0.0010 unidades de pH ($R^2 = 0.99$).

8 DISCUSIÓN

8.1. Funcionamiento del equipo como prototipo

Estabilidad

La temperatura es un factor abiótico clave en la regulación del metabolismo de los organismos acuáticos, pues controla la velocidad de las reacciones bioquímicas y, en consecuencia, la tasa metabólica (Pörtner, 2010). En general, temperaturas más altas aceleran los procesos metabólicos, mientras que temperaturas más bajas los ralentizan, reduciendo el consumo de oxígeno y la producción de energía (Liu et al., 2023). Por ello, el control de la temperatura en experimentos de evaluación metabólica resulta esencial para mantener condiciones fisiológicas adecuadas y asegurar la precisión de las mediciones de oxígeno disuelto (OD) y pH.

En este estudio, la estabilidad del sistema fue evaluada mediante el análisis de las mediciones registradas durante las incubaciones realizadas a lo largo de los distintos días del experimento, bajo condiciones controladas de temperatura. En todas las incubaciones, la temperatura se mantuvo dentro de un rango relativamente estable, entre 21 °C y 26 °C, con un promedio de 25 °C y una desviación estándar de ± 1.25 °C (anexos 2 y 3c). Estas condiciones térmicas constantes fueron fundamentales tanto para asegurar un entorno fisiológicamente adecuado para los organismos (similar a donde se desarrollan) como para garantizar una repetibilidad en las mediciones de OD y pH. Esto debido a que ambas variables son influenciadas por la temperatura, y cambios abruptos de esta introducen un factor adicional en sus mediciones, como se mencionó en el párrafo anterior.

El oxígeno disuelto (OD) es un factor clave para la supervivencia y el metabolismo de los organismos acuáticos, ya que es esencial para los procesos respiratorios y la producción de energía a nivel celular (Larance et al., 2025). Niveles adecuados de OD permiten mantener tasas metabólicas óptimas, mientras que concentraciones reducidas pueden limitar la actividad metabólica y afectar el crecimiento y la fisiología de los organismos (Pörtner, 2010; Larance et al., 2025). Las concentraciones de OD en el agua pueden variar debido a factores físicos y biológicos, como la temperatura, la salinidad, la mezcla del agua, la presencia de organismos fotosintéticos y la formación de burbujas durante el manejo experimental. En este estudio, los valores de oxígeno disuelto (OD) también mostraron una buena estabilidad y repetibilidad (precisión), al evaluar su concentración al inicio de cada incubación (Prochaska y Rudnick, 2024). En la condición de ASR, los valores iniciales promediaron $336 \pm 4.12 \mu\text{M}$, mientras que en AFC fueron ligeramente más variables, con un promedio de $389 \pm 10.85 \mu\text{M}$ (figuras 8 y 9). La mayor estabilidad observada en el ASR podría deberse a la constancia en su manejo dentro del sistema cerrado. En contraste, el llenado de la cámara con AFC podría haber inducido variaciones iniciales debido a la formación de burbujas no controladas, lo que explicaría la mayor variabilidad observada en las concentraciones iniciales de OD.

El pH del agua es un indicador clave de la química del carbono y de la actividad metabólica de los organismos acuáticos, ya que la respiración y la producción de CO_2 pueden alterar la acidez del medio (Dickson et al., 2007; Reuter et al., 2019). En estudios experimentales, el pH suele medirse indirectamente mediante electrodos que registran el potencial en milivoltios (mV) y luego se convierte a unidades de pH usando métodos

estandarizados, como el propuesto por Dickson (2007), asegurando precisión y comparabilidad en sistemas marinos.

En cuanto al pH, medido a través del potencial en milivoltios (mV), se observó un comportamiento estable a lo largo de cada incubación (figuras 13 y 14), aunque con ligeras variaciones entre tratamientos. En ASR, el pH osciló entre 7.77 y 7.90, mientras que en AFC los valores se mantuvieron entre 8.00 y 8.10, acercándose más al pH típico del agua de mar (≈ 8.2). Esta diferencia podría atribuirse a la naturaleza del ASR, donde se mantienen las semillas de ostión y, posiblemente, otros microorganismos que contribuyen a la TACO y a la producción de CO₂, lo que a su vez disminuye el pH. Por el contrario, el uso de AFC redujo significativamente la potencial carga biológica y microbiana, favoreciendo una mayor estabilidad en las condiciones químicas del sistema, por ende, estimaciones más precisas de las tasas metabólicas de las semillas de ostión.

En conjunto, estos resultados sugieren que la cámara de respirometría mantiene condiciones físico-químicas relativamente estables durante las incubaciones, lo que respalda su funcionalidad para evaluar procesos metabólicos en organismos calcificadores.

Ruido

El ruido instrumental fue evaluado mediante el análisis de las fluctuaciones puntuales de OD, pH y temperatura con respecto a su media móvil, lo que permitió aislar variaciones distintas a los procesos biológicos, y relacionados a la sensibilidad propia de los sensores. Estas fluctuaciones se mantuvieron dentro de rangos estrechos y con desviaciones estándar bajas de $\pm 0.0401 \mu\text{M}$ para OD, ± 0.0144 unidades para pH y \pm

0.0022 °C para temperatura. Estos valores indican un nivel bajo de ruido aleatorio, sin patrones sistemáticos en las variaciones, lo que confirma la estabilidad y precisión del sistema de medición del prototipo de cámara de respirometría propuesto en este estudio. Este bajo nivel de ruido instrumental es clave para garantizar la sensibilidad necesaria en la cuantificación de procesos metabólicos, asegurando que las variaciones observadas en las señales reflejen cambios biológicos reales, y no efectos asociados al sistema de detección.

Con respecto a la precisión del electrodo de pH de vidrio de combinación, el fabricante Metrohm, indica que es de ± 0.01 unidades de pH (Metrohm AG, s.f.). En nuestro estudio, se obtuvo una desviación estándar de los valores de pH ± 0.01 y una desviación estándar del ruido de ± 0.0144 unidades de pH, lo cual indica que es igual al valor especificado por el fabricante. Esta concordancia respalda la fiabilidad de los datos obtenidos. Es importante señalar que para el cálculo de la precisión no se incluyeron los datos correspondientes al 2 de marzo de 2025, debido a un error técnico reportado ese día (ver Tabla 1). Del conjunto de datos analizados, únicamente la réplica PR1_FEB28 presentó un error anómalamente alto, de ± 0.44 unidades de pH.

Respecto a la precisión del sensor óptico de oxígeno Aanderaa Optode, USA, el fabricante reporta una precisión nominal de $\pm 8 \mu\text{M}$ bajo condiciones de calibración estándar (Metrohm AG, s.f.). En nuestro estudio, aunque la desviación estándar de los datos de OD varió entre réplicas, el valor promedio fue de $\pm 5.40 \mu\text{M}$, mientras que la desviación estándar del ruido fue notablemente baja, con $\pm 0.0401 \mu\text{M}$. Los resultados presentados en la tabla 2, que incluyen la media y desviación estándar de OD,

evidenciando una excelente estabilidad y precisión en las mediciones realizadas. Estos hallazgos sugieren que, bajo las condiciones controladas de nuestra cámara de respirometría y gracias a una calibración y manipulación cuidadosas del sensor, es posible alcanzar un desempeño que en algunas réplicas supera el umbral de precisión declarado por el fabricante. Además, estos valores respaldan la fiabilidad de los datos utilizados para estimar los flujos metabólicos en las réplicas experimentales.

El sensor de temperatura PT-1000 (Atlas Scientific, USA) tiene una precisión nominal de ± 0.05 °C, según lo reportado por el fabricante. En nuestro estudio, como se muestra en la Tabla 2, el promedio de la desviación estándar de temperatura entre réplicas fue de ± 0.27 °C, superando la especificación nominal. Sin embargo, la desviación estándar del ruido fue considerablemente baja, con un valor de ± 0.0022 °C, lo que indica una alta estabilidad en las mediciones a corto plazo. Esta diferencia sugiere que las variaciones observadas se deben principalmente a condiciones experimentales y no a imprecisiones del sensor, lo cual respalda la fiabilidad de los datos térmicos utilizados en el análisis metabólico. Por lo que, en esta parte se recomienda tener un mayor control de la temperatura en cada incubación (por ejemplo, uso de cámaras con fijación de temperatura), aunque en nuestro estudio las temperaturas sí fueron estables.

Replicabilidad

La replicabilidad de las mediciones es un aspecto fundamental para validar la confiabilidad de los resultados obtenidos en estudios experimentales, especialmente en la evaluación de la actividad metabólica, donde pequeñas variaciones en variables fisiológicas pueden reflejar diferencias biológicas relevantes. Realizar múltiples

mediciones permite no solo estimar la variabilidad natural de los organismos, sino también identificar posibles errores instrumentales o artefactos experimentales, aumentando la precisión y la robustez de los resultados (Skoog et al., 2017).

En este trabajo, se evaluó a partir de la consistencia entre réplicas en las variables oxígeno disuelto (OD), temperatura y pH, bajo condiciones controladas en la cámara de respirometría. Como se muestra en la tabla 2, las desviaciones estándar promedio por variable fueron de $\pm 5.40 \mu\text{M}$ para OD, $\pm 0.27 \text{ }^\circ\text{C}$ para temperatura y ± 0.01 unidades para pH. A pesar de estas ligeras variaciones entre réplicas, los valores se mantuvieron dentro de rangos aceptables para este tipo de ensayos. Sin embargo, no todas las réplicas dieron datos confiables, como es el caso de todas las réplicas del día 2 de marzo y de la réplica PR1_FEB28 en valores de pH.

Adicionalmente, la evaluación del ruido calculado como la desviación estándar de la diferencia entre los datos originales y la serie de tiempo suavizada, mostró valores notablemente bajos, $\pm 0.0401 \mu\text{M}$ para OD, $\pm 0.0022 \text{ }^\circ\text{C}$ para temperatura y ± 0.01 unidades de pH. Estos resultados reflejan una alta estabilidad en las mediciones a corto plazo y sugieren que las variaciones entre réplicas se deben mayoritariamente a diferencias biológicas o experimentales, y no a errores instrumentales.

En conjunto, estos hallazgos demuestran que el sistema experimental, los sensores utilizados y el protocolo de recolección de datos permiten una alta replicabilidad. Esto respalda la solidez de los resultados y garantiza que las estimaciones de los flujos metabólicos se basen en datos confiables y reproducibles. No obstante, es importante considerar que siempre existe la posibilidad de errores técnicos o limitaciones en el diseño

experimental. En este estudio, por ejemplo, las réplicas realizadas en AFC presentaron señales más estables y limpias, lo que sugiere que esta condición experimental favorece una mayor replicabilidad de las mediciones.

8.2. Diseño: Comparando con Otras Cámaras de Respirimetría

Actualmente, existen diversos diseños de cámaras de respirometría, y aunque reciben distintos nombres, comparten el mismo objetivo: medir las tasas metabólicas de los organismos. Estas cámaras suelen ser construidas de acuerdo con el tipo de comunidad de estudio, lo que limita la posibilidad de comparar funciones ecosistémicas entre distintos hábitats bentónicos.

El objetivo de este estudio fue diseñar una cámara de respirometría sumergible para medir las tasas de respiración y calcificación en organismos calcificadores. Uno de los primeros diseños registrados data de 2003, una cámara de incubación bentónica portátil de gran tamaño, denominada SHARQ, que permitió el monitoreo durante 24 h de una comunidad bentónica. En esa propuesta se midieron parámetros como pH, OD, salinidad y temperatura (Yates y Halley, 2003).

Otro diseño portátil, denominado CISME, fue desarrollado por Dellisanti et al. (2020) con el fin de medir tasas de respiración, fotosíntesis neta y calcificación en sistemas arrecifales. Este diseño guarda similitudes con el del presente estudio, ya que incluye una bomba para regular el flujo de agua, un sensor óptico fluorescente con fibra óptica para medir OD (PreSens Precision Sensing GmbH), el sensor de pH Durafet (Honeywell Inc.) y un sensor de temperatura. Sin embargo, a diferencia del diseño aquí presentado, CISME

incorpora iluminación LED para medir fotosíntesis bruta en cada muestreo, con tiempos de incubación de 5 min para OD y 10 min para fotosíntesis.

Un diseño similar fue propuesto por [Murphy et al. \(2012\)](#), también bajo el nombre de CISME, orientado a medir de forma no destructiva la respiración y fotosíntesis en corales. Este sistema aislaba un volumen de agua bien mezclado para evaluar los cambios en pH y oxígeno disuelto en un tiempo práctico. Además, incluía control de iluminación para generar curvas de fotosíntesis-irradiancia. El sistema estaba compuesto por dos carcasas conectadas: una carcasa electrónica que contenía el procesador, memoria, pantalla, teclado, batería y componentes de control; y un cabezal de flujo con sensores de oxígeno, pH, temperatura, bomba y sistema de iluminación LED.

[Camp et al. \(2015\)](#) también propusieron un diseño para evaluar las tasas de fotosíntesis, respiración y calcificación. A diferencia de Dellisanti, las mediciones se realizaron mediante el análisis de muestras iniciales y finales recolectadas en botellas de borosilicato de 250 mL tras cada incubación, las cuales se analizaron posteriormente en el laboratorio. Este sistema consistía en una bolsa de uso médico (similar al usado para contener orina) la cual era transparente, impermeable a gases y de 3 L de capacidad.

[Mallon et al. \(2022\)](#) propusieron un diseño de bajo costo, ensamblado sin equipo especializado, fácilmente replicable y, adaptable a distintos sustratos. Su diseño, al igual que el de [Camp et al. \(2015\)](#), utilizó una bolsa flexible de polietileno con una válvula de muestreo instalada, que se fijaba al organismo mediante una brida. Se evaluaron parámetros como OD, pH, temperatura y salinidad mediante un sensor multiparamétrico

portátil no sumergible (ProDSS con sensores ODO y pH EXO; YSI, EE. UU.), conectado a un kayak que permitía analizar las muestras en menos de un minuto tras la extracción.

Uno de los diseños más similares al del presente estudio fue propuesto en [Roth et al., 2019](#). Esta cámara bentónica, también fabricada en acrílico transparente, incluía una tapa hermética removible con sensores de oxígeno disuelto y temperatura, una bomba para recirculación y una válvula unidireccional. Sin embargo, este diseño se sellaba directamente sobre el sustrato donde se encontraba el organismo, mientras que en el presente estudio se propone introducir a los organismos dentro de la cámara y luego sellarla herméticamente. También se tomaron muestras para el análisis de variables biológicas y químicas como carbono orgánico disuelto (COD), nutrientes inorgánicos, carbono inorgánico disuelto (CID), alcalinidad total (AT) y contenido bacteriano y/o viral ([Roth et al., 2019](#)).

Al igual que otros estudios ([Camp et al., 2015](#)), este trabajo reconoce una limitación frecuente en las cámaras cerradas: la formación de una capa límite que puede llegar a alterar la señal de cambios en la química respecto al agua circundante. Sin embargo, se ha comprobado que la inclusión de un sistema de reflujo (recirculación) mejora significativamente la calidad de los datos obtenidos, aunque añade cierta complejidad al diseño.

La principal innovación del diseño propuesto en este estudio radica en su construcción con acrílico, un material resistente, económico y de fácil adquisición, ya que todos los materiales están accesibles en línea. Por ejemplo, el diseño de [Camp et al. \(2015\)](#) y [Mallon et al. \(2022\)](#) tenían un costo aproximado de 20 USD por unidad y puede recopilar

datos confiables y repetibles sobre el metabolismo bentónico. También, [Roth et al. \(2019\)](#) proponen que su diseño de cámara de respirometría tiene un bajo costo. En cambio, diseños como el de [Yates y Halley \(2003\)](#), [Roth et al. \(2019\)](#) y [Kononets et al. \(2021\)](#) son diseños más complejos y costosos, aunque más precisos. En estos estudios se emplearon diferentes enfoques para evaluar procesos metabólicos y biogeoquímicos en ambientes marinos. [Yates y Halley \(2003\)](#) y [Roth et al. \(2019\)](#) midieron oxígeno disuelto (OD), carbono inorgánico disuelto (CID) y alcalinidad total (AT), lo que permitió estimar la producción primaria, la respiración comunitaria y la calcificación neta. Por su parte, [Kononets et al. \(2021\)](#) ampliaron esta evaluación al incluir además nutrientes, metales y gases traza, lo que ofreció una visión más integral de los flujos en la interfase sedimento-agua.

Lo más novedoso del presente diseño, es la inclusión de un mecanismo de recirculación que asegura una adecuada mezcla del agua en el interior de la cámara, así como la integración de mediciones potenciométricas de pH y oxígeno, este último con un sensor que tiene una buena respuesta y es ampliamente usado en oceanografía ([Bittig et al., 2018](#)). Este sistema permite medir las tasas metabólicas de manera no invasiva. En el caso de bivalvos, solo es necesario introducirlos en la cámara durante un período controlado y luego se regresan a su medio.

8.3. Factores experimentales que influyen en el metabolismo

En este estudio, el metabolismo se evaluó en dos condiciones de agua: (1) ASR, donde las semillas de ostión se encontraban en cultivo y desarrollo, y (2) AFC, utilizada como control para contar con un medio limpio y con carga biológica mínima, con el

propósito de evaluar el metabolismo de las semillas de ostión, sin la influencia de otros microorganismos. La condición en ASR, con una carga biológica considerable, tuvo concentraciones promedio de OD iniciales corregidas con el offset estuvieron entre $\sim 274 \mu\text{M}$, valor que disminuyó a $\sim 244 \mu\text{M}$ y una diferencia de $\sim 30 \mu\text{M}$. En cambio, las concentraciones iniciales promedio de OD corregidas con el offset, en AFC fueron $\sim 327 \mu\text{M}$, disminuyendo a $\sim 305 \mu\text{M}$ y con una diferencia de $\sim 20 \mu\text{M}$). Las diferencias de concentraciones (iniciales y finales de OD) ocurrieron en un periodo de 15 min, en un grupo de organismos (grandes y pequeños con 15 organismos en cada incubación) y en una cámara de aproximadamente 820 mL.

Los resultados sugieren que los ostiones se desarrollaban en un ambiente complejo dentro del ASR, caracterizado por una alta carga biológica que influía de manera significativa en los procesos biogeoquímicos. En este medio, la actividad microbiana y la presencia de partículas orgánicas promovieron la respiración heterotrófica, la mineralización de materia orgánica y la producción de CO_2 , procesos que incrementaron el consumo de oxígeno disuelto, redujeron el pH y generaron mayor variabilidad química en el AFC. Estas condiciones, junto con la competencia directa entre microorganismos y las semillas de ostión por el oxígeno, explican la turbidez y la inestabilidad observadas en las mediciones de la TACO. En contraste, el AFC presentó una menor carga microbiana y de partículas en suspensión, lo que permitió condiciones más estables de oxígeno y pH, favoreciendo estimaciones más representativas de la actividad metabólica de los ostiones. De este modo, las variaciones biogeoquímicas en este estudio se atribuyen principalmente al tipo de agua empleada, mientras que otros trabajos, como el de [Comeau et al. \(2022\)](#),

han asociado estas diferencias a factores poblacionales y geográficos. En conjunto, estos hallazgos resaltan la importancia de considerar la condición inicial y el entorno biogeoquímico del agua en los experimentos de respirometría, dado que pueden influir de manera decisiva en la interpretación de los indicadores metabólicos.

Además, existen varios trabajos donde toman en cuenta otros factores que influyen en el metabolismo. Por ejemplo, en el estudio realizado por [Comeau et al. \(2022\)](#), se observó que la longitud de la concha del ostión no tuvo un efecto significativo sobre las tasas metabólicas. Sin embargo, sí se identificó como factor importante la procedencia poblacional, tanto en la tasa metabólica máxima como en la tasa metabólica estándar, debido a que las poblaciones están adaptadas a diferentes condiciones ambientales, lo que influye en su desempeño fisiológico. Un segundo ejemplo, es el de [Carey y Sigwart \(2014\)](#) mostrando los factores abióticos como la temperatura y el pH afectan las tasas metabólicas, como la tasa de consumo de oxígeno, y que este efecto varía según el tamaño corporal de los organismos. De manera consistente, en nuestro estudio se observó que dichos factores también impactaron la actividad metabólica, evidenciando tanto cambios en el tipo de agua, como en el peso corporal de las semillas de ostión. Los resultados en este estudio indicaron que los organismos más pequeños presentaron una TACO promedio de $\sim -2.48 \mu\text{M OD g}^{-1}$, mayor que los organismos más grandes, lo cual respalda la idea de que el tamaño corporal es un factor determinante para el metabolismo.

En este estudio, las concentraciones iniciales promedio de CID fueron $1969 \mu\text{mol kg}^{-1}$ y concentraciones finales promedio de $1987 \mu\text{mol kg}^{-1}$ (media de $18 \mu\text{mol kg}^{-1}$, Fig. 19 y anexo 5). Estos datos confirman que los cambios en CID durante períodos cortos

son comunes y pueden alterar significativamente la interpretación de las tasas de respiración si no se consideran. Asimismo, cuando el CID aumenta sus concentraciones el pH disminuye, es decir, presentan tendencias inversas. En efecto, en este estudio la variación promedio de pH fue de 7.970 unidades en AFC y 7.693 unidades en ASR. Estos resultados evidencian que la actividad metabólica de los organismos altera directamente la química del agua de mar, y que la variación conjunta de CID y pH constituye un indicador confiable para inferir procesos metabólicos (por ejemplo, respiración y fotosíntesis) y evaluar cómo los cambios químicos pueden influir en otras tasas metabólicas, como la calcificación.

Por otra parte, encontramos que la variación inicial promedio de AT fue de 2113 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ y una variación final promedio de 2113 $\mu\text{mol kg}^{-1}$, es decir que la AT se mantuvo constante durante todo el experimento, señalando que no hay calcificación (anexo 5). Esta ausencia de cambios podría deberse a que el tiempo de incubación fue demasiado corto, al bajo número de semillas por incubación o incluso al tamaño de los organismos, lo que limitó la posibilidad de observar procesos de calcificación. No obstante, estos resultados respaldan la fiabilidad de nuestras mediciones y destacan la importancia de considerar incluso pequeñas variaciones de AT en incubaciones cerradas para interpretar correctamente la calcificación y su interacción con el sistema de carbonato. Cabe señalar que, aunque en la literatura existen múltiples diseños de cámaras de respirometría, hasta ahora no se había desarrollado un prototipo específico para medir tasas metabólicas en ostiones, por lo que este estudio también cumple el propósito de proponer y validar un prototipo de cámara adaptada a estos organismos.

Adicionalmente, las concentraciones iniciales de las especies del sistema carbonato (CaCO_3 , HCO_3^- y CO_2) fueron similares dentro de cada tipo de agua, aunque generalmente más altas en agua filtrada, excepto para el CO_2 , que presentó valores mayores en agua recirculada. Este patrón se mantuvo en las mediciones finales de cada incubación. Las diferencias entre las concentraciones finales e iniciales fueron, en general, más pronunciadas en ASR que en AFC. En cuanto al índice de saturación de aragonita (Ω_{ar}), los valores iniciales y finales fueron más altos en agua filtrada, pero las variaciones (final–inicial) resultaron superiores en agua recirculada.

Estos resultados sugieren que, en agua recirculada, los procesos biológicos vinculados al metabolismo y al sistema carbonato son más intensos, posiblemente por la presencia de microorganismos adicionales a las semillas de ostión que participan activamente en la respiración y otros procesos biogeoquímicos. Por ejemplo, en la literatura se mencionan, bacterias (*Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio vulnificus*; [Audemard et al., 2022](#)), fitoplancton (diatomeas, cianobacterias y dinoflagelados; [Valenzuela-Sánchez et al., 2021](#)) y protozoos heterótrofos (ciliados; [Montanié et al., 2024](#)) que pueden influir en la química del agua. Su actividad metabólica consume oxígeno y altera parámetros como el pH, generando condiciones de anoxia o fluctuaciones en oxígeno disuelto. Estos procesos destacan la importancia de considerar la presencia de organismos adicionales al cultivo de ostiones y su influencia en la química del agua y por ende en la actividad metabólica. Esto se refleja se refleja en este estudio, donde se observó el consumo de oxígeno, menores valores de pH y en la mayor acumulación de CO_2 , que se refleja en el aumento de CID. Además, es coherente con reportes previos que señalan

un descenso simultáneo del pH y de la Ω_{ar} como respuesta al aumento del CO₂ en sistemas cerrados para evaluar metabolismo (Quigley et al., 2023).

8.4. Caso de estudio: otros estudios de larvas de ostión

La concha de los moluscos adultos está compuesta de aragonita y calcita, mientras que las conchas de los estadios larvarios contienen aragonita (Frieder et al., 2017). Durante un estudio de fertilización, se ha observado que las conchas de *Crassostrea gigas* acumulan más de seis veces su masa orgánica como masa de la concha en los primeros dos días, principalmente en forma de aragonita (Frieder et al., 2017). En ese mismo estudio, midieron la tasa de calcificación y disolución en larvas de ostión y encontraron que la tasa de calcificación en larvas de *Crassostrea gigas* varía entre 1 y 5 $\mu\text{mol CaCO}_3$ larva⁻¹ h⁻¹ y que esta depende de las condiciones experimentales, como el pH y la temperatura.

Shaw et al. (2016) también reportó que las tasas de calcificación en *C. gigas* oscilan entre 1 y 4 $\mu\text{mol CaCO}_3$ larva⁻¹ h⁻¹, aunque esta tasa depende de factores ambientales como la temperatura y el pH. En nuestro estudio encontramos que en las condiciones iniciales el valor máximo de AT fue de 2215 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ y el mínimo de 1982 $\mu\text{mol kg}^{-1}$. En cambio, en las condiciones finales la AT máxima encontrada fue de 2220 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ y la mínima de 1979 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ (anexo 5). La diferencia promedio de AT entre las condiciones finales e iniciales fue de 0 $\mu\text{mol kg}^{-1}$, es decir que la AT se mantuvo constante en todas las réplicas del experimento, señalando que no hay señales medibles del proceso de calcificación (anexo 6).

En este estudio, la tasa de calcificación solo se consideró como válida para los datos obtenidos en AFC, donde la tendencia de los datos fue más clara, debido a una menor carga microbiana y menor presencia de partículas orgánicas en suspensión, lo que permitió mantener condiciones químicas más estables durante las incubaciones. La tasa de calcificación para los organismos pequeños fue de $16.07 \mu\text{mol CaCO}_3 \text{ g}^{-1} \text{ min}^{-1}$ y en grandes fue de $0.81 \mu\text{mol CaCO}_3 \text{ g}^{-1} \text{ min}^{-1}$, indicando disolución de CaCO_3 (ver valores de diferencia, condiciones iniciales, finales y Ω_{ar} en anexo 5 y 6).

Con respecto a la tasa de respiración (TACO), [Frieder et al. \(2017\)](#) estudiaron la demanda biológica de larvas con condiciones experimentales similares a este estudio, esto es el control del número de organismos (normalización), con el agua de mar filtrada, temperatura constante y saturada de oxígeno. Existen varios estudios en la literatura que se describirán a continuación y que contribuyen a entender la actividad metabólica en los ostiones. Diversos estudios en la literatura citados a continuación, contribuyen a comprender la actividad metabólica en los ostiones; nuestros resultados muestran valores similares en tendencia a los reportados. Sin embargo, no pueden considerarse directamente equivalentes debido a diferencias en las condiciones de agua, ubicación geográfica, etapa de vida de los ostiones o métodos de medición. Un primer ejemplo, es el estudio [Frieder et al. \(2017\)](#) reportan que las tasas de respiración en larvas de *Crassostrea gigas* fue de entre -0.5 y $-1.5 \mu\text{mol O}_2 \text{ larva}^{-1} \text{ hora}^{-1}$. Estas tasas reflejan la actividad metabólica durante las primeras etapas de desarrollo larvario y varían según las condiciones experimentales empleadas. [Shaw et al. \(2016\)](#) también estudiaron larvas de *Crassostrea gigas* y reportaron que las tasas de respiración varían entre -0.4 y $-1.2 \mu\text{mol O}_2 \text{ larva}^{-1} \text{ h}^{-1}$. En este estudio se

encontró que la tasa de respiración para los organismos grandes fue de $-0.25 \pm 0.05 \mu\text{M O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ min}^{-1}$ y para los pequeños fue de $-2.48 \pm 1.03 \mu\text{M O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ min}^{-1}$. [Comeau et al. \(2010\)](#) evaluaron juveniles de *Crassostrea virginica* y reportaron tasas metabólicas estándar (SMR) que oscilaron entre -0.1 y $-0.5 \mu\text{mol O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ masa seca h}^{-1}$, influenciadas por la temperatura y la alimentación. Por su parte, [Chen et al. \(2022\)](#) estudiaron juveniles de *C. gigas* durante el proceso de despurga y observaron una disminución en la tasa de respiración bajo condiciones de estrés por salinidad, con valores que descendieron de aproximadamente -0.8 a $-0.5 \mu\text{mol O}_2 \text{ g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Estos resultados reflejan cómo factores ambientales pueden modular significativamente el metabolismo en etapas juveniles de ostión.

Estudios como los de [Mallon et al. \(2022\)](#), que analizaron las tasas metabólicas en semillas y adultos de *Crassostrea virginica*, y [Comeau et al. \(2022\)](#), que evaluaron la tasa metabólica estándar y máxima en semillas provenientes de poblaciones silvestres y de sistemas de acuicultura, no reportaron valores específicos. Sin embargo, ambos estudios observaron diferencias significativas entre grupos y destacaron que las tasas metabólicas están influenciadas por factores como la especie, el tamaño y las condiciones ambientales. Lo anterior apoya la idea de una alta plasticidad fisiológica que tienen los ostiones frente a cambios en su entorno, especialmente con respecto a los procesos biogeoquímicos presentes.

9 CONCLUSIONES

1. El prototipo de cámara de incubación diseñado demostró ser confiable para la medición de indicadores del metabolismo en organismos calcificadores, al permitir el monitoreo preciso de variables clave como temperatura, pH y oxígeno disuelto bajo condiciones experimentales controladas. Además, permite la estimación exacta de las tasas de calcificación y respiración, facilitando el estudio detallado de los procesos metabólicos en estos organismos calcificadores.
2. Los resultados obtenidos con la cámara de incubación diseñada permitieron cuantificar de manera confiable indicadores metabólicos del ostión japonés (*Crassostrea gigas*), como el consumo de oxígeno (TACO), los gradientes en el sistema de carbonatos, los cambios en el pH y la tasa de calcificación. Estos hallazgos apoyan a la premisa de que la cámara es una herramienta confiable y adecuada para el estudio experimental del metabolismo en organismos calcificadores y comprender mejor las respuestas metabólicas de estas especies.

10 RECOMENDACIONES

1. Al poner en funcionamiento la cámara de incubación, es fundamental garantizar una manipulación cuidadosa de los sensores, especialmente los de pH y oxígeno. En este estudio se detectaron fallos técnicos asociados a la instalación o manejo, lo cual puede comprometer la fiabilidad de los datos. Por tanto, se recomienda extremar precauciones durante su manipulación y considerar esta limitación al momento de interpretar los resultados.

2. En el diseño experimental, la selección de los organismos debe realizarse considerando las dimensiones internas de la cámara de incubación, de modo que su tamaño y densidad permitan obtener mediciones representativas de las tasas metabólicas. Asimismo, el tiempo de incubación debe definirse en función de las características del microorganismo y de la capacidad de la cámara. Adicionalmente, la elección del medio de incubación debe contemplar los factores biogeoquímicos asociados, como la presencia de otros microorganismos, la disponibilidad de nutrientes y la dinámica del oxígeno disuelto, ya que estos influyen de manera significativa tanto en la estimación de las tasas metabólicas como en la reproducibilidad de los resultados.
3. En los casos en que la incubación se realice en el ambiente natural y la cámara deba ser sumergida, se recomienda optimizar la permeabilidad del diseño o prototipo utilizado. Para ello, se sugiere la inyección de un tinte trazador previo a la incubación, con el fin de verificar de manera práctica la permeabilidad y garantizar condiciones más representativas para la estimación de las tasas metabólicas.
4. En el diseño experimental se recomienda incluir un número suficiente de réplicas y pseudo-réplicas, de acuerdo a la especie y muestra (n), de manera que los datos obtenidos permitan calcular de forma robusta las tasas de metabolismo. Contar con un número adecuado de réplicas incrementa la capacidad de descartar aquellas que presenten valores atípicos o, errores experimentales asegurando así una mayor confiabilidad de los resultados. En el caso del estudio del metabolismo de semillas de ostión, se recomienda determinar el número de réplicas y pseudo-réplicas en

función del tamaño de la población total. Asimismo, es posible estimar el número adecuado de muestras a partir de la media y la desviación estándar de dicha población. Cabe destacar que el objetivo principal de este estudio fue el diseño y validación de una cámara de respirometría, más que el análisis biológico de los ostiones; por ello, se sugiere consultar literatura especializada para definir con mayor precisión el número de réplicas en futuros trabajos.

11 BIBLIOGRAFÍA

- Aanderaa Data Instruments AS. (2024). Oxygen Optode 4531 – Operating Manual (TD 296). Recuperado de <https://www.aanderaa.com/media/pdfs/td296-oxygen-optode-4531.pdf>
- Albright, R., Langdon, C. y Anthony, K. (2012). Acidificación oceánica y arrecifes de coral: Efectos sobre la calcificación y la función del ecosistema. *Oceanography*, 25(3), 58–67. <https://doi.org/10.5670/oceanog.2012.65>
- Allen, D. y Young, J. (2019). Rastreado el flujo metabólico a través del tiempo y el espacio mediante experimentos de marcaje isotópico. *Opinión actual en biotecnología*, 64, 92-100. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.11.003>.
- Arshad, A., Martins, D., Frank, J., Jetten, M., Camp, H., y Welte, C. (2017). Imitando interacciones microbianas bajo condiciones de reducción de nitrato en un biorreactor anóxico: enriquecimiento de bacterias Nitrospirae novedosas, lejanamente relacionadas con *Thermodesulfovibrio*. *Environmental Microbiology*, 19, 4965–4977. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13977>.
- Audemard, C., Ben-Horin, T., Kator, H. I., y Reece, K. S. (2022). *Vibrio vulnificus* y *Vibrio parahaemolyticus* en ostiones bajo condiciones de rango de marea bajo: ¿Es útil el análisis del agua de mar para la evaluación del riesgo? *Foods*, 11(24), 4065. <https://doi.org/10.3390/foods11244065>
- Auer, S. K., Salin, K., Rudolf, A. M., Anderson, G. J. y Metcalfe, N. B. (2015). La flexibilidad en la tasa metabólica confiere una ventaja de crecimiento bajo condiciones de disponibilidad variable de alimento. *Journal of Animal Ecology*, 84(5), 1405–1411. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12384>
- Auer, S. K., Dick, C. A., Metcalfe, N. B. y Reznick, D. N. (2018). Fisiología comparada del metabolismo energético: En busca de señales endocrinas en los primeros vertebrados. *Transacciones filosóficas de la Royal Society B*.
- Bach, L. (2015). Reconsiderando el papel de la concentración de ion carbonato en la calcificación por organismos marinos. *Biogeosciences*, 12, 4939-4951. <https://doi.org/10.5194/BG-12-4939-2015>.
- Balbi, T., Trenti, F., Guella, G., Miglioli, A., Sepčić, K., Ciacci, C. y Canesi, L. (2023). Cambios en los perfiles de fosfolípidos en las primeras etapas larvales del mejillón marino *Mytilus galloprovincialis* indican un papel de las ceramidas en el desarrollo de los bivalvos. *International Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 14(5), 87–100. <https://doi.org/10.3934/biochem.2023.5.87>

- Balch, W. M., Gordon, H. R., Bowler, B. C., Drapeau, D. T. y Booth, E. S. (2022). Ciclo superficial del carbonato de calcio en el Océano Pacífico Norte. *Global Biogeochemical Cycles*, 36(3), e2022GB007388. <https://doi.org/10.1029/2022GB007388>
- Beaver, C., McCulloch, M., McNeil, B. y Lough, J. (2020). Los calcificadores marinos y su papel en el funcionamiento de los ecosistemas: vinculando la calcificación con la biodiversidad y los ciclos biogeoquímicos. *Marine Ecology Progress Series*, 658, 1–21. <https://doi.org/10.3354/meps13522>
- Bhagooli, R. (2021). Fluorescencia de la clorofila: una herramienta para evaluar el desempeño fotosintético y la fotofisiología de estrés en invertebrados marinos simbióticos y plantas marinas. *Marine Environmental Research*, 167, 105308. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2021.105308>
- Bianchi, T. S. (2020). La evolución de la biogeoquímica: una revisión. *Biogeochemistry*, 154(2), 141–181. <https://doi.org/10.1007/s10533-020-00708-0>
- Bittig, H. C., Körtzinger, A., Neill, C., van Ooijen, E., Plant, J. N., Hahn, J., Johnson, K. S., Yang, B. y Emerson, S. R. (2018). Sensores optodos de oxígeno: principio, caracterización, calibración y aplicación en el océano. *Frontiers in Marine Science*, 4, 429. <https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00429>
- Brenner, M., Buck, B. H. y Koehler, A. (2008). Moluscos bivalvos y su papel en los ecosistemas marinos. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 79(4), 563–573. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2008.05.014>
- Bresnahan, P., Martz, T., Takeshita, Y., Johnson, K. y LaShomb, M. (2014). Mejores prácticas para la medición autónoma del pH del agua de mar con el sensor Honeywell Durafet. *Methods in Oceanography*, 9, 44-60. <https://doi.org/10.1016/J.MIO.2014.08.003>.
- Bressan, M., Chinellato, A., Munari, M., Matozzo, V., Mancini, A., Marčeta, T., Finos, L., Moro, I., Pastore, P., Badocco, D. y Marin, M. G. (2014). ¿La acidificación del agua de mar afecta la supervivencia, el crecimiento y la integridad de la concha en juveniles de bivalvos? *Marine Environmental Research*, 99, 136–148. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2014.04.009>
- Bundy, J. G., Davey, M. P. y Viant, M. R. (2009). Metabolómica ambiental: una revisión crítica y perspectivas futuras. *Metabolomics*, 5(1), 3–21. <https://doi.org/10.1007/s11306-008-0152-0>
- Bunsen, F., Nissen, C. y Hauck, J. (2024). El impacto del cambio climático reciente en el sumidero global de carbono del océano. *Geophysical Research Letters*, 51. <https://doi.org/10.1029/2023GL107030>.
- Büscher, J. V., Martínez-Dios, A., Ugalde, D. y Form, A. U. (2023). Efectos de la carga de sedimento sobre la masa flotante y la calcificación de individuos juveniles del coral de

- aguas frías *Caryophyllia huinayensis*. *Frontiers in Marine Science*, 10, 1104099. <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1104099>.
- Camp, E., Krause, S., Santos, L., Naumann, M., Kikuchi, R., Smith, D., Wild, C. y Suggett, D. (2015). La 'Flexi-Chamber': una novedosa cámara de respirometría in situ, rentable, para mediciones fisiológicas en corales. *PLoS ONE*, 10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138800>.
- Carey, N. y Sigwart, J. D. (2014). El tamaño importa: la plasticidad en la escala metabólica muestra que el tamaño corporal puede modular las respuestas al cambio climático. *Biology Letters*, 10(9), 20140408. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2014.0408>
- Carlot, J., Rouzé, H., Barneche, D. R., Mercière, A., Espiau, B., Cardini, U., Brandl, S. J., Casey, J. M., Pérez-Rosales, G., Adjeroud, M., Hédouin, L. y Parravicini, V. (2022). Escalando las tasas de calcificación, respiración y fotosíntesis de seis taxones prominentes de corales. *Ecology and Evolution*, 12, e8613. <https://doi.org/10.1002/ece3.8613>
- Carranza, E. O. (2025). Evaluación de la tasa de consumo de oxígeno del *Penaeus vannamei* con relación a la salinidad, temperatura y peso corporal. ResearchGate. <https://www.researchgate.net/publication/348811316> Evaluacion de la tasa de consumo de oxigeno del Penaeus vannamei con relacion a la salinidad temperatura y peso corporal
- Chabot, D., Steffensen, J. F. y Farrell, A. P. (2016). The determination of standard metabolic rate in fishes. *Journal of Fish Biology*, 88(1), 81–121. <https://doi.org/10.1111/jfb.12845>
- Champanois, W., Anton, A. y Duarte, C. M. (2021). Metabolismo neto de la comunidad de un prado de *Posidonia* oceánica evaluado mediante covarianza de remolinos subacuáticos y cámaras bentónicas. *Limnology and Oceanography*, 66(6), 2154–2166. <https://doi.org/10.1002/lno.11724>
- Chen, L., Yu, F., Shi, H., Wang, Q., Xue, Y. y Xue, C. (2022). Efecto del estrés por salinidad en el metabolismo respiratorio, glucólisis, lipólisis y apoptosis en la ostra del Pacífico (*Crassostrea gigas*) durante la etapa de depuración. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(5), 2003–2011. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11539>
- Chew, S. F., Tng, Y. Y. M. y Ip, Y. K. (2017). Toxicidad y excreción de amoníaco en el medaka marino (*Oryzias melastigma*): Efectos de la exposición crónica al amoníaco. *Aquatic Toxicology*, 188, 66–75. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.05.003>
- Claireaux, G. y Chabot, D. (2016). Respuestas de los peces a la hipoxia ambiental: integración a través del concepto de margen metabólico aeróbico de Fry. *Journal of Fish Biology*, 88(6), 2064–2083. <https://doi.org/10.1111/jfb.12833>

- Cohen, A. L., McCulloch, M. T., De'ath, G. y Lough, J. M. (2017). Una respuesta no lineal de la calcificación frente a la acidificación oceánica inducida por CO₂. *Nature Climate Change*, 7(1), 1–6. <https://doi.org/10.1038/nclimate3184>
- Comeau, L. A., Pernet, F. y Guderley, H. (2010). Variabilidad de la tasa metabólica estándar en juveniles de *Crassostrea virginica*: influencia de la temperatura y la alimentación. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 395(2), 123–130.
- Comeau, L. A., Mallet, A. L. y Guyondet, T. (2022). Evaluación del estado fisiológico de las ostras (*Crassostrea virginica*) del este de New Brunswick, Canadá. *Aquaculture Reports*, 25, 101219. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101219>
- Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca (CONAPESCA). (2021, junio 14). Supera producción de ostión 11 mil toneladas en lo que va de 2021: Agricultura. Gobierno de México. <https://www.gob.mx/conapesca/prensa/supera-produccion-de-ostion-11-mil-toneladas-en-lo-que-va-de-2021-agricultura-280434>
- Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca (CONAPESCA). (2024, enero 26). Ostión, recurso importante para miles de pescadores en México. Gobierno de México. <https://www.gob.mx/conapesca/prensa/ostion-recurso-importante-para-miles-de-pescadores-en-mexico>
- Curley, A. N., Petersen, S. V., Edie, S. M. y Guo, W. (2023). Fraccionamientos isotópicos impulsados biológicamente en bivalvos: de $\delta^{18}\text{O}$ y $\delta^{13}\text{C}$ a Δ^{47} . *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 98(6), 2023–2045. <https://doi.org/10.1111/brv.12940>
- Cyronak, T., Santos, I. R. y Eyre, B. D. (2018). Disolución de sedimentos permeables de arrecifes de coral inducida por pCO₂ elevado y el calentamiento oceánico. *Geophysical Research Letters*, 45(22), 12,349–12,357. <https://doi.org/10.1029/2018GL080651>
- D'Asaro, E. A. y McNeil, C. L. (2013). Calibración y estabilidad de sensores de oxígeno en flotadores autónomos. *Journal of Atmospheric and Oceanic Technology*, 30(8), 1896–1906. <https://doi.org/10.1175/JTECH-D-12-00222.1>
- Dellisanti, W., Tsang, R. H. L., Put, A. Jr., Wu, J., Wells, M. L. y Chan, L. L. (2020). Un sistema de respirometría portátil para buzos para mediciones in situ a corto plazo de la salud metabólica de corales y tasas de calcificación. *Frontiers in Marine Science*, 7, Article 571451. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.571451>
- Dellisanti, W., Chung, J. T. H., Chow, C. F. Y., Wu, J., Wells, M. L. y Chan, L. L. (2021). Técnicas experimentales para evaluar la fisiología del coral in situ bajo factores de estrés globales y locales: enfoques actuales y perspectivas novedosas. *Frontiers in Physiology*, 12, 656562. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.656562>

- Dickson, A. G., Sabine, C. L. y Christian, J. R. (Eds.). (2007). Guía de buenas prácticas para la medición de CO₂ en océanos. PICES Special Publication 3. North Pacific Marine Science Organization (PICES).
- Doney, S. C., Fabry, V. J., Feely, R. A. y Kleypas, J. A. (2009). Acidificación oceánica: el otro problema del CO₂. *Annual Review of Marine Science*, 1, 169–192. <https://doi.org/10.1146/annurev.marine.010908.163834>
- Dong, Y. W., Han, G. D. y Dong, S. L. (2016). Energética fisiológica y expresión de proteínas de choque térmico y sensores metabólicos en lapas intermareales: implicaciones para la supervivencia frente al cambio climático. *Functional Ecology*, 30(4), 707–719. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12625>
- Duarte, C. M., Agustí, S., Regaudie-de-Gioux, A., del Giorgio, P. A. y Cole, J. J. (2007). Escalando el balance metabólico de los océanos. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(10), 3889–3894. <https://doi.org/10.1073/pnas.0601137103>
- Edmunds, P. J. y Wall, C. B. (2014). Evidencia de que un pCO₂ elevado afecta el metabolismo proteico en corales de arrecife tropical. *The Biological Bulletin*, 227(1), 68–77.
- Evans, W., Connell, S. D. y Ries, J. B. (2024). Variabilidad de la química de carbonato en áreas de acuicultura de moluscos de la Bahía de Salish: implicaciones para los calcificadores. *Biogeosciences*, 21(5), 1323–1342. <https://doi.org/10.5194/bg-21-1323-2024>
- Fitzer, S. C., Zippay, M. L., Waldbusser, G. G. y Hales, B. (2018). La acidificación oceánica reduce la dureza y rigidez de la concha de la ostra portuguesa, afectando su microestructura: un análisis jerárquico. *Biogeosciences*, 15(22), 6833–6845. <https://doi.org/10.5194/bg-15-6833-2018>
- Fry, F. E. J. (1947). Efectos del ambiente sobre la actividad animal. University of Toronto Press.
- Fujii, M., Hamanoue, R., Bernardo, L. P. C., Ono, T., Dazai, A., Oomoto, S., Wakita, M. y Tanaka, T. (2023). Evaluación de los impactos del calentamiento costero, la acidificación y la desoxigenación en la acuicultura de la ostra del Pacífico (*Crassostrea gigas*): un estudio de caso en la zona de Hinase, prefectura de Okayama, y la bahía de Shizugawa, prefectura de Miyagi, Japón. *Biogeosciences*, 20, 4527–4549. <https://doi.org/10.5194/bg-20-4527-2023>
- Fusion Flow Technologies. (s.f.). Calibración de sensores de oxígeno: mejores prácticas. Recuperado de <https://www.fusionflowtech.com/applications/gas-sensor-calibration/>
- Gattuso, J. P., Pichon, M. y Delesalle, B. (1999). Medición del metabolismo comunitario y su importancia en los ecosistemas de arrecifes coralinos. *Marine Ecology Progress Series*, 177, 1–15. <https://doi.org/10.3354/meps177001>

- Gattuso, J.-P., Magnan, A., Bopp, L., Cheung, W. W. L., Duarte, C. M., Hinkel, J. y Williamson, P. (2015). Futuros contrastantes para el océano y la sociedad según diferentes escenarios de emisiones antropogénicas de CO₂. *Science*, 349(6243), aac4722. <https://doi.org/10.1126/science.aac4722>
- Gazeau, F., Quiblier, C., Jansen, J. M., Gattuso, J.-P., Middelburg, J. J. y Heip, C. H. R. (2007). Impacto del CO₂ elevado en la calcificación de moluscos. *Geophysical Research Letters*, 34(7). <https://doi.org/10.1029/2006GL028554>
- Gazeau, F., Parker, L. M., Comeau, S., Gattuso, J.-P., O'Connor, W. A., Martin, S., Pörtner, H.O. y Ross, P. M. (2013). Impactos de la acidificación oceánica en moluscos marinos con concha. *Marine Biology*, 160(8), 2207–2245. <https://doi.org/10.1007/s00227-013-2219-3>
- Gazeau, F., Urbini, L., Cox, T. E., Alliouane, S. y Gattuso, J.-P. (2015). Comparación de las técnicas de anomalía de alcalinidad y de calcio para estimar las tasas de calcificación neta. *Biogeosciences*, 17(3), 887–899. <https://doi.org/10.5194/bg-17-887-2020>
- Gibbin, E. M., Putnam, H. M., Davy, S. K. y Gates, R. D. (2014). pH intracelular y su respuesta a la acidificación del agua de mar inducida por CO₂ en células coralinas simbióticas versus no simbióticas. *Journal of Experimental Biology*, 217(11), 1963–1969. <https://doi.org/10.1242/jeb.099549>
- Goldman, J. A. L., Bender, M. L. y Morel, F. M. M. (2017). Efectos del pH y del pCO₂ sobre la fotosíntesis y la respiración en la diatomea *Thalassiosira weissflogii*. *Photosynthesis Research*, 132(1), 83–93. <https://doi.org/10.1007/s11120-016-0330-2>
- Gorbunov, M. Y. y Falkowski, P. G. (2021). Uso de la fluorescencia de la clorofila para determinar el destino de los fotones absorbidos por el fitoplancton en los océanos del mundo. *Annual Review of Marine Science*, 14, 1–13. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-032621-122346>
- Green, D. S., Boots, B., Blockley, D. J., Rocha, C. y Thompson, R. (2016). Impactos de las bolsas plásticas desechadas sobre los ensamblajes marinos y el funcionamiento del ecosistema. *Environmental Science y Technology*, 49(9), 5380–5389. <https://doi.org/10.1021/es505511r>
- Grossart, H.-P., Van den Wyngaert, S., Kagami, M., Wurzbacher, C., Cunliffe, M. y Rojas-Jimenez, K. (2019). Hongos en ecosistemas acuáticos. *Nature Reviews Microbiology*, 17(6), 339–354. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0175-8>
- Gutiérrez-Zárate, C., Gori, A., Veiga, A., Álvarez, M., Acerbi, R., Vázquez, L., Varela, M. M., Alba-Salgueiro, R., Valencia-Vila, J. y Orejas, C. (2024). Tasas de crecimiento esquelético del coral de aguas frías *Dendrophyllia cornigera* a partir de un experimento a largo plazo con múltiples factores de estrés. *PANGAEA*. <https://doi.org/10.1594/PANGAEA.966744>

- Haas, A. F., Gregg, A. K., Smith, J. E., Abieri, M. L., Hatay, M. y Rohwer, F. (2013). Visualización de los patrones de distribución de oxígeno generados por macroalgas y corales asociados a arrecifes utilizando optodos planares. *Marine Biology*, 160(11), 2821–2830. <https://doi.org/10.1007/s00227-013-2251-3>
- Hahn, M., Li, C. y Hegner, E. (2014). Explorando la ultraestructura y geoquímica aberrantes de conchas de bivalvos como indicadores de la acidificación pasada del agua de mar. *Sedimentology*, 61(5), 1210–1231. <https://doi.org/10.1111/sed.12107>
- Herrera Mujica, R.; Agurto Huerta, A.; Diaz Alvarado, L. y Gonzales Olaza, H. (2012). Radiología digital en la evaluación de calcificaciones en tejidos blandos. *Revista KIRU ISSN (Impreso): 1812-7886 ISSN (Digital): 2410-2717*, 9(2).
- Hendriks, I. E., Duarte, C. M. y Álvarez, M. (2015). Vulnerabilidad de la biodiversidad marina frente a la acidificación oceánica: un meta-análisis. *Environmental Science and Technology*, 49(4), 2325–2331. <https://doi.org/10.1021/es505485m>
- Hughes, T. P., Barnes, M. L., Bellwood, D. R., Cinner, J. E., Cumming, G. S., Jackson, J. B. C., Kleypas, J., van de Leemput, I. A., Lough, J. M., Morrison, T. H., Palumbi, S. R., van Nes, E. H. y Scheffer, M. (2017). Arrecifes de coral en el Antropoceno. *Nature*, 546(7656), 82–90. <https://doi.org/10.1038/nature22901>
- Hughes, D. J., Alexander, J., Cobbs, G., Kühl, M., Cooney, C., Pernice, M., Varkey, D., Voolstra, C. R. y Suggett, D. J. (2022). Regulación generalizada del oxígeno en corales tropicales bajo hipoxia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 119(32), e22004040. <https://doi.org/10.1073/pnas.22004040>
- Johnson, M., Price, N. y Smith, J. (2022). Unidades de acreción de calcificación (CAUs): un enfoque estandarizado para cuantificar el reclutamiento y la acreción de carbonato de calcio en hábitats marinos. *Methods in Ecology and Evolution*, 13, 1436 - 1446. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13867>.
- Kako, S. (2023). Estudio comparativo sobre los niveles de precisión de detectores de temperatura por resistencia (RTDs) compuestos de platino, cobre y níquel. *Nahrain Journal of Engineering*, 26(4), 1–8. <https://nahje.com/index.php/main/article/view/1013>
- Kelly, M. W., Padilla-Gamiño, J. L. y Hofmann, G. E. (2013). Adaptación y fisiología frente a la acidificación oceánica. *Functional Ecology*, 27(4), 980–990. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2012.02061.x>
- Killen, S. S., Christensen, E. A. F., Cortese, D., Závorka, L., Norin, T., Cotgrove, L., Crespel, A., Munson, A., Nati, J. J. H., Papatheodoulou, M. y McKenzie, D. J. (2021). Guías para reportar métodos de estimación de tasas metabólicas mediante respirometría acuática de flujo intermitente. *Journal of Experimental Biology*, 224(18), jeb242522. <https://doi.org/10.1242/jeb.242522>

- Kizil, B. (2021, agosto 30). Fallas en los sensores. Medium. <https://borakizil.medium.com/sensor-faults-7cd1dc258965>
- Kleypas, J., Feely, R., Fabry, V., Langdon, C., Sabine, C. y Robbins, L. (2006). Impactos de la acidificación oceánica en los arrecifes de coral y otros organismos calcificadores marinos: Una guía para futuras investigaciones, informe de un taller realizado del 18 al 20 de abril de 2005 en St. Petersburg, Florida, patrocinado por NSF, NOAA y el Servicio Geológico de los Estados Unidos (USGS).
- Kononets, M., Hall, P. O. J. y Tengberg, A. (2021). Incubaciones in situ con los sistemas de cámaras bentónicas de Gotemburgo: aplicaciones y control de calidad. *Marine Chemistry*, 232, 103957. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2020.103957>
- Kroeker, K. J., Kordas, R. L., Crim, R. N., Hendriks, I. E., Ramajo, L., Singh, G. S., Duarte, C. M. y Gattuso, J.-P. (2013). Impactos de la acidificación oceánica en organismos marinos: cuantificación de sensibilidades e interacción con el calentamiento. *Global Change Biology*, 19(6), 1884–1896. <https://doi.org/10.1111/gcb.12179>
- Kuti, D., Winkler, Z., Horváth, K., Juhász, B., Szilvásy-Szabó, A., Fekete, C., Ferenczi, S., y Kovács, K. J. (2022). Respuesta metabólica al estrés: Adaptación a desafíos agudos, repetidos y crónicos en ratones. *iScience*, 25(8), 104693. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104693>
- Lai, J.-K., Nguyen, T. T., Nguyen, T. L., Lee, S. Y. y Duarte, C. M. (2023). Dinámica del O₂ y pCO₂ en un prado de pastos marinos del sudeste asiático: tasas metabólicas y capacidad de secuestro de carbono. *Frontiers in Marine Science*, 10, Article 107699. <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.107699>
- Lannig, G., Eilers, S., Pörtner, H. O., Sokolova, I. M. y Bock, C. (2010). Efectos combinados de la salinidad y la hipoxia intermitente en la función mitocondrial de la ostra del Pacífico *Crassostrea gigas*. *Journal of Experimental Biology*, 213(11), 2046–2055. <https://doi.org/10.1242/jeb.039941>
- Lantz, C. A., Atkinson, M. J., Winn, C. W. y Kahng, S. E. (2016). Carbono inorgánico disuelto y alcalinidad total de un arrecife franjeado hawaiano: técnicas químicas para monitorear los efectos de la acidificación oceánica en los arrecifes de coral. *Marine Chemistry*, 184, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2016.06.001>
- Lantz, C. A., Carpenter, R. C., Shaw, E. C. y Edmunds, P. J. (2016). Química del agua de mar y calcificación del coral escleractinio *Acropora pulchra* en Moorea, Polinesia Francesa. *PANGAEA*. <https://doi.org/10.1594/PANGAEA.956287>
- Larance, S., Wang, J., Delavar, M. A. y Fahs, M. (2025). Evaluación de la temperatura del agua y del oxígeno disuelto y sus posibles efectos en los ecosistemas acuáticos mediante un modelo SARIMA. *Environments*, 12(1), 25. <https://doi.org/10.3390/environments12010025>

- Lee, Y.-J., Han, E., Wilberg, M. J., Lee, W. C., Choi, K.S. y Kang, C.-K. (2018). Procesos fisiológicos y balance energético total de la ostra del Pacífico (*Crassostrea gigas*) cultivada en líneas sumergidas en una bahía templada de Corea. PLOS ONE, 13(7), e0199752. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199752>
- Le Moullac, G., Soyeux, C., Latchère, O. y Le Coz, J. R. (2007). Ajustes metabólicos en la ostra *Crassostrea gigas* según el nivel de oxígeno y la temperatura. Marine Biology, 152(2), 219–229. <https://doi.org/10.1007/s00227-007-0683-2>
- Leung, J. Y. S., Chen, Y., Nagelkerken, I., Zhang, S., Xie, Z. y Connell, S. D. (2020). Los organismos calcificadores pueden ajustar la construcción de sus conchas a escala nanométrica para resistir la acidificación oceánica. Small, 16(37), 2003186. <https://doi.org/10.1002/sml.202003186>
- Leung, C., Chen, J. y Lam, P. K. S. (2022). Energética y mecanismos de la biomineralización en organismos calcificadores marinos bajo la acidificación oceánica. Frontiers in Marine Science, 9, 845678. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.845678>
- Lewis, E. y Wallace, D. W. R. (1998). Programa desarrollado para cálculos del sistema de CO₂ (ORNL/CDIAC-105). Oak Ridge National Laboratory, Carbon Dioxide Information Analysis Center.
- Liao, H., Dou, Z., Sun, F., Kou, S., Zhang, Z., Huang, X. y Bao, Z. (2019). Impact of ocean acidification on the energy metabolism and antioxidant responses of the yesso scallop (*Patinopecten yessoensis*). Frontiers in Physiology, 9, 1967. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01967>
- Libes, S.M. (2009). Materia Orgánica: Producción y Destrucción por Elsevier Inc. (Ed.). Introducción a la biogeoquímica marina (2da edición., pp. 207-209). Editorial Elsevier Inc.
- Linsmayer, L. B., Deheyn, D. D., Tomanek, L. y Tresguerres, M. (2020). Regulación dinámica del metabolismo energético de los corales a lo largo del ciclo diel. Scientific Reports, 10(1), 19881. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76828-2>
- Liu, Y., Sutton, J., Ries, J. y Eagle, R. (2020). La regulación del pH en el sitio de calcificación es una respuesta polifilética pero no siempre dominante frente a la acidificación oceánica. Science Advances, 6. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aax1314>.
- Liu, H., Yang, R., Fu, Z., Yu, G., Li, M., Dai, S., Ma, Z. y Zong, H. (2023). Estrés térmico agudo incrementa la actividad enzimática y la distribución de energía muscular en el atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*). PLOS ONE, 18(10), e0289606. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0289606>
- Longhini, M., Albright, R., Anthony, K. R. y Gattuso, J.-P. (2015). Dinámica de la acidez oceánica, flujos de CO₂ y tasas metabólicas en un arrecife coralino del Gran Arrecife de

- Barrera. *Geophysical Research Letters*, 42(11), 3980–3988. <https://doi.org/10.1002/2015GL063488>
- Louis, V., Besseau, L., y Lartaud, F. (2022). Paso en el tiempo: Biomineralización de la concha de los bivalvos. *Frontiers in Marine Science*, 9, 906085. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.906085>
- Lu, Y., Xie, B., Liu, M., Lin, Y., Zhan, H., Li, W., Wang, L. y Yang, X. (2019). Alteración del metabolismo energético en larvas de ostra durante la formación inicial de la concha y bajo acidificación oceánica experimental. *Scientific Reports*, 9(1), 14565. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50840-w>
- Mallon, J., Cyronak, T., Hall, E., Banaszak, A., Exton, D. y Bass, A. (2022). Dinámica impulsada por la luz entre la calcificación y la producción en calcificadores de arrecifes coralinos con diversidad funcional. *Limnology and Oceanography*, 67. <https://doi.org/10.1002/lno.12002>.
- Mallon, J., Banaszak, A. T., Donachie, L., Exton, D., Cyronak, T., Balke, T. y Bass, A. M. (2022). Una cámara de incubación bentónica de bajo costo para mediciones in situ del metabolismo comunitario. *PeerJ*, 10, e13116. <https://doi.org/10.7717/peerj.13116>
- Mao, Y., Zhou, Y., Yang, H. y Wang, R. (2006). Variación estacional del metabolismo de la ostra del Pacífico cultivada, *Crassostrea gigas*, en la bahía de Sanggou, China. *Aquaculture*, 253, 322–333. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.05.033>
- Mares, S. (2024). El papel del metabolismo en el mantenimiento de la homeostasis nutricional: una perspectiva fisiológica. *Journal of Food, Nutrition and Health*, 7(4), 216. <https://doi.org/10.35841/aajfnh-7.4.216>
- Marin, F., Le Roy, N. y Marie, B. (2012). La formación y mineralización de la concha de moluscos. *Frontiers in Bioscience (Scholar Edition)*, 4(3), 1099–1125. <https://doi.org/10.2741/s321>
- Marín, M., González, J. y Pérez, R. (2015). Precisión y exactitud de las mediciones de alcalinidad utilizando la Flexi-Chamber in situ. *Marine Chemistry*, 177, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2015.06.001>
- Martin, J. B., Murgulet, D. y McPherson, B. F. (2006). Fluctuaciones temporales y espaciales de solutos derivados de aguas subterráneas en un acuífero costero. *Journal of Hydrology*, 327(1–2), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2005.11.020>
- Matias, D., Joaquim, S., Ramos, M., Sobral, P. y Leitão, A. (2011). Dinámica de compuestos bioquímicos durante el desarrollo larval de la almeja fina *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758): efectos de dietas monoespecíficas y ayuno. *Helgoland Marine Research*, 65, 369–379. <https://doi.org/10.1007/s10152-011-0272-9>

- Mayor, D., Sommer, U., Cook, K. y Viant, M. (2015). La respuesta metabólica de los copépodos marinos al calentamiento ambiental y la acidificación oceánica en ausencia de alimento. *Scientific Reports*, 5. <https://doi.org/10.1038/srep13690>.
- McKindsey, C. W., Bourget, E., Grant, J. y Langdon, C. J. (2006). Bivalvos y procesos ecosistémicos en hábitats costeros someros: una visión general. *Aquatic Ecosystem Health and Management*, 9(4), 315–337. <https://doi.org/10.1080/14634980600938548>
- McMahon, A., Albright, R., Anthony, K. R. y Mumby, P. J. (2018). Determinación de la calcificación de arrecifes de coral y la producción primaria mediante mediciones automatizadas de alcalinidad, pH y pCO₂ con alta resolución temporal. *Scientific Reports*, 8(1), 20284. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20284-3>
- McLeod, E., Chmura, G. L., Bouillon, S., Salm, R., Björk, M., Duarte, C. M. y Silliman, B. R. (2013). El papel de la química del carbonato en los ecosistemas marinos: implicaciones para el futuro. *Nature Climate Change*, 3(7), 512–518. <https://doi.org/10.1038/nclimate1851>
- Meng, Y., Liu, S., Xie, X., Wang, X., Wang, D. y Wang, Y. (2018). La acidificación oceánica reduce la dureza y rigidez de la concha de la ostra portuguesa con alteración de su microestructura. *Biogeosciences*, 15(21), 6833–6845. <https://doi.org/10.5194/bg-15-6833-2018>
- Metrohm AG. (s.f.). Información técnica sobre electrodos de pH. Metrohm. Recuperado el 11 de junio de 2025, de <https://www.metrohm.com>
- Montanié, H., Boudry, P., y Le Ray, D. (2014). Informe final sobre la clasificación de protozoos ciliados en cultivos larvales de *Argopecten purpuratus* Lamarck. Recuperado de https://www.subpesca.cl/fipa/613/articles-89265_informe_final.pdf
- Montero del Pino, M. F. (2018). Estudio de la respiración y actividad de la cadena de transporte de electrones (ETS) en el microplancton marino. (Tesis doctoral). Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. https://accedacris.ulpgc.es/bitstream/10553/73575/5/Maria%20Fernanda%20Montero%20Odel%20Pino_tesis.pdf
- Morimoto, N., Umezawa, Y., Diego-McGlone, M., Watanabe, A., Siringan, F., Tanaka, Y., Regino, G. y Miyajima, T. (2017). Cambio espacial en la dieta de bivalvos desde una bahía con descarga fluvial y actividades de acuicultura hacia praderas marinas externas en el noroeste de Filipinas. *Marine Biology*, 164, 1-16. <https://doi.org/10.1007/S00227-016-3063-Z>.
- Muller, E. M., Durieux, D. M. y Hauffe, T. (2023). Las ostras del Pacífico no compensan la reducción del crecimiento tras eventos extremos de acidificación. *Biology Letters*, 19(3), 20230185. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2023.0185>

- Murphy, B. A., Mazel, C. H., Mallela, J. y Magnusson, S. H. (2012). Un sistema de respirometría portátil para buzos para la medición in situ a corto plazo de la salud metabólica del coral y las tasas de calcificación. *Environmental Science and Technology*, 46(20), 11278–11285. <https://doi.org/10.1021/es3024607>
- Nehrke, G., Poigner, H., Wilhelms-Dick, D., Brey, T. y Abele, D. (2012). Coexistencia de tres polimorfos de carbonato de calcio en la concha de la almeja antártica *Laternula elliptica*. *Geochemistry*, 13. <https://doi.org/10.1029/2011GC003996>.
- Nishida, K., Suzuki, A. y Suzuki, Y. (2020). Experimento novedoso de marcaje inverso con radioisótopos revela la cinética de incorporación isotópica en esqueletos de coral. *Methods in Ecology and Evolution*, 11(10), 1380–1389. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13396>
- Olivier, A. van der Schatte, Jones, L., Le Vay, L., Christie, M., Wilson, J. y Malham, S. K. (2020). Revisión global de los servicios ecosistémicos proporcionados por la acuicultura de bivalvos. *Reviews in Aquaculture*, 12(1), 3–25. <https://doi.org/10.1111/raq.12301>
- Ordoñez, A., Wangpraseurt, D., Lyndby, N. H., Köhl, M. y Díaz-Pulido, G. (2019). El CO₂ elevado conduce a una fotosíntesis aumentada pero a un crecimiento reducido en las primeras etapas de vida del alga coralina *Porolithon onkodes*. *Frontiers in Marine Science*, 6, 495. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00495>
- Padulles, M.L.; Torremorell, A.; Pozzobon, V.; Diaz, B. y Giorgi, A. (2022). Factores ambientales condicionantes del metabolismo de una Laguna Pampeana. *Revista Ecología Austral*, 32: 096-107.
- Palacio-Castro, A. M., Rodríguez-Romero, J., González-Rivero, M. y Martínez-Ríos, M. (2023). La química del carbonato en arrecifes de coral revela variabilidad interanual en la calcificación, la producción primaria y la disolución. *Scientific Reports*, 13(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-35167-3>
- Pan, T.-C. F., Applebaum, S. L. y Manahan, D. T. (2022). La acidificación oceánica causa cambios fundamentales en el metabolismo energético celular de los organismos marinos. *Scientific Reports*, 12, 26480. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-26480-9>
- Pelegri, J. L., Dacal, V. y García, P. (2019). El papel regulador de los océanos en el sistema terrestre. En *El océano que queremos: ciencia oceánica inclusiva transformadora* (pp. 23-47). Editorial CSIC. https://digital.csic.es/bitstream/10261/191591/3/Pelegri_et_al_2019.pdf
- Penié, J. B., Porbén, S. S., González, C. M., Borrás, A. E., Marín, R. Z. y Sánchez, M. G. (2003). Alimentación, nutrición y metabolismo en el proceso salud-enfermedad. *Acta Médica de Cuba*, 11(1).
- Peña, A. (2013). ¿Qué es el metabolismo? (Vol. 184). Fondo de Cultura Económica.

- Pereira, R. R. y Espinoza, C. (2021). Sistema de temperatura, oxígeno y salinidad para la experimentación en ecofisiología. Academia.edu. <https://www.academia.edu/56646395>
- Pereira, R. R., Díaz, L. A. y Villamar, J. (2024). Sistema automatizado para simulación en laboratorio de un gradiente térmico para estudios con organismos marinos. ResearchGate. <https://www.researchgate.net/publication/383305437>
- Pérez-Urria Carril, E. y Ávalos García, A. (2009). Metabolismo secundario de plantas. REDUCA (Biología), Serie Fisiología Vegetal, 2(3), 119–145.
- Pernet, F. (2025). Rompiendo el mito: La acuicultura de bivalvos no es un sumidero de CO₂. Reviews in Aquaculture, 17(4), 2954–2970. <https://doi.org/10.1111/raq.12954>
- Poloczanska, E., Burrows, M., Brown, C., Molinos, J., Halpern, B., Hoegh-Guldberg, O., Kappel, C., Moore, P., Richardson, A., Schoeman, D. y Sydeman, W. (2016). Respuestas de los organismos marinos al cambio climático en los océanos. Frontiers in Marine Science, 3, 62-1-62-21. <https://doi.org/10.3389/fmars.2016.00062>.
- Pörtner, H.-O. (2010). Tolerancia térmica limitada por oxígeno y capacidad: uniendo ecología y fisiología. Journal of Experimental Biology, 213(6), 881–893. <https://doi.org/10.1242/jeb.037523>
- Prochaska, J. X. y Rudnick, D. (2024). Extremos de oxígeno disuelto en el sistema de corrientes de California. arXiv. <https://doi.org/10.48550/arXiv.2408.12287>
- Quigley, K., Carey, N. y Alvarez Roa, C. (2023). Caracterización fisiológica del holobionte de coral utilizando una nueva herramienta de micro-respirometría. Journal of Visualized Experiments (JoVE), (648), e64812. <https://doi.org/10.3791/64812>
- Rajan, K. C., Shukla, S. P. y Bossier, P. (2020). Adaptación molecular de la biomineralización de moluscos a océanos con alto CO₂. Science of the Total Environment, 749, 141576. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141576>
- Raven, J. A. y Beardall, J. (2016). Las entradas y salidas del CO₂. Journal of Experimental Botany, 67(1), 1–11. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv463>
- Regan, M. D., Gosline, J. M. y Richards, J. G. (2013). Un calorespiómetro simple y accesible para evaluar las tasas metabólicas en peces. Journal of Experimental Biology, 216(24), 4507–4513. <https://doi.org/10.1242/jeb.093500>
- Reuter, J. E., Lowe, A. T., Bos, J. y Ruesink, J. (2019). El metabolismo del ecosistema impulsa la variabilidad del pH y modula la acidificación oceánica a largo plazo en el océano costero del Pacífico Noreste. Scientific Reports, 9(1), 963. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37764-4>
- Riebesell, U., Fabry, V. J., Hansson, L. y Gattuso, J.-P. (Eds.). (2011). Guía de buenas prácticas para la investigación y monitoreo de la acidificación oceánica. Agencia Internacional de

Energía Atómica (IAEA). Recuperado de <https://www.iaea.org/sites/default/files/18/06/oa-guide-to-best-practices.pdf>

- Robinson, C. (2019). La respiración microbiana, el motor de la desoxigenación oceánica. *Frontiers in Marine Science*, 5, 533. <https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00533>.
- Rose, D. J., y Hemery, L. G. (2023). Métodos para medir la absorción y permanencia del dióxido de carbono: revisión e implicaciones para la acuicultura de macroalgas. *Journal of Marine Science and Engineering*, 11(1), 175. <https://doi.org/10.3390/jmse11010175>
- Roth, F., Carvalho, S., Rixen, T., Rousset, G., Roullot, J., Wenzhoefer, F. y Wild, C. (2019). Un enfoque *in situ* para medir los flujos biogeoquímicos en comunidades bentónicas estructuralmente complejas. *Methods in Ecology and Evolution*, 10(4), 573–584. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13151>
- Ruiz-Franco, A. M., Kersting, D. K., López-Sanz, À., Moya, A., Silva, B., Casado-Amezúa, P., Terrón-Siguero, J. y Linares, C. (2024). La historia térmica y las olas de calor determinan la resistencia metabólica en un coral templado. *Science of the Total Environment*, 910, 168456. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.168456>
- Saraiva, S., Fernandes, L., Meer, J., Neves, R. y Kooijman, S. (2017). El papel de los bivalvos en Balgzand: Primeros pasos hacia un enfoque integrado de modelización. *Ecological Modelling*, 359, 34-48. <https://doi.org/10.1016/J.ECOLMODEL.2017.04.018>.
- Sarkar, S. (2018). Sistema de medición de temperatura de alta precisión multicanal basado en sensor RTD de platino para el rango de temperatura de -100°C a $+100^{\circ}\text{C}$ utilizando una función cuártica única. *Cogent Engineering*, 5(1), 1558687. <https://doi.org/10.1080/23311916.2018.1558687>
- Shaw, E. C., Phinn, S. R., Tilbrook, B. y Steven, A. (2014). Comparabilidad de los métodos de respirometría en flujo de agua quieta y lagrangiano para mediciones metabólicas comunitarias. *PLoS ONE*, 9(11), Article e112161. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112161>
- Shaw, E. C., McNeil, B. I. y Tilbrook, B. (2016). La influencia de las fluctuaciones dielíticas de la química del carbonato en la calcificación de organismos marinos. *Global Change Biology*, 22(6), 2018–2028. <https://doi.org/10.1111/gcb.13282>
- Siegfried, E. y Johnson, D. W. (2023). La acidificación oceánica experimental y la limitación alimentaria revelan cambios en los presupuestos energéticos y efectos sinérgicos sobre la mortalidad de las larvas de un pez costero. *Frontiers in Marine Science*, 10, 1240404. <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1240404>
- Skoog, D. A., Holler, F. J. y Crouch, S. R. (2017). *Principios de análisis instrumental* (7.^a ed.). Cengage Learning.

- Sma-Air, S. y Ritchie, R. J. (2021). Perspectivas espectrofluorométricas sobre la aplicación de la fluorometría PAM en la investigación fotosintética. *Photochemistry & Photobiology*, n/a(n/a), 1–12. <https://doi.org/10.1111/php.13413>
- Smith, M. y Johnson, P. (2023). El papel del fitoplancton en el ciclo del carbono oceánico y sus contribuciones a la respiración oceánica. *Frontiers in Marine Science*, 10, 1222895. <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1222895>
- Sokolova, I.M., Frederich, M., Bagwe, R., Lannig, G. y Sukhotin, A. (2012). La homeostasis energética como herramienta integradora para evaluar los límites de tolerancia al estrés ambiental en invertebrados acuáticos. *Investigación ambiental marina* 79. doi:10.1016/j.marenvres.2012.04.003
- Sokolova, I. M., Dickinson, G. H., Matoo, O. B., Bagwe, R., Dickinson, A., Beniash, E. y Ivanina, A. V. (2013). Efectos interactivos de la elevación de la temperatura y los niveles de CO₂ sobre el metabolismo energético y la biomineralización de los bivalvos marinos *Crassostrea virginica* y *Mercenaria mercenaria*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 166(1), 101–111. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.05.016>
- Song, J., Zhang, Y. y Li, X. (2024). Los efectos de la acuicultura de bivalvos en el almacenamiento de carbono en ecosistemas costeros. *Science of the Total Environment*, 937, 173538. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.173538>
- Steffen, J. B. M., Sokolov, E. P., Bock, C. y Sokolova, I. M. (2023). Efectos combinados de la salinidad y la hipoxia intermitente sobre la capacidad mitocondrial y el flujo de especies reactivas de oxígeno en la ostra del Pacífico, *Crassostrea gigas*. *Journal of Experimental Biology*, 226(15), jeb246164. <https://doi.org/10.1242/jeb.246164>
- Steller, D.L., Hernández-Ayón, J.M., Riosmena-Rodríguez, R. y Cabello-Pasini, A. (2007). Efecto de la temperatura sobre las tasas de fotosíntesis, crecimiento y calcificación del alga coralina de vida libre *Lithophyllum margaritae*. *Ciencias marinas*, 33(4), 441-456.
- Steller, H., Bock, H. y Langer, G. (2007). El papel de las reacciones de CaCO₃ en el ciclo contemporáneo del CO₂ oceánico. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 71(6), 1491–1505. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2006.12.001>
- Strugnell, J. (2003). Cambios en la composición tisular durante el desarrollo larvario de la ostra perlera *Pinctada margaritifera* (L.). *Molluscan Research*, 23(4), 321-331. <https://doi.org/10.1071/MR02018>
- Svendsen, M. B. S., Bushnell, P. G. y Steffensen, J. F. (2016). Guías para reportar métodos de estimación de tasas metabólicas mediante respirometría acuática de flujo intermitente. *Journal of Experimental Biology*, 224(18), jeb242522. <https://doi.org/10.1242/jeb.242522>

- Svendsen, M. B. S., Bushnell, P. G. y Steffensen, J. F. (2016). Diseño y configuración de un sistema de respirometría de flujo intermitente para organismos acuáticos. *Journal of Fish Biology*, 88(1), 26–50. <https://doi.org/10.1111/jfb.12797>
- Tambutté, É., Tambutté, S., Zoccola, D. y Allemand, D. (2011). Biomineralización en corales: desde el gen hasta el ambiente. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 408(1–2), 58–78. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2011.07.019>
- Tanaka, Y., Suzuki, A. y Sakai, K. (2018). La estequiometría de la simbiosis coral-dinoflagelado: Los ciclos de carbono y nitrógeno están equilibrados en el sistema de reciclaje y doble translocación. *The ISME Journal*, 12(3), 860–868. <https://doi.org/10.1038/s41396-017-0019-3>
- Tokoro, T., Hosokawa, S., Miyoshi, E., Tada, K., Watanabe, K., Montani, S., Kayanne, H. y Kuwae, T. (2014). Captación neta de CO₂ atmosférico por vegetación acuática sumergida en zonas costeras. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(51), 18144–18149. <https://doi.org/10.1073/pnas.1415317111>
- Tomaru, A., Inoue, K., Hamaguchi, M., Imanaga, Y. y Nagai, K. (2020). Evaluación en campo de la deposición de nácar en la ostra perlera *Pinctada fucata*: cambios estacionales e influencias ambientales. *Aquaculture*, 528, 735523. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735523>
- Toyofuku, T., Matsuo, M., De Nooijer, L., Nagai, Y., Kawada, S., Fujita, K., Reichart, G., Nomaki, H., Tsuchiya, M., Sakaguchi, H. y Kitazato, H. (2017). El bombeo de protones acompaña la calcificación en foraminíferos. *Nature Communications*, 8. <https://doi.org/10.1038/ncomms14145>.
- Troost, K., de Groot, S., van der Veer, H. W. y Wolff, W. J. (2015). El papel de los moluscos bivalvos en el ciclo de nutrientes y el papel de la acuicultura en la gestión de nutrientes. *Ocean and Coastal Management*, 116, 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2015.07.006>
- Valenzuela-Sánchez, C. G., Hernández, L. A. y Rodríguez, J. M. (2021). Composición y abundancia del fitoplancton como indicadores de la calidad del agua en sistemas de acuicultura de ostones. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 92, e9221. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2021.92.9221>
- Venegas, R., Acevedo, J. y Treml, E. (2023). Tres décadas de impactos del calentamiento oceánico en los ecosistemas marinos: Una revisión y perspectiva. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2023.105318>.
- Villnäs, A., Mäkelin, S. y Vanni, M. J. (2022). Rasgos alométricos y estequiométricos predicen las tasas de excreción de nutrientes por consumidores bentónicos. *Frontiers in Marine Science*, 9, 870308. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.870308>

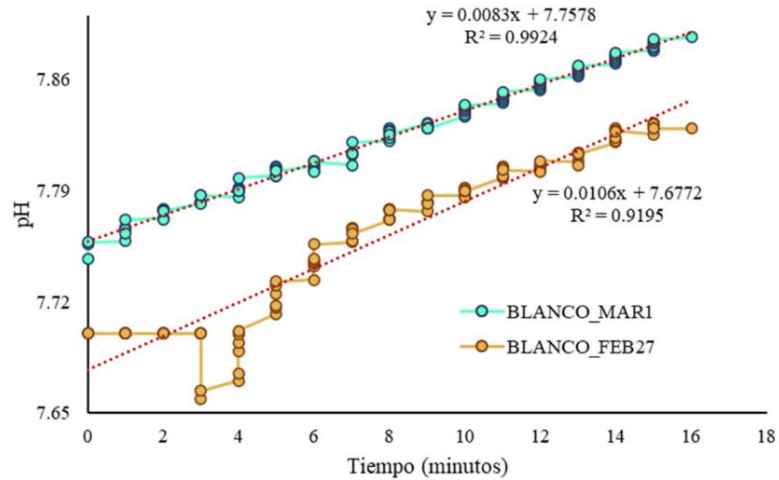
- Vriesman, V. P., Müller, M. N., Nehrke, G., Maier, C., Thoms, S., Reuter, R. y Eisenhauer, A. (2022). Investigando los factores que controlan las características del crecimiento de la concha en un bivalvo bajo variabilidad ambiental natural. *Biogeosciences*, 19(1), 329–343. <https://doi.org/10.5194/bg-19-329-2022>
- Waldbusser, G. G. y Salisbury, J. E. (2011). Biocalcificación en la ostra del Este (*Crassostrea virginica*) en respuesta a cambios de temperatura, salinidad y pH. Chesapeake Bay Program Technical Publication, 11.
- Waldbusser, G. G., Brunner, E. L., Haley, B. A., Hales, B., Langdon, C. J. y Prahl, F. G. (2015). Sensibilidad al estado de saturación de las larvas de bivalvos marinos frente a la acidificación oceánica. *Nature Climate Change*, 5, 273–280. <https://doi.org/10.1038/nclimate2479>
- Waldbusser, G. G., Gray, M. W., Hales, B., Langdon, C. J., Haley, B. A., Gimenez, I., Smith, S. R., Brunner, E. L. y Hutchinson, G. (2016). Construcción lenta de conchas, un posible rasgo de resistencia a los efectos agudos de la acidificación oceánica. *Limnology and Oceanography*, 61(6), 1969–1983. <https://doi.org/10.1002/lno.10348>
- Wallace, R. B., Peterson, B. J. y Gobler, C. J. (2021). El metabolismo del ecosistema modula la dinámica de la hipoxia y la acidificación en distintos tipos de hábitats costeros templados. *Marine Science*, Article 611781. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.611781>
- Wang, H., Lehrter, J. C., Maiti, K., Fennel, K., Laurent, A., Rabalais, N. N. y Cai, W.-J. (2020). La respiración bentónica en aguas hipóxicas intensifica la acidificación del agua profunda en el norte del Golfo de México. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 125(6), e2020JC016152. <https://doi.org/10.1029/2020JC016152>
- Xu, L., Song, H., Feng, J., Zhou, C., Yang, M.-J., Shi, P., Li, Y.-R., Guo, Y.-J., Li, H.-Z. (2023). Efecto del estrés por calor e hipoxia en la mitocondria y el metabolismo energético en la branquia de la almeja dura. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 266, Article 109556. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2023.109556>
- Yang, B., Zhang, Z., Cui, Z., Xie, Z., Chen, B., Zheng, H., Liao, B., Zhou, J. y Xiao, B. (2023). Múltiples factores que afectan el sistema de carbonatos en ambientes de comunidades coralinas subtropicales a lo largo de la península de Dapeng, Mar de China Meridional. *Atmosphere*, 14(4), 688. <https://doi.org/10.3390/atmos14040688>
- Yates, K. y Halley, R. (2003). Medición del metabolismo comunitario de arrecifes coralinos usando nueva tecnología de cámaras bentónicas. *Coral Reefs*, 22, 247-255. <https://doi.org/10.1007/s00338-003-0314-5>.
- Yu, H., Cao, Y., Yang, J., Li, Y., Wang, Y. y Shen, J. (2023). La hipoxia intermitente y las fluctuaciones de temperatura afectan el estrés oxidativo, la expresión de proteínas y la supervivencia en la ostra del Pacífico (*Magallana gigas*). *Aquatic Toxicology*, 264, 106479. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2023.106479>

Zhao, X., Shi, W., Han, Y., Liu, S., Guo, C., Fu, W., Chai, X. y Liu, G. (2017). Ocean acidification adversely influences metabolism, extracellular pH and calcification of an economically important marine bivalve, *Tegillarca granosa*. *Marine Environmental Research*, 125, 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2017.01.007>

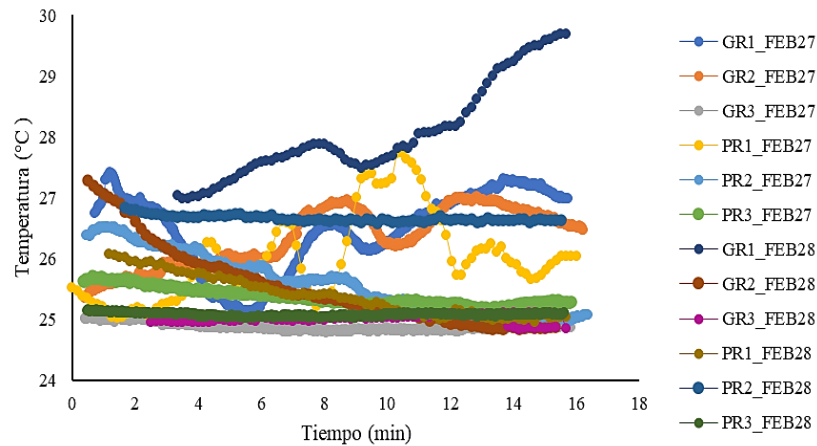
Zhao, L., Yu, K., Feng, D. y Dai, M. (2021). Costos energéticos de la calcificación y respuestas fisiológicas de los organismos marinos calcificadores a factores estresantes ambientales. *Science of The Total Environment*, 780, 146465. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146465>

12 ANEXOS

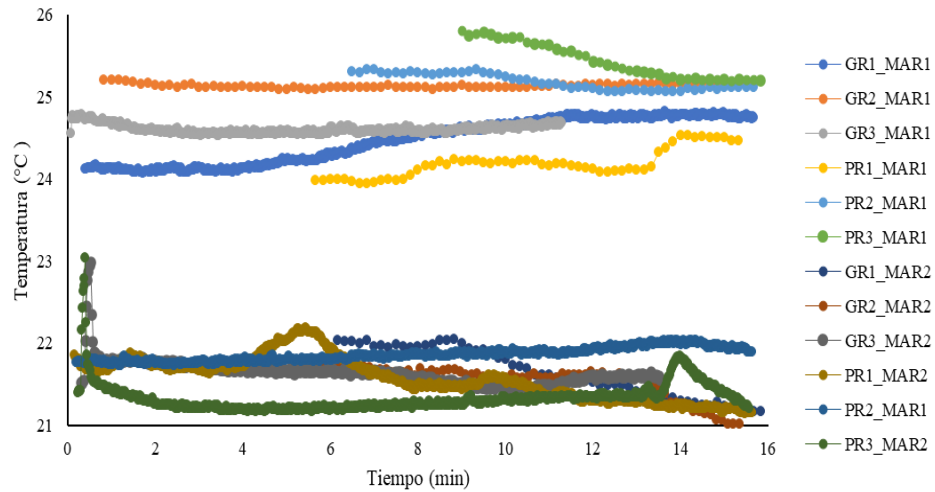
Anexo 1. Series de tiempo de pH correspondientes a las réplicas en blanco obtenidas el 27 de febrero en agua recirculada y el 1 de marzo en agua filtrada.



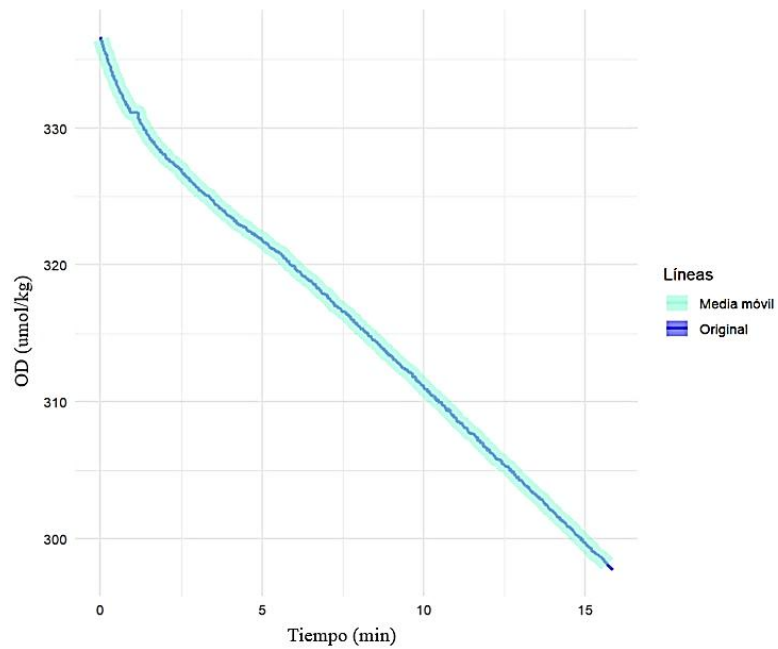
Anexo 2. Serie de tiempo de temperatura de los grupos grandes y pequeños en agua del sistema de recirculación (27 y 28 de febrero).



Anexo 3. Serie de tiempo de temperatura de los grupos grandes y pequeños en agua filtrada (1 y 2 de marzo).



Anexo 4. Datos originales y media móvil de OD en $\mu\text{mol/kg}$ del blanco en agua filtrada para calcular el ruido instrumental.



Anexo 5. Tabla de variables del Sistema del carbono usando el software CO2SYS en condiciones iniciales y finales.

Tipo de agua	CONDICIONES INICIALES											CONDICIONES FINALES										
	Grupo	Salinidad	t(°C)	TA (mmol/kgSW)	TCO ₂ (mmol/kgSW)	pH in	pCO ₂ in (uatm)	HCO ₃ in (mmol)	CO ₃ in (mmol/kgSW)	CO ₂ in (mmol)	Ω Ar in	TA (mmol/kgSW)	TCO ₂ (mmol/kgSW)	pH out	pCO ₂ out (uatm)	HCO ₃ out (mmol)	CO ₃ out (mmol)	CO ₂ out (mmol)	Ω Ar in			
	Pequeños	33.5	25.59	2029	1899	7.876	833.4	1774.5	101.1	23.4	1.62	2020	1913	7.814	973.8	1796.7	88.6	27.4	1.42			
	Grandes	33.5	26.33	2029	1899	7.868	857.1	1774.0	101.3	23.6	1.63	2017	1940	7.717	1252.8	1831.1	73.9	34.6	1.19			
	Pequeños	33.5	25.37	2029	1899	7.879	826.4	1774.7	101.0	23.4	1.62	2028	1931	7.786	1050.2	1818.1	83.4	29.7	1.34			
	Grandes	33.5	24.88	2029	1899	7.885	811.2	1775.0	100.8	23.2	1.61	2022	1938	7.752	1134.2	1829.1	76.5	32.4	1.23			
	Pequeños	33.5	25.33	1982	1856	7.872	820.8	1736.1	97.1	23.2	1.56	1996	1885	7.829	924.3	1769.6	89.6	26.1	1.44			
	Grandes	33.5	27.94	1982	1856	7.842	905.6	1734.4	98.1	24.0	1.59	1979	1877	7.777	1068.2	1762.3	85.8	28.3	1.40			
	Pequeños	33.5	26.68	1982	1856	7.856	863.8	1735.2	97.6	23.6	1.58	1979	1882	7.775	1063.0	1770.4	82.6	29.1	1.33			
	Grandes	33.5	25.31	1982	1856	7.873	820.2	1736.2	97.1	23.2	1.56	1982	1882	7.800	989.1	1770.2	83.7	28.0	1.34			
	Pequeños	33.5	25.08	1982	1856	7.875	813.1	1736.3	97.0	23.1	1.55	1982	1875	7.822	933.3	1761.7	87.0	26.6	1.39			
	Grandes	33.5	25.07	1982	1856	7.875	812.8	1736.3	97.0	23.1	1.55	1984	1887	7.794	1001.7	1775.7	82.3	28.5	1.32			
	Pequeños	33.5	24.13	2215	2055	7.949	747.2	1910.7	122.8	21.8	1.96	2216	2069	7.918	810.3	1929.9	115.5	23.6	1.84			
	Grandes	33.5	24.49	2215	2055	7.945	757.7	1910.5	122.9	21.9	1.96	2216	2064	7.926	795.9	1922.5	118.5	23.0	1.89			
	Pequeños	33.5	25.24	2215	2055	7.936	780.0	1910.0	123.2	22.1	1.98	2220	2062	7.932	789.0	1916.5	122.7	22.4	1.97			
	Grandes	33.5	25.13	2215	2055	7.937	776.6	1910.0	123.2	22.1	1.97	2218	2062	7.927	797.9	1918.6	121.0	22.7	1.94			
	Pequeños	33.5	25.44	2215	2055	7.933	786.0	1909.8	123.3	22.2	1.98	2217	2060	7.926	801.9	1916.0	121.7	22.6	1.95			
	Grandes	33.5	24.64	2215	2055	7.943	762.1	1910.4	123.0	21.9	1.97	2215	2060	7.932	783.2	1916.7	120.5	22.5	1.93			
	Pequeños	33.5	21.62	2215	2057	7.975	686.1	1915.4	120.6	21.4	1.90	2216	2073	7.938	755.4	1937.6	112.1	23.5	1.77			
	Grandes	33.5	21.66	2215	2057	7.974	687.2	1915.4	120.6	21.4	1.90	2215	2066	7.952	727.7	1928.3	115.4	22.6	1.82			
	Pequeños	33.5	21.85	2215	2057	7.972	692.4	1915.3	120.7	21.4	1.91	2219	2069	7.952	730.9	1930.6	116.2	22.6	1.83			
	Grandes	33.5	21.79	2215	2057	7.973	690.7	1915.3	120.7	21.4	1.90	2217	2070	7.946	741.3	1932.7	114.5	23.0	1.81			
	Pequeños	33.5	21.31	2215	2057	7.979	677.8	1915.6	120.5	21.3	1.90	2217	2062	7.971	691.7	1921.8	118.8	21.7	1.87			

Anexo 6. Tabla 6 de diferencias de las variables obtenidas en el software CO2SYS (valor final – valor inicial).

DIFERENCIAS									
Tipo de agua	Grupo	TA (mmol/kgSW)	TCO ₂ (mmol/kgSW)	pH	pCO ₂ (atm)	HCO ₃ (mmol/kgSW)	CO ₃ (mmol/kgSW)	CO ₂ (mmol/kgSW)	Ω Ar
	Pequeños	-9	13.66	-0.062	140.40	22.12	-12.40	3.95	-0.20
	Grandes	-12	40.54	-0.151	395.76	57.10	-27.48	10.92	-0.44
	Pequeños	-1	32.13	-0.094	223.75	43.39	-17.58	6.32	-0.28
	Grandes	-7	39.11	-0.133	323.04	54.11	-24.24	9.24	-0.39
	Pequeños	14	28.85	-0.043	103.46	33.44	-7.52	2.93	-0.12
	Grandes	-3	20.02	-0.065	162.65	27.94	-12.23	4.32	-0.20
	Pequeños	-3	25.51	-0.081	199.22	35.11	-15.05	5.45	-0.24
	Grandes	0	25.40	-0.073	168.87	34.02	-13.39	4.78	-0.21
	Pequeños	0	18.83	-0.054	120.19	25.41	-10.00	3.42	-0.16
	Grandes	2	30.05	-0.081	188.96	39.36	-14.69	5.38	-0.24
	Pequeños	1	13.69	-0.031	63.15	19.14	-7.29	1.84	-0.12
	Grandes	1	8.70	-0.019	38.22	12.02	-4.43	1.10	-0.07
	Pequeños	5	6.24	-0.004	9.02	6.56	-0.57	0.26	-0.01
	Grandes	3	6.95	-0.010	21.23	8.55	-2.20	0.60	-0.04
	Pequeños	2	4.97	-0.007	15.92	6.18	-1.66	0.45	-0.03
	Grandes	0	4.37	-0.010	21.17	6.29	-2.53	0.61	-0.04
	Pequeños	1	15.86	-0.037	69.33	22.21	-8.51	2.16	-0.13
	Grandes	0	8.97	-0.022	40.52	12.89	-5.18	1.26	-0.08
	Pequeños	4	12.03	-0.020	38.54	15.36	-4.52	1.19	-0.07
	Grandes	2	12.81	-0.027	50.55	17.42	-6.17	1.57	-0.10
	Pequeños	2	4.96	-0.007	13.90	6.18	-1.66	0.44	-0.03