



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS



**Efecto de la acidificación oceánica, inducida por pulsos
diarios de CO₂ en el crecimiento y supervivencia de
juveniles de abulón azul (*Haliotis fulgens*)**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LIC. EN BIOTECNOLOGÍA EN ACUACULTURA

PRESENTA

CARLOS DANIEL VILLAVICENCIO ZACATZI

Ensenada, Baja California, 29 de mayo de 2023.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
CAMPUS ENSENADA



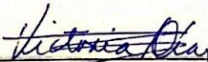
"EFECTO DE LA ACIDIFICACIÓN OCEÁNICA INDUCIDA POR CO₂ MEDIANTE PULSOS DIARIOS EN EL CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA EN JUVENILES DE ABULÓN AZUL (*Haliotis fulgens*)".

TESIS

PARA CUBRIR LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOTECNOLOGÍA EN ACUACULTURA
PRESENTA:


Carlos Daniel Villavicencio Zacatzi
351712

A quien el Comité de Tesis autoriza el trabajo terminal, después de haber efectuado una revisión minuciosa del mismo y de acuerdo con el Art. 19 del R.G.E.P.E.P, las y los señores profesores emiten los siguientes votos aprobatorios mediante rubrica:


Victoria María Díaz Castañeda
DIRECTORA


Jesús Roberto Oyervides Figueroa
CODIRECTOR


Fabiola Lafarga De la Cruz
SINODAL


Alicia Abadía Cardoso
SINODAL

"Por la Realización Plena del Ser"

C.c.p.- Archivo
C.c.p.- Minutario

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE BAJA CALIFORNIA



FACULTAD DE
CIENCIAS MARINAS

Resumen

El nivel de CO₂ de origen antropogénico está aumentando en la atmósfera y como consecuencia los océanos están captando más CO₂, lo cual está provocando cambios importantes en la química del agua. Estos cambios conllevan a la reducción del pH del agua de mar y disminuyen la disponibilidad de iones carbonato, esenciales para el proceso de calcificación de diversas especies marinas. La acidificación oceánica (AO) es considerada como una amenaza potencial para las especies marinas, ya que generalmente altera y disminuye su crecimiento, supervivencia y calcificación. Existe poca información acerca del efecto que tiene la disminución del pH en la fisiología del abulón, específicamente en el abulón azul *Haliotis fulgens*, siendo esta una especie de gran importancia pesquera y acuícola. Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la acidificación, inducida por pulsos diarios de CO₂, en el crecimiento, supervivencia y características de la concha en juveniles de abulón azul *H. fulgens*. Para evaluar los efectos de la acidificación se expusieron a juveniles de *H. fulgens* de dos años, con una talla inicial de 35.90 ± 0.67 mm (media \pm error estándar) y un peso de 5.94 ± 0.32 g a dos tratamientos de pH experimentales (7.7 y 7.5) y un tratamiento control (7.9) durante 94 días. El experimento se realizó por triplicado en charolas de 18 L para los dos tratamientos experimentales y el control y se colocaron 20 abulones por charola. Las variables evaluadas fueron: crecimiento en talla (longitud de concha) y peso húmedo, supervivencia y características de las conchas (periostraco, coloración) al final del experimento. Los resultados muestran que, la ganancia en crecimiento en talla fue significativamente mayor en la condición control (3.26%), seguida por la condición de pH de 7.5 (2.47%) y en el pH de 7.7 (1.96%). Mientras que, el crecimiento medido en peso húmedo fue significativamente mayor en la condición control (8.44%), con respecto a los sometidos a las condiciones experimentales de pH 7.7 (6.74%) y pH 7.5 (3.49%). Por otra parte, la supervivencia no presentó diferencias significativas entre tratamientos. La condición control, presentó un porcentaje de supervivencia de 34.66 ± 5.78 %, el tratamiento de pH 7.7 una supervivencia de 50 ± 10 % y el tratamiento de pH 7.5 una supervivencia de 43.33 ± 7.26 %. Mientras que, el efecto de la acidificación en las características de las conchas fue más evidente en los abulones expuestos al pH más bajo (7.5). Estos organismos en su mayoría presentaron erosión parcial del periostraco (capa más

externa de la concha) y coloraciones más pálidas que el resto de los organismos mantenidos a pH de 7.7 y control. En general, la acidificación oceánica produce efectos perjudiciales en el abulón, lo cual representa una amenaza para el sector pesquero y acuícola. Sin embargo, juveniles de *H. fulgens* expuestos a pulsos diarios de CO₂ los cuales disminuyen el pH del agua por un tiempo determinado, parece que presentan cierta tolerancia frente a las condiciones acidificadas del océano que se plantean para escenarios futuros.

Palabras clave:

Abulón azul, *Haliotis fulgens*, pH, Acidificación oceánica, CO₂

Agradecimientos

A la Universidad Autónoma de Baja California, por ser mi casa de estudio, por brindarme las herramientas académicas necesarias para ser un profesionalista de calidad, a todos los docentes por todo su conocimiento compartido y enseñanzas.

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, específicamente al departamento de Acuicultura, por darme la oportunidad de realizar la parte experimental en sus instalaciones y brindarme todas las facilidades posibles.

A la Dra. Fabiola Lafarga De la Cruz, por aceptarme en su cuerpo de trabajo y por guiarme en este camino, por creer en mí, por su disposición por siempre ayudarme y apoyarme para la realización de este trabajo, por todo su conocimiento compartido y sus enseñanzas, me siento muy afortunado de haber trabajado con una persona como usted.

Al M.C. Jesús Roberto Oyervides Figueroa, por su disposición de apoyarme y ayudarme siempre en la realización de este trabajo, por aceptar ser mi co-director de tesis, por todo el conocimiento compartido, consejos y por tus críticas constructivas para seguir mejorando, por hacerme ver las cosas más allá de lo obvio.

A la Dra. Victoria María Díaz Castañeda, por aceptar ser mi co-directora de tesis, por su disposición por ayudarme para poder culminar este trabajo, por todo su conocimiento compartido, por sus consejos y críticas constructivas que ayudan a seguir mejorando y aprendiendo.

A la Dra Alicia Abadía Cardoso, por aceptar ser parte de este trabajo, por sus observaciones y críticas constructivas para bien de este trabajo, por su conocimiento compartido y su disposición de siempre apoyar.

A los técnicos, Jesús y Francisco, por el apoyo de las labores diarias que se tienen que hacer en el laboratorio, por el apoyo y por siempre estar a disposición por ayudar.

A mis tíos, Juan Ramón Ruiz Arce y María de Lourdes Zacatzi Ayala, por confiar en mí y apoyarme siempre en todo momento, por estar siempre pendiente de uno, por brindarme un techo y facilitar mi estancia en la ciudad, Mil gracias.

A toda mi familia, porque a pesar de la distancia, siempre estuvieron conmigo, dándome apoyo y ánimos, son mi todo.

A la familia Castro Murrieta, por aceptarme como uno más de su familia, por confiar en mí y siempre estar a disposición de apoyarme, por todos sus consejos y muestras de cariño.

A todos mis amigos de la facultad, Germán, Areli, Cristina, por siempre apoyarme y hacer de mi vida, buenos ratos, a mis amigos Miguel Aguilar, Gadiel Villavicencio, Juárez Velazco, se convirtieron en mi segunda familia y me ayudaron a pasar tragos amargos, gracias por estar, por su ayuda y apoyo en todos los aspectos.

Dedicatoria

A mi mamá, Rosario Zacatzi Ayala, por siempre apoyarme y por darme la oportunidad de tener una educación de calidad y una mejor vida, por todo tu esfuerzo que realizas día a día para que nunca me falte nada, por siempre creer en mí y por ser mi ejemplo para seguir, por ser la mejor mamá que pudo tocarme.

A Tirso Javier Mendoza Ruiz, por siempre apoyarme en cada decisión tomada, por su esfuerzo y trabajo para darme una educación y con ello una mejor calidad de vida, por confiar siempre en mí sin importar las circunstancias, gracias.

A mi complemento de vida, Shaula Adhara Castro Murrieta, por siempre apoyarme en todos los aspectos, por confiar en mí, por ayudarme, apoyarme y comprenderme en mis momentos más difíciles, gracias por ayudarme a no desistir, por hacerme una mejor persona y hacerme dar el máximo siempre frente a cualquier situación, por sacarme de mi zona de confort, gracias por tu sabiduría, fortaleza y motivación.

Índice de contenido

Resumen	3
Agradecimientos	5
Dedicatoria	7
Índice de figuras.	10
Índice de tablas	12
1. Introducción	13
2. Antecedentes	17
2.1. Producción pesquera y acuícola a nivel mundial	17
2.2 Situación de la pesquería de abulón en el mundo	18
2.2.1. Situación actual del cultivo de abulón en el mundo	19
2.3. Situación actual de la pesquería y cultivo de abulón en México	20
2.3.1. Pesquería de abulón en México	21
2.3.2. Importancia económica del recurso abulón en México	23
2.4. Cultivo de abulón en México	24
2.5 Acidificación oceánica	25
2.5.1. Efectos de la acidificación oceánica	26
2.5.2 Impactos de la acidificación en organismos marinos	28
2.6 Biología del abulón azul (H. fulgens)	29
2.6.1. Ciclo de vida y reproductivo	30
4. Hipótesis	34
5. Objetivos	34
5.1. Objetivo general	34
5.1.2. Objetivos específicos	34
6. Metodología	35
6.1. Organismos de estudio	35
6.2. Diseño experimental	37
6.2.1 Sistema experimental	37
6.2.2 Mantenimiento de los sistemas y alimentación	38
6.3. Medición de parámetros fisicoquímicos del cultivo	39
6.4. Crecimiento y supervivencia	40
6.5. Análisis cualitativo de las conchas	41
6.6. Análisis estadísticos	42
7. Resultados	43
7.1. Parámetros fisicoquímicos	43
7.1.2. Variaciones del pH por tratamiento	44
7.2. Efecto de la acidificación en el crecimiento	45
7.2.1. Efecto de la acidificación en el crecimiento en peso (g)	48
7.3. Efecto del pH en la supervivencia de H. fulgens	51
7.4. Efecto del pH en la concha de H. fulgens	53
7.5. Presencia de poliquetos espirórbidos en la concha de H. fulgens.	56
8. Discusiones	58
8.1 Efecto de la acidificación en crecimiento	58
8.2 Efecto de la acidificación en supervivencia	63

8.3 Efecto de la acidificación en concha	65
9. Conclusiones	68
10. Recomendaciones	69
11. Referencias bibliográficas.	70

Índice de figuras.

Figura 1. Producción mundial por pesca y acuicultura. Tomado de FAO (2022).	17
Figura 2. Producción mundial acuícola en el periodo de 1991-2020. Tomado de FAO (2022).	18
Figura 3. Producción mundial de cultivo de abulón y sus principales productores. Modificado de Nguyen et al., (2022).	20
Figura 4. Serie histórica de producción pesquera y acuícola de abulón del año 2012-2021. Modificado de CONAPESCA (2023).	23
Figura 5. Acidificación oceánica. Modificado de Birchenough et al., (2017).	26
Figura 6. Proceso de calcificación de conchas de moluscos. Modificado de Marín y Luquet (2004).	27
Figura 7. Vista ventral y dorsal anatómica de abulón. Modificado de Fallu y Lang (1994).	30
Figura 8. Esquema de ciclo de vida de abulón (<i>H. tuberculata</i>). Modificado de Jardillier et al. (2008).	31
Figura 9. Sistema de recirculación durante el proceso de aclimatación de los organismos. Los organismos se colocaron en charolas de 18L por triplicado a pH ambiental (7.9 ± 0.01) y temperatura controlada ($18.38^{\circ}\text{C} \pm 0.05$). A. Reservorio de agua que llega directamente a CICESE, previamente filtrada agua. B. Bomba de agua que permite el paso del agua al sistema experimental. C. Filtros de cartucho. D. Esterilizador de luz ultravioleta (UV). E. Reservorio de agua de tratamientos (60L)	36
Figura 10. Sistema experimental estático, donde se realizó el bioensayo de 94 días (tres meses). Charolas a pH control 7.9, y experimentales de 7.7 y 7.5. Para cada tratamiento de pH, se preparaba el agua para llegar al pH deseado con inyección directa de CO ₂ .	38
Figura 11. Variaciones de pH a lo largo del experimento (94 d) en las diferentes condiciones: control (7.9) y experimentales (7.7 y 7.5).	44
Figura 12. Línea de tiempo de la evolución del pH entre cada recambio de agua, modelo realizado a partir de una prueba de 3 días en el pH experimental 7.5. El modelo matemático es un modelo logarítmico del incremento de pH en función del tiempo. R ² es el coeficiente de determinación del modelo mostrado en el gráfico.	45
Figura 13. Crecimiento de las conchas, de abulón azul (<i>H. fulgens</i>) en las condiciones control (7.9) y experimentales (7.7 y 7.5). Las barras representan la media con el error estándar.	46
Figura 14. Ganancia y porcentaje de incremento en talla (A-B), expresada en longitud de concha (mm), y tasa de crecimiento mensual (TCM, mm/mes) de <i>H. fulgens</i> . Las barras representan la media con el error estándar.	47
Figura 15. Crecimiento del peso total húmedo, promedio inicial y final de juveniles de <i>H. fulgens</i> en pH control (7.9) y experimentales (7.7 y 7.5). Las barras representan la media con el error estándar.	49
Figura 16. Ganancia y porcentaje de incremento en talla (A-B), expresados en peso total húmedo (g), y tasa de crecimiento mensual (TCM, g/mes) de <i>H. fulgens</i> . Las barras representan la media con el error estándar.	51
Figura 17. Supervivencia de juveniles de <i>H. fulgens</i> después de 94 días de exposición a diferentes condiciones de pH (control y experimentales).	52
Figura 18. Patrón de coloración del periostraco de las conchas de juveniles <i>H. fulgens</i> después de 94 días de exposición a diferentes condiciones de pH.	53
Figura 19. Patrón de coloración en el periostraco de las conchas de <i>H. fulgens</i> después de 94 días de exposición a diferentes condiciones de pH. Detalle de los últimos poros	

respiratorios, vista con el microscopio estereoscópico. Las flechas muestran los cambios de tonalidad de coloración dependiendo del pH, resaltando colores más intensos en pH de 7.9, 7.7 y coloraciones más pálidas en el pH más ácido (7.5).	54
Figura 20. Patrón de coloración del periostraco de conchas de juveniles de <i>H. fulgens</i> expuestas 94 días a diferentes condiciones de pH. Detalle del borde de crecimiento (parte dorsal), vista ventral y dorsal en microscopio estereoscopio, en conchas de tratamiento control (pH 7.9) y condiciones experimentales (7.7 y 7.5). Las flechas muestran cambios de tonalidad.	55
Figura 21. Categorías que describen la intensidad de la presencia de poliquetos espirórbidos, en <i>H. fulgens</i> . Categorías A: sin presencia (0%), B: baja (1-10%), C: considerable (11-70%) y D: alta (>70%).	57
Figura 22. Valores promedio de las variables fisicoquímicas de A) temperatura (°C), B) saturación de oxígeno (%), C) niveles de oxígeno disuelto (mg/L) y D) salinidad (ppm) en la condición control (pH 7.9) y las experimentales (pH 7.7 y 7.5) por triplicado durante 94 días.	78
Figura 23. Tablas de resultados de pruebas estadísticas ANOVA (paramétrica y no paramétrica).	80
Figura 24. Pruebas post hoc.	81

Índice de tablas

Tabla 1. Valores promedio de los parámetros fisicoquímicos evaluados durante 94 días de experimentación en los diferentes tratamientos.	43
Tabla 2. Resultados de talla y peso en los diferentes tratamientos de acidificación (valores promedio).	50
Tabla 3. Porcentaje de abulones por tratamiento en cada categoría establecida de la intensidad (porcentaje de cobertura) de poliquetos.	57

1. Introducción

La acuicultura es el conjunto de actividades en las cuales se emplean técnicas y conocimiento, para la crianza y el cultivo de especies acuáticas. Dichas especies, se pueden clasificar en cuatro grandes grupos: peces, moluscos, crustáceos y algas (FAO, 2019). Esta actividad ha crecido de manera exponencial en los últimos años, incluso por encima de cualquier otro sector de producción de alimentos de origen animal (FAO, 2022).

La acuicultura constituye una fuente indispensable de alimentos, empleo, creación de comercio y bienestar económico para la sociedad, tanto para las generaciones presentes como futuras. Sin embargo, al igual que cualquier actividad de aprovechamiento de recursos naturales, se debe realizar de manera sustentable y así, evitar los potenciales efectos adversos en el ecosistema, los conflictos sociales derivados, y el uso incorrecto e indebido de productos químicos (antibióticos) entre otros (FAO, 2022).

El abulón es un molusco gasterópodo herbívoro marino que pertenece al género *Haliotis*. Su alimentación se basa principalmente en macroalgas en su etapa adulta, y en estadios juveniles tempranos se alimentan de microalgas (principalmente diatomeas) (Cox, 1962).

Las especies de abulón (*Haliotis spp.*), son un recurso marino de gran importancia comercial, debido al alto valor monetario que alcanzan en el mercado. El precio es variable y depende de la presentación, en vivo, congelado o enlatado. Debido a lo anterior, su pesquería representa una actividad de gran importancia socioeconómica en el mundo, incluido México. En México, el recurso abulón tiene gran relevancia, de manera particular en las comunidades que se encuentran a lo largo de la península de Baja California (León-Carballo y Muncino-Díaz, 1996), en donde las especies de mayor extracción para su comercialización son: el abulón azul (*Haliotis fulgens*) y el abulón amarillo (*H. corrugata*), representando un ingreso de 67.3

millones de pesos por 274 toneladas extraídas entre el periodo de los años 2000 al 2018 (INAPESCA, 2021).

La pesquería de abulón en México se encuentra reglamentada por la norma (NOM-005-PESC-1993), encargada de regular el aprovechamiento de las distintas especies de abulón en la península de Baja California. A partir de la aplicación de ésta, se emiten las concesiones de captura, que únicamente son otorgadas a Sociedades Cooperativas de Producción Pesquera (SCPP), (NOM-005-PESC-1993) y establece la talla mínima legal de captura, zonas delimitadas de captura por coordenadas y la temporada de veda, las cuales son establecidas y actualizadas conforme la variación latitudinal de las temporadas de reproducción y las tallas de primera madurez (Sierra-Rodríguez *et al.*, 2006). Adicionalmente, una vez abierta la temporada de captura, se deben realizar evaluaciones del stock en los bancos de abulón, considerando la tasa de crecimiento anual para estimar y determinar el volumen de extracción durante la temporada de captura (Sierra-Rodríguez *et al.*, 2006).

Pese a las regulaciones que existen para la extracción de este recurso, la biomasa de los bancos de abulón continúa descendiendo a lo largo de la península (Guzmán del Prío y Borges-Souza, 2016). Esta disminución, ha sido atribuida a una combinación de varios factores, entre los que destacan: el manejo inadecuado de la extracción del recurso, la pesca ilegal y los efectos ambientales (Guzmán del Prío y Borges-Souza, 2016).

Ante el descenso de la biomasa en los bancos de abulón y de la producción pesquera, la acuicultura de abulón surgió y permitió mantener la producción a nivel mundial. Adicionalmente, la acuicultura es una herramienta que ayuda, en la restauración y conservación de los bancos de abulón en el medio natural, debido a que se ejerce menor presión pesquera sobre este recurso y al contribuir con los planes de repoblamiento (Lluch-Cota y Ponce-Díaz, 2000).

A pesar de que la acuicultura del abulón, inició como una herramienta de restauración y conservación del organismo en el medio natural, al día de hoy la mayoría del abulón que se comercializa proviene del cultivo. A nivel mundial, la producción alcanzó las 203,374 toneladas en el año 2019, de las cuales, 180,267 toneladas fueron únicamente producidas por China, que es el principal país productor de este recurso, seguido de la República de Corea como segundo mayor productor con 18,436 toneladas (Nguyen *et al.*, 2022).

En función de lo anterior, existe un interés cada vez mayor por cultivar este organismo en el mundo y en el caso particular de México, también. No obstante, la actividad acuícola del abulón al igual que la pesca, se enfrentan a las perturbaciones medioambientales, ocasionadas por el cambio climático. Nos referimos como cambio climático, a las variaciones que se producen en el clima durante periodos prolongados que suelen oscilar entre décadas y millones de años (IPCC, 2014). Estas variaciones climatológicas pueden poner en riesgo las actividades de producción primaria como lo es la acuicultura y la pesca (Maulu *et al.*, 2021). Si bien, al hablar del cambio climático, normalmente se piensa en el incremento de la temperatura, más recientemente se ha prestado atención a otras problemáticas asociadas, como lo es la tendencia a la acidificación del océano.

La acidificación oceánica (AO), se origina por el exceso de CO_2 en la atmósfera debido en gran parte a diversas actividades antropogénicas, el océano capta cerca del 28% del CO_2 lo que ocasiona el descenso del pH del agua. El CO_2 atmosférico absorbido por el océano, se disuelve en el agua, reacciona y forma ácido carbónico (H_2CO_3), iones de hidrógeno (H^+), bicarbonato (HCO_3^{-1}) y carbonatos (CO_3^{-2}), lo que implica la disminución del pH en el océano (Laffoley *et al.*, 2017). Además, ocurren otras reacciones químicas que implican modificaciones en el estado de saturación de iones de carbonato de calcio (CaCO_3), produciendo una menor disponibilidad (Salomon *et al.*, 2007).

La acidificación oceánica afecta negativamente a los ecosistemas marinos, debido a la alteración de diversos procesos fisiológicos en los organismos provocados por el descenso del pH del agua de mar. Los organismos calcificadores como: moluscos, equinodermos y crustáceos, son particularmente susceptibles ante esta tendencia a la acidificación del agua marina, debido a la formación de estructuras de carbonato de calcio durante su desarrollo y crecimiento (Kroecker *et al.*, 2010).

El presente trabajo, tiene como objetivo evaluar el efecto del descenso del pH del agua de mar, inducida por pulsos diarios de CO₂, en el crecimiento, la supervivencia y las características de las conchas en juveniles de abulón azul *H. fulgens*, durante 94 días de exposición.

2. Antecedentes

2.1. Producción pesquera y acuícola a nivel mundial

La producción mundial pesquera, en 2020 se estimó en 90.3 millones de toneladas (t), de las cuales, 11.5 millones de t provienen de aguas continentales y 78.8 millones de t de aguas oceánicas, con un valor estimado de 141,000 millones de dólares (Figura 1; FAO, 2022P). Mientras que, en el mismo año, la producción acuícola mundial alcanzó un récord de 122.6 millones de t (Figura 2), con un valor estimado de 281,500 millones de dólares (FAO, 2022). Los peces de aleta cultivados hasta el año de 2020 alcanzaron una producción de 57.5 millones de t (65.7%; Figura 2), equivalentes a 146,100 millones de dólares, en donde el 47.1 millones de t procedían de acuicultura continental y 8.3 millones de t de cultivo marino y acuicultura costera (FAO, 2022). Seguida por la producción de moluscos por acuicultura que alcanzó los 17.7 millones de t (20.2%), equivalente a un total de 29,800 millones de dólares (FAO, 2022). Posteriormente, la producción en crustáceos registró un volumen de 11.2 millones de t (12.8%; Figura 2), con un valor total de 81,500 millones de dólares. Mientras que, las restantes 1.1 millones de toneladas (1.3%), corresponden a otras especies de invertebrados y organismos acuáticos; y la producción de algas fue de 35.1 millones de t (Figura 2; FAO, 2022).

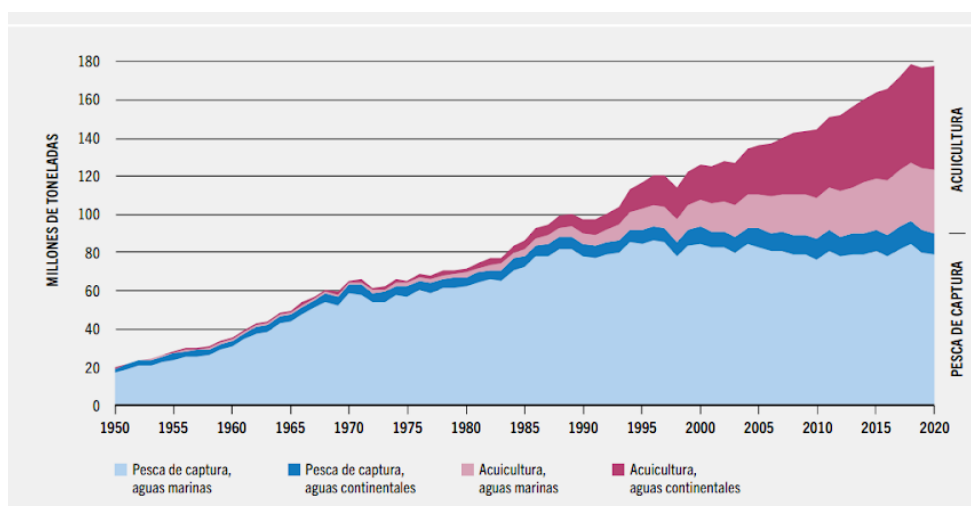


Figura 1. Producción mundial por pesca y acuicultura. Tomado de FAO (2022).

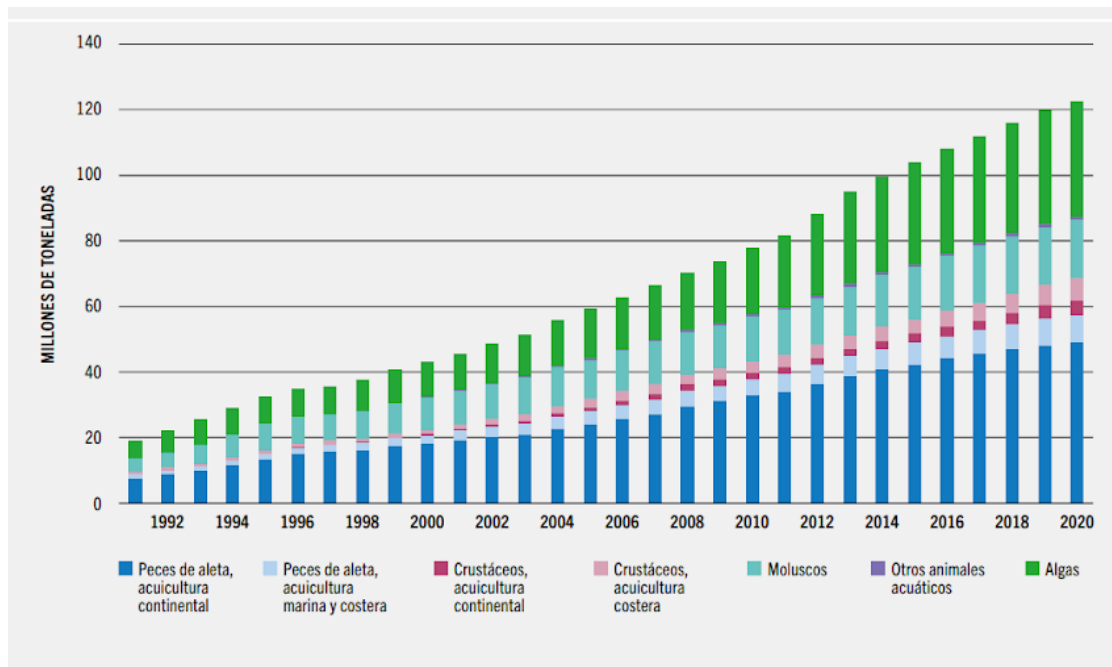


Figura 2. Producción mundial acuícola en el periodo de 1991-2020. Tomado de FAO (2022).

Dentro del grupo de los moluscos, los bivalvos son los más producidos; pero entre los otros grupos se encuentran los abulones, gasterópodos marinos de alta demanda y alto valor comercial. Con el pasar del tiempo existe un mayor interés para producir este preciado organismo por su atractivo precio económico, alta demanda y el declive que presenta la producción pesquera en las últimas décadas (FAO, 2022).

2.2 Situación de la pesquería de abulón en el mundo

El género *Haliotis*, incluye más de 70 especies de abulón en el mundo (Geiger, 1999), pero solo aproximadamente 14 de estos, son económicamente importantes para la pesca y la acuicultura (Estes *et al.*, 2005).

La producción pesquera del abulón a nivel mundial, ha disminuido de 20,000 t en el año de 1970 a 6,500 t en el año de 2017 (Cook, 2019). Entre los factores más importantes de la disminución de sus poblaciones a nivel

mundial, se encuentran: la sobrepesca, la pesca ilegal, las enfermedades y los factores ambientales (Cook, 2019).

El declive de poblaciones de abulón se ha reportado en los principales países productores de abulón por pesquería. En Australia, se ha reportado una disminución en la producción pesquera en las especies *H. laevigata* y *H. rubra* debido a un brote de enfermedades, que impactaron tanto a los abulones del medio natural como a los de cultivo (Mayfield *et al.*, 2011). En Filipinas, se evidenció el declive de la población de *H. asinina* provocado por la sobreexplotación de la especie (Salazar y Dolorosa, 2017). En Sudáfrica, se ha experimentado por muchos años la pesca furtiva a gran escala y esto ha impactado de manera negativa a las poblaciones naturales del abulón *H. midae*, a tal grado de que la pesquería se dejó de comercializar en el año del 2008 como una estrategia para mitigar el impacto de la pesca ilegal (Cook, 2019).

Ante estas problemáticas, surgió la acuicultura como una herramienta para satisfacer la demanda mundial de abulón. La producción acuícola de abulón resultó ser exitosa, actualmente la producción acuícola es mucho mayor que la producción pesquera, y genera aproximadamente el 93% de la producción de abulón a nivel mundial (FAO, 2021).

2.2.1. Situación actual del cultivo de abulón en el mundo

La producción de abulón cultivado reportado hasta el año del 2019 fue de 203,374 t (Figura 3) (FAO, 2021). China es actualmente el mayor productor de abulón del mundo, con más de 180,267 t en 2019 (principalmente *H. discus hannai* y *H. diversicolor*). Seguido de la República de Corea como segundo mayor productor de abulón con 18,436 t de (*H. discus hannai*), le sigue Sudáfrica con 1,675 t (*H. midae*) y Australia con 424 t (*H. rubra*, *H. laevigata* y un híbrido de estas dos especies) (FAO, 2021). Otros países donde se cultiva abulón incluyen Taiwán (*H. diversicolor supertexta* y *H. discus hannai*), Tailandia (*H. diversicolor*), Filipinas (*H. asinina*), Estados

Unidos (*H. rufescens* y *H. fulgens*), Chile (*H. rufescens*) México (*H. fulgens* y *H. rufescens*) y Nueva Zelanda (*H. iris*) (FAO, 2021).

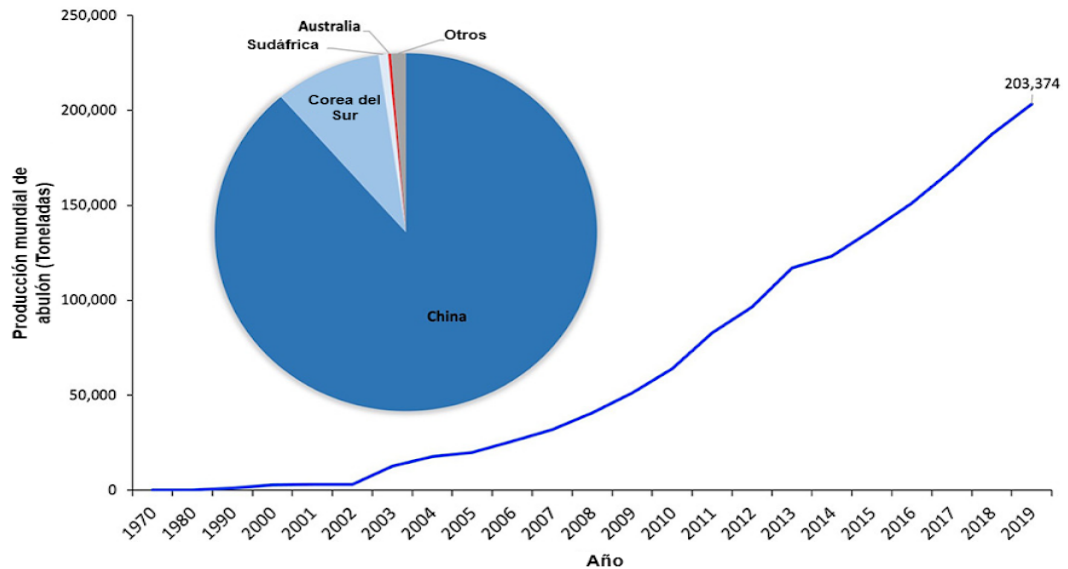


Figura 3. Producción mundial de cultivo de abulón y sus principales productores. Modificado de Nguyen *et al.*, (2022).

A pesar del rápido crecimiento del cultivo de abulón en muchos países y el alto valor económico de estos productos marinos a nivel mundial, el abulón cultivado representa un porcentaje relativamente pequeño (0.003%), si se compara con el cultivo de otros moluscos a nivel mundial como por ejemplo el ostión (*Crassostrea*) (5,450.3 millones de toneladas) (Nguyen *et al.*, 2022; FAO, 2022).

2.3. Situación actual de la pesquería y cultivo de abulón en México

Actualmente en México existen siete especies de abulón (*H. corrugata*, *H. cracherodii*, *H. fulgens*, *H. kamtschatka assimilis*, *H. rufescens*, *H. sorenseni* y *H. walallensis*), y todas alcanzan tallas adecuadas para su comercialización (Greiger y owen, 2012).

2.3.1. Pesquería de abulón en México

Se tiene registro que la pesquería en México se inició a partir de los años cuarenta en donde en ese entonces, pescadores mexicanos se establecieron y crearon cooperativas pesqueras, mismas a las que el gobierno les otorgó el derecho de captura de este recurso a lo largo de la costa occidental de la península de Baja California (Vega *et al.*, 1994).

La pesquería de abulón en México se realiza en cuatro zonas administrativas, divididas a lo largo de la península de Baja California. La zona I, comprende el levantamiento de veda el 31 de julio, reiniciando el periodo de veda del 1 de agosto al 31 de diciembre. Esta zona abarca desde la línea divisoria de internacional con Estados Unidos hasta Punta Malarrimo, B.C.S. La zona II, aplica la veda desde el 1 de septiembre al 31 de enero de cada año. La zona III, comprende desde Bahía Asunción, B.C.S. hasta Punta Holcomb (laguna de San Ignacio) B.C.S. y su veda corresponde desde el 1 de septiembre al 31 de enero de cada año. La zona IV en bancos abuloneros de *H. fulgens* aplica su veda desde el 1 de octubre al 28 de febrero de cada año y para *H. corrugata*, desde el 1 de septiembre al 31 de enero de cada año. Esta zona comprende desde Punta Holcomb hasta la desembocadura del arroyo el Conejo, B.C.S. (SADER, 2021).

Esta pesquería representa el 96% de las capturas en conjunto con el abulón azul (*H. fulgens*), siendo Baja California Sur, el principal estado productor de esta especie. Sin embargo, su pesquería ha decaído en los últimos años pasando de 5,000 t en la década de 1950 a tan solo 600 t a comienzos de la década de los 2000 (Gluyas y Talaveras, 2003).

Durante la temporada 2008, se pescaron comercialmente en México 318 t (peso de la carne) de abulón (*Haliotis spp.*). La composición por especies de la captura fue *H. fulgens* (70.8 %), *H. corrugata* (28.9 %) y *H. cracherodii* (0.3 %) (Searcy-Bernal *et al.*, 2010). Durante los últimos 5 años, las capturas totales aumentaron un 29% como resultado de la recuperación de las poblaciones naturales de las dos especies principales. En particular, las

capturas de *H. corrugata* aumentaron de 50.4 t en 2004 a 91.7 t en 2008, siendo un aumento del 82% (Searcy-Bernal *et al.*, 2010).

A pesar de que existen regulaciones en la extracción del recurso respaldada por la norma (NOM-005-PESC-1993), misma que impone cuotas de captura, tiempos de veda y tallas mínimas, las poblaciones naturales de abulón continúan disminuyendo al transcurrir los años, y tal es el impacto de este efecto, que algunas cooperativas pesqueras han tomado la decisión de suspender la extracción del recurso en periodos de tiempo que van del corto al mediano plazo (Guzmán del Prío y Borges-Souza, 2016).

En el año de 2021, la producción pesquera de abulón en peso vivo fue de 281 t (Figura 4), siendo las especies de abulón azul (*H. fulgens*) y abulón amarillo (*H. corrugata*), las principales producidas y comercializadas. En una menor cantidad, se registró la producción de abulón rojo (*H. rufescens*) y abulón negro (*H. cracherodii*) (CONAPESCA, 2023).

Baja California aportó el 59% total de la producción de abulón, seguido de Baja California Sur, produciendo un 41% según los datos del Anuario Estadístico de Acuacultura y Pesca (CONAPESCA, 2023).

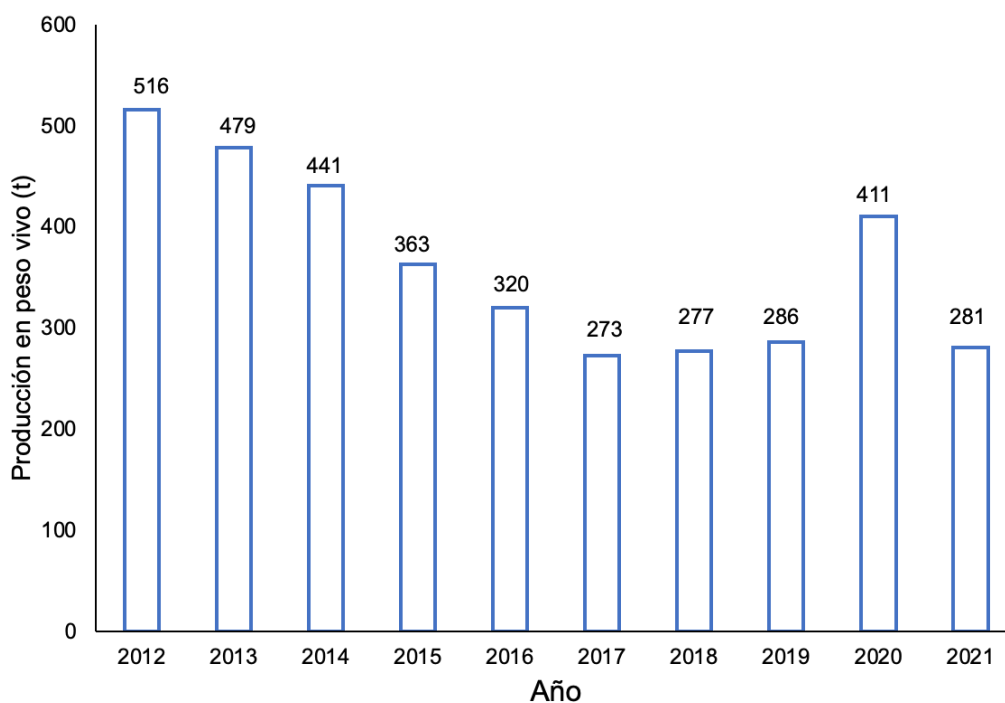


Figura 4. Serie histórica de producción pesquera y acuícola de abulón del año 2012-2021. Modificado de CONAPESCA (2023).

2.3.2. Importancia económica del recurso abulón en México

El abulón es una especie comercialmente importante en México, incluso hoy en día es uno de los productos de mar más caros en el mundo y es considerado un producto de primera calidad a nivel mundial (Ponce-Díaz *et al.*, 2003). Tan sólo en 2008, el valor total de las capturas comerciales fue de alrededor de 27 millones de dólares. El producto se vendió principalmente enlatado (87%) y el 13% restante se comercializó congelado. El abulón que se comercializó enlatado, se vendió principalmente al mercado asiático, bajo la marca de Calmex (71%), seguido de la marca Cedmex (8%), Centramar (8%) y Rey del Mar (6%) (Searcy-Bernal *et al.*, 2010).

La concha de abulón es un subproducto que se aprovecha para su venta y con el que se tienen grandes cantidades de ingresos, debido a que es utilizado para la producción de artesanías. En 2008, el valor de esta comercialización llegó a 1 millón de dólares (Searcy-Bernal *et al.*, 2010).

En cuestión de cultivo, el valor estimado de su comercialización fue de 0.5 millones de dólares, siendo el abulón rojo (*H. rufescens*), el principal producido, seguido del abulón azul. Este se vendió principalmente al mercado mexicano (60%), Estados Unidos y Asia (40%) en presentaciones de enlatado (73%) y vivo (23%) (Searcy-Bernal *et al.*, 2010).

Para el año del 2021, el valor de sus capturas ascendió a más de 67,270 millones de pesos con 281 t producidas por diecinueve Sociedades Cooperativas con título de concesión (3 de BC y 16 de BCS) (CONAPESCA, 2023; INAPESCA, 2021). Las principales especies comercializadas fueron *H. fulgens*, *H. corrugata* y *H. cracherodii*. Según el Anuario Estadístico de Pesca y Acuicultura 2021 (CONAPESCA, 2023), la tasa media de crecimiento anual de la producción total de este recurso es de 6.52% en los últimos 10 años, y esta especie se encuentra en el lugar 13 de las especies exportadas, siendo su destino final Estados Unidos de América.

2.4. Cultivo de abulón en México

El cultivo de abulón en México se remonta a los años 80's, en donde se inauguran dos laboratorios para el cultivo de semilla ubicados en Eréndira, BC y Bahía Tortugas, BCS, con el único fin de repoblar los bancos abuloneros (Mateus, 1986).

Para el año de 2008, se reportaron seis criaderos de producción de larvas y semillas por parte de las cooperativas pesqueras, con fines de repoblamiento. Durante el periodo 2007 - 2008, hubo una producción de 130 millones de larvas y 350 mil semillas (>1.5 cm) de *H. fulgens* y *H. corrugata* (Searcy-Bernal *et al.*, 2010).

Hasta ese año, tres granjas privadas cultivaban abulón (principalmente *H. rufescens*) hasta tamaño de mercado (aproximadamente >7 cm), y 29.6 t de este producto se vendieron en 2008, principalmente a mercados de Asia y

Estados Unidos. Una de estas empresas también produce perlas de abulón y joyas (Searcy-Bernal *et al.*, 2010).

En 2021, la producción acuícola registrada fue de 45 t en peso vivo en donde predominó la especie de abulón rojo (*H. rufescens*), seguida del abulón azul (*H. fulgens*) (CONAPESCA, 2023). Comparado con el año del 2019, que la producción fue de 95 t, se tiene un retroceso de producción de cultivo del 52% (CONAPESCA, 2023).

2.5 Acidificación oceánica

A partir de la Revolución industrial hace 240 años, el océano superficial ha absorbido un tercio del total de las emisiones de CO₂ antropogénico a la atmósfera, lo cual equivale a más de 550 billones de toneladas (Canadell *et al.*, 2007). Esto ha provocado una reducción de la acumulación de gases de efecto invernadero en la atmósfera y a su vez, ha amortiguado en cierta medida, los efectos producidos por el cambio climático. Sin embargo, cuando el CO₂ entra en contacto directo con el agua del océano, reacciona y forma ácido carbónico ($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}_2\text{CO}_3$) lo que afecta la química del agua de mar y disminuye la disponibilidad de iones carbonato de calcio, éstos son necesarios para que los organismos marinos formen estructuras calcáreas (Figura 5) (Salomón *et al.*, 2007).

Acidificación Oceánica

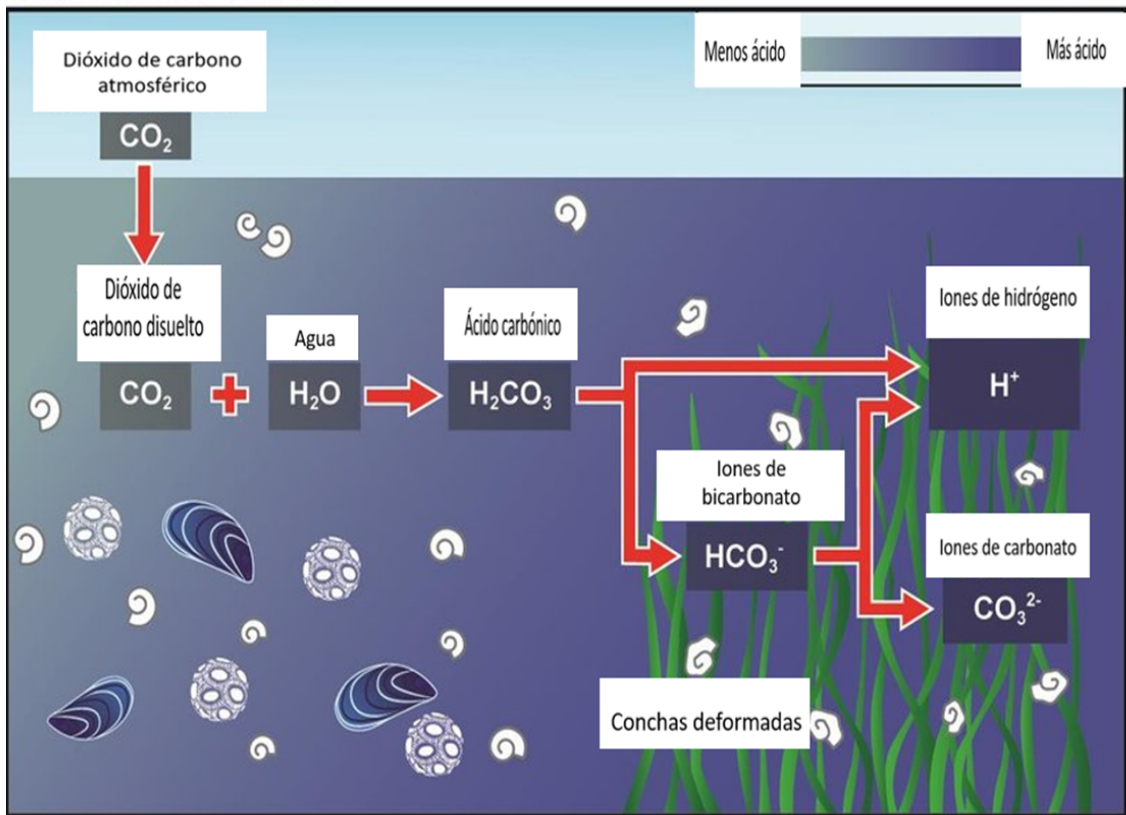


Figura 5. Acidificación oceánica. Modificado de Birchenough *et al.*, (2017).

Partiendo de la era industrial hasta el presente, se ha reportado que el pH en aguas superficiales ha disminuido 0.1 unidades (Paz-Pellat, 2019). Sin embargo, los modelos de predicción de *acidificación oceánica* indican que, para finales de siglo, la disminución será de 0.3 - 0.4 unidades de seguir produciendo las mismas cantidades de CO_2 por actividad antropogénica (Gazeau *et al.*, 2013).

2.5.1. Efectos de la acidificación oceánica

Actualmente, existen modelos que proponen cómo los cambios en el pH del océano afectarán negativamente la supervivencia, crecimiento y reproducción de los organismos calcificadores, teniendo repercusiones socioeconómicas (Kroecker *et al.*, 2010; Hettinger *et al.*, 2012). Esto debido a su rápida necesidad de calcificación, misma que se produce en sus desarrollos

larvarios, al final de la fase de gastrulación, tras el aumento del grosor de células epiteliales (Marín y Luquet, 2004).

La *acidificación oceánica* hace que el ion carbonato esté cada vez menos disponible en el ambiente, y, por ende, dificulta a los organismos marinos calcificadores la síntesis del carbonato de calcio (Figura 6), el cual se puede presentar en tres isomorfos: aragonita, calcita y calcita magnésica (Haugan y Drange, 1996; Orr *et al.*, 2005).

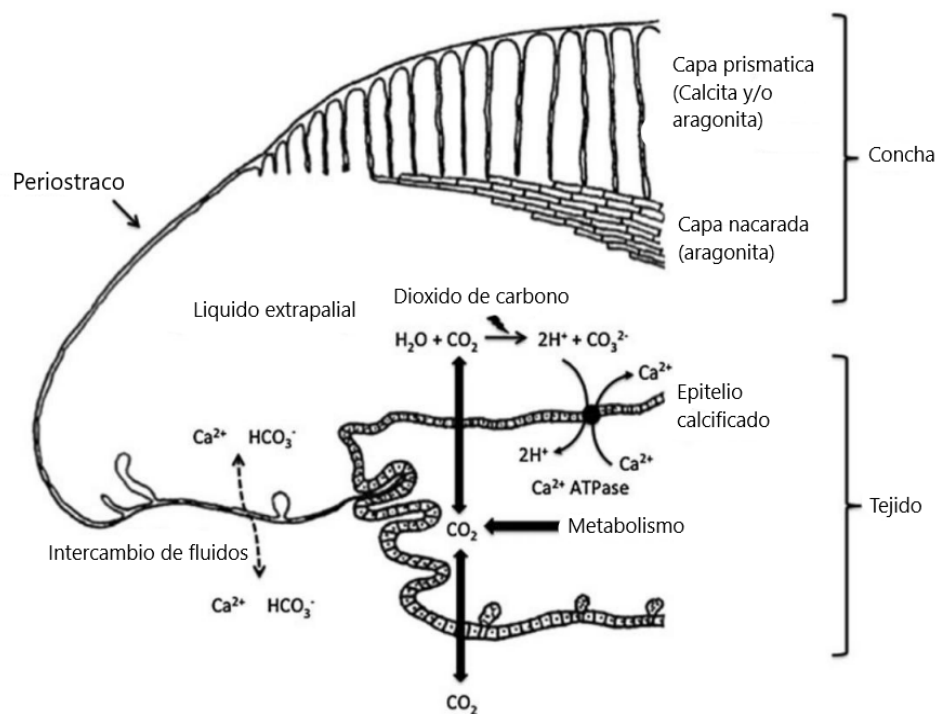


Figura 6. Proceso de calcificación de conchas de moluscos. Modificado de Marín y Luquet (2004).

La saturación del carbonato de calcio como la aragonita y la calcita están disponibles en función del carbonato de calcio presente, debido a que el calcio es hasta 28 veces más abundante en el medio; de tal manera que, si el océano absorbe más CO_2 , al disminuir el pH, la aragonita y calcita también disminuirán (Paz-Pellat, 2019).

Muchos organismos marinos poseen conchas y esqueletos formados a base de carbonato de calcio. Por lo que de seguir en aumento la *acidificación oceánica* se podrían disolver y generar efectos negativos en escenarios futuros, como los observados en la supervivencia, crecimiento y reproducción de equinodermos (erizos, estrellas de mar), cnidarios, crustáceos (langostas, camarones) y moluscos (bivalvos, gasterópodos) (Kroecker *et al.*, 2010; Hettinger *et al.*, 2012; Díaz-Castañeda, 2022).

A su vez, se ha reportado que la disminución del pH altera el funcionamiento de enzimas y proteínas de los organismos, así como los procesos fisiológicos del desarrollo larval, mismo que se traduce en mayor mortalidad larvaria, mayor número de larvas anormales, así como prolongaciones y retardos en sus etapas de desarrollo (Díaz-Castañeda, 2022; Gazeau *et al.*, 2013).

También se ha demostrado que la acidificación no solo afecta a organismos calcificadores, sino también a otros vertebrados como los peces, al modificar su sentido del olfato, haciendo que pierdan su capacidad de detección de presas y esto se ve reflejado en mayores tasas de mortalidad (Munday *et al.*, 2010).

Si bien la acidificación del océano tiene efectos negativos para algunos organismos, del mismo modo tiene efectos positivos en otros organismos, por ejemplo, en las algas fotosintéticas y plantas marinas, al absorber suficiente CO₂, mismo que utilizan en el proceso de la fotosíntesis. Sin embargo, se debe considerar que cualquier modificación ambiental, como en este caso la *acidificación oceánica*, podría perturbar las redes tróficas, la dinámica de las comunidades, la diversidad biológica, la estructura y función de los ecosistemas (Laffoley y Baxter, 2012).

2.5.2 Impactos de la acidificación en organismos marinos

El primer trabajo de investigación reportado sobre los impactos de la acidificación en moluscos con concha fue realizado por Loosanoff y Tommers en el año de 1947. Que si bien, no pueden ser tomados como punto de comparación de estudios recientes, debido a que se utilizaron valores anormales de pH, muy por debajo de los proyectados hasta el año de 2100, si proporcionan información de interés. Lo primero es que pareciese que los valores de pH esperados a finales de siglo no tendrían un efecto letal en una exposición entre 8 a 30 días; además, el mayor impacto reportado fue la disolución de la concha, lo cual pudiese tener un efecto negativo a nivel ecológico tras quedar los organismos con conchas erosionadas más vulnerables a la depredación (Gazeau *et al.*, 2013).

Actualmente, la mayoría de los estudios realizados sobre los efectos de la acidificación en organismos marinos son de tipo fisiológico y morfométricos, mismos que en su mayoría muestran impactos negativos como el deterioro de la regulación ácido-base, reproducción, supervivencia y metabolismo principalmente (Fabry *et al.*, 2008).

Los efectos que tiene sobre los organismos marinos pueden diferir entre sus etapas de vida pelágica y bentónica de los moluscos con estructuras calcáreas, esto debido a las diferencias fisiológicas, de hábitat y de comportamiento que se presentan dependiendo de la especie (Gazeau *et al.*, 2013).

2.6 Biología del abulón azul (*H. fulgens*)

El abulón azul, es un molusco gasterópodo marino, perteneciente a la familia Haliotidae y específicamente al género *Haliotis* (Mateus, 1986). Este es un organismo herbívoro de hábitos nocturnos asociados a grandes bancos de algas (principalmente rojas y pardas) y fondos rocosos (Cox, 1962). Presenta

un pie muscular y concha ovalada ligeramente gruesa compuesta principalmente de carbonato de calcio (Figura 7); la parte externa de la concha muestra un color característico café rojizo y en su interior, predomina un color azul brillante iridiscente; tiene orificios respiratorios circulares y pequeños; y puede localizarse en una profundidad que ronda desde los 9 a 27 metros (Cifuentes-Lemus *et al.*, 1997).

Su distribución natural va desde Punta Concepción, California, EUA, hasta Bahía Magdalena, BCS, México; con una mayor presencia en la parte central de la península, desde la Isla de Cedros, BC hasta Punta Abreojos, BCS (Searcy-Bernal *et al.*, 2010).

Son organismos longevos, de crecimiento lento y su composición de tallas de puede variar dependiendo de la región donde se encuentren, pero se ha reportado que estos pueden alcanzar una talla máxima de hasta 210 mm de longitud y edades de más de 20 años (Gluyas-Millán y Talavera-Maya, 2003).

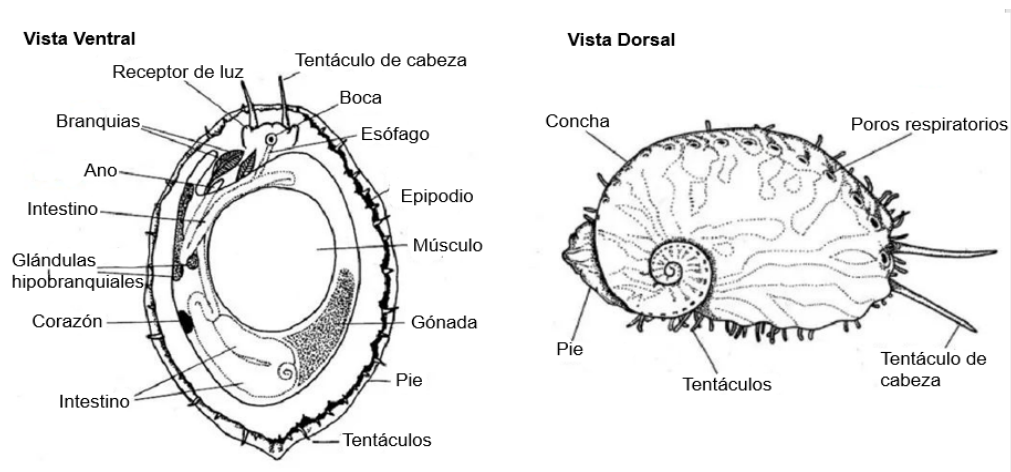


Figura 7. Vista ventral y dorsal anatómica de abulón. Modificado de Fallu y Lang (1994).

2.6.1. Ciclo de vida y reproductivo

El ciclo de vida inicia con la expulsión de gametos, al ser organismos dioicos y de fecundación externa y dependen del grado de madurez gonadal y

temperatura del medio. Posteriormente, incluyen una fase larval pelágica trocófora en donde desarrollan una estructura ciliada (*vellum*), pasando a un estadio de larva *veliger*, misma en la cual ocurre el asentamiento y se adhiere a un substrato (Leighton, 2000). Su desarrollo postlarval termina con la aparición del primer poro respiratorio alrededor de los 50 días post-asentamiento (metamorfosis), pasando a la fase juvenil con 2 mm de longitud de cocha y posterior a su fase adulta, alcanzado su madurez sexual entre los 5 y 7 años (Figura 8) (Leighton, 2000).

El ciclo reproductivo de *H. fulgens*, también aplica para *H. corrugata* (temporadas de desove y fecundidad), aunque estos pueden variar dependiendo del área geográfica donde se encuentren los organismos y factores ambientales. En los meses de junio a septiembre, las gónadas se encuentran maduras y listas para la expulsión de gametos, mismo que hace que los desoves se realicen en los meses de septiembre y diciembre para la Zona I (Guzmán del Prío, 1992). En la parte más al sur de la península, el periodo de desove y madurez gonadal parece expandirse, teniendo desoves hasta los meses de febrero (Guzmán del Prío, 1992).

Ortiz (1966) y Sevilla (1971) señalan que la temporada de reproducción en Isla de Cedros, BC es en los meses de junio y septiembre, con desoves antes de los meses de octubre, por lo que se sugieren que pueden ocurrir múltiples desoves durante todo el año a lo largo de la península.

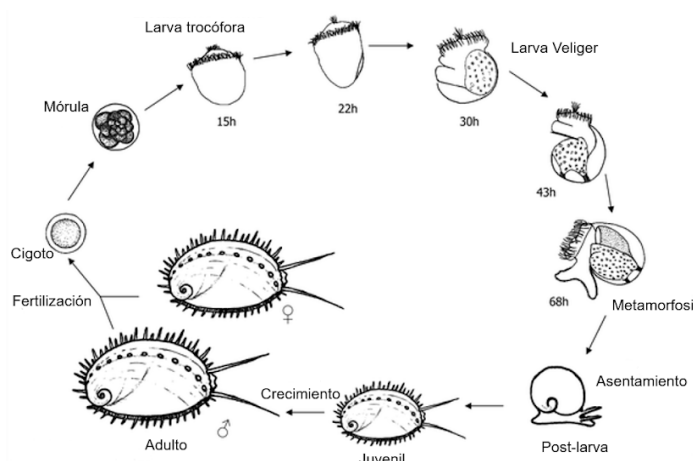


Figura 8. Esquema de ciclo de vida de abulón (*H. tuberculata*). Modificado de Jardillier *et al.*, (2008).

3. Justificación

El cambio climático es de gran interés por los impactos directos e indirectos que pueden generar en la actualidad y en escenarios futuros. Entre sus efectos, la acidificación oceánica (disminución del pH del agua de mar) toma cada vez mayor relevancia por los efectos negativos que esta tiene en los ecosistemas marinos, principalmente en especies calcificadoras de importancia ecológica y socioeconómica como lo son los moluscos (bivalvos y gasterópodos).

Esta problemática, traerá consecuencias en la calcificación y formación de las conchas de diversos grupos marinos como gasterópodos, abulones (*Haliotis* spp), bivalvos como ostión (*C. gigas*), mejillón (*Mytilus edulis*), entre otros; teniendo implicaciones socioeconómicas y afectando a largo plazo la viabilidad económica en la producción comercial de moluscos (Cooley *et al.*, 2012) valorada globalmente en 29,800 millones de dólares (FAO, 2022).

La producción de abulón (*Haliotis* spp.), representan un ingreso económico importante en el mundo y en México, tanto en el sector pesquero como el acuícola. En México, al año de 2021, la derrama económica fue de 121 millones de pesos (MXN), aportando el 0.26% del valor total en México, al comercializar en el sector alimenticio. En ese mismo año, su pesquería se ubicó en la posición 49 en cuanto a producción en volumen (toneladas) y en la posición 26 en cuanto a valor económico (CONAPESCA, 2023).

El abulón es un recurso muy valioso de exportación que conforme el pasar de los años seguirá en alta, por su gran demanda, principalmente en el mercado asiático. Sus productos, tienen un alto valor económico que hace a esta especie atractiva para su cultivo y pesquería.

Este trabajo propone la realización de un estudio que pueda generar información valiosa sobre los efectos que pueden tener condiciones bajas de pH en el crecimiento y supervivencia de juveniles de *H. fulgens*.

Considerando esta etapa de desarrollo, una de las etapas críticas para su cultivo al presentarse grandes eventos de mortalidad.

Este trabajo puede generar información que ayude a establecer mejores protocolos de manejo en los sistemas acuícolas que se dedican a la producción de abulón en México.

4. Hipótesis

La exposición a condiciones de pH bajo (7.7 y 7.5), mediante pulsos diarios de CO₂, tendrá un efecto negativo en el crecimiento y la supervivencia en juveniles de abulón azul (*H. fulgens*), con respecto a organismos mantenidos en condiciones de pH normal ambiental (7.9).

5. Objetivos

5.1. Objetivo general

Evaluar y comparar el crecimiento y la supervivencia de juveniles de *H. fulgens* mantenidos en dos condiciones de reducción del pH (7.7 y 7.5) del agua de mar inducida mediante pulsos diarios de CO₂.

5.1.2. Objetivos específicos

- Evaluar el crecimiento mensual de juveniles de *H. fulgens* ante el descenso diario del pH del agua de mar a valores de 7.7 y 7.5, durante 94 días (tres meses) de exposición.
- Evaluar la supervivencia de juveniles de *H. fulgens* expuestos durante 94 días (tres meses) a descensos diarios del pH del agua de mar de cultivo a valores de 7.7 y 7.5.
- Evaluar el efecto en las características de las conchas (erosión, signos de disolución) de juveniles de *H. fulgens* expuestos a descensos diarios del pH del agua de mar de cultivo a valores de 7.7 y 7.5, durante 94 días.

6. Metodología

6.1. Organismos de estudio

Se utilizó un lote de juveniles de abulón azul (*H. fulgens*) de dos años, una talla promedio de 35.90 ± 0.67 mm (media \pm error estándar) y un peso húmedo de 5.94 ± 0.32 g. El lote de organismos fue obtenido, a través de una donación por parte de la granja de abulón azul “Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera Progreso”, ubicada en el poblado de La Bocana, municipio de Mulegé en Baja California Sur. Cabe resaltar que, los organismos fueron producidos a partir de un desove masivo de organismos silvestres ($n > 20$ organismos).

Previo al experimento, se realizó una biometría inicial y etiquetado de los organismos. El proceso de etiquetado consistió, en retirar a los organismos de los acuarios, se eliminó el exceso de agua con ayuda de papel secante y ya secos se aplicó una gota de pegamento cianocrilato (CorAffix, E.U.A.) sobre una etiqueta plástica y esta fue pegada en la superficie de la concha. Las etiquetas, alfanuméricas, constaron de dos partes; un número identificador (números consecutivos) y una letra “F” (la letra hace referencia a la especie *H. fulgens*). Conforme se realizaba el proceso de etiquetado, se realizaba la biometría de estos. Se medía la longitud de la concha (mm) con un vernier digital (10478463, Bel-Art™) y se tomaba el peso húmedo (g) con una balanza digital de precisión (BABOL-100G, Rhino). Los datos biométricos fueron anotados en una bitácora.

Posterior al etiquetado y biometría, los organismos fueron colocados en un sistema de recirculación durante un periodo de observación, y fueron alimentados diariamente con alrededor del 20% de la biomasa total, con una dieta mixta de macroalgas frescas, compuesta principalmente por *Ulva lactuca* y *Macrocystis pyrifera*. En este sistema, los organismos fueron mantenidos sin perturbaciones, durante siete días posterior a su manipulación para etiquetado y biometría antes de iniciar el experimento. Esto con la finalidad de monitorear su estado de salud y la mortalidad, ya que

este tipo de manejos propicia gran estrés en los mismos, que en ocasiones llega a provocar la muerte.

Posteriormente, los organismos fueron reubicados en un sistema de recirculación (Figura 9) para el periodo de aclimatación, el cual tuvo una duración de cinco semanas en las cuales el pH del agua y la temperatura se mantuvieron constantes con valores de 7.93 unidades (± 0.01), y 18.38°C (± 0.05), respectivamente. El sistema de recirculación consistió en un arreglo de nueve charolas, de 18L cada una, con 20 organismos por charola, dando un total de 180 abulones en el sistema. Cada una de las charolas contaba con suministro de oxígeno mediante aireación, y el sistema contaba con un reservorio de agua general (de 60L de capacidad) para la recirculación. El agua de mar fue tomada del sistema de toma, bombeo y filtrado de agua de mar del CICESE. Adicionalmente a la filtración del sistema de agua de mar del CICESE, el agua utilizada en el sistema de recirculación fue filtrada nuevamente a diez, cinco y una micra, para finalmente ser tratada con un esterilizador de luz ultravioleta (UV).

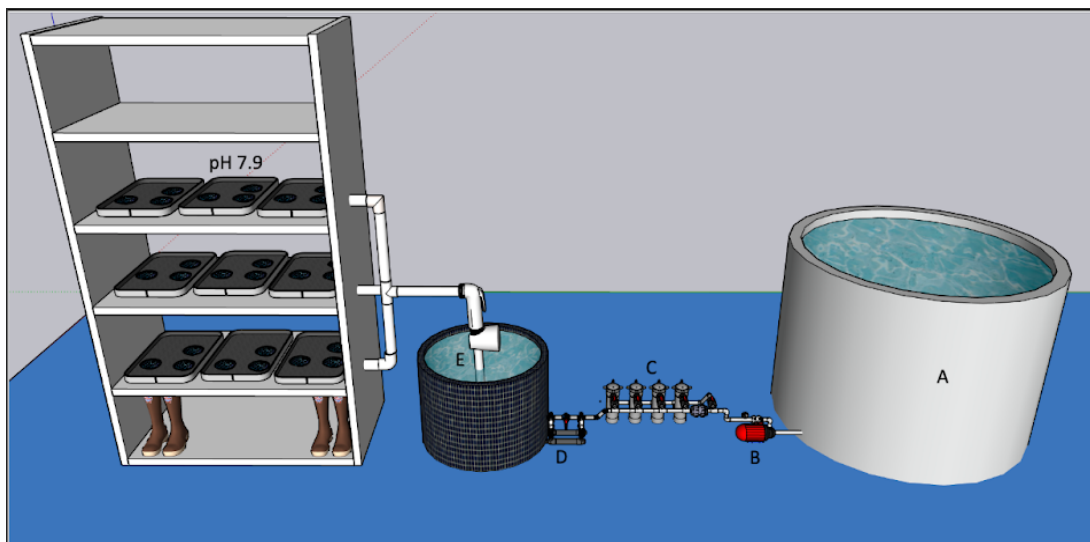


Figura 9. Sistema de recirculación durante el proceso de aclimatación de los organismos. Los organismos se colocaron en charolas de 18L por triplicado a pH ambiental (7.9 ± 0.01) y temperatura controlada ($18.38^{\circ}\text{C} \pm 0.05$). A. Reservorio de agua que llega directo a CICESE, previamente filtrada agua. B. Bomba de agua que permite el paso del agua al sistema experimental. C. Filtros de

cartucho. D. Esterilizador de luz ultravioleta (UV). E. Reservorio de agua de tratamientos (60L)

6.2. Diseño experimental

6.2.1 Sistema experimental

Los organismos fueron transferidos a un sistema experimental estático (Figura 10), en el cual estuvieron expuestos a dos tratamientos experimentales de pH (7.7 y 7.5) y un tratamiento control (pH ambiental - 7.9 ± 0.01), por un periodo de 94 días (tres meses). En los tratamientos experimentales, el pH del agua de mar fue reducido mediante el burbujeo de CO₂ directo en el agua; mientras que, para el tratamiento control se tomó el agua con el pH ambiental (condición del mar normal).

El sistema experimental estático (Figura 10), consistió en un arreglo de tres charolas por condición experimental, cada una con 18L de capacidad y un total de nueve charolas (diseño 3 x 3). La densidad de organismos fue de 20 abulones por charola, que al inicio del experimento los organismos presentaron una talla promedio de 35.90 ± 0.67 mm y un peso promedio de 5.94 ± 0.32 g. El total de organismos experimentales utilizados fue de 180 (3 condiciones experimentales x 3 réplicas por condición experimental x 20 organismos por charola; 3 x 3 x 20).

Durante el tiempo de experimentación, diariamente se realizó el recambio de agua de las charolas y se preparó el agua de mar con el valor de pH reducido correspondiente a cada tratamiento experimental. El procedimiento de disminución del valor de pH fue de la siguiente manera: para cada tratamiento experimental, se utilizó un contenedor de 60L de capacidad, en el que se colocó agua de mar y se burbujeo la cantidad necesaria de CO₂ en su interior para lograr disminuir el pH al valor de 7.5 y 7.7 deseado. Durante la preparación del agua a los pH experimentales, este fue medido con un equipo pH computer-set® (Aqua Medic, Alemania) y el burbujeo de CO₂ fue controlado mediante una válvula solenoide (electro valve, Aqua Medic,

Alemania) instalada al equipo y al tanque de CO₂. Una vez preparada y lista el agua a los pH experimentales deseados, el agua de las charolas con organismos fue reemplazada por el agua recién preparada, este procedimiento se realizó diariamente. Para el tratamiento control, también se realizó recambio diario de agua, a diferencia de los tratamientos experimentales, en este no se burbujea CO₂ sino que se tomó el pH tal cual venía el agua del sistema de bombeo (pH 7.9).

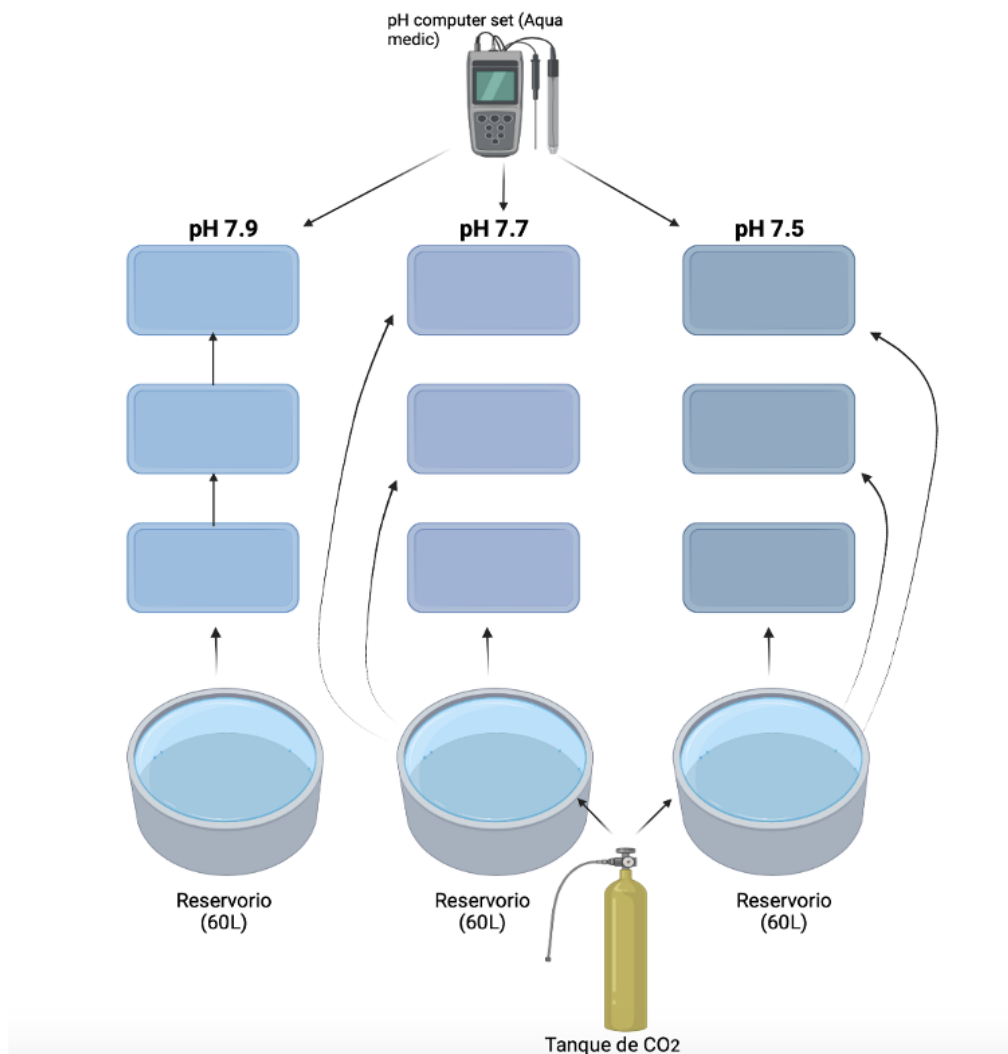


Figura 10. Sistema experimental estático, donde se realizó el bioensayo de 94 días (tres meses). Charolas a pH control 7.9, y experimentales de 7.7 y 7.5. Para cada tratamiento de pH, se preparaba el agua para llegar al pH deseado con inyección directa de CO₂.

6.2.2 Mantenimiento de los sistemas y alimentación

Diariamente se realizó un proceso de mantenimiento del sistema experimental, que consistió en la limpieza de las charolas y la alimentación de los organismos. El agua de las charolas fue descartada y en ese momento se aprovechó para retirar la materia orgánica restante, enseguida se colocó nuevamente agua preparada con el valor de pH correspondiente (ver sección anterior). El alimento en buen estado se recuperó y la ración (20% de alimento con respecto a la biomasa de la charola) se ajustó con alimento fresco. Por último, el sistema experimental fue cubierto con material plástico negro y se mantuvo en oscuridad, con la finalidad de proveer a los organismos condiciones menos estresantes dados sus hábitos nocturnos.

La ración de alimento a suministrar estuvo en función de la biomasa total de cada unidad experimental (charola), la biomasa total se consideró a partir de los datos de la biometría más reciente disponible. El alimento se pesó con una balanza analítica de precisión (BABOL-100G, Rhino). Se proporcionaron principalmente dos especies de macroalgas: *M. pyrifera*, proporcionada por la empresa Abulones Cultivados, en Eréndira, B.C. principalmente, aunque también se obtuvieron por colecta en la Bahía de Ensenada, BC, y *U. lactuca*, cultivada y proporcionada por el Dr. José Zertuche del Instituto de Investigaciones Oceanológicas (UABC).

6.3. Medición de parámetros fisicoquímicos del cultivo

De manera diaria, y durante los 94 días del experimento, se midieron los parámetros fisicoquímicos, los cuales fueron anotados en bitácora física y electrónica. Por medio de una sonda multiparamétrica (YSI Pro-2030, E.U.A.) las siguientes variables fueron medidas: temperatura (°C), saturación de oxígeno (%), oxígeno disuelto (mg/L) y salinidad (ppm). Los valores de pH se registraron mediante un controlador de pH (pH computer, Aqua Medic, Alemania). Semanalmente, se calibraron los electrodos de pH y la sonda multiparamétrica, según las especificaciones de los fabricantes de los

equipos. Adicionalmente de manera continua (cada hora), fueron registrados los valores de temperatura y de irradiancia en el sistema experimental con un equipo HOBO® pendant® MX2202 (miniDOT logger, PME, E.U.A).

6.4. Crecimiento y supervivencia

Para evaluar el efecto de la disminución del pH inducida por pulsos de CO₂ en el crecimiento de los juveniles de abulón azul, se realizaron biometrías mensuales de talla en términos de longitud de concha y peso total húmedo los días 0 (inicial), 30, 60 y 94 (final). Para medir la longitud máxima de las conchas se utilizó un vernier manual (10478463, Bel-Art™) y se expresó en milímetros (mm). Mientras que, para determinar el peso total húmedo de los organismos se utilizó una balanza digital de precisión (BABOL-100G, Rhino) y se expresó en gramos (g).

Para efectuar la biometría de los organismos, se bajó el nivel del agua de las charolas, para un mejor manejo y extracción de los organismos. Con ayuda de una espátula sin filo, fueron retirados los abulones de las paredes y se colocaron en una mesa de trabajo. Con la ayuda de papel secante, se eliminó el exceso de agua y secaron de manera sistemática, antes de ser pesados.

Al término del periodo experimental, se determinó el promedio de la talla y del peso, con sus respectivas desviaciones y errores estándar. A partir de los datos iniciales y finales, se estimó la ganancia de peso y de longitud de la concha para cada tratamiento, adicionalmente se estimaron los porcentajes promedio de incremento mensuales.

La ganancia en talla individual, en la longitud de la concha (LC), se determinó con la siguiente fórmula:

$$LC_{ganada} = LC_f - LC_i$$

En donde LC_{ganada} corresponde a la diferencia entre la longitud de concha final (LC_f), que sobrevivió al día 94 (tercer mes), y la talla al inicio del experimento (LC_i).

La ganancia en el peso total húmedo (PT) se determinó con la siguiente fórmula:

$$PT_{ganado} = PT_f - PT_i$$

En donde PT_{ganado} corresponde a la diferencia entre el peso total húmedo final de cada organismo (PT_f) que sobrevivió al día 94 (tercer mes) y el peso al inicio (PT_i) del mismo.

El porcentaje de incremento total, de la talla en LC y el PT , se determinó de manera individual con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ incremento } LC = LC_f * 100 / LC_i$$

$$\% \text{ incremento } PT = PT_f * 100 / PT_i$$

Por otra parte, para determinar la supervivencia, diariamente se monitoreo el sistema y los organismos muertos fueron retirados y preservadas sus conchas en bolsas plásticas. El porcentaje de supervivencia por cada tratamiento se determinó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de supervivencia} = \# \text{ organismos vivos/mes} * 100 / N$$

En donde # organismos vivos/mes corresponde a los organismos vivos registrados a fin de mes y "N" se refiere al total de organismos que iniciaron en el experimento.

6.5. Análisis cualitativo de las conchas

Para evaluar el efecto de la disminución del pH en las características de las conchas de juveniles de abulón azul, se realizó una comparación de las

tonalidades de coloración y un análisis de continuidad de coloración e integridad del periostraco que presentaron los organismos sometidos a los tratamientos de pH experimentales (7.7 y 7.5.) y control. La comparación se realizó en tres zonas distintas y específicas de la concha: 1) últimos poros respiratorios, 2) ápice de concha y 3) bordes de crecimiento (parte dorsal y ventral) para ver la integridad del periostraco y su continuidad de coloración.

A su vez, se hizo una comparación en las conchas entre los tratamientos en donde se propuso una escala de categorías que describe la intensidad de la presencia de poliquetos de la familia Spirorbidae, en términos de su cobertura. Esta escala constó de cuatro categorías: sin presencia (0%), baja (1-10%), considerable (11-70%) y alta (>70%).

6.6. Análisis estadísticos

Para determinar las diferencias significativas entre condiciones experimentales, se utilizó el programa JAMOVTM versión 2.3.21 (JAMOV, Australia). Con este, se evaluaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas de los datos de crecimiento en talla y peso (Prueba de Kolmogorov-Smirnov). Para las variables que cumplieron con los supuestos de normalidad y homocedasticidad se aplicó el estadístico de ANOVA de un factor (Fisher) para determinar el efecto del pH en el crecimiento, seguido de una prueba Tukey *post hoc* de comparaciones entre tratamientos. En el caso de las variables que no cumplieron con estos supuestos, se procedió a aplicar la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y se realizó una prueba *post hoc* de comparaciones, para detectar las diferencias entre tratamientos. En ambas pruebas estadísticas se utilizó un intervalo de confianza del 95% ($\alpha = 0.05$). Previo al análisis estadístico, las variables expresadas en porcentaje (% incremento LC y PT) fueron transformadas con la fórmula de arco seno de la raíz cuadrada [%/100].

7. Resultados

7.1. Parámetros fisicoquímicos

A lo largo del periodo experimental, se observó que los parámetros fisicoquímicos del sistema de cultivo como la temperatura (°C), niveles de saturación de oxígeno (%), oxígeno disuelto (mg/L) y salinidad (ppm) no presentaron diferencias y mostraron una mínima variación a lo largo del tiempo (Anexo 1, gráficos de variables). Por tanto, se puede considerar que los organismos, durante el tiempo de experimentación, estuvieron sometidos a condiciones similares entre cada tratamiento de pH empleado (Tabla 1). El comportamiento promedio de los parámetros fisicoquímicos evaluados entre réplicas y a lo largo del experimento puede observarse en las figuras 22 y 23 (Anexo 1).

Tabla 1. Valores promedio de los parámetros fisicoquímicos evaluados durante 94 días de experimentación en los diferentes tratamientos.

Variable	pH control	pH 7.7	pH 7.5
Temperatura (°C)	18.53 ± 0.04	18.54 ± 0.03	18.52 ± 0.04
Temperatura (°C) *	18.75 ± 0.04	18.75 ± 0.04	18.75 ± 0.04
Oxígeno (%)	88.42 ± 0.19	89.02 ± 0.16	89.29 ± 0.14
Oxígeno disuelto (mg/L)	6.69 ± 0.02	6.74 ± 0.01	6.76 ± 0.01
Salinidad (ppm)	34.97 ± 0.04	35.95 ± 0.04	34.99 ± 0.05

* Temperatura promedio registrada con sensores HOBO medidos cada hora.

Los valores mostrados representan la media ± error estándar.

7.1.2. Variaciones del pH por tratamiento

A lo largo de los 94 días del experimento, se observó que hubo ligeras variaciones del pH en los tres tratamientos experimentales entre días.

El valor del pH para la condición control fue de 7.91 ± 0.01 (media \pm error estándar), para el tratamiento de pH 7.7 se mantuvo en 7.71 ± 0.01 y para el tratamiento de pH 7.5 resultó ser de 7.51 ± 0.01 . El comportamiento del pH de los tres tratamientos experimentales a lo largo del tiempo se muestra en la Figura 11, una línea de tiempo de los 94 días que comprendió el bioensayo.

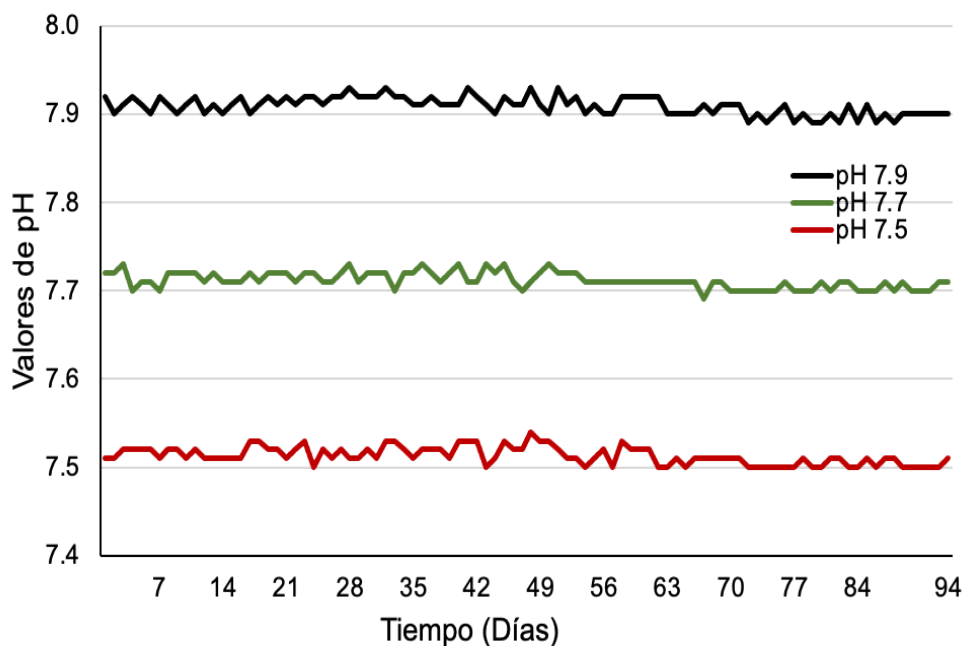


Figura 11. Variaciones de pH a lo largo del experimento (94 d) en las diferentes condiciones: control (7.9) y experimentales (7.7 y 7.5).

Se debe hacer énfasis que el comportamiento del pH en los tratamientos experimentales (7.7 y 7.5) a lo largo de los 94 días, no se mantuvo a pH constante a lo largo del día, debido a que no hubo ingreso constante de CO_2 en el agua, el pH en los tratamientos experimentales alcanzaba un valor similar a la condición control luego de aproximadamente 16.6 horas, debido a esto anterior, se decidió referirse cómo pulsos diarios de CO_2 al comportamiento del pH en el experimento (Figura 12).

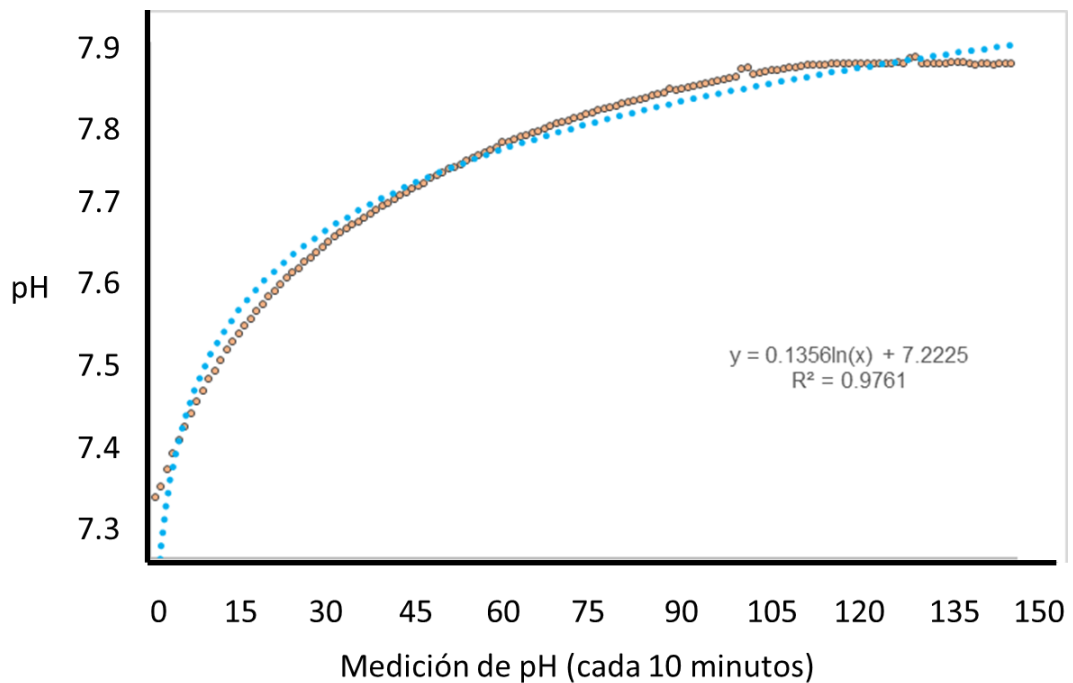


Figura 12. Línea de tiempo de la evolución del pH entre cada recambio de agua, modelo realizado a partir de una prueba de 3 días en el pH experimental 7.5. el modelo matemático es un modelo logarítmico del incremento de pH en función del tiempo. R2 es el coeficiente de determinación del modelo mostrado en el gráfico.

7.2. Efecto de la acidificación en el crecimiento

Al iniciar el experimento, la talla promedio de los juveniles de abulón fue de: 35.9 ± 0.67 mm en la condición control (7.9), 36.03 ± 0.62 mm en el tratamiento de pH 7.7 y de 34.3 ± 0.60 mm en el tratamiento de pH 7.5 (Figura 13). No se encontraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ($p=0.098$). Por otra parte, al final del experimento, la talla promedio fue de 40.79 ± 1.31 mm en la condición control (7.9), 40.06 ± 0.99 mm en el tratamiento de pH 7.7 y de 36.35 ± 1.33 mm en el tratamiento de pH 7.5 (Figura 13), encontrando diferencias estadísticamente significativas ($p=0.028$). En todas las condiciones se observó un incremento en la talla y en la longitud de la concha.

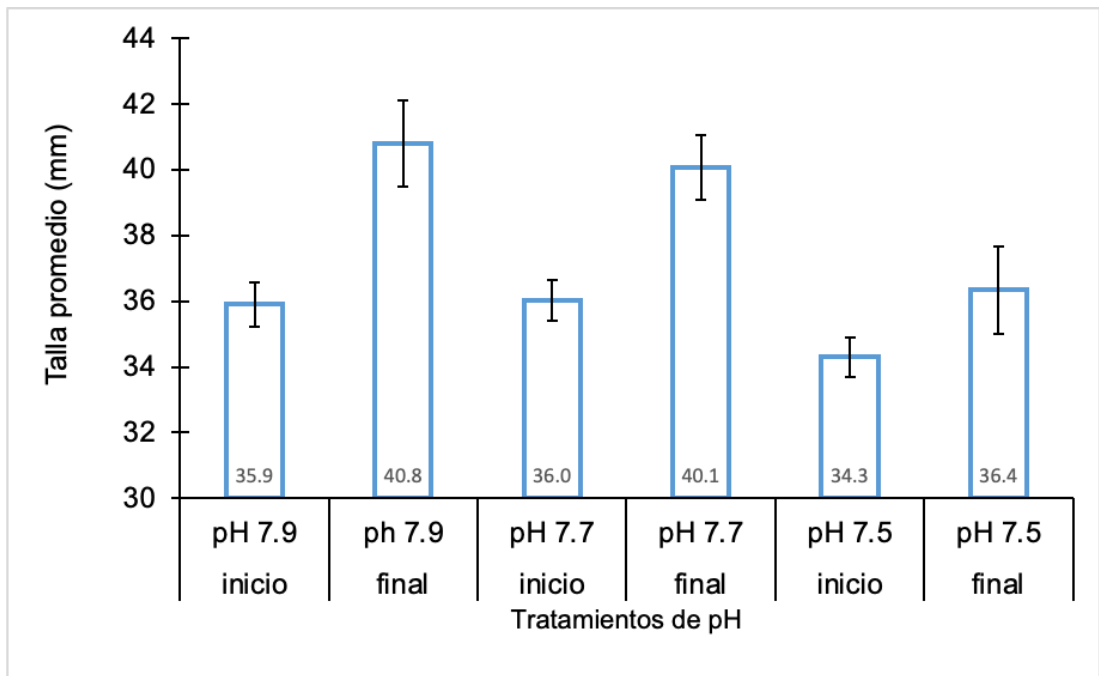


Figura 13. Crecimiento de las conchas, de abulón azul (*H. fulgens*) en las condiciones control (7.9) y experimentales (7.7 y 7.5). Las barras representan la media con el error estándar.

Cabe mencionar que la talla inicial presenta ligeras diferencias entre tratamientos (aunque no fueron estadísticamente significativas), en donde se encontraron abulones un poco más pequeños en el tratamiento más acidificado (pH 7.5); se calculó la ganancia promedio en talla, en longitud de la concha en mm y en porcentaje, para realizar las comparaciones estandarizadas entre tratamientos. El aumento promedio que tuvieron los organismos a lo largo de los 94 días expuestos en cada condición de pH se puede observar en la Figura 13. En la condición control (pH 7.9), se registró una ganancia de 1.36 ± 0.32 mm; seguida de 1.00 ± 0.31 mm en el tratamiento con pH 7.7, y de 0.752 ± 0.24 mm en el pH de 7.5 (Figura 14A). En general, una tendencia de menor ganancia en talla a menor pH de exposición, es decir en condiciones de agua de mar más ácida. Además, la talla de los juveniles aumentó en un 3.26%, 2.47% y 1.96%, en los respectivos tratamientos (control, 7.7, 7.5) (Figura 14B). En la tasa de crecimiento mensual (TCM, mm/mes), se observó la misma tendencia, con

valores de 0.451 (0.108), 0.332 (0.103) y 0.255 (0.079) mm/mes, en las condiciones control (7.9), pH 7.7 y pH 7.5, respectivamente (Figura 14C).

Para más detalles de los resultados, consultar la Tabla II.

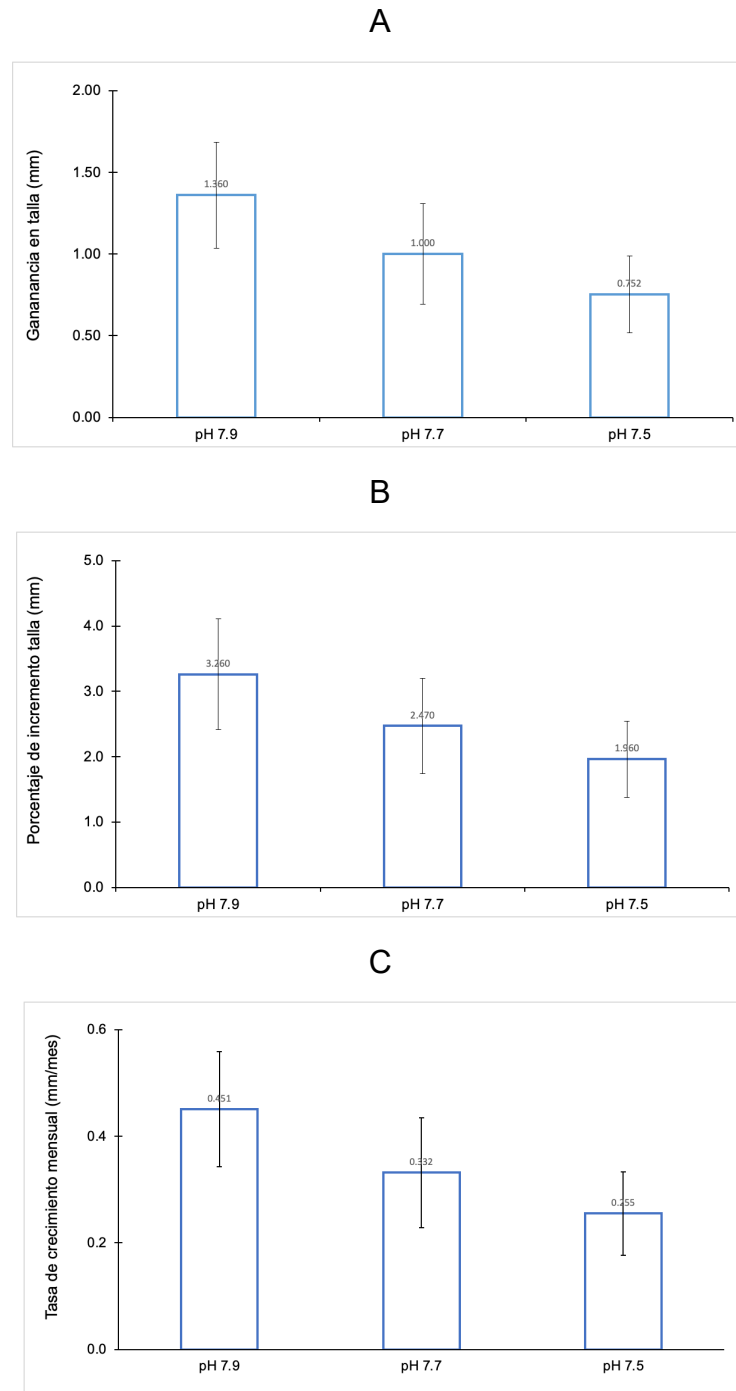


Figura 14. Ganancia y porcentaje de incremento en talla (A-B), expresada en longitud de concha (mm), y tasa de crecimiento mensual (TCM, mm/mes) de *H. fulgens*. Las barras representan la media con el error estándar.

Se detectó un efecto, reflejado en un menor crecimiento, en términos de longitud de concha, en los juveniles expuestos a valores de pH más bajos (pH 7.7 y 7.5) en comparación con los organismos expuestos a la condición control (7.9). Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p=0.349$) en porcentaje de incremento ($p=0.606$) ni en la TCM ($p=0.349$) entre tratamientos al realizar estadística no paramétrica.

7.2.1. Efecto de la acidificación en el crecimiento en peso (g)

Para evaluar el efecto del pH en el crecimiento promedio, en términos del peso total húmedo (g), en los juveniles, se determinó esta variable tanto en su inicio como al final del experimento (Figura 15). Al igual que en el crecimiento en talla (LC, mm), al cabo de 94 días, se registró un menor incremento en peso total húmedo (PT) en los juveniles expuestos a los pH más bajos (7.7 y 7.5), con respecto a los sometidos a el pH control (7.9). Sin embargo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.349$).

En el tratamiento control, en el inicio se registró un peso de 5.94 ± 0.32 g y un peso final de 8.61 ± 0.74 g. En el tratamiento de pH 7.7, el peso inicial de los organismos fue de 5.60 ± 0.32 g y final fue de 7.44 ± 0.56 g. Finalmente, en el tratamiento de pH 7.5, el peso inicial fue de 4.95 ± 0.27 g y el final de 6.22 ± 0.58 g. La tendencia general, en todos los tratamientos, fue aumentar el peso total húmedo de inicio a fin del experimento, aunque en diferente magnitud. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en peso inicial ($p=0.072$), pero sí en peso final ($p=0.022$) entre tratamiento de pH, siendo la respuesta de los organismos a pH de 7.5 diferente al pH control de 7.9.

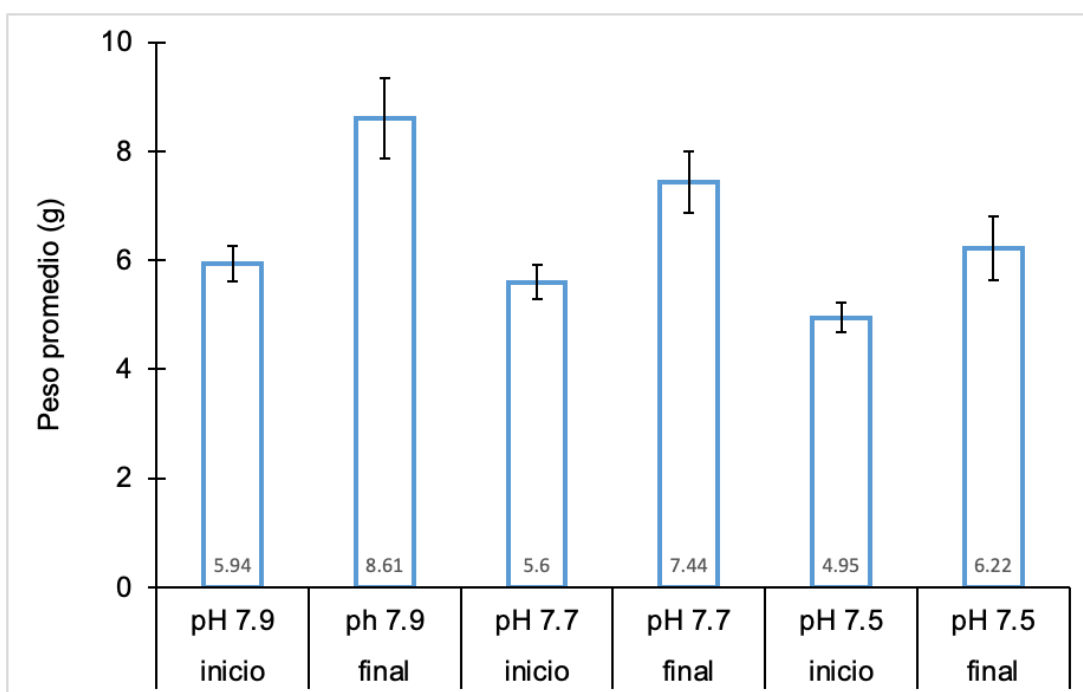


Figura 15. Crecimiento del peso total húmedo, promedio inicial y final de juveniles de *H. fulgens* en pH control (7.9) y experimentales (7.7 y 7.5). Las barras representan la media con el error estándar.

Al igual que en la talla, se presentaron ligeras diferencias entre tratamientos, sin embargo, hubo abulones con un peso menor en el pH más acidificado (7.5) con respecto a los otros tratamientos. Se calculó el incremento promedio en peso total húmedo en g y su incremento en porcentaje. El aumento promedio que tuvieron los organismos a lo largo de los 94 días de experimentación se puede observar en la Figura 16. En la condición control se registró un incremento de 0.95 ± 0.59 g; seguida de un incremento de 0.47 ± 0.29 g en el tratamiento con pH 7.7 y 0.35 ± 0.27 g en el pH 7.5. En general, se detectó una tendencia de menor incremento en el crecimiento a un menor pH de exposición. Esa misma tendencia se observó en la tasa de incremento mensual (TCM g/mes), resultando 0.32 (0.20), 0.16 (0.11) y 0.12 (0.10) g/mes en los tratamientos control (pH 7.9), pH 7.7 y pH 7.5 respectivamente. Además, el peso de los juveniles aumentó en un 3.98%, 2.61% y 0.98% en los tratamientos control (pH 7.9), pH 7.7 y pH 7.5, respectivamente.

Al igual que en talla, se notó un efecto, reflejado en un menor incremento de crecimiento, en términos de peso húmedo total, en los juveniles expuestos a valores de pH más bajos (pH 7.7 y 7.5) en comparación con los organismos expuestos a la condición control (7.9). Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el aumento en peso ($p=0.626$), el porcentaje de incremento ($p=0.706$) ni en la TCM ($p=0.630$) entre tratamientos al realizar la estadística no paramétrica.

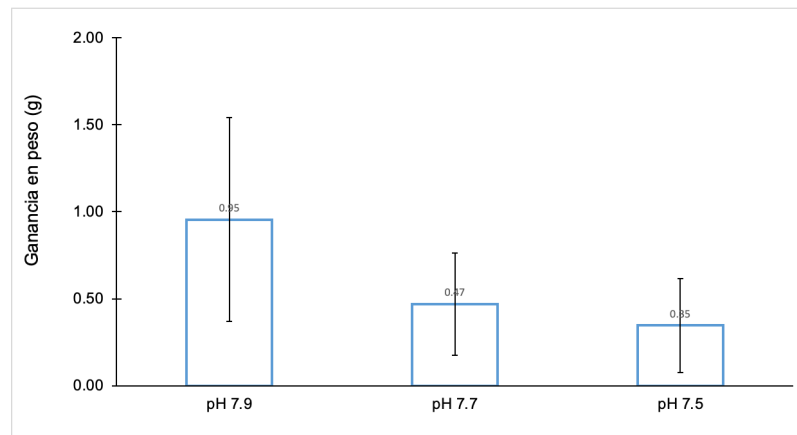
Para más información de los resultados, ver Tabla 2.

Tabla 2. Resultados de talla y peso en los diferentes tratamientos de acidificación (valores promedio).

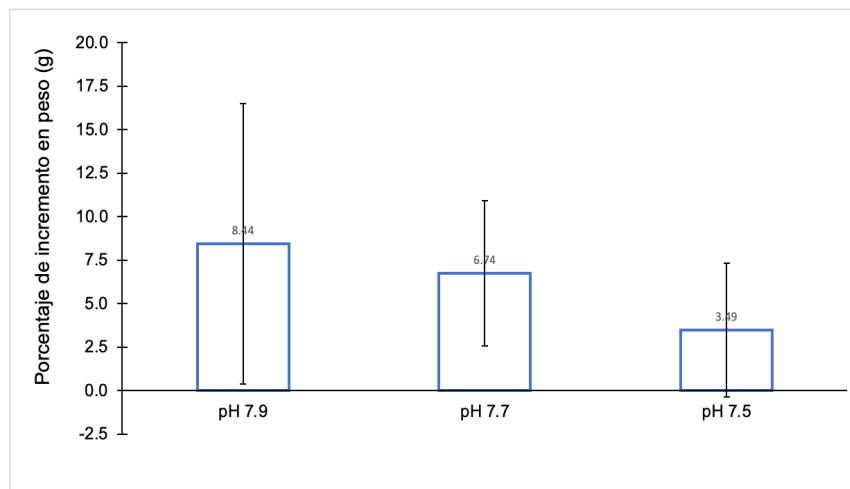
Variable	pH 7.9	pH 7.7	pH 7.5
Talla inicial (mm)	35.9 ± 0.67	36.03 ± 0.62	34.3 ± 0.6
Talla final (mm)	40.79 ± 1.31 _a	40.06 ± 0.99 _{ab}	36.35 ± 1.33 _b
Peso inicial (g)	5.94 ± 0.32	5.6 ± 0.32	4.95 ± 0.27
Peso final (g)	8.61 ± 0.74 _a	7.44 ± 0.56 _{ab}	6.22 ± 0.58 _b
TCM talla (mm/mes)	0.45 ± 0.108	0.33 ± 0.103	0.25 ± 0.079
TCM peso (g/mes)	0.32 ± 0.20	0.16 ± 0.11	0.12 ± 0.10
% de supervivencia	34.67 ± 5.78	50 ± 10	43.33 ± 7.26

Los valores mostrados representan la media ± error estándar, los subíndices denotan las diferencias significativas entre los grupos.

A



B



C

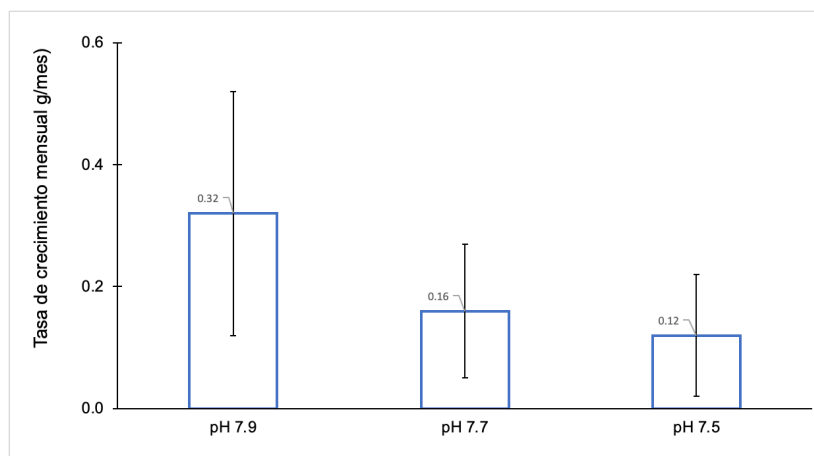


Figura 16. Ganancia y porcentaje de incremento en talla (A-B), expresados en peso total húmedo (g), y tasa de crecimiento mensual (TCM, g/mes) de *H. fulgens*. Las barras representan la media con el error estándar.

7.3. Efecto del pH en la supervivencia de *H. fulgens*

De manera general se registró una tasa de supervivencia final baja, pero sin diferencias estadísticamente significativas ($p=0.397$), misma que se puede observar en la Figura 17, en donde se presentan los resultados de los organismos en cada tratamiento. El pH 7.7 fue el que presentó mayor supervivencia con un porcentaje de 50 ± 10 % seguido del tratamiento pH 7.5 con una supervivencia de 43.33 ± 7.26 % y el de menor supervivencia fue el tratamiento de pH control (7.9) con 34.67 ± 5.78 % al final de los 94 días que duró el experimento.

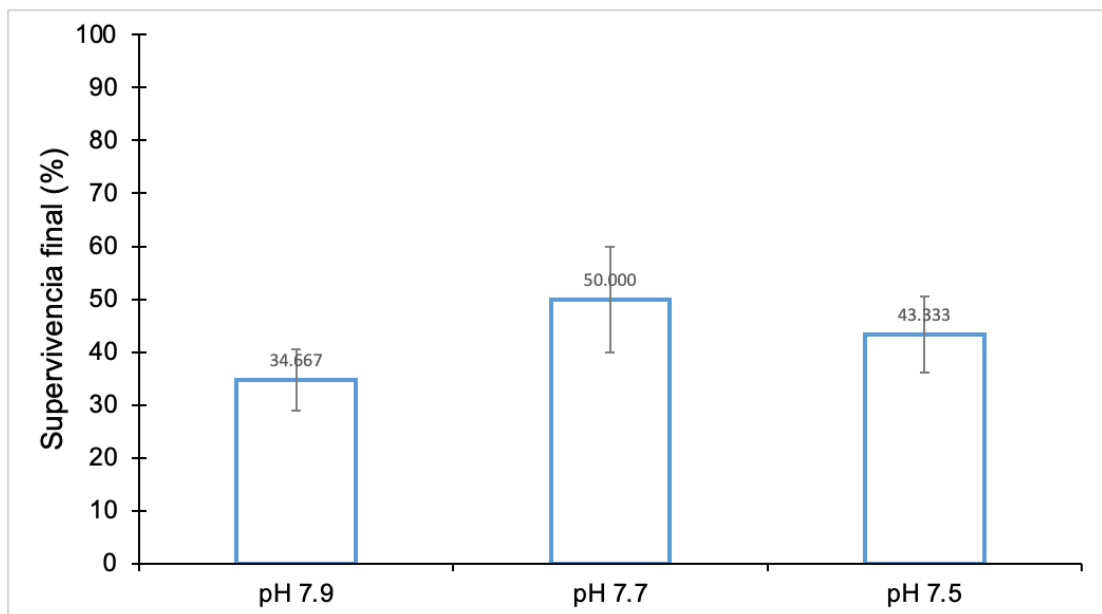


Figura 17. Supervivencia de juveniles de *H. fulgens* después de 94 días de exposición a diferentes condiciones de pH (control y experimentales).

7.4. Efecto del pH en la concha de *H. fulgens*

Para evaluar el efecto de la acidificación en las características de las conchas, se hizo un comparativo de estas entre los tres tratamientos de pH. Los resultados muestran una ligera diferencia en la coloración (tonalidades) de las conchas de los organismos entre tratamientos (Figura 18).

En el tratamiento control (pH 7.9), la tonalidad de colores en el periostraco de la mayoría de las conchas es un color más oscuro justo en los últimos poros respiratorios y en el borde de crecimiento con respecto a las conchas de los tratamientos experimentales (pH 7.7 y 7.5). El periostraco de los organismos expuestos al pH 7.5, presentó tonalidades más pálidas con respecto al tratamiento control y pH 7.7 experimental. En el tratamiento de pH 7.7, las tonalidades son más parecidas a las conchas del tratamiento control (pH 7.9). La tendencia observada es menor coloración (o mayor pérdida de color) en el periostraco de los juveniles de abulón azul conforme disminuye el pH de exposición. lo que hace evidente una mayor erosión en esta capa orgánica en los moluscos expuestos a condiciones más ácidas.



Figura 18. Patrón de coloración del periostraco de las conchas de juveniles *H. fulgens* después de 94 días de exposición a diferentes condiciones de pH.

Al hacer un análisis mediante la observación por estereoscopio, en las conchas, se observa en la Figura 19 un mayor desgaste en el periostraco de los organismos expuestos a pH 7.5, esto se puede ver con más claridad en la tonalidad de los colores al mostrar un color más pálido con respecto a los tratamientos de pH 7.7 y 7.9. Se encontró que el color característico verde-azul intenso de las conchas no sigue un patrón de uniformidad en los organismos tratados a pH 7.5 y se corta, como si se hubiesen desprendido fragmentos del periostraco. Los organismos tratados a pH 7.7, mostraron tonalidades oscuras y al mismo tiempo pálidas.

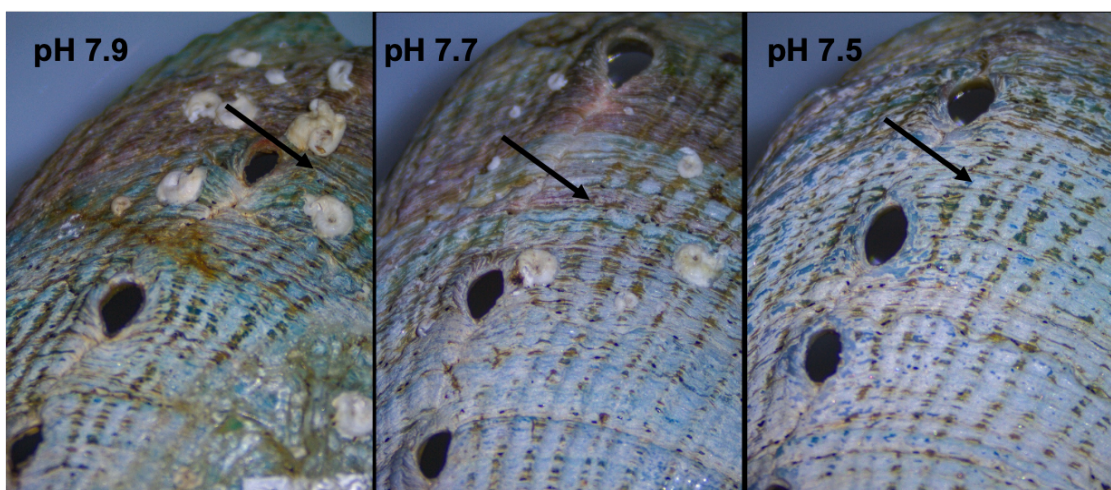


Figura 19. Patrón de coloración en el periostraco de las conchas de *H. fulgens* después de 94 días de exposición a diferentes condiciones de pH. Detalle de los últimos poros respiratorios, vista con el microscopio estereoscópico. Las flechas muestran los cambios de tonalidad de coloración dependiendo del pH, resaltando colores más intensos en pH de 7.9, 7.7 y coloraciones más pálidas en el pH más ácido (7.5).

Otra área de la concha analizada fue la zona del borde de crecimiento (parte ventral y dorsal), en la cual en el tratamiento control se observa un color verde-azul en gran parte de la concha (Figura 20). En la parte ventral, la coloración es uniforme con tonalidades oscuras verdes y con destellos color marrón. Presenta ligeros desgastes al verse zonas quebrantadas, aunque pareciese que más bien es por manipulación y no por efecto del pH debido al tipo de rompimiento en la concha. Por otra parte, en la coloración de las

conchas del tratamiento de pH 7.7 predomina el color marrón con destellos de coloración verde, lo que pudiese indicar un crecimiento lento por parte de los organismos. Por último, en la condición de pH 7.5, predominan los colores marrones y amarillos con ligeros destellos verdes. Esta coloración es más pálida con respecto al tratamiento control y experimental 7.7, lo que hace evidente una disolución, al no presentar uniformidad de coloración y se puede observar en partes de la concha un desprendimiento del periostraco, lo que hace que la coloración sea más pálida.

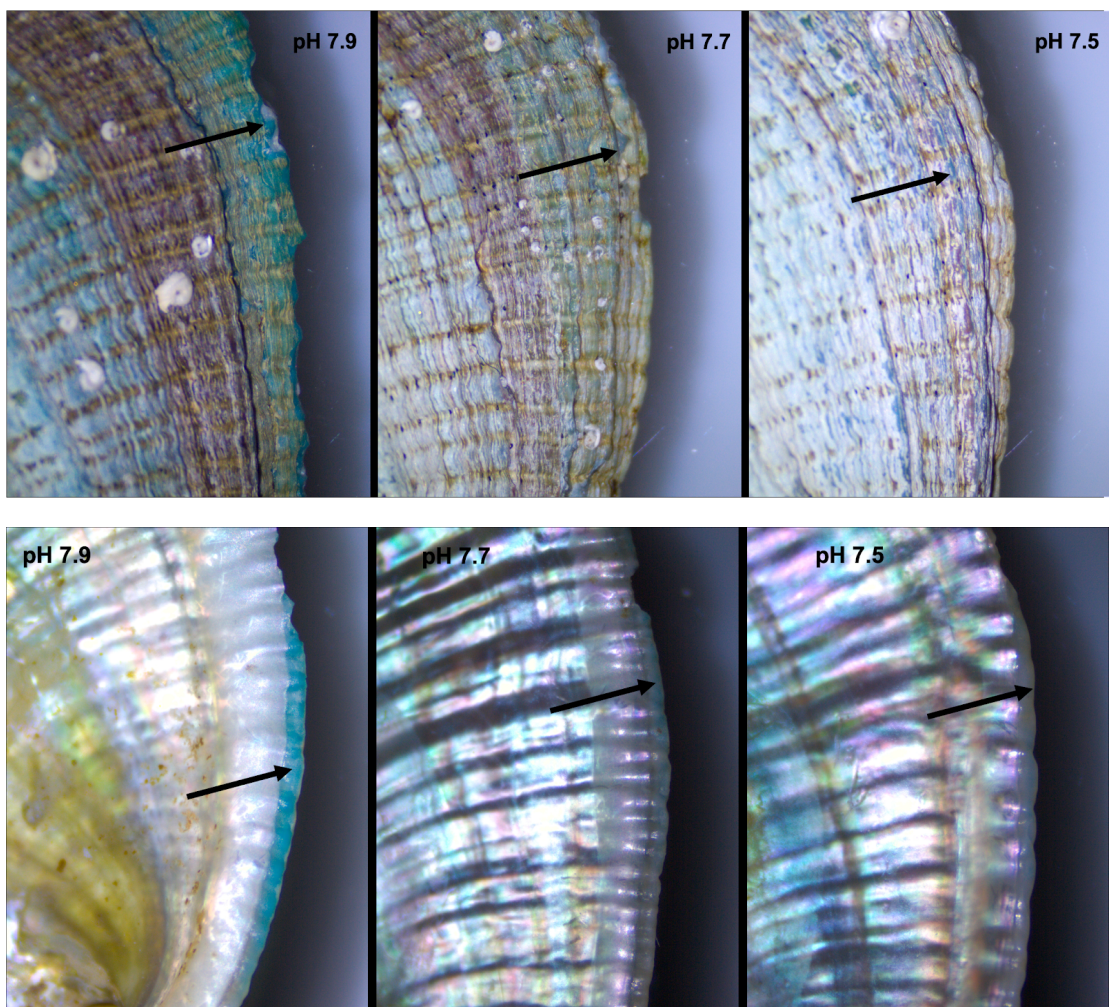


Figura 20. Patrón de coloración del periostraco de conchas de juveniles de *H. fulgens* expuestas 94 días a diferentes condiciones de pH. Detalle del borde de crecimiento (parte dorsal), vista ventral y dorsal en microscopio estereoscópico, en conchas de tratamiento control (pH 7.9) y condiciones experimentales (7.7 y 7.5). Las flechas muestran cambios de tonalidad.

En la parte dorsal del borde de crecimiento, en la condición control (pH 7.9), se observa un borde verde a lo largo de la concha. Esta coloración puede indicar el crecimiento del organismo y el proceso de calcificación normal. Se muestra uniformidad en toda la concha y en la parte superior se observan tonos más transparentes. Mientras que, en la condición pH 7.7, predomina un color más transparente con destellos de color verde en una capa delgada, evidenciando un crecimiento más lento en el organismo expuesto a este pH con respecto al control. Por último, en el pH 7.5, predomina la coloración transparente, incluso aparecen otros colores como marrón y amarillo, se puede notar el estancamiento del crecimiento al presentar restos de nueva concha formada.

7.5. Presencia de poliquetos espirórbidos en la concha de *H. fulgens*.

Al culminar el experimento, se pudo observar en muchos organismos de los tres tratamientos de pH la presencia de poliquetos espirórbidos. La intensidad de la cobertura de estos poliquetos se registró en la mayoría de las conchas en cada tratamiento. La mayor presencia de espirórbidos se presentó en los organismos control (pH 7.9) y en una menor proporción en los tratamientos de pH 7.7 y 7.5, respectivamente. Se establecieron cuatro categorías que indican la presencia de estos poliquetos en términos del porcentaje observado, que van desde no registrar presencia (0% cobertura), hasta la infestación total (100% cobertura). Dichas categorías se aprecian en la Figura 21. La Tabla 3 muestra el porcentaje de los organismos en cada categoría establecida.

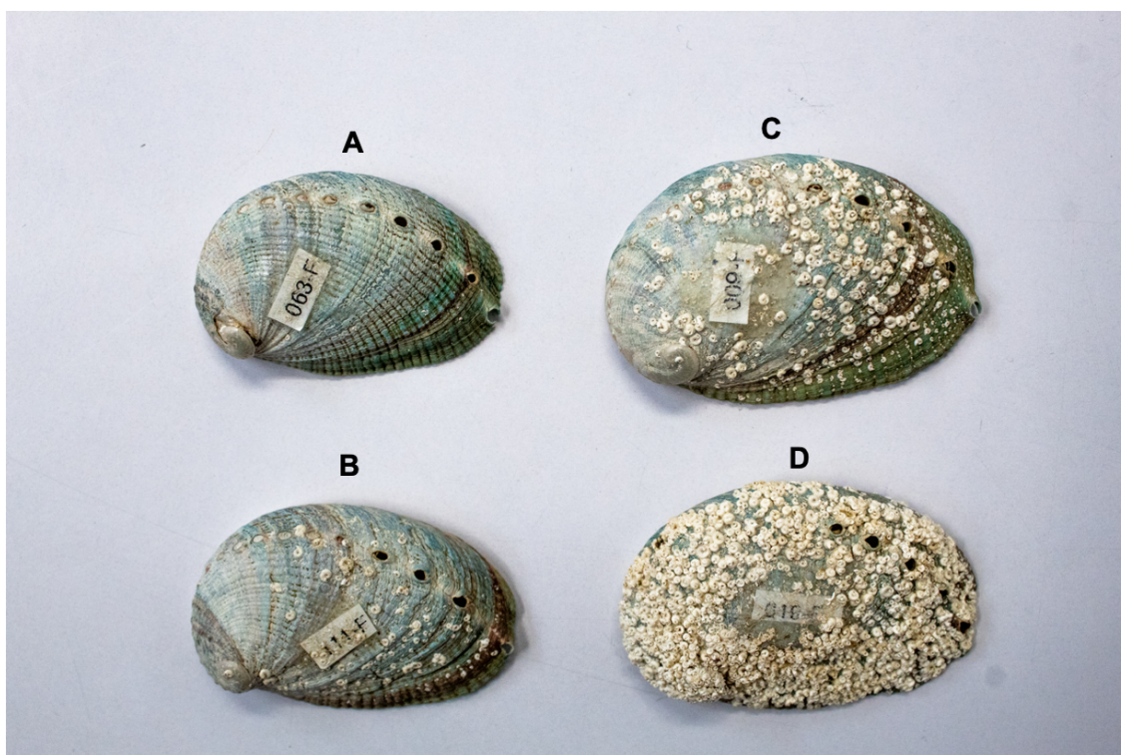


Figura 21. Categorías que describen la intensidad de la presencia de poliquetos espirórbidos, en *H. fulgens*. Categorías A: sin presencia (0%), B: baja (1-10%), C: considerable (11-70%) y D: alta (>70%).

Tabla 3. Porcentaje de abulones por tratamiento en cada categoría establecida de la intensidad (porcentaje de cobertura) de poliquetos.

Categoría	pH 7.9	pH 7.7	pH 7.5
Sin presencia (0%)	13.3 %	33.3%	40%
Bajo (1%-10%)	40%	33.3%	40%
Considerable (11%-70%)	20%	33.3%	13.3%
Infestado (>70%)	26.7%	0%	6.7%

8. Discusiones

8.1 Efecto de la acidificación en crecimiento

Existe una variada bibliografía que ha estudiado los efectos que tiene la acidificación oceánica en los moluscos. La mayoría de los trabajos actualmente se centran en estudios de tipo fisiológicos y morfométricos (Fabry *et al.*, 2008). Sin embargo, a pesar de la extensa bibliografía que existe, son escasos los trabajos de investigación que han evaluado el efecto que tiene la acidificación en abulón en su etapa juvenil y adulta. La mayoría de los estudios se centran en etapas de desarrollo (larvas, postlarvas y juveniles tempranos). Actualmente son escasos los trabajos publicados en los cuales se ha trabajado con sólo pulsos de CO₂, ya que, en la literatura reportada, la mayor parte de los estudios se trabaja en condiciones acidificadas a un pH constante.

En este trabajo se encontró un efecto en el crecimiento, tanto en talla (longitud de concha) como en peso (peso húmedo total) en los juveniles de *H. fulgens* expuestos a condiciones de acidificación (pH 7.7 y pH 7.5) con respecto al control (7.9). Los resultados encontrados mostraron diferencias estadísticamente significativas en la longitud de concha y el peso total húmedo al final del experimento, siendo significativamente menor el crecimiento en juveniles expuestos a pH 7.5, con respecto al control (pH 7.9), lo que evidencia que existe un efecto negativo en el crecimiento en los organismos expuestos a la condición más ácida (pH 7.5).

Existen trabajos en gasterópodos que presentan resultados similares a los encontrados en este trabajo. Shirayama y Thortnton (2005), reportaron el efecto de la acidificación oceánica en crecimiento del caracol marino *Strombus luhuanus* a una exposición de seis meses en condiciones de pH ácidas (pH 7.89), misma que estuvo por debajo su pH control. Estos autores reportan que este gasterópodo fue sensible a condiciones de pH bajo al observar disminuciones en sus tasas de crecimiento en longitud de concha.

Otros moluscos como los bivalvos también reportan efectos negativos en crecimiento. Melzner y colaboradores (2011), demostraron que a altos valores de CO₂ y una poca disponibilidad de alimento se redujo el crecimiento de longitud en concha en el mejillón *M. edullis*, reportando estos efectos en los niveles más altos de exposición de CO₂.

Auzoux-Bordenave y colaboradores (2020), demostraron que la disminución de pH afecta de manera negativa el crecimiento de la concha en juveniles de *H. tuberculata*. Estos autores trabajaron con juveniles en cuatro condiciones de pH (8.1, 7.8, 7.7 y 7.6), algunas similares a las del presente trabajo, y reportaron un aumento de crecimiento, partiendo con organismos de 6.0 ± 0.5 mm y llegando a 8.3 ± 1.0 mm (pH 8.1), 8.7 ± 1.0 mm, (pH 7.8), 8.1 ± 1.0 mm (pH 7.7) y 7.8 ± 1.1 mm (pH 7.6) después de tres meses de exposición. En su trabajo reportan que los juveniles expuestos a pH 7.6 fueron significativamente más pequeños que los sometidos a pH 7.8.

Por otra parte, Cunningham y colaboradores (2016), también reportaron efectos negativos significativos en longitud de concha de juveniles de *H. iris* en pH (7.6). Estos autores utilizaron organismos de cultivo entre 30 y 40 mm y los sometieron a tres condiciones de pH (8.1, 7.8 y 7.6) durante un periodo de 100 días, similar al presente estudio. A pesar de la similitud entre ambos trabajos, las tasas de crecimiento reportadas por estos autores $2.27\% \pm 0.19$ (pH control), $1.27\% \pm 0.20$ (pH 7.6), son inferiores a las encontradas en este trabajo $3.26\% \pm 0.85$ (pH control) $1.96\% \pm 0.59$ (pH 7.5) teniendo un menor desempeño en cuanto a incremento en longitud de concha.

De manera similar Li y colaboradores (2018), reportaron que el crecimiento en concha fue menor en los juveniles de *H. discus hannai* expuestos por tres meses a condiciones de pH de 7.7 en comparación con su control (pH 7.9).

También existen trabajos que difieren con los resultados obtenidos en este trabajo. Crim (2010), indica que las tasas de crecimiento en adultos de *H. kamtschatkana* fueron variables entre los diferentes tratamientos, pero no encontró diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos por el

aumento de CO₂. Durante 140 días se inyectó de manera diaria CO₂ (800-1800 ppm), misma cifra que representa los niveles de CO₂ atmosféricos esperados para finales de siglo (Feely *et al.*, 2009). Este autor demostró que el aumento de CO₂ no tuvo ningún impacto sobre las tasas de alimentación, por lo que sugiere que el crecimiento en general de *H. kamtschatkana* en fase de desarrollo adulta pudiera tener una tolerancia a la exposición a largo plazo a niveles de pH reducido.

Los resultados encontrados comparados con los trabajos de otros autores evidencian que claramente existe un efecto negativo en tasas de calcificación en moluscos como el abulón.

Se sabe poco sobre la capacidad de regulación del equilibrio ácido-base de los abulones, por lo que se suelen incluir en la información existente en otros moluscos, los cuales tienen una limitada capacidad de compensar la disminución de pH en situaciones de acidificación (Melzner *et al.*, 2009). Gazeau y colaboradores (2013), realizaron una compilación sobre los efectos de AO en diferentes moluscos, sugieren que los organismos pasan por un gasto energético y un gran estrés frente a eventos de AO, mismos que hacen que al tratar de mantener el equilibrio ácido-base, combinado con su limitada capacidad de calcificar bajo escenarios de acidificación, podría explicar la disminución del crecimiento en etapas tempranas de vida de los moluscos que experimentan estas condiciones acidificadas. A su vez, Cunningham (2013), sugiere que, tras una exposición prolongada a un pH reducido en abulón, pueden ser incapaces de aumentar su tasa metabólica para poder así mantener un crecimiento normal.

La acidificación oceánica puede suponer una amenaza en organismos calcificadores y más en específico en el abulón, que puede ser considerado como un organismo potencialmente susceptible. Se necesitan más estudios de carácter fisiológico y morfométrico en etapas adultas que ayuden a comprender mejor el impacto que podría tener la acidificación en *H. fulgens*, ya que hoy en día es escasa en esta etapa y en pulsos de CO₂. Además, se necesitan de estudios que midan el efecto de AO a exposiciones agudas a

corto plazo como el realizado en este trabajo (tres meses), debido a que la mayoría de los ensayos se centran en exposiciones a pH bajo que van desde el mediano (tres a seis meses) hasta el largo plazo (seis a doce meses). Form y Risbell (2012), reportaron que una exposición a corto plazo (una semana) a altas concentraciones de CO₂ del coral *Lophelia pertusa* provocó una reducción del 29% en la calcificación y en contraste a una exposición a largo plazo (seis meses), la especie fue capaz de aclimatarse y adaptarse a la condición ácida e incluso aumentar ligeramente su calcificación.

Por otro lado, los resultados que se obtuvieron en este trabajo en el crecimiento en peso húmedo presentan resultados similares con otros autores. Naylor y colaboradores (2014) descubrieron que el pH se correlacionaba negativamente en el crecimiento de abulones adultos (*H. midae*) en peso húmedo y talla respectivamente con hasta un decremento de 2 veces menor en los organismos sometidos a pH 7.6 con respecto a los de pH 7.8. Estos autores utilizaron sistemas *raceways* en organismos de peso (49.3 ± 3.3 g), indicando que este tipo de sistema en los cultivos son una alternativa para intensificar cultivos, pero indican que la reutilización del agua podría aumentar los niveles de nitrógeno amoniacal y reducir el pH del agua. El pH disminuyó de 7.8 a 7.6 ± 0.13 en su trabajo respectivamente y de las variables dependientes analizadas, el pH resultó ser el mejor predictor en tener un efecto negativo, ya que las demás variables no mostraron diferencias estadísticamente significativas en el peso. Por otro lado, Cunningham y colaboradores (2016), demostraron diferencias significativas en el peso húmedo en los tratamientos de pH 7.6 con respecto a los sometidos en su condición control. Tras un periodo de 100 días de exposición en elevadas concentraciones de CO₂, el aumento del peso húmedo en los juveniles pequeños (5-12 mm) fue menor en los organismos cultivados en un pH de 7.6 (713.06% ± 48.07) en comparación con los de pH control (1536.76% ± 41.45) y en juveniles de mayor tamaño (30-40 mm), el incremento relativo en peso húmedo fue mayor en la condición control (76.60% ± 4.29) con respecto al pH de 7.6 (35.59% ± 2.38). Indican que, para ambos grupos de tamaño de abulón, los tratamientos de pH difirieron significativamente en la ganancia del peso húmedo. También Cunningham

(2013), demostró en su trabajo una disminución en las tasas de crecimiento en peso húmedo en juveniles de *H. iris*, en juveniles adultos 30 mm en condiciones de pH más ácidas con respecto al pH control.

Analizando los resultados, se puede inferir que los pulsos diarios de CO₂ que se suministraron a lo largo de los 94 días de cultivo, tuvieron un efecto negativo en el crecimiento en peso húmedo en *H. fulgens*.

Por otro lado, existen trabajos en que los resultados difieren a los de este trabajo. Crim (2010), demostró que en la especie *H. kamtschatkana* frente a un aumento de CO₂ no tuvo un impacto en el crecimiento de los organismos, en peso húmedo y no encontró diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. Estos resultados se diferencian con lo obtenido en el peso húmedo en este experimento.

Una posible causa que explique no ver un efecto negativo en la ganancia en peso en *H. kamtschatkana* es que es una especie que se encuentra únicamente en el Océano Pacífico desde California, EUA hasta la península de Baja California en México, región en particular, donde se han reportado eventos de acidificación desde hace más de 10 años. Fabry y colaboradores (2008), reportaron valores anormales de pH de hasta 7.6 desde Canadá hasta la península de Baja California, México; valores alarmantes estimados que se presenten dentro de cincuenta años (Feely *et al.*, 2008). Un posible factor que explique este efecto es que los organismos tienen tiempo expuestos a condiciones de AO, mediante surgencias y podrían mostrar una adaptabilidad que no se había visto. Otra posible razón pudiera ser que se ha reportado que también existe un aumento de la actividad metabólica de otros organismos, al tratar de mantener su homeostasis y no viendo un efecto negativo en su crecimiento (Cunningham, 2013).

Ante ello, Cummings y colaboradores (2011), reportaron que las tasas metabólicas de adultos de *Laternula siliptica* eran mayores en los organismos expuestos a condiciones acidificadas (7.78) en 120 días de exposición a bajos niveles de pH con respecto a los sometidos a un pH control.

Ante los resultados encontrados en este estudio se sugiere un mayor número de trabajos de investigación en específico con la especie *H. fulgens* que ayuden a entender mejor el tema de la acidificación oceánica y su impacto en su crecimiento, ya que presentan una similitud con *H. kamtschatkana*, principalmente por la región en donde habitan.

8.2 Efecto de la acidificación en supervivencia

La supervivencia de los juveniles de *H. fulgens* no presentó diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. En la condición control, se registró el menor porcentaje de supervivencia y fue de $34.66 \pm 5.78\%$. El tratamiento de pH 7.7, presentó el mayor porcentaje de supervivencia, el cual fue de $50 \pm 10\%$ y, por último, el tratamiento de pH 7.5 tuvo un porcentaje de supervivencia de $43.33 \pm 7.26\%$. Se debe destacar que, a pesar de que las condiciones ambientales de los tratamientos experimentales y la condición control fueron iguales, pueden existir otras variables que puedan tener un efecto en la supervivencia como el manejo y fotoperiodo.

Los efectos reportados que tiene la reducción de pH del agua de mar en la supervivencia de organismos calificadores han sido diversos. Byrne (2011), menciona que la supervivencia en moluscos calificadores suele tener mayor impacto en las etapas de desarrollo temprano (larvas y postlarvas), contrario a lo que sucede en las etapas juvenil y adulta, los cuales muestran una mayor tolerancia frente a eventos de acidificación. Crim (2010), reportó que altas concentraciones de CO₂ afectaron la supervivencia de larvas de *H. kamtschatkana*, con una supervivencia del 75% en los niveles control de CO₂ y 40% en los tratamientos experimentales (800 y 1800 ppm de CO₂). Sin embargo, no encontró diferencias significativas en la mortalidad en las concentraciones más elevadas de CO₂, lo que hace suponer que *H. kamtschatkana* es resistente frente a eventos de AO.

Cunningham (2013) reportó que la supervivencia en juveniles de *H. iris* se vio afectada por la reducción de pH, siendo el pH 7.6 el que más efecto tuvo en

la supervivencia de los juveniles de talla 30-40 mm. También indica que los juveniles post-asentamiento, registraron una menor supervivencia en comparación con los juveniles más grandes.

En contraste, Auzoux-Bordenave y colaboradores (2020) reportan una baja mortalidad en juveniles de *H. tuberculata*, con una supervivencia que osciló entre $90.9 \pm 10.3\%$ y $96 \pm 3.3\%$ e indican que no se encontraron diferencias significativas en la supervivencia entre los cuatros tratamientos de pH empleados (pH 8.1, 7.8, 7.7 y 7.6).

Los efectos en la supervivencia se pueden atribuir a diferentes procesos fisiológicos que tiene cada especie.

En un metaanálisis realizado por Kroeker y colaboradores (2013), reportaron que además del proceso de calcificación en los organismos, la supervivencia es altamente afectada por eventos de acidificación cuando agruparon y compararon a todos los taxones en el estudio.

Nuestros resultados sugieren que las reducciones de pH (7.7 y 7.5), mediante la inyección por pulsos de CO_2 no están involucradas directamente en la supervivencia de los juveniles de *H. fulgens*. Además, se puede inferir que la condición de pH 7.7, que fue la de mayor supervivencia, es un rango tolerable en *H. fulgens*.

Estos resultados se pueden atribuir a lo que reportan otros autores. Feely y colaboradores (2008), reportan que en el hábitat de *H. fulgens*, es una zona de surgencias en donde ya se han reportado valores de pH anormales (pH 7.6), lo que hace suponer que los organismos podrían estar mostrando una adaptabilidad fisiológica no antes vista y permita tener una adaptación frente a eventos de AO.

8.3 Efecto de la acidificación en concha

El efecto en concha se evaluó de manera cualitativa, siguiendo un patrón de coloración en concha, se pudieron observar resultados interesantes de este trabajo. Se debe de resaltar que, al concluir el experimento, las conchas sólo se lavaron en agua y se almacenaron, sin hacer otro tipo de metodología que pudiese modificar los resultados como exposición al sol o cloramiento.

Las conchas del tratamiento experimental pH 7.5, mostraron las coloraciones más pálidas en comparación con los del pH control que mostraron las coloraciones más oscuras, siguiendo las tonalidades normales verde-azules características de la especie. Las coloraciones pálidas antes mencionadas, evidencian una disolución en concha ante los eventos de acidificación y se observaron de una manera más detallada, cuando se observaron ante el estereoscopio, en donde se miró que parte de esas tonalidades pálidas se debía a que en capa externa de la concha (periostraco), no presentaban una uniformidad y los organismos desprendían parte del periostraco, haciendo que se perdiera las tonalidades verde-azules que comúnmente se presenta en *H. fulgens*.

Existen metodologías cuantitativas que ayudan a comprender mejor los efectos en concha en eventos de AO, tanto en juveniles como en adultos.

En el mejillón (*M. edulis*), Fitzer y colaboradores (2014), reportaron una reducción en el grosor total en la capa de aragonito, pero no en la capa de calcita, después de seis meses de exposición a altas concentraciones de CO₂. Welladsen y colaboradores (2010), informaron de una disminución en concha y malformación de la capa nacarada de la ostra (*Pinctada fucata*) que estuvo expuesta condiciones acidificadas de pH (7.6), por lo que sugieren que, esta disminución se debe principalmente por una disolución de la cocha.

Avignon y colaboradores (2020) reportaron que en *H. tuberculata*, no se encontraron diferencias significativas en concha en el peso y grosor entre los

tratamientos experimentales en contraste con el control, sin embargo, indican que después de cuatro meses de exposición a pH reducidos (7.6), las conchas de los organismos mostraban un periostraco corroído y desorganizado, mismo que asociaron con los cambios de coloración abruptos en concha.

Auzoux-Bordenave y colaboradores (2020), encontraron que en juveniles de *H. tuberculata* el periostraco se dañó cuando los organismos estaban expuestos a un pH más bajo (7.6), mostrando cambios en la microestructura de la capa nacarada. También, encontraron una reducción significativa en el grosor total de las conchas en los organismos cultivados a un pH de 7.6.

Se sabe que una serie de procesos biológicos indirectos están ligados en la calcificación de la concha de los organismos, como producción de proteínas de la matriz, síntesis de quitina y control enzimáticos se ven afectados en gran medida por eventos de AO (Weiss *et al.*, 2013). Un medio más ácido, hace que estén menos presentes compuestos orgánicos necesarios y pudieran explicar la corrosión presente en el periostraco en organismos calcificadores (Fitzer *et al.*, 2014).

Los moluscos marinos ejercen un fuerte control en el proceso de calcificación, pero su capacidad de respuesta para mantener condiciones óptimas en el sitio de calcificación cuando se enfrentan a un estrés agudo como lo es el estar en medios ácidos, este tema sigue siendo uno del cual falta información por saber y descubrir (Gazeau *et al.*, 2013).

La disolución de la concha es uno de los efectos más encontrados en estudios en organismos calcificadores. Esta disolución, puede depender de la especie y puede inducir a daños de grietas y hendiduras, lo que haría que especies como el abulón, queden vulnerables a una fuerte presión de depredación, teniendo así un impacto negativo en la acuicultura.

La capacidad de respuesta del abulón en un futuro próximo, dependerá de su potencial para mantener sus funciones vitales (reproducción, crecimiento y

mineralización) en condiciones ambientales modificadas (Auzoux-Bordenave *et al.*, 2020) y aunque las respuestas frente a eventos de acidificación pueden diferir depende su fisiología, hábitat y comportamiento de la especie (Gazeau *et al.*, 2013), las variaciones estacionales fisicoquímicas de las regiones deben ser un tema de gran estudio.

En la costa de Baja California, zona en que habita *H. fulgens*, es zona de surgencias y su pH puede variar en periodos de tiempo. Desde hace más de 10 años, se han reportado valores ácidos en el medio, con pH de hasta 7.6 (Fabry *et al.*, 2008). Por lo tanto, el abulón que se encuentra distribuido a lo largo de la península de Baja California ya podría experimentar condiciones de pH crónicos, similar a los pH promedio global que se esperan a finales de siglo (-0.3 a -0.4 unidades) (Doney *et al.*, 2009; Feely *et al.*, 2004). Estas fluctuaciones podrían explicar en cierta medida la resistencia potencial de *H. fulgens* frente a eventos de acidificación, aunque se necesitan más estudios que sustenten los resultados encontrados en este trabajo.

9. Conclusiones

- Este trabajo es uno de los primeros en brindar información sobre el efecto que tiene la acidificación oceánica mediante pulsos de CO₂ en juveniles de *H. fulgens*.
- Todos los organismos crecieron. Sin embargo, el crecimiento tanto en talla como en peso de los juveniles de *H. fulgens* se vio afectado por los pulsos diarios de CO₂ a los que fueron expuestos los tratamientos. Los abulones mantenidos a un pH control (7.9) mostraron un crecimiento significativamente mayor con respecto a los abulones en condición experimental más acidificada (pH 7.5).
- La supervivencia no presentó diferencias significativas, pero se registraron supervivencias finales de menos del 50% en los tres tratamientos, pudiendo atribuirse más al efecto de estrés por manipulación de los organismos que por el pH de exposición.
- Se registró un efecto negativo en concha en los juveniles de *H. fulgens* expuestos a la condición experimental de pH 7.5 al mostrar en la mayoría de los organismos un periostraco corroído, mismo que se asoció con los cambios de coloración en concha al mostrar coloraciones más pálidas con respecto a los organismos sometidos a la condición de pH 7.7 y control.
- A pesar de los resultados encontrados en este trabajo, se debe de realizar más investigación complementaria, y de largo plazo (mayor a tres meses), que ayude a comprender mejor los efectos que tiene la acidificación en específico en *H. fulgens*, ya que, hasta hoy en día, esta información no había sido generada.
- El abulón azul es una especie endémica de la península de Baja California con una gran importancia pesquera y acuícola, por ello hay que poner más atención en la interacción de estos efectos con las respuestas de los organismos, para poder así estar preparados para las condiciones ambientales que se prevén en un futuro no muy lejano.

10. Recomendaciones

- Para poder tener una mejor perspectiva del efecto que tiene la acidificación en *H. fulgens* se sugieren estudios próximos que permitan evaluar el efecto que tiene la acidificación mediante sistemas que mantengan un flujo continuo de CO₂ que permita que los pH experimentales se mantengan a pH constante a lo largo del ensayo.
- Dar más peso a la investigación en organismos en etapas juveniles y adultas para comprender realmente el impacto que tiene la acidificación en el abulón, debido a que la mayoría de los trabajos que existen en la actualidad se centran en etapas de desarrollo.
- Si se realiza un ensayo similar al de este trabajo, cuidar de que no existan diferencias significativas en las medias de los organismos al inicio del trabajo, ya que podría alterar los resultados finales y quien realice las biometrías, solo sea una persona en todo el ensayo, para evitar errores de mediciones y si los hay, sea un mismo criterio otorgado por la misma persona encargada.

11. Referencias bibliográficas.

- Auzoux-Bordenave, S. Wessel, N. Badou, A. Martin, S. M'zoudi, S. Avignon, Roussel, S. Huchette, S y Dubois, P. (2020). Ocean acidification impacts growth and shell mineralization in juvenile abalone (*Haliotis tuberculata*). *Marine Biology*, 167, 1-14. <https://doi.org/10.1007/s00227-019-3623-0>
- Avignon, S. Auzoux-Bordenave, S. Martin, S. Dubois, P. Badou, A. Coheleach, M. Richard, N. Di-Giglio, S. Malet, L. Servili, A. Gaillard, F. Huchette, S. y Roussel, S. (2020). An integrated investigation of the effects of ocean acidification on adult abalone (*Haliotis tuberculata*). *ICES Journal of Marine Science*, 77(2), 757-772. <https://doi:10.1093/icesjms/fsz257>
- Birchenough, S. Williamson, P y Turley, C. (2017). Future of the sea: ocean acidification. Recuperado de: https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/645500/Ocean_Acidification_final_v3.pdf
- Byrne, M. (2011). Impact of ocean warming and ocean acidification on marine invertebrate life history stages: Vulnerabilities and potential for persistence in a changing ocean. In *Oceanography and Marine Biology* (pp. 9-50). CRC Press.
- Caldeira, K. y Wickett, M. E. (2003). Anthropogenic carbon and ocean pH. *Nature*, 425(6956), 365-365. <https://doi.org/10.1038/425365>
- Canadell, J. G. Le Quéré, C. Raupach, M. R. Field, C. B. Buitenhuis, E. T. Ciais, P. Conway, T.J. Gillet, N.P. Houghton, R.A. y Marland, G. (2007). Contributions to accelerating atmospheric CO2 growth from economic activity, carbon intensity, and efficiency of natural sinks. *Proceedings of the national academy of sciences*, 104(47), 18866-18870. <https://doi.org/10.1073/pnas.0702737104>
- Carballo, G. L., & Mucino-Diaz, M. (1996). Pesquería De Abulón. *Estudio Del Potencial Pesquero Y Acuícola de Baja California Sur. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, SC, La Paz*, 15-41.
- Cifuentes, J. L., García, M. D. P. T., & Mondragón, M. F. (1997). *El océano y sus recursos: X. Pesquerías*. Fondo de Cultura Económica.
- CONAPESCA, (2023). Anuario estadístico de acuicultura y pesca 2020. Recuperado de:

https://nube.conapesca.gob.mx/sites/cona/dgppe/2020/ANUARIO_ESTADISTICO_DE_ACUACULTURA_Y_PESCA_2020.pdf

- Cox, K.W. (1962). Review of the Abalone in California. California Dept. Of Fish and Game. 46(4), 381-406.
- Cook, P. A. (2019). Worldwide abalone production statistics. *Journal of Shellfish Research*, 38(2), 401-404. <https://doi.org/10.2983/035.038.0222>
- Crim, R. N. (2010). *Effects of ocean acidification on different life history stages of northern abalone (Haliotis kamtschatkana)* (Doctoral dissertation, University of British Columbia).
- Cummings, V. Hewitt, J. Van Rooyen, A. Currie, K. Beard, S. Thrush, S. Norkko, J. Barr, N. Heath, P. Halliday, N.J. Sedcole, R. Gomez, A. McGraw, C. y Metcalf, V. (2011). Ocean acidification at high latitudes: potential effects on functioning of the Antarctic bivalve *Laternula elliptica*. *PloS one*, 6(1), e16069. <https://doi:10.1371/journal.pone.0016069>
- Cunningham, S. C. (2013). *The effects of ocean acidification on juvenile Haliotis iris* (Doctoral dissertation, University of Otago).
- Cunningham, S. C. Smith, A. M. y Lamare, M. D. (2016). The effects of elevated pCO₂ on growth, shell production and metabolism of cultured juvenile abalone, *Haliotis iris*. *Aquaculture Research*, 47(8), 2375-2392. <https://doi:10.1111/are.12684>
- Díaz-Castañeda, V. (2022). Un lado menos conocido del cambio climático: La acidificación del océano, un gran reto para la humanidad. *Biología y Sociedad*, 5(10), 31-36. <https://doi.org/10.29105/bys5.10-72>
- Doney, S. C., Fabry, V. J., Feely, R. A., & Kleypas, J. A. (2009). Ocean acidification: the other CO₂ problem. *Annual review of marine science*, 1, 169-192. <https://doi.org/10.1146/annurev.marine.010908.163834>
- Estes, J. A., Lindberg, D. R., & Wray, C. (2005). Evolution of large body size in abalones (*Haliotis*): patterns and implications. *Paleobiology*, 31(4), 591-606. [https://doi.org/10.1666/0094-8373\(2005\)031\[0591:EOLBSI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1666/0094-8373(2005)031[0591:EOLBSI]2.0.CO;2)[Opens in a new window]
- Fabry, V. J., Seibel, B. A., Feely, R. A., & Orr, J. C. (2008). Impacts of ocean acidification on marine fauna and ecosystem processes. *ICES Journal of Marine Science*, 65(3), 414-432. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsn048>
- Fallu, R., & Lang, J. (1994). *All about abalone*. Conservation and Natural Resources.

- FAO. (2019). FAO Aquaculture Newsletter. No. 60 (August). Rome. Recuperado de: <https://www.fao.org/documents/card/es/c/ca5223en/>
- FAO. (2020). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. Versión resumida. La sostenibilidad en acción. Roma. <https://doi.org/10.4060/ca9231es>
- FAO. (2022). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2022. Hacia la transformación azul. Roma, FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461es>
- Feely, R. A., Doney, S. C., y Cooley, S. R. (2009). Ocean acidification: Present conditions and future changes in a high-CO₂ world. *Oceanography*, 22(4), 36-47.
- Feely, R. A., Sabine, C. L., Lee, K., Berelson, W., Kleypas, J., Fabry, V. J., y Millero, F. J. (2004). Impact of anthropogenic CO₂ on the CaCO₃ system in the oceans. *Science*, 305(5682), 362-366. <https://doi.org/10.1126/science.1097329>
- Fitzer, S. C., Phoenix, V. R., Cusack, M., y Kamenos, N. A. (2014). Ocean acidification impacts mussel control on biomineralisation. *Scientific reports*, 4(1), 1-7. <https://doi.org/10.1038/srep06218>
- Form, A. U., y Riebesell, U. (2012). Acclimation to ocean acidification during long-term CO₂ exposure in the cold-water coral *Lophelia pertusa*. *Global change biology*, 18(3), 843-853. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2011.02583.x>
- Gazeau, F., Parker, L. M., Comeau, S., Gattuso, J. P., O'Connor, W. A., Martin, S., Pörtner, H.O. y Ross, P. M. (2013). Impacts of ocean acidification on marine shelled molluscs. *Marine biology*, 160(8), 2207-2245. <https://doi.org/10.1007/s00227-013-2219-3>
- Geiger, D. L. (1999). Distribution and biogeography of the recent Haliotidae world-wide. (Gastropoda: Vetigastropoda). *Bollettino malacologico*, (35), 57-118.
- Geiger, D.L., Owen, B. (2012). Abalone: Worldwide Haliotidae. Conch Books, Harxheim, Germany.
- Gluyas-Millán, M. G., Talavera-Maya, J. (2003). Composición por tallas y edades de las poblaciones de abulón *Haliotis fulgens* y *H. corrugata* de la zona de Bahía Tortugas, Baja California Sur, México. *Ciencias marinas*, 29(1), 89-101.

- Guzmán del Prío, S. A. (1992). A review of the biology of abalone and its fishery in Mexico. En: Shepherd, S. A., Tegner, M. J., & Guzmán del Prío, S. A. (1992). Abalone of the world: biology, fisheries and culture. Proceedings.
- Guzmán-Del Prío, S., y Borges-Souza, J. M. (2016). Spatial distribution of abalone (*Haliotis fulgens* and *H. corrugata*) and its time variability; implications for their management. *CICIMAR Oceanides*, 31(2), 35-43. <https://doi.org/10.37543/oceanides.v31i2.184>
- Haugan, P. M., y Drange, H. (1996). Effects of CO₂ on the ocean environment. *Energy conversion and management*, 37(6-8), 1019-1022. [https://doi.org/10.1016/0196-8904\(95\)00292-8](https://doi.org/10.1016/0196-8904(95)00292-8)
- Hettinger, A., Sanford, E., Hill, T. M., Russell, A. D., Sato, K. N., Hoey, J., Forsch, M., Page, N.H. y Gaylord, B. (2012). Persistent carry-over effects of planktonic exposure to ocean acidification in the Olympia oyster. *Ecology*, 93(12), 2758-2768. <https://doi.org/10.1890/12-0567.1>
- INAPESCA. (2021). Informe de autoevaluación primer trimestre de 2021. 136 pp. Recuperado de: <https://www.inapesca.gob.mx/portal/documentos/transparencia/planes-programas-informes/Informe-de-Autoevaluacion-1T2021.pdf>
- IPCC (2014). Climate change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report on the Intergovernmental Panel on Climate Change. Core writing team, R. K. Pachauri and L.A. Meyer. Geneva: Intergovernmental Panel on Climate Change, 151 pp. Recuperado de: http://www.ipcc.ch/pdf/assessmentreport/ar5/syr/SYR_AR5_FINAL_full_wcover.pdf
- Jardillier, E., Rousseau, M., Gendron-Badou, A., Fröhlich, F., Smith, D. C., Martin, M., Helléouet, M.N. Huchette, S. Doumenc, D. y Auzoux-Bordenave, S. (2008). A morphological and structural study of the larval shell from the abalone *Haliotis tuberculata*. *Marine Biology*, 154(4), 735-744. <https://doi.org/10.1007/s00227-008-0966-3>
- Kroeker, K. J., Kordas, R. L., Crim, R. N., y Singh, G. G. (2010). Meta-analysis reveals negative yet variable effects of ocean acidification on marine organisms. *Ecology letters*, 13(11), 1419-1434. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01518.x>

- Laffoley, D. D. A., y Baxter, J. M. (2012). Ocean Acidification: The knowledge base 2012. Updating what we know about ocean acidification and key global challenges.
- Laffoley, D., Baxter, J., Turley, C., Jewett, L., y Lagos, N. (2017). Una introducción a la acidificación del océano: Lo que es, lo que sabemos y lo que puede suceder. *Gland, Suiza: Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza*.
- Leighton, D. L. (2000). *The biology and culture of the California abalones*. Dorrance Publishing Company.
- Li, J., Mao, Y., Jiang, Z., Zhang, J., Fang, J., y Bian, D. (2018). The detrimental effects of CO₂ driven chronic acidification on juvenile Pacific abalone (*Haliotis discus hannai*). *Hydrobiologia*, 809, 297-308. <https://doi.org/10.1007/s10750-017-3481-z>
- Lluch-Cota, D. B., & Ponce-Díaz, G. (2000). Situación actual y perspectivas de la pesquería de abulón. *Memorias del Taller Curso Intensivo y Repoblamiento del Abulón, Resultados de la Granja Demostrativa. fira-B de M/cibnor, noviembre del*, 1-15.
- Marin, F., & Luquet, G. (2004). Molluscan shell proteins. *Comptes Rendus Palevol*, 3(6-7), 469-492. <https://doi.org/10.1016/j.crpv.2004.07.009>.
- Mateus, H. (1986). Los abulones de México. Secretaria de Pesca. 39 pp.
- Maulu, S., Hasimuna, O. J., Haambiya, L. H., Monde, C., Musuka, C. G., Makorwa, T. H., Munganga, B.P., Phiri, K.J. Y Nsekanabo, J. D. (2021). Climate change effects on aquaculture production: sustainability implications, mitigation, and adaptations. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 609097. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.609097>
- Mayfield, S., McGarvey, R., Gorfine, H. K., Peeters, H., Burch, P., Y Sharma, S. (2011). Survey estimates of fishable biomass following a mass mortality in an Australian molluscan fishery. *Journal of Fish Diseases*, 34(4), 287-302. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2011.01241.x>
- Melzner, F., Gutowska, M. A., Langenbuch, M., Dupont, S., Lucassen, M., Thorndyke, M. C., Bleach, M. y Pörtner, H. O. (2009). Physiological basis for high CO₂ tolerance in marine ectothermic animals: pre-adaptation through lifestyle and ontogeny?. *Biogeosciences*, 6(10), 2313-2331. <https://doi.org/10.5194/bg-6-2313-2009>

- Melzner, F., Stange, P., Trübenbach, K., Thomsen, J., Casties, I., Panknin, U., Gorb, S.N. y Gutowska, M. A. (2011). Food supply and seawater $p\text{CO}_2$ impact calcification and internal shell dissolution in the blue mussel *Mytilus edulis*. *PloS one*, 6(9), e24223. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024223>
- Munday, P. L., Dixson, D. L., McCormick, M. I., Meekan, M., Ferrari, M. C., y Chivers, D. P. (2010). Replenishment of fish populations is threatened by ocean acidification. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(29), 12930-12934. <https://doi.org/10.1073/pnas.1004519107>
- Naylor, M. A., Kaiser, H., y Jones, C. L. W. (2014). The effect of free ammonia nitrogen, pH and supplementation with oxygen on the growth of South African abalone, *Haliotis midae* in an abalone serial-use raceway with three passes. *Aquaculture Research*, 45(2), 213-224. <https://doi:10.1111/j.1365-2109.2012.03217.x>
- Nguyen, T. V., Alfaro, A. C., Mundy, C., Petersen, J., y Ragg, N. L. (2022). Omics research on abalone (*Haliotis* spp.): Current state and perspectives. *Aquaculture*, 547, 737438. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737438>
- Orr, J. C., Fabry, V. J., Aumont, O., Bopp, L., Doney, S. C., Feely, R. A., Gnanadesikan, A. Gruber, N. Ishida, A. Joos, F., Key, R.M. Lindsay, K. Maier-Reimer, E. Matear, R. Monfray, P. Mouchet, A. Najjar, R.G., Plattner, G.K. Rodgers, K.B. Sabine, C.L. Sarmiento, J.L. Schlitzer, R. Slater, R.D. Totterdell, I.J. y Yool, A. (2005). Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. *Nature*, 437(7059), 681-686. <https://doi.org/10.1038/nature04095>
- Ortiz, M. (1966). Informe preliminar de las investigaciones sobre biología y pesca del abulón comercial de las islas de Cedros, Benitos y Guadalupe, Baja California. *Dirección General de Pesca, INIBP, Trabajos de Divulgación, XI (109)*, 1-42.
- Paz-Pellat, F., Hernández-Ayón, J. M., Sosa-Ávalos, R., y Velázquez-Rodríguez, A. S. (2019). Estado del Ciclo del Carbono: Agenda Azul y Verde. Programa Mexicano del Carbono. Texcoco, Estado de México, México.

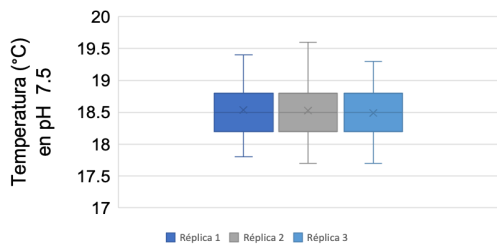
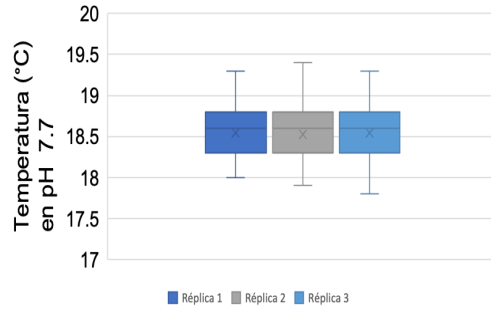
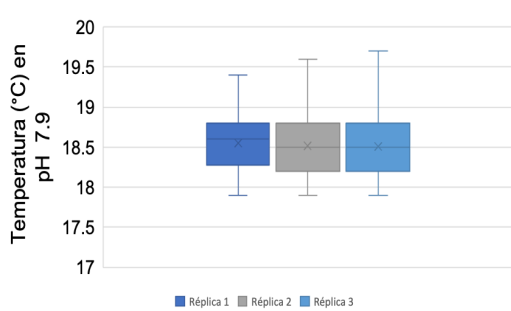
- Ponce, G., Sánchez, S., y Sánchez, E. (2003). Estudio de la cadena productiva de Abulón. CONAPESCA, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, SC, and Bancomext, CIBNOR, México.
- SADER, (2021). Inicio de la temporada de captura de abulón en la península de Baja California: agricultura. Recuperado de: <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/inicia-temporada-de-captura-de-abulon-en-la-peninsula-de-baja-california-agricultura#:~:text=La%20pesca%20de%20abul%C3%B3n%20se.y%20la%20generaci%C3%B3n%20de%20empleos.>
- Salazar, C. B., y Dolorosa, R. G. (2017). Assessment of the status of abalone fisheries and trade in the Province of Palawan, Philippines. *Puerto Princesa City, Palawan, Philippines: Western Philippines University (WPU) and Palawan Council for Sustainable Development Staff (PCSDS).*
- Searcy-Bernal, R., Ramade-Villanueva, M. R., y Altamira, B. (2010). Current status of abalone fisheries and culture in Mexico. *Journal of Shellfish Research*, 29(3), 573-576. <https://doi.org/10.2983/035.029.0304>
- Sevilla, M. L. (1971). Desarrollo gonádico del abulón azul *Haliotis fulgens Phillippi*. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat*, 32, 129-39.
- Shirayama, Y., y Thornton, H. (2005). Effect of increased atmospheric CO₂ on shallow water marine benthos. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 110(C9). <https://doi.org/10.1029/2004JC002618>
- Sierra-Rodríguez, P., Muciño-Díaz, M., Gutiérrez-González, J. L., & Turrubiates-Morales, J. R. (2006). La pesquería del abulón. *Sustentabilidad y pesca responsable en México: Evaluación y Manejo, Instituto Nacional de la Pesca, Ciudad de México*, 1-38.
- Solomon, S., Qin, D., Manning, M., Averyt, K., & Marquis, M. (Eds.). (2007). *Climate change 2007-the physical science basis: Working group I contribution to the fourth assessment report of the IPCC* (Vol. 4). Cambridge university press.
- Vega, V. A., León, G., & Muciño, M. (1994). Sinopsis de información biológica, pesquera y acuícola de los abulones (*Haliotis* spp.) de la península de Baja California, México. SEPESCA/CIBNOR, documento interno.
- Weiss, I. M., Lüke, F., Eichner, N., Guth, C., y Clausen-Schaumann, H. (2013). On the function of chitin synthase extracellular domains in biomineralization. *Journal of Structural Biology*, 183(2), 216-225. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2013.04.011>

Welladsen, H. M., Southgate, P. C., y Heimann, K. (2010). The effects of exposure to near-future levels of ocean acidification on shell characteristics of *Pinctada fucata* (Bivalvia: Pteriidae). *Molluscan Research*, 30(3), 125.

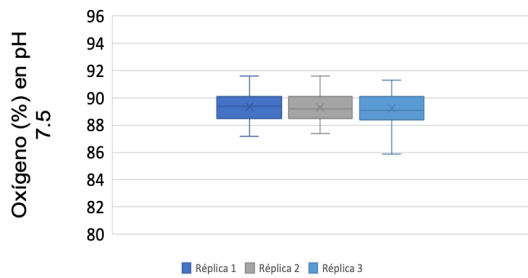
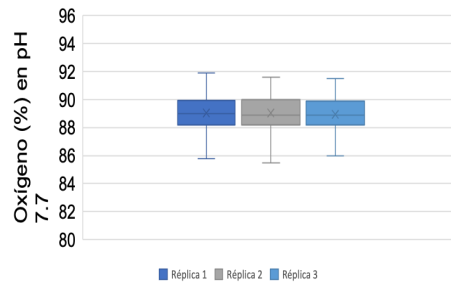
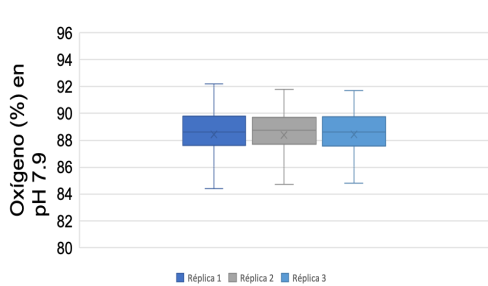
Anexos.

Anexo 1. Parámetros fisicoquímicos

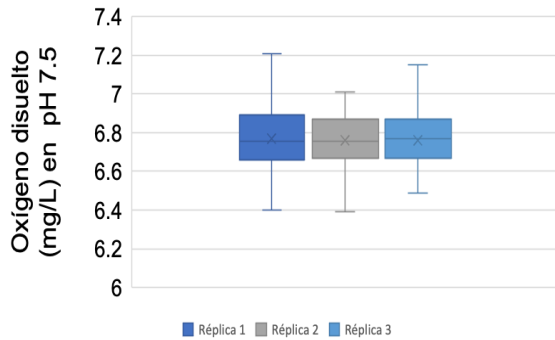
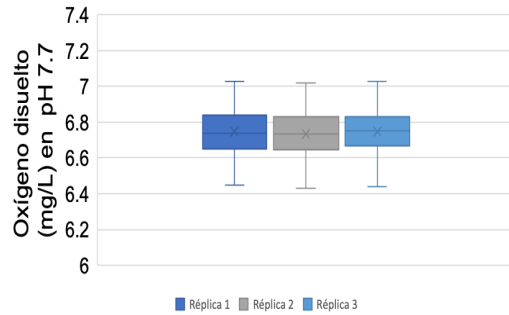
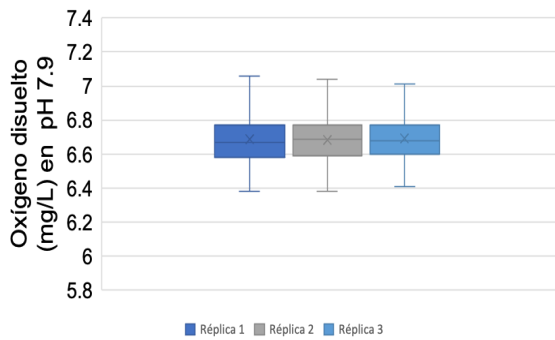
A) Comportamiento de la variable temperatura por triplicado en los tres tratamientos de pH (7.9, 7.7 y 7.5)



B) Comportamiento del oxígeno por triplicado en los tres tratamientos de pH (7.9, 7.7 y 7.5)



C) Comportamiento del oxígeno disuelto por triplicado en los tres tratamientos de pH (7.9, 7.7 y 7.5)



D) Comportamiento de la salinidad por triplicado en los tres tratamientos de pH (7.9, 7.7 y 7.5)

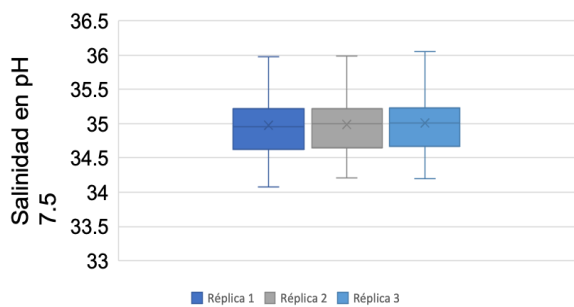
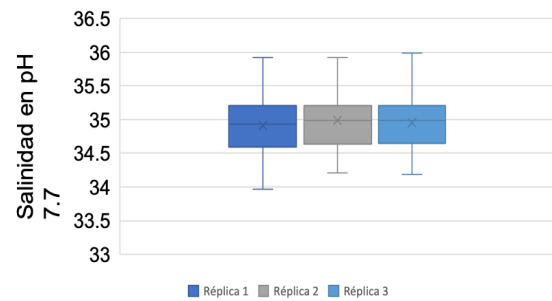
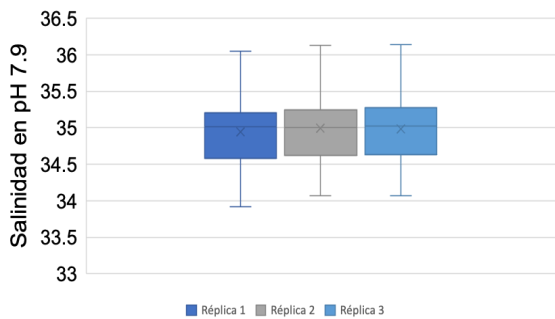


Figura 22. Valores promedio de las variables fisicoquímicas de A) temperatura (°C), B) saturación de oxígeno (%), C) niveles de oxígeno disuelto (mg/L) y D) salinidad (ppm) en la condición control (pH 7.9) y las experimentales (pH 7.7 y 7.5) por triplicado durante 94 días.

Anexo 2. Pruebas ANOVA

A) ANOVA de una vía (FISHER) longitud de concha inicial (LCi).

ANOVA de Un Factor (Fisher)

	F	gl1	gl2	p
LCinicial	2.36	2	177	0.098

Descriptivas de Grupo

	Tratamiento pH inicial	N	Media	DE	EE
LCinicial	7.9	60	35.9	5.16	0.666
	7.7	60	36.0	4.79	0.619
	7.5	60	34.3	4.63	0.598

B) ANOVA de una vía (FISHER) longitud de concha final (LCf).

ANOVA de Un Factor (Fisher)

	F	gl1	gl2	p
LCfinal	3.89	2	45	0.028

Descriptivas de Grupo

	Tratamiento pH final	N	Media	DE	EE
LCfinal	7.9	14	40.8	4.89	1.306
	7.7	17	40.1	4.07	0.987
	7.5	17	36.4	5.49	1.331

C) ANOVA de un factor (No paramétrico) ganancia en longitud de concha.

Kruskal-Wallis

	χ^2	gl	p	ϵ^2
Ganancia PT	0.938	2	0.626	0.0200
Ganancia LC	2.106	2	0.349	0.0448

D) ANOVA de un factor (No paramétrico) peso húmedo inicial (PTi).

Kruskal-Wallis

	χ^2	gl	p	ϵ^2
PTinicial	5.26	2	0.072	0.0294

E) ANOVA de un factor (No paramétrico) peso húmedo final (PTf).

Kruskal-Wallis

	χ^2	gl	p	ϵ^2
PTfinal	7.62	2	0.022	0.162

F) ANOVA de un factor (No paramétrico) ganancia en peso entre tratamientos.

Kruskal-Wallis

	χ^2	gl	p	ϵ^2
Ganancia PT	0.938	2	0.626	0.0200
Ganancia LC	2.106	2	0.349	0.0448

G) Anova de un factor (No paramétrico) en supervivencia.

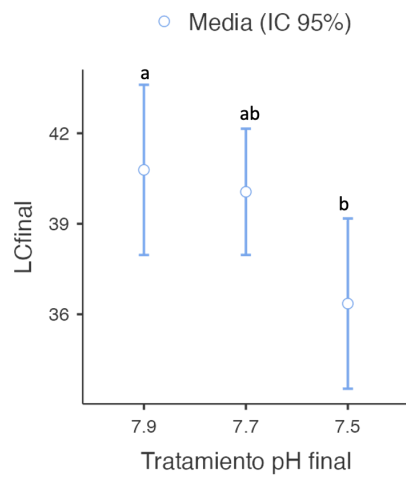
Kruskal-Wallis

	χ^2	gl	p	ϵ^2
ArcSeno(%S)	1.85	2	0.397	0.231

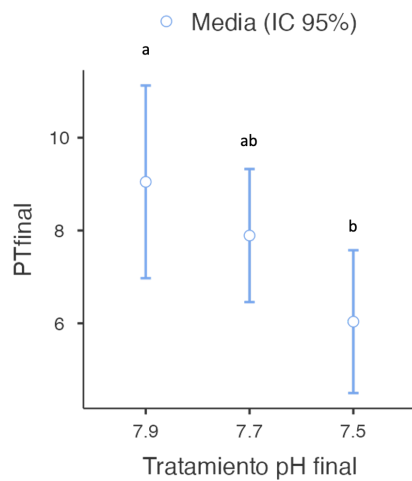
Figura 23. Tablas de resultados de pruebas estadísticas ANOVA (paramétrica y no paramétrica).

Anexo 3.- Pruebas *post hoc*

A) Longitud de concha final (LCf).



B) Peso húmedo final (PTf).



C) Porcentaje de supervivencia.

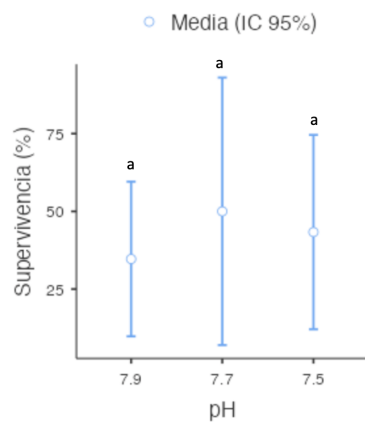


Figura 24. Pruebas *post hoc*.