

---

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS



**Tolerancia térmica en los caballitos juveniles de *Hippocampus erectus* y su efecto sobre el crecimiento**

**TESIS PROFESIONAL PARA OBTENER EL TITULO DE LICENCIADO EN**

**BIOLOGÍA.**

**PRESENTA:**

**MANUEL DE JESUS AMARAL RUIZ**

Las Agujas, Zapopan, Jal., Marzo 2013

Tolerancia térmica en los caballitos juveniles de  
*Hippocampus erectus* y su efecto sobre el crecimiento.

Tesis presentada por:

**Manuel de Jesús Amaral Ruiz.**

Dirigida por:

**M. en C. Gemma Leticia Martínez Moreno.**



**Universidad de Guadalajara**  
**Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias**  
*Coordinación de Carrera de la Licenciatura en Biología*

COORD-BIO-050/2010.

**C. Manuel de Jesús Amaral Ruiz**  
**PRESENTE**

Manifestamos a usted, que con esta fecha, ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de **TESIS E INFORMES** opción **TESIS** con el título "**Tolerancia térmica en los caballitos juveniles de *Hippocampus erectus* y su efecto sobre el crecimiento**" para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos, que ha sido aceptado como Directora de dicho trabajo a: **M.C Gemma Leticia Martínez Moreno** y como asesor a **M. C. Eduardo Juárez Carrillo**.

Sin más por el momento, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**  
**"PIENSA Y TRABAJA"**

**"2010 Bicentenario de la Independencia y Centenario de la Revolución Mexicana"**  
Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jal., 21 de Junio del 2010.

**Dra. Teresa de Jesús Aceves Esquivias**  
**PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACION**



**COORDINACIÓN DE LA CARRERA DE**  
**LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

**M.C. GLORIA PARADA BARRERA**  
**SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN**

Dra. Teresa de Jesús Aceves Esquivias.  
Presidente del Comité de Titulación.  
Licenciatura en Biología.  
CUCBA.  
Presente

Nos permitimos informar a usted que habiendo revisado el trabajo de titulación, modalidad tesis e informes, opción tesis con el título: "Tolerancia térmica en los caballitos juveniles de *Hippocampus erectus* y su efecto sobre el crecimiento." que realizó el pasante Manuel de Jesús Amaral Ruíz con número de código 300164461 consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorizar su impresión.

Sin otro particular quedamos de usted con un cordial saludo.

Atentamente  
Predio las agujas, Nextipac, Zapopan Jalisco  
16 de enero de 2013

  
M. en C. Gemma Leticia Martínez Moreno.  
Directora de la tesis

  
M. en C. Eduardo Juárez Carrillo  
Asesor

Nombre completo de los Sinodales asignados por el Comité de Titulación

Firma de aprobado

Fecha de aprobación

M. en C. Eduardo Juárez Carrillo



16/01/2013

M. en C. Idefonso Enciso Padilla



16/01/2013

Dr. Ernesto López Uriarte  
Supl.

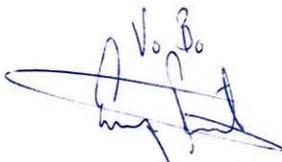


16/01/2013

M. en C. Agustín Camacho Rodríguez



16/01/2013



## **DEDICATORIA**

A Francisca Ruíz Martínez por que al ser Madre y Padre para mí y a mis hermanas en los años más difíciles de nuestras vidas y al enfrentar la adversidad y no dejarse derrotar por los demás, tanto al enseñarnos que la vida sigue.

Cuando menos lo esperamos, la vida nos coloca delante un desafío que pone a prueba nuestro coraje y nuestra voluntad de cambio que puede determinar tu destino.

Paulo Coelho.

**En Memoria de mi Papá.**

**Ramiro Dante Amaral Macías.**

## **AGRADECIMIENTOS.**

Agradezco a la M. en C. Gemma Leticia Martínez Moreno, mi directora de tesis y amiga por ser la primera persona en darme la bienvenida a Yucatán, dándome con ello su apoyo, paciencia y asesoría desde un principio a fin de este gran proyecto.

A la Dra. Maite Mascaró Miquelajauregui, por hacerme parte del proyecto de caballitos de mar que está a su cargo y principalmente guiar nuestro trabajo y asesorar tan acertadamente sobre los análisis estadísticos.

Al Dr. Nuno Simoes por ser también uno de los primeros en darme la oportunidad de trabajar en PIECEMO y por el gran aporte de nuevas ideas que enriquecieron de manera sustantiva.

Al Dr. Carlos Rosas por brindar apoyo sobre el conocimiento fisiológico de la especie.

Al M en C. Eduardo Juárez Carrillo por brindarme la facilidad en los trámites de la tesis, además de ser maestro lo considero un gran amigo todos estos años.

Y a todos los compañeros y amigos que conocí en la UNAM, con lo que tuve el gusto de conocer y al ser mi estancia algo más amena y siempre brindarme su entusiasmo y alegría.

A la Universidad de Guadalajara, especialmente a mi querido Centro Universitario CUCBA sede responsable de mi formación como biólogo.

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo dentro del proyecto "Aspectos conductuales, sociales y neuro-endocrinos del sistema de apareamiento en el caballito de mar *Hippocampus erectus*." (CONACyT 101610) bajo la responsabilidad de la Dra. Maite Mascaró Miquelajaugui. Se agradece el apoyo de los técnicos académicos: M.C. Maribel Badillo Alemán por su valiosa colaboración en el desarrollo de las pruebas de temperatura crítica en el laboratorio de Ecología de la UMDI, M.C. Alfredo Gallardo por el apoyo en la captura de los reproductores, M.C. Gabriela Palomino Albarrán y Patricia Balaam Uc por el suministro diario del alimento vivo para los organismos experimentales.

## Índice General.

<b>I. Resumen .....</b>	<b>1</b>
<b>II. Introducción.....</b>	<b>3</b>
<b>III. Antecedentes .....</b>	<b>6</b>
3.1. Generalidades.....	6
3.1.2. Morfología.....	8
3.1.3. Alimentación.....	9
3.1.4. Distribución y hábitat .....	9
3.2. Temperatura y Preferendum térmico .....	10
3.2.1. Límites de tolerancia térmica.....	11
<b>IV. Justificación .....</b>	<b>14</b>
<b>V. Hipótesis.....</b>	<b>15</b>
<b>VI. Objetivos.....</b>	<b>15</b>
6.1. Objetivo general.....	15
6.2. Objetivo particulares .....	15
<b>VII. Materiales y métodos.....</b>	<b>16</b>
7.1. Origen de reproductores y organismos experimentales .....	16
7.2. Crecimiento.....	18
7.3. Determinación de la conducta de juveniles de <i>H. erectus</i> ante el estrés térmico y establecimiento de la temperatura crítica máxima y mínima .....	19
7.3.1. Dispositivos experimentales .....	19
7.3.2. Determinación de la conducta .....	21
7.4. Prueba de sobrevivencia.....	22
7.5. Evaluación del crecimiento de juveniles de <i>H. erectus</i> aclimatados a 18°C y 30°. Prueba de estrés térmico .....	22

7.5.1. Distribución aleatoria de los organismos experimentales.....	22
7.5.2. Aleatorización de los tratamientos.....	23
7.5.3. Diseño general del experimento.....	26
7.5.4 Desarrollo del experimento en organismos aclimatados a 30°C.....	28
7.5.5. Desarrollo del experimento en organismos aclimatados a 18°C.....	30
7.6. Aclimatación de los organismos experimentales.....	30
7.7. Pruebas de shock térmico en juveniles de <i>H. erectus</i> .....	31
7.8. Nomenclatura empleada para temperatura crítica máxima, mínima y letal.....	33
7.9. Análisis estadísticos.....	34
<b>VIII. Resultados.....</b>	<b>37</b>
8.1 Parámetros fisicoquímicos.....	37
8.2. Tasas de incremento y decremento de temperatura.....	37
8.3. Descripción de la conducta de juveniles de <i>H. erectus</i> ante el estrés térmico agudo para la determinación de las temperaturas críticas máximas y mínimas.....	38
8.3.1. Incremento.....	38
8.3.2. Decremento.....	40
8.4. Temperaturas críticas y letales en organismos aclimatados a 30°C y 18°C ante el incremento de la temperatura.....	43
8.5. Temperaturas críticas y letales en organismos aclimatados a 30°C y 18°C ante el descenso de la temperatura.....	43
8.6. Sobrevivencia.....	44
8.6.1. Pruebas de sobrevivencia a las 96 horas.....	44
8.6.2. Durante el experimento.....	44
8.7. Crecimiento de juveniles de <i>H. erectus</i> ante las pruebas de estrés térmico.....	45

<b>IX. Discusión</b> .....	<b>54</b>
9.1. Conducta.....	54
9.2. Validación de la prueba de TCM a través de la medición de la sobrevivencia .....	56
9.3. Validación de los valores de TCM a partir de la evaluación del crecimiento.....	57
9.4. Tolerancia térmica.....	60
9.5. Temperatura letal y temperatura de letargo.....	62
<b>X. Conclusiones</b> .....	<b>65</b>
<b>XI. Bibliografía</b> .....	<b>67</b>

## Índice de figuras.

<b>Figura 1.</b> Juvenil de <i>H. erectus</i> .....	8
<b>Figura 2.</b> Distribución de <i>H. erectus</i> .....	9
<b>Figura 3.</b> Sistema de mantenimiento de reproductores de <i>H. erectus</i> .....	17
<b>Figura 4.</b> Dispositivo experimental empleado para el incremento de la temperatura .....	19
<b>Figura 5.</b> Dispositivo empleado para el descenso de la temperatura .....	20
<b>Figura 6.</b> Distribución aleatoria de las crías de <i>H. erectus</i> y de los tratamientos en 2 sistemas de aclimatación (30°C y 18°C).....	24
<b>Figura 7.</b> Sistema de cultivo de los organismos experimentales A y B) 30°C; C y D) 18°C .....	25
<b>Figura 8.</b> Tasas de crecimiento de los juveniles de <i>H. erectus</i> aclimatados a 18°C y 30°C antes y después de las pruebas de estrés térmico.....	49
<b>Figura 9.</b> Incremento en peso de los juveniles aclimatados a 30°C antes y después de las pruebas de estrés térmico a) TCM <sub>Max</sub> ; b) >TCM <sub>Max</sub> ; c) TCM <sub>Min</sub> ; d) <TCM <sub>Min</sub> .....	51
<b>Figura 10.</b> Incremento en peso de los juveniles aclimatados a 18°C antes y después de las pruebas de estrés térmico a) TCM <sub>Max</sub> ; b) >TCM <sub>Max</sub> ; c) TCM <sub>Min</sub> ; d) <TCM <sub>Min</sub> .....	53
<b>Figura 11.</b> Polígono térmico de <i>H. erectus</i> .....	61
<b>ANEXO 1.</b> Esquema de alimentación de cría y juveniles de <i>H. erectus</i> (Gomes, 2009). .....	73

## Índice de tablas.

<b>Tabla 1.</b> Desarrollo del experimento para los organismos aclimatados a 30 °C. Se muestran los días de aclimatación, de crecimiento y de las pruebas de estrés térmico.....	27
<b>Tabla 2.</b> Desarrollo del experimento para los organismos aclimatados a 18 °C. Se muestran los días de aclimatación, de crecimiento y de las pruebas de estrés térmico.....	29
<b>Tabla 3.</b> Factores, su tipo y sus niveles incluidos en el modelo de ANOVA factorial utilizado para analizar los resultados de los experimentos sobre el efecto de la temperatura en el crecimiento de juveniles de <i>H. erectus</i> .....	34
<b>Tabla 4.</b> Sistema de aclimatación a 30°C y 18°C.....	37
<b>Tabla 5.</b> Tasas de medias de ascenso y descenso de la temperatura .....	38
<b>Tabla 6.</b> Descripción de las respuestas conductuales del estrés térmico en los juveniles de <i>H. erectus</i> aclimatados a 18°C y 30°C durante el incremento de la temperatura.....	39
<b>Tabla 7.</b> Descripción de las respuestas conductuales del estrés térmico en los juveniles de <i>H. erectus</i> aclimatados 18°C y 30°C durante el descenso de la temperatura .....	41
<b>Tabla 8.</b> TCM <sub>max</sub> , >TCM <sub>max</sub> , Temperatura letal y Temperatura de letargo en los juveniles de <i>H. erectus</i> sometidos al shock térmico.....	43
<b>Tabla 9.</b> ANOVA resultados de pruebas de F .....	46
<b>Tabla 10.</b> Valores estimados de $\alpha$ y de los coeficientes parciales de regresión $\beta_i$ , $\beta_j$ , $\beta_k$ , $\beta_{ij}$ y $\beta_{ik}$ ( $\pm$ error estándar) correspondientes a los términos A (factor aclimatación), P (factor periodo), D (factor día), interacción A x P, e interacción A x D, respectivamente en el modelo óptimo de regresión lineal.....	48
<b>Tabla 11.</b> Polígonos térmicos de <i>H. erectus</i> y otras especies de peces tropicales que habitan diferentes tipos de ecosistemas .....	61

## I. RESUMEN

La temperatura en el medio natural es un factor importante que controla el comportamiento y la fisiología de los organismos acuáticos. Si bien la información sobre la tolerancia térmica de muchas de las especies de peces es abundante en la literatura científica, la sobrevivencia, el crecimiento y el comportamiento de los *syngnátidos*, (caballitos de mar, pez pipa y dragones de mar), bajo diferentes condiciones termales no han sido bien estudiados. Debido a su amplia distribución geográfica y a su condición marino-estuarina, *Hippocampus erectus*, comúnmente conocido como caballito de mar listado, puede tolerar amplios rangos de temperatura (de 10° a 30° C), sin embargo no hay registro alguno de su tolerancia térmica. El objetivo de este estudio fue determinar las temperaturas críticas máxima (TCMax) y mínima (TCMin) mediante la comparación de la sobrevivencia y crecimiento de individuos juveniles sometidos a un estrés térmico agudo.

Doscientos juveniles de *H. erectus* fueron asignados de forma aleatoria a 20 peceras (11.5 L). La mitad de los organismos experimentales se mantuvieron a una temperatura de aclimatación de 18°C y la otra mitad a 30 °C. Para cada temperatura de aclimatación, las Temperaturas Críticas (TC) fueron registradas sometiendo a 24 juveniles de *H. erectus* a incrementos (o decrementos) de temperatura de 1°C/min hasta detectar la desorganización motora y desorientación espacial característica de las TCM y posteriormente, la muerte. Con esta información se establecieron cuatro tratamientos de estrés térmico agudo: TCMax, >TCMax, TCMin, <TCMin y un control (temperatura de aclimatación correspondiente) para determinar el efecto de éstos en la sobrevivencia y el crecimiento (peso húmedo, g) de los organismos experimentales. Los resultados fueron evaluados mediante el ajuste de un modelo de ANOVA factorial usando técnicas de regresión lineal con modelos mixtos (GLMM) para comparar: 1) el crecimiento antes y después de la prueba de estrés térmico; 2) el crecimiento entre tratamientos de estrés térmico; y 3) el crecimiento entre temperaturas de aclimatación.

En general, los juveniles de *H. erectus* incrementaron su peso húmedo significativamente a lo largo de los 60 días de experimentación ( $F = 28.56$ ;  $p < 0.001$ ). El peso húmedo de los organismos experimentales fue estadísticamente similar entre todos los tratamientos (incluyendo el control:  $F = 1.86$ ;  $p = 0.12$ ), antes y después del estrés térmico ( $F = 0.06$ ;  $p = 0.99$ ), indicando que no hubo un efecto del estrés térmico agudo en el crecimiento de los caballitos. El crecimiento de los caballitos aclimatados a 18°C, sin embargo, fue significativamente mayor que el de aquellos aclimatados a 30°C ( $F = 7.38$ ;  $p < 0.01$ ). Solo 10 (5%) organismos murieron durante todo el experimento, 7 procedentes del tratamiento de aclimatación a 30°C y 3 del de 18°C. Ninguno de los organismos murió durante las pruebas de estrés térmico agudo, ni dentro de las 96 hrs siguientes. Estos resultados sugieren que *H. erectus* es altamente adaptable incluso a cambios relativamente rápidos de temperatura (aumento de tasas medias de  $.97 \pm 0.02^\circ\text{C}/\text{min}$ , de  $6.6 \pm 0.46$  a  $33.9 \pm 1.10^\circ\text{C}$  aclimatados a 18°C;  $1.58 \pm 0.10^\circ\text{C}/\text{min}$ , de  $11 \pm 0.94$  a  $36.2 \pm 0.63^\circ\text{C}$  aclimatados a 30°C), pero permanecer de manera constante a una temperatura elevada puede tener efectos irreversibles en el crecimiento. Los resultados de crecimiento permiten sugerir que las temperaturas registradas como máximos y mínimos en este trabajo no constituyen las TC reales, y que el intervalo de resistencia térmica de la especie es relativamente estrecho. Esta información resulta relevante tanto para fines de preservación y gestión de las poblaciones de *H. erectus* bajo riesgo, así como para fines de su cultivo.

## II. INTRODUCCIÓN

El cambio climático está ocasionando cambios importantes en la pesca de captura mundial, la cual ya experimenta la presión adicional de la pesca excesiva y otras influencias antropogénicas. La pesca continental, la cual se realiza principalmente en países en desarrollo de África y Asia, va en aumento, lo que pone en peligro el suministro de alimentos y los medios de subsistencia de algunos de los grupos de población más pobres del mundo (FAO, 2010).

Además de lo anterior, el cambio climático global está afectando a todos los ecosistemas marinos como las zonas tropicales y templadas de aguas costeras poco profundas, lechos de pastos marinos, arrecifes de coral, manglares y estuarios. Esto, a su vez, afecta de manera sensible el rendimiento y la distribución de los individuos de las poblaciones que habitan estos ecosistemas (Wernberg, *et al.*, 2011). Existen varias hipótesis, entre las cuales se señala que a medida que las temperaturas asciendan, aumentará la abundancia de las poblaciones de peces marinos en áreas de distribución cercanas a los polos y disminuirá la de las poblaciones en zonas próximas al ecuador. En general se espera que el cambio climático cambie las áreas de distribución de la mayoría de las especies terrestres y marinas, amplie las áreas de distribución de las especies de aguas cálidas y reduzca las de las especies de aguas frías. Los cambios más rápidos en las comunidades de peces tendrán lugar en las especies pelágicas, las cuales se desplazarán, previsiblemente, a aguas más profundas para contrarrestar el aumento de la temperatura de la superficie (FAO, 2010).

El uso de los sistemas acuáticos, ha motivado algunos conflictos entre los usuarios, ya sea por interferencias entre actividades (por ejemplo, con la industria petrolera, con la navegación, con la dinámica propia de las industrias en la parte interna de las cuencas, entre otras), o a través de la percepción pública sobre la conservación de la biodiversidad, ya sea de especies amenazadas, en peligro, o de aquellas que simplemente son carismáticas y ornamentales (Guzmán y Fuentes, 2006). La acuicultura se ha incrementado en décadas recientes, no solo

por lo que a la producción comercial de especies acuáticas para consumo humano se refiere, sino también como una herramienta para la conservación de la biodiversidad (Faleiro *et al.*, 2008).

La acuicultura ornamental, que se ocupa de la producción de organismos acuáticos con fines estéticos y didácticos, ha tomado en los últimos años un gran impulso dado el interés que la actividad de la acuarofilia tiene en un mayor número de personas alrededor de mundo. Así es que, se ha incrementado el número y variedad de especies ornamentales tropicales de agua marina, salobre y dulce que actualmente son comercializadas (Simoes, 2004). Se ha señalado que en años recientes los acuarios marinos se han convertido en una actividad muy popular, siendo los acuarios de arrecife aquellos que están considerados como los más espectaculares y más difíciles de mantener. Las especies marinas de importancia ornamental son aquellas que se capturan para mantenerse vivas en acuarios, y tanto su valor como su uso están relacionados con la belleza estética de sus formas y vivos colores. Actualmente la producción de especies marinas ornamentales se ha convertido en un componente importante de la industria de la acuicultura.

Pertenecientes a la familia Syngnathidae, los caballitos de mar son peces ornamentales con gran popularidad en la acuarofilia, siendo los ejemplares grandes y coloridos los de mayor precio en el mercado (Lin *et al.*, 2009). Estos organismos han sido explotados y comercializados particularmente en la medicina tradicional China por al menos 400 años y más recientemente por la acuarofilia ornamental y como recuerdos (Vicent, 1996).

Las 33 especies reconocidas de caballitos de mar del género *Hippocampus* han sido incluidas en la Apéndice II de la Convención Internacional sobre el Comercio de Especies Amenazadas de Fauna y Flora silvestres (CITES, 2004). Vincent (1996) señala que las poblaciones de estos organismos, además de ser afectadas por la captura y comercialización ilegal, son objeto de pesca incidental en arrastres pesqueros y además son especies muy vulnerables a efectos antropogénicos tales

como la modificación, destrucción y degradación de los hábitats costeros y la contaminación.

En los últimos años, se ha registrado una fuerte disminución en las poblaciones naturales de caballitos de mar. Se estima que algunas poblaciones silvestres han ido decreciendo posiblemente a un ritmo de 10% por año (Wright *et al.*, 2007). Sin embargo, también en los últimos 10 años se han tenido avances significativos en cuanto al cultivo comercial de algunas especies de caballito mar. Aunque se ha tenido un gran progreso en la técnica de la cría de los caballitos de mar, la variación en la calidad de los juveniles, crecimiento y mortalidad son aún considerablemente altos, por lo que es importante proporcionar una documentación valiosa de indicadores sencillos y fiables para evaluar la calidad de los juveniles en la acuicultura (Zhang, 2011).

Se propone que las actividades pesqueras y de conservación en conjunto con la actividad acuícola, cuidadosamente planeados y ejecutados, pueden proveer medios para soportar la existencia continua de poblaciones sanas de caballitos de mar en la naturaleza (Poortenaar *et al.*, 2004). En este sentido, se señala que la acuicultura de algunas especies de caballitos (*H. barbouri*, *H. kuda*, *H. reidi*, *H. erectus*) a escala experimental y comercial, ha aliviado parcialmente la presión sobre las poblaciones silvestres (Lu *et al.*, 2001; Sheng *et al.*, 2006; Planas, 2009). Sin embargo, se reconoce que las metodologías de cultivo y producción necesitan ser mejoradas para ayudar en el desarrollo del cultivo comercial de caballitos de mar (Woods, 2003) principalmente debido a que aún existen muchos aspectos desconocidos de la biología, fisiología y la reproducción de las diferentes especies de caballitos de mar que son importantes para el desarrollo exitoso de protocolos de cultivo y con fines de conservación.

### III. ANTECEDENTES

#### 3.1 Generalidades

Debido a su belleza, colorido y carisma los caballitos de mar, peces pipa y dragones de mar han atraído el interés de científicos, acuaristas, conservacionistas y del público en general (Stiassny, 2004). Dentro de este grupo, las especies del género *Hippocampus*, son especies raras en su hábitat por lo cual se han generado importantes esfuerzos mundiales para su conservación (Koldewey y Smith, 2010). La investigación científica de este grupo de peces marinos se ha enfocado principalmente en su particular biología reproductiva (Vicent, 1996).

## Ubicación taxonomía de *H. erectus*

Reino: Animalia

Phylum: Chordata

Subphylum: Vertebrata

Superclase: Osteichthyes

Clase: Actinopterygii

Subclase: Neopterygii

Infraclase: Teleostei

Superorden: Acanthopterygii

Orden: Gasterosteiformes

Suborden: Syngnathoidei

Familia: Syngnathidae

Subfamilia: Hippocampinae

Género: *Hippocampus*

Especie: *erectus* (Perry, 1810)

### 3.1.2 Morfología

*H. erectus* posee una morfología corporal única: cabeza de caballo, ojos grandes, tronco curvilíneo, cola prensil, un pecho profundo y patrones de líneas a través de su cuerpo a menudo visibles (Koldewey y Smith, 2010). Los colores suelen oscilar entre el negro, marrón, gris, verde, amarillo, naranja y rojo (Figura1). Sin embargo, la coloración no es fija y esta se modifica debido a diversos factores tales como la dieta, estrés, la temperatura y calidad del agua (Foster y Vicent, 2004). De adultos, pueden medir desde los 12 cm hasta los 20 cm. Pueden presentar cirros ornamentales o carecer de ellos.



Figura 1. Juvenil de *H. erectus*.

### 3.1.3 Alimentación.

En el medio natural *H. erectus* mantiene una dieta variada, dominada por anfípodos, decápodos y mysidáceos. En cultivo, la dieta principal generalmente es a partir de *Artemia* (nauplios, metanauplios y adultos), complementándose con otros grupos tales como copépodos, mysidáceos, así como alimentos silvestres recolectados como anfípodos. (Koldewey y Smith, 2010).

### 3.1.4 Distribución y hábitat.

*H. erectus*, presenta un amplio rango latitudinal pues se le encuentra desde Nueva Escocia en la costa oeste del Atlántico, a través del Golfo de México y el Caribe hasta Venezuela (Foster y Vincent, 2004) (Figura 2).

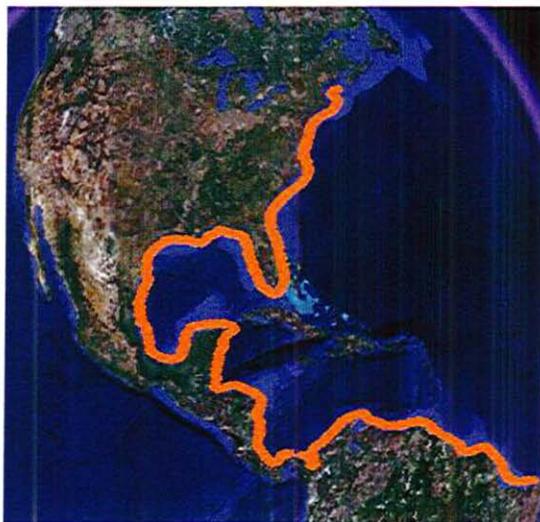


Figura 2. Distribución de *H. erectus*

De forma general, las diferentes especies de caballitos de mar se distribuyen en zonas tropicales y templadas en aguas costeras poco profundas o hasta profundidades de 70 metros, en fondos con lechos de pastos marinos, arrecifes de coral, manglares y estuarios. (Koldewey y Smith, 2010). En la localidad de Chelem *H. erectus* se encuentra generalmente en fondos de pastos marinos como *Halodule spp.*, *Syringodium spp.*, y algas como la *Dasycladus spp.*, y *Halimeda spp* (Jiménez, 2011).

### 3.2 Temperatura y Preferendum térmico

La temperatura es el principal factor abiótico ambiental que controla la conducta y la actividad fisiológica de los organismos acuáticos (Jobling, 1981) en todos los estadios de su ciclo de vida (Re *et al.*, 2006). Provoca efectos tanto en la alimentación, como en el metabolismo, crecimiento, desarrollo y reproducción de las especies. (Jörg Urban, 1944; citado en Becerril, 2008). Afecta la actividad locomotora, orientación de los individuos, tamaño, distribución geográfica y batimétrica de las poblaciones, estructura de las comunidades y ecosistemas (Jobling, 1994; Mora y Ospina, 2001, Hernández *et al.*, 2004).

En peces e invertebrados la mayoría de sus actividades bioquímicas y fisiológicas dependen de y son reguladas por la temperatura del agua circundante (Galleher *et al.*, 2009). Este factor es considerado un agente letal capaz de dañar la integridad fisiológica de un organismo hasta ocasionar su muerte, de esta manera, cualquier cambio drástico o agudo que se registre en la temperatura, puede provocar severos disturbios en las funciones metabólicas de los organismos acuáticos comprometiendo notablemente la supervivencia (Beitinger *et al.*, 2000).

Las condiciones térmicas apropiadas son indispensables para que una especie interactúe óptimamente con su hábitat natural o bajo condiciones controladas. Por ello, la mayoría de los organismos seleccionan sitios donde se encuentra su temperatura preferida o *preferendum térmico* (Reynolds, 1979). En situaciones extremas, la mayoría de los organismos acuáticos tienden a adoptar conductas

evasivas y a congregarse en zonas donde las temperaturas les son favorables (Becerril, 2008).

El *preferendum térmico* es definido operacionalmente como el intervalo en donde los animales se congregan o pasan la mayor parte del tiempo cuando son expuestos a un gradiente de temperatura sin considerar su historia térmica previa, y donde los intervalos que prefieren y las temperaturas a las que se aclimatan son iguales (Fry, 1971., citado en Becerril, 2008).

### **3.2.1 Límites de tolerancia térmica**

El conocimiento de la tolerancia térmica de cada especie, proporciona un índice fisiológico y ecológico muy importante; ya que cualquier organismo acuático dentro de su hábitat natural puede estar expuesto temporalmente a temperaturas críticas fuera de su límite de tolerancia (Díaz et al., 2006). En el caso de las especies marinas de interés comercial, el límite de tolerancia térmica aporta información valiosa acerca del impacto y los efectos del cambio climático y otros fenómenos termales sobre los índices de mortalidad, abundancia y distribución de una especie en particular (Mora y Maya, 2006).

La tolerancia térmica en las especies acuáticas se estima a través de dos métodos: el estático y el dinámico (Luttershmidt y Hutchison, 1997a). En el método estático o método de la temperatura letal, los organismos se aclimatan a una temperatura determinada para después ser transferidos abruptamente a otro medio con una temperatura mayor o menor que la de aclimatación, hasta que ocurre la muerte (punto final o crítico) (Luttershmidt y Hutchison, 1997a). En este método la temperatura se mantiene constante monitoreando el tiempo de mortalidad y el porcentaje de supervivencia de los organismos (Becker y Genoway, 1979; Beitinger *et al.*, 2000; Selong *et al* 2001).

En el método dinámico los individuos son expuestos a temperaturas ascendentes o descendentes de manera constante y gradual en un intervalo de tiempo corto, hasta que se alcanza un punto final o crítico para la vida de los organismos

(Becker y Genoway, 1979; Paladino *et al.*, 1980). De acuerdo con Mora y Maya (2006) el método dinámico proporciona información más confiable y precisa de la tolerancia térmica en especies acuáticas, ya que los resultados obtenidos se pueden comparar fácilmente con las condiciones naturales.

El método dinámico está representado por las pruebas de temperatura crítica máxima (TCMax) y la temperatura crítica mínima (TCMin). El concepto de TCMax fue introducida por Cowles y Bogert (1944), modificada por Lowe y Vance (1955) y estandarizada por Hutchison (1961) quien la define como: "Una medida de tolerancia en la cual se usa la media aritmética de puntos térmicos colectivos en cuanto la actividad locomotora se desorganiza". La forma de estimarla es exponiendo a los organismos a una elevación de temperatura del agua a una tasa constante y lineal lo suficientemente rápida para ejercer un efecto directo sin permitir que los organismos se aclimaten. (Hutchison, 1961). En esta condición los animales pierden la habilidad para escapar de las condiciones que lo conducirán a la muerte (Hutchison, 1961). Con este método el punto crítico, donde la actividad locomotora se desorganiza (TCM) es fácilmente identificable. La tasa de incremento o descenso de temperatura es un factor crítico en estas pruebas de tolerancia, debido a que las respuestas de estrés en los organismos dependen directamente del tiempo de exposición a temperaturas elevadas o bajas (Luttershmidt y Hutchison, 1997a 1997b).

En la actualidad existen un gran número de trabajos para evaluar la tolerancia térmica en peces, crustáceos y moluscos, mismos que iniciaron con los trabajos de Cowles y Borget, (1944), Lowe y Vance (1955), Hutchinson (1961), Becker (1979), Paladino (1980), Jobling, (1981), Luttershmidt y Hutchison (1997a), quienes describieron las bases de los estudios de la temperatura crítica. En estos trabajos se establecieron las diferentes metodologías y mediciones experimentales de la tolerancia térmica, las cuales principalmente se consideran un indicador de la habilidad de un organismo para aprovechar al máximo un ambiente térmico determinado.

Badillo (2003), evaluó los límites de tolerancia y resistencia térmica del pez intermareal *Bathygobius ramosus* determinando la pérdida del equilibrio inicial como la TCM, la pérdida de equilibrio completa como la TPEC y la temperatura de muerte TM de esta especie). En ese estudio no se encontraron diferencias significativas en las respuestas entre machos y hembras pero si entre los valores de la TCM, la TCPEC y la TM.

Becerril (2008), utilizó las TCM como estimadores de la tolerancia térmica en el pulpo rojo *Octopus maya*, las cuales fueron determinadas en organismos juveniles de 0.24 a 0.94 g aclimatados a 27°C, considerando incrementos o decrementos de temperatura de 1°C por minuto. La TCMax y TCMin estimadas en este trabajo fueron de 35.83°C ± 0.85 y de 17.74°C ± 1.21, respectivamente. No se encontraron efectos significativos en el crecimiento y supervivencia de los juveniles tempranos utilizados en las pruebas de tolerancia térmica.

Cross y Rawding (2009), reportaron las respuestas ante el incremento de la temperatura (TCMax) en la especie *Apollonia melanostoma*, las cuales se manifestaron desde la pérdida de respuesta, la falta de equilibrio y el incremento en la tasa respiratoria, hasta el punto crítico donde los organismos presentaron espasmos musculares y paro respiratorio que los conducían a la muerte.

Eme y Bennett (2009) llevaron a cabo estudios con una gran cantidad de especies de peces marinos tropicales de Sulawesi, Indonesia y determinaron que la TCMin para todos ellos es de alrededor de los 18°C o incluso menor. En este caso, en las especies asociadas a arrecifes, tales como los cardenales nueve bandas, la TCMin se registraba por debajo de los 13°C.

#### IV. JUSTIFICACIÓN.

En la actualidad, se desconocen muchos de los aspectos biológicos, fisiológicos y conductuales de la mayoría de las especies de caballitos de mar a pesar de su valor económico y su estatus de protección. Se carece de información al respecto de los intervalos de tolerancia a los cambios de temperatura ambiental de los caballitos de mar y de la forma en que la distribución de los distintos componentes de la población (reproductores, juveniles, crías etc.) esta modulada por este factor. Esta falta de información impide establecer con precisión los movimientos de las poblaciones, si existen zonas de reproducción, de alimentación o donde se ubican, así como migraciones de estos diferentes componentes poblacionales.

El conocimiento de las temperaturas críticas máximas y mínimas, proporcionan un índice relevante a nivel fisiológico y ecológico ya que los organismos acuáticos pueden encontrar tales temperaturas espacial y temporalmente en sus hábitats naturales (Hutchison, 1976; Díaz *et al.*, 2006), determinando aspectos importantes de su abundancia, distribución geográfica, dinámica poblacional, enfermedades, etc. (Mora y Maya, 2006).

En el caso de organismos en cultivo, este conocimiento resulta muy útil para la evaluación de los requerimientos térmicos óptimos, puesto que permiten identificar aquellas temperaturas en las que pueden ocurrir las primeras señales de estrés (Paladino *et al.*, 1980; Pérez *et al.*, 2003; Das *et al.*, 2004; Re *et al.*, 2005; Mora y Maya, 2006), evitando con ello enfermedades, mortalidad y disminución del crecimiento en los sistemas de crianza. Debido a esto es que en el presente estudio se estableció llevar a cabo el establecimiento de los límites de tolerancia térmica de juveniles de *H. erectus* pues a la fecha no se cuenta con esta información.

## **V. HIPÓTESIS.**

Si, *H. erectus* tiene un amplio rango latitudinal de distribución, es un organismo estuarino y está adaptado a fluctuaciones importantes de temperatura, entonces las temperaturas extremas de su hábitat natural (18 y 30°C) no tendrán un efecto significativo en la tolerancia térmica de los peces.

## **VI. OBJETIVOS**

### **6.1 Objetivo general.**

Determinar los límites de tolerancia térmica en los juveniles de caballito de mar *H. erectus* aclimatados a las dos temperaturas extremas representativas de su hábitat natural en la Laguna de Chelem, Yucatán.

### **6.2 Objetivos particulares.**

- Reconocer y describir las principales respuestas conductuales de los juveniles de *H. erectus* ante el incremento o disminución de la temperatura, e identificar las temperaturas críticas en organismos aclimatados a 18°C y 30°C.
- Corroborar los límites de la zona de tolerancia térmica de *H. erectus* aclimatados a 18°C y 30°C a partir de la evaluación comparativa de su crecimiento.

## VII. Material y métodos.

### 7.1 Origen de reproductores y organismos experimentales.

Se utilizaron juveniles de *Hippocampus erectus* provenientes del Programa de Investigaciones en Ecología y Cultivos de Especies Marinas de Ornato, obtenidos en el Área Experimental de Ecología y Conducta de la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación, de la Facultad de Ciencias de la UNAM en Sisal, Yucatán. Los organismos experimentales fueron obtenidos directamente de lotes cultivados a partir de nacimientos de *H. erectus* machos traídos del medio natural preñados. Los reproductores fueron capturados en la laguna de Chelem-Progreso la cual está localizada 21°17'N y 89°40'W en el estado de Yucatán.

En el área experimental, los reproductores fueron mantenidos en un sistema de recirculación, el cual consta de 6 acuarios con un volumen de 100 litros c/u (50 cm de largo x 28 cm de ancho x 71 cm de alto). Los 6 acuarios estuvieron conectados a un reservorio general con un volumen de 145 L (71 cm de largo x 51 cm de ancho x 40 cm de alto). Con el fin de mantener la calidad de agua, el reservorio contó con un filtro mecánico en la salida del agua (filtro de bolsa de monofilamento de nylon, que retenía los excedentes de alimento), un filtro biológico, el cual estaba constituido de arena, fragmentos de piedras de coral y/o fragmentos de roca viva artificial. Este tipo de filtro se empleó para mantener un biofilm de bacterias (*Nitrobacter sp.* y *Nitrosomonas sp.*) que ayudaron a eliminar los compuestos nitrogenados del sistema. El sistema contó además con un fraccionador de proteínas para eliminar los compuestos orgánicos presentes (Figura 3).



**Figura 3. Sistema de mantenimiento de reproductores de *H. erectus*.**

Los reproductores de *H. erectus* que llegaron a las instalaciones se mantuvieron en los acuarios con un fotoperiodo de 12 :12 hrs luz: obscuridad con una temperatura promedio de  $27 \pm 1^\circ \text{C}$  y salinidad de  $35 \pm 1$  ups. La alimentación de los reproductores consistió principalmente de *Artemia franciscana* traída de medio natural enriquecida, complementada con anfipodos de agua dulce o marinos. La ración alimenticia diaria se calculó a partir del 10 % del peso promedio de los organismos experimentales.

Los nauplios y metanauplios de *Artemia spp* empleados para alimentar, fueron obtenidos a partir de la hidratación de los quistes durante una hora, para posteriormente ponerlos a eclosionar por las siguientes 24 horas. 48 horas tras la eclosión, los organismos se encuentran en la fase de Metanauplio. En este momento son enriquecidos empleando para ellos una emulsión comercial de ácidos grasos (DHA Super Selco de INVE). Los metanauplios se enriquecieron

con una solución diluida del enriquecedor (0.6 gr/L). Se utilizaron 4 mL de esta solución por cada 300,000 metanauplios. De esta forma, la *artemia* era enriquecida durante 2 horas. Transcurrido este tiempo, se cosechaba, se enjuagaba con agua de mar limpia y se daba como alimento a los organismos experimentales.

Los caballitos nacidos que fueron empleados en las determinaciones de estrés térmico, se obtuvieron en los meses de enero y febrero. Estas crías se mantuvieron con un fotoperiodo de 12 horas luz, 12 horas oscuridad con una temperatura promedio de  $26.06 \pm 1^\circ$  y salinidad de  $32.66 \pm 1$  ppm durante un lapso de 3 meses (enero, febrero y marzo, 2010).

El esquema de alimentación de las crías consistió en nauplios y metanauplios enriquecidos de *Artemia spp*, durante los primeros meses de crecimiento; Una vez que los organismos alcanzaron los 3 meses de edad, se cambió la dieta, proporcionándoles *Artemia* adulta enriquecida de la misma forma como se describió anteriormente. La dieta está basada en el esquema de alimentación propuesto por Gomes (2009) (Anexo 1).

Los restos de alimento y materia fecal se extraían diariamente o cada dos días, según la necesidad, esto se hacía mediante un sifón plástico pequeño. Cada tercer día se llevó a cabo recambio de agua de un 25% para minimizar los contenidos de amonio y por otros desechos nitrogenados.

## **7.2 Crecimiento.**

El peso húmedo en gramos de los juveniles de *H. erectus* fue registrado en el momento en que los juveniles entraron en el periodo de aclimatación, es decir 30 días antes de las pruebas de estrés térmico y a partir de ahí se llevó a cabo la biometría de todos los organismos experimentales cada 15 días. Se registró el peso los días 0, 15, 30, 45 y 60 (tablas 1 y 2). Los juveniles fueron pesados con una balanza analítica digital (Adventurer-OHAUS. Pro, con una sensibilidad de 0.1 mg y con una precisión de  $\pm 2$  mg).

### 7.3 Determinación de la conducta de juveniles de *H. erectus* ante el estrés térmico y establecimiento de las temperatura crítica máxima y mínima.

#### 7.3.1 Dispositivos experimentales.

El sistema que se empleó para determinar la respuesta de los juveniles de *H. erectus* ante el incremento de temperatura consistió en un acuario de 38 litros de capacidad (50 cm de largo x 25 cm de ancho x 30 cm de alto) utilizado como baño termostático. Este baño se acondicionó como sistema de recirculación conectándolo a un termostato Isotemp Refrigerated Circulator Modelo 900 (Fisher Scientific), el cual se calibró para mantener la temperatura de aclimatación a 30°C.

Dentro de este baño se colocó un calentador de titanio de 1000 watts, una bomba de agua de 260 L/h para mantener un flujo constante y que permitió mantener homogénea la temperatura en todo el acuario. Se emplearon 3 cámaras experimentales de vidrio de forma cilíndrica (213 ml cada una). A cada cámara se le colocó un termómetro, para registrar la temperatura de forma independiente así como una manguera de aireación que permitió asegurar las condiciones de mezcla de agua dentro de las cámaras (Figura 4).

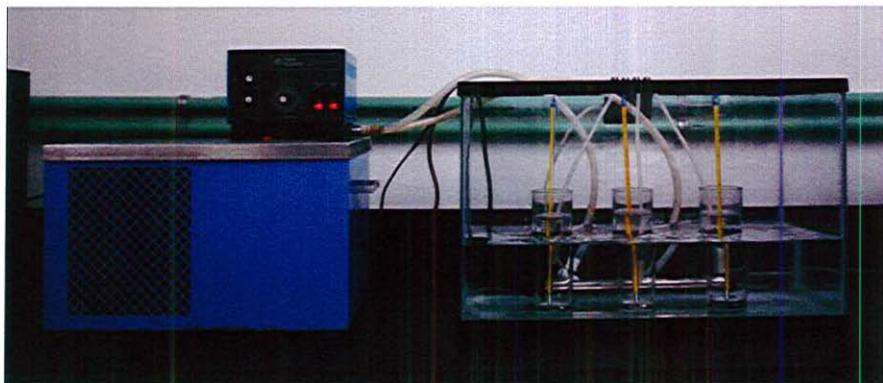
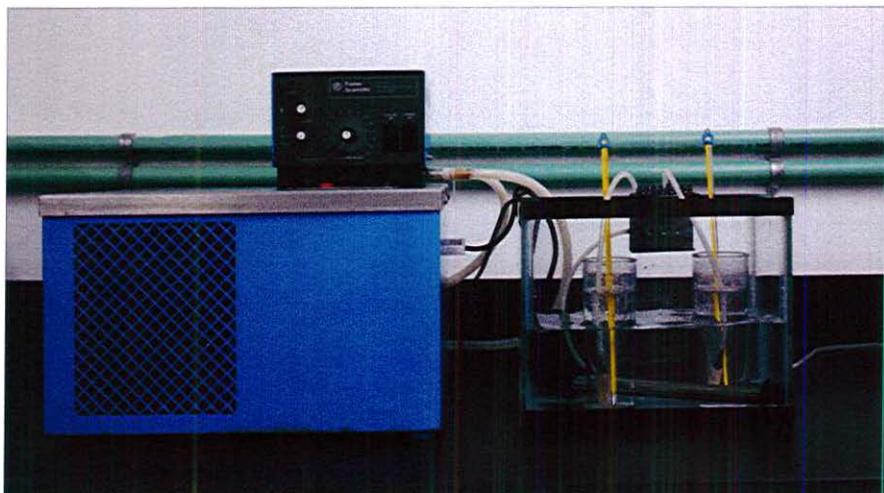


Figura 4. Dispositivo experimental empleado para el incremento de la temperatura.

Cabe hacer mención que en el caso de las determinaciones ante el incremento de la temperatura, el calentador se encendió una vez que los organismos se encontraban dentro de las cámaras experimentales, y a su vez estas dentro del baño termostático. Esto permitió asegurar la tasa de incremento requerida ( $1^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ).

Para las pruebas de identificación de la conducta de los organismos experimentales ante el decremento de la temperatura se empleó un dispositivo similar al descrito antes con las siguientes modificaciones: como baño termostático se utilizó un acuario más pequeño, con una capacidad de 12.3 litros (28.5 cm de largo x 18.5 cm de ancho x 23.5 cm de alto), al mismo tiempo que se emplearon cámaras de mayor capacidad (264 ml) que las empleadas anteriormente. Asimismo, la temperatura del baño se redujo (hasta  $2^{\circ}\text{C}$ ) con anterioridad: una vez que se alcanzaba esta temperatura los organismos se colocaban dentro de la cámara e iniciaba la prueba. Estas modificaciones permitieron descenso de la temperatura en las cámaras de vidrio de forma constante a  $1^{\circ}\text{C min}^{-1}$  (Figura 5).



**Figura 5.** Dispositivo empleado para el descenso de la temperatura.

### 7.3.2 Determinación de la Conducta.

Para la determinación de la respuesta conductual de los juveniles de caballitos de mar ante el incremento y decremento de la temperatura se utilizaron organismos con un peso promedio de  $0.3405 \pm 0.133$  g. Estas pruebas partieron de dos grupos de 24 organismos cada uno aclimatados a  $30^{\circ}\text{C}$  y  $18^{\circ}\text{C}$  (12 organismos para cada temperatura, 6 organismos para el incremento, 6 para el decremento térmico). Estas respuestas fueron registradas mediante observaciones directas y descritas en una bitácora. Con el fin de distinguir y describir con mayor precisión las conductas, las respuestas de los organismos fueron además filmadas con una videocámara digital (Canon VIXIA-HG21). Para estas pruebas se tomaron en cuenta y se registraron los cambios de comportamiento que presentaron los organismos en cuanto a:

- a) Orientación: posición de cabeza y/o cuerpo: hacia arriba o hacia abajo
- b) Posición en la columna de agua: si el organismo se mantenía suelto y nadando o sujeto con la cola de alguna estructura (termómetro o manguera de aireación).
- c) Natación: normal, agitada, errática, pérdida de coordinación al nadar.
- d) Respiración: normal, agitada, lenta.
- e) Cualquier otro signo de estrés evidente y pronunciado: convulsiones, letargo, enroscamiento del cuerpo o de la cola, agitación rápida de aletas dorsales y/o ventrales).
- f) Muerte: Cese de cualquier movimiento corporal (rigidez) y de la respiración.

A partir del registro de estas conductas, así como la temperatura a la cual se presentaban, se establecieron las temperaturas críticas máximas y mínimas. El criterio empleado para esto es el definido por Hutchison (1961) la Temperatura Crítica (TC) como la media aritmética de los puntos termales a los cuales la actividad locomotora de un animal se vuelve desorganizada. Asimismo, se registró la temperatura máxima y mínima de muerte en los organismos aclimatados a  $18^{\circ}\text{C}$  y  $30^{\circ}\text{C}$ .

#### **7.4 Prueba de sobrevivencia.**

Para establecer si la TCM<sub>ax</sub> o la TCM<sub>in</sub> afectaron la sobrevivencia de los organismos se llevó a cabo una prueba adicional en la que se determinó la sobrevivencia de los juveniles de *H. erectus* tras haber sido sometidos al incremento o decremento de la temperatura hasta alcanzar las temperaturas críticas respectivas. Estas pruebas se llevaron a cabo con 12 organismos distintos a los empleados en la prueba anteriormente descrita. Se utilizaron 6 peces para cada temperatura de aclimatación los cuales fueron sometidos a un incremento de la temperatura hasta alcanzar la TCM<sub>ax</sub> (n = 3) o TCM<sub>in</sub> (n = 3). Una vez que esta temperatura fue alcanzada los animales fueron inmediatamente retirados del dispositivo experimental y devuelto a su temperatura de aclimatación. La sobrevivencia se calculó a partir del registro del número de individuos sobrevivientes 96 horas después de haberlos sometido a estas condiciones experimentales.

#### **7.5 Evaluación del crecimiento de juveniles de *H. erectus* aclimatados a 18 °C y 30 °C. Pruebas de estrés térmico.**

##### **7.5.1 Distribución aleatoria de los organismos experimentales.**

Los organismos experimentales empleados en el presente estudio provenían de 3 camadas nacidas a partir de 3 reproductores distintos, lo cual permitió garantizar una buena representación de la variabilidad genética de los organismos experimentales. Doscientos juveniles se dividieron de forma aleatoria en 20 peceras de 11.5 L cada una (28 cm de largo x 17.5 cm de ancho x 23.5 cm de alto). Diez de estas peceras correspondieron al sistema A, en tanto que las otras 10 peceras correspondieron al sistema B. Cabe resaltar que la distribución aleatoria de los organismos experimentales en ambos sistemas, se llevo a cabo de forma inicial a la misma temperatura a la cual habian sido cultivados hasta ese momento (26°C).

### **7.5.2 Aleatorización de los tratamientos.**

Los tratamientos a los cuales fueron sometidos los organismos experimentales derivaron de la identificación de la Temperatura Crítica Máxima (**TCMax**), 3.3°C por arriba de la Temperatura Crítica Máxima (**>TCMax**), Temperatura Crítica Mínima (**TCMin**) y 7.7°C por debajo de la Temperatura Crítica Mínima (**<TCMin**). Dos peceras con 10 organismos cada una (n=20 por tratamiento) fueron seleccionadas aleatoriamente para cada uno de estos tratamientos. Se mantuvieron además 2 peceras (n=20) control para cada uno de los sistemas de aclimatación (30 y 18 °C; Figura. 6 y 7).

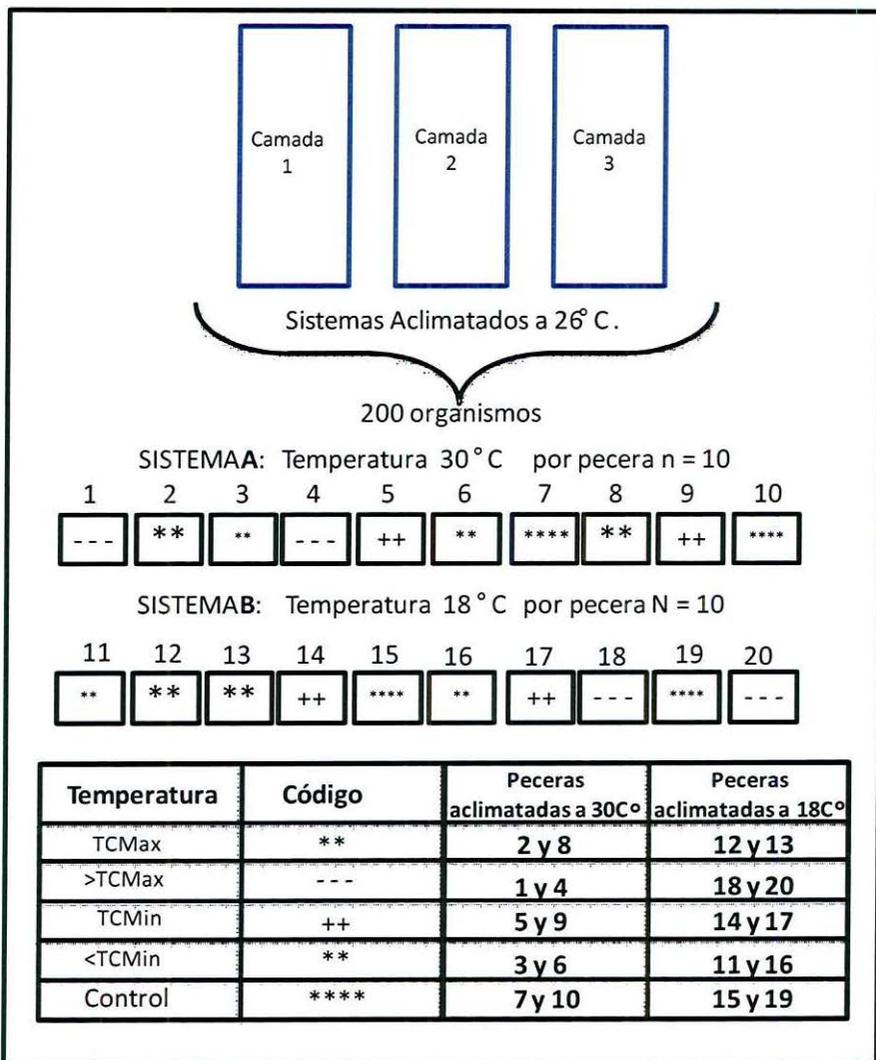
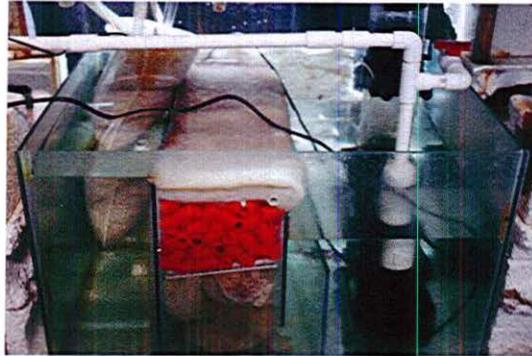


Figura 6. Distribución aleatoria de las crías de *H. erectus* y de los tratamientos en 2 sistemas de aclimatación (30°C y 18°C).



A)



B)



C)



D)

**Figura 7. Sistemas de cultivo de los organismos experimentales A) y B) 30°C; C) y D) 18°C.**

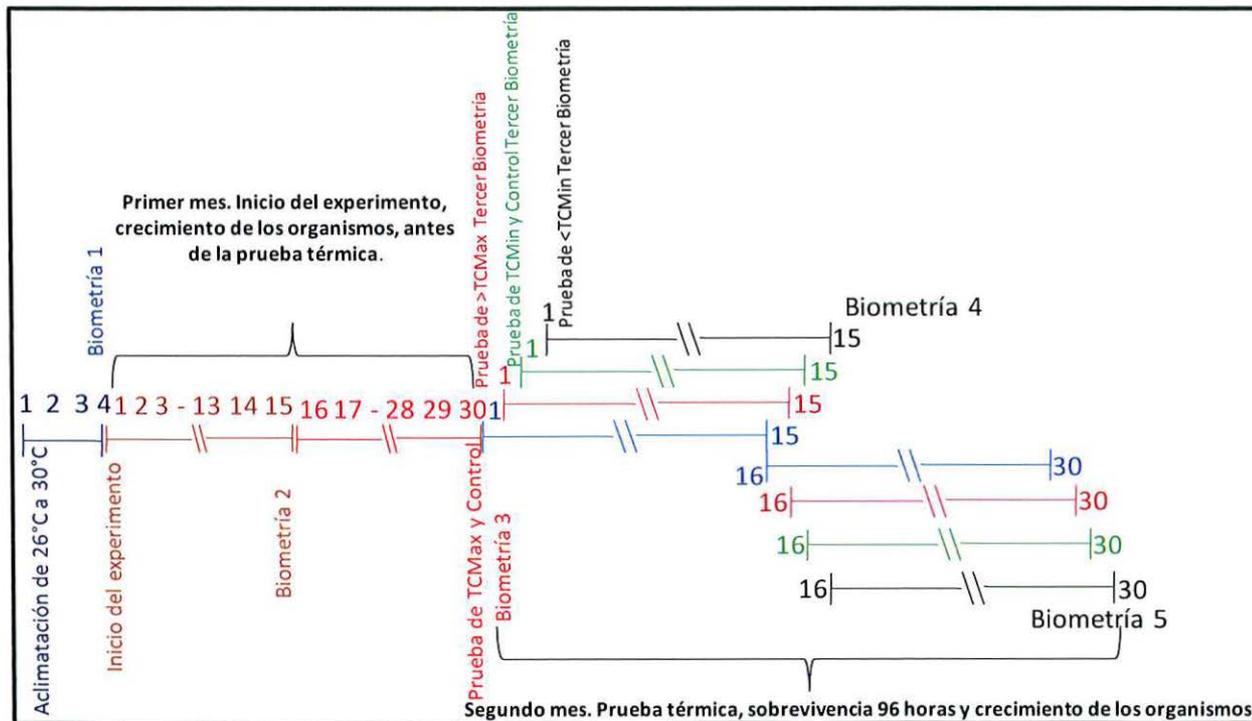
Durante todo el desarrollo del experimento los organismos permanecieron en estos sistemas bajo un ciclo de 12 h luz- 12h oscuridad, la temperatura fue monitoreada diariamente haciendo los ajustes necesarios para mantenerla constante. Los parámetros fisicoquímicos de salinidad, amonio, nitritos y nitratos del agua estos fueron monitoreados una vez por semana.

### **7.5.3 Diseño general del experimento.**

En las Tablas 1 y 2 se muestra el desarrollo del experimento desde el momento en el cual los organismos fueron colocados en los dos sistemas experimentales y a lo largo de los 60 días que duró el estudio. Se muestra el periodo de aclimatación, los días en los cuales se llevaron a cabo cada una de las biometrías antes y después de las pruebas de estrés térmico así como los días en las que estas se realizaron para cada uno de los tratamientos.

Tabla 1. Desarrollo del experimento para los organismos aclimatados a 30 °C. Se muestran los días de aclimatación, de crecimiento y de las pruebas de estrés térmico.

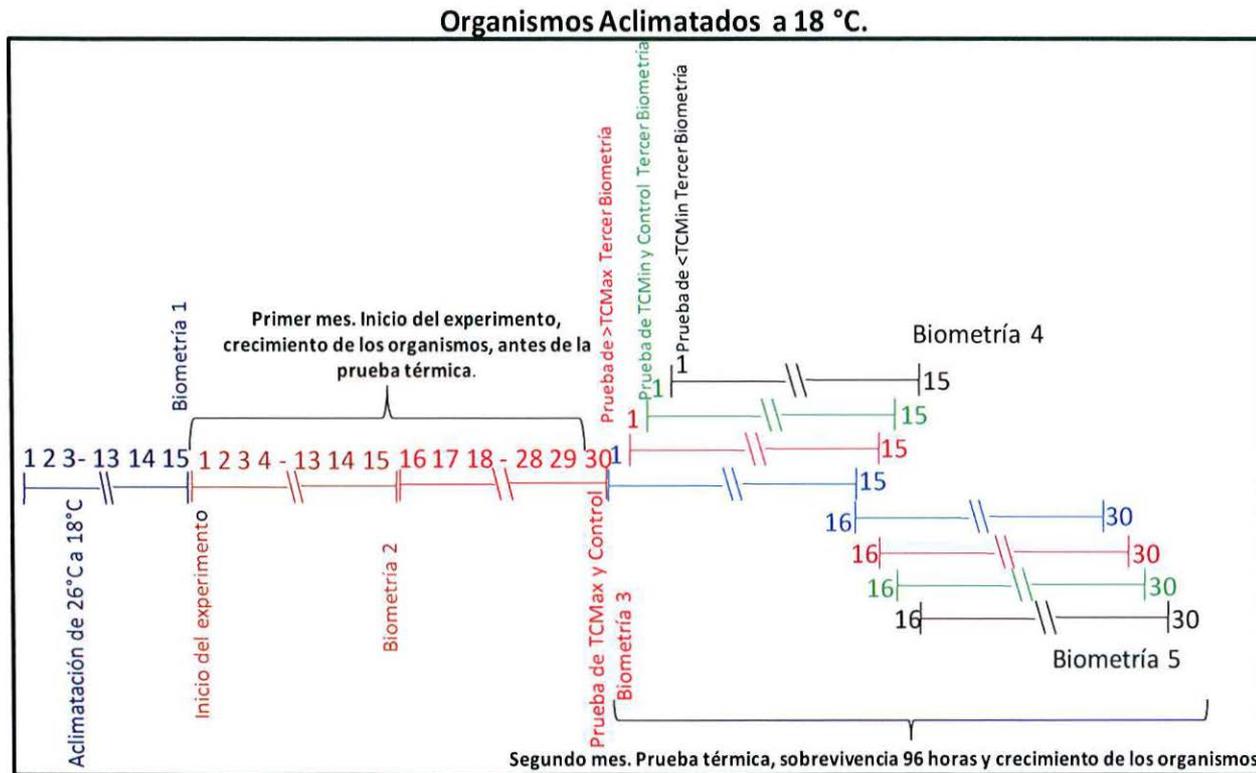
### Organismos Aclimatados a 30°C.



#### **7.5.4 Desarrollo del experimento en organismos aclimatados a 30°C**

La tabla 1 muestra después de un periodo de aclimatación de por lo menos 4 días, se registro la primera biometría del peso de los juveniles en la que fueron pesados con la balanza analítica digital, se asignaron aleatoriamente en su respectivo acuario. Se mantuvieron los juveniles en su temperatura de aclimatación durante 30 días, registrando su peso 2 veces en ese periodo (en los días 1 y 15). En el día 30 del experimento se procedió a las pruebas de estrés térmico agudos. Todos los organismos fueron pesados antes de las pruebas. Desfasando un día por prueba térmica. Durante el periodo de 30 días a las pruebas térmicas, el peso de los juveniles fue registrado en dos ocasiones, a los días 1 y 15 de iniciado el shock térmico. El procedimiento se repitió con cada uno de los 3 organismos de cada corrida experimental los cuales, después de esto fueron devueltos al sistema de aclimatación.

Tabla 2. Desarrollo del experimento para los organismos aclimatados a 18 °C. Se muestran los días de aclimatación, de crecimiento y de las pruebas de estrés térmico.



### **7.5.5 Desarrollo del experimento en organismos aclimatados a 18°C**

En la tabla 2 se muestra una diferencia de 15 días para llegar a la temperatura establecida y a partir de ese punto se procedió de la misma forma que lo descrito anteriormente.

Cabe hacer mención que los organismos control fueron sometidos al mismo estrés por manipulación, donde se llevaron a cabo las determinaciones de Temperatura Crítica para después ser regresados a los correspondientes sistemas de aclimatación sin haberlos sometido a ninguna prueba de estrés térmico. Este procedimiento se llevo a cabo transcurrido el mes de aclimatación, es decir, durante el mismo periodo de tiempo en que fueron llevadas a cabo las pruebas de estrés térmico a los organismos experimentales.

### **7.6 Aclimatación de los organismos experimentales.**

Una vez que los organismos fueron distribuidos en los dos sistemas experimentales en los cuales se mantuvo desde el inicio la misma temperatura de aclimatación (26 °C), el aumento o disminución de esta temperatura en cada sistema se llevó a cabo de la siguiente forma. En el sistema A se incremento la temperatura del cultivo a una tasa aproximada de un grado por día mediante un calentador de titanio de 500 watts colocado en el reservorio del sistema; el aumento de temperatura en este caso tomo un lapso de 4 días. El sistema B se le sometio a un decremento de temperatura, sin embargo, para alcanzar la temperatura requerida, fue necesario disminuir la temperatura a una tasa menor (aproximadamente de 2°C / día) esto se llevo a cabo mediante un sistema de enfriamiento, también conectado al reservorio del sistema; en este caso fueron 15 los días requeridos para alcanzar la temperatura establecida con anterioridad.

## 7.7 Pruebas de shock térmico en juveniles de *H. erectus*.

Una vez aclimatados a las temperaturas experimentales, los organismos permanecieron en esta condición durante un periodo de un mes. Transcurrido este tiempo, se llevaron a cabo las pruebas de estrés térmico. Cabe hacer mención que para estas determinaciones se emplearon los mismos dispositivos experimentales descritos en el subcapítulo 7.3.1. A continuación se describe la metodología empleada para llevarlas a cabo:

### **Incremento:**

- 1) El sistema se encendía durante 5 minutos previos a las determinaciones. La temperatura del agua en el mismo se calibraba a la misma temperatura de aclimatación de los organismos.
- 2) Los organismos fueron trasladados en grupos de 3 del sistema de aclimatación al lugar donde se encontraba el dispositivo.
- 3) El traslado se llevó a cabo en una hielera con la misma agua del sistema de cultivo y se mantenían ahí por un lapso de 5 minutos para minimizar el estrés por la manipulación.
- 4) Tres cámaras fueron colocadas dentro del baño cada una con un termómetro de mercurio y una manguera con piedra de aireación. Inmediatamente se colocaba un organismo por cámara.
- 5) Se encendía el calentador de 1000 watts.
- 6) Se observó cuidadosamente que la temperatura se incrementara a la tasa requerida ( $1^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ) haciéndose los ajustes pertinentes para asegurar este incremento.

En el momento en el que cada organismo manifestaba la conducta establecida y que correspondía a su tratamiento, se registraba el tiempo y este se sacaba del dispositivo con todo y la cámara. La cámara se colocaba dentro de la hielera

para permitir que el organismo regresara a la temperatura original paulatinamente.

- 7) Posteriormente los organismos fueron trasladados en la hielera hacia los sistemas de aclimatación para evaluar la sobrevivencia y el crecimiento durante un mes posterior a las determinaciones.

#### **Decremento:**

- 1) Para asegurar la temperatura requerida para estas pruebas, era necesario encender el sistema durante 20 minutos y colocar agua previamente enfriada a 12°C al termostato.
- 2) Posteriormente se calibraba la temperatura del termostato hasta los 2°C.

Los organismos eran trasladados en grupos de 3 del sistema de aclimatación al lugar donde se encontraba el dispositivo.

- 3) El traslado se llevó a cabo en una hielera con la misma agua del sistema de cultivo y se mantenían ahí por un lapso de 5 minutos para minimizar el estrés por la manipulación.
- 4) Tres cámaras fueron colocadas dentro del baño cada una con un termómetro de mercurio y una manguera con piedra de aireación. Inmediatamente se colocaba un organismo por cámara.
- 5) Se observó cuidadosamente que la temperatura disminuyera a la tasa requerida ( $1^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ) haciéndose los ajustes pertinentes para asegurar este decremento.
- 6) En el momento en el que cada organismo manifestaba la conducta establecida y que correspondía a su tratamiento, se registraba el tiempo e inmediatamente se sacaba del dispositivo con todo y la cámara. La cámara se colocaba dentro de la hielera para permitir que el organismo regresara a la temperatura original paulatinamente.

- 7) Posteriormente los organismos fueron trasladados en la hielera hacia los sistemas de aclimatación para evaluar la sobrevivencia y el crecimiento durante un mes posterior a las determinaciones.

### **7.8 Nomenclatura empleada para temperatura crítica máxima, mínima y letal.**

Las diferentes temperaturas críticas establecen términos haciendo referencia a la importancia de las conductas. A continuación se describe la definición de una de ellas:

- 1) *TCMax- Temperatura crítica máxima.* Representa el límite superior de la zona de tolerancia térmica.
- 2) *TCMin- Temperatura crítica mínima.* Representa el límite inferior de la zona de tolerancia térmica.
- 3) *>TCMax- Temperatura por arriba de la crítica máxima y que ya debería estar en la zona de resistencia térmica de la especie.* Representa un punto en la zona de resistencia térmica superior.
- 4) *<TCMin- Temperatura por abajo de la crítica mínima y que ya debería estar en la zona de resistencia térmica de la especie.* Representa un punto en la zona de resistencia térmica inferior.
- 5) *Temperatura letal máxima.* Representa la temperatura superior que conlleva a la muerte.
- 6) *Temperatura letal mínima.* Representa la temperatura inferior que conlleva a la muerte.

## 7.9 Análisis estadístico.

Previo al análisis se llevó a cabo una exploración gráfica de los datos mediante gráficas de dispersión de puntos (“*Cleveland dotplots*”) para identificar datos extremos; diagramas de caja y gráficos de cuantiles (“*Q-Q plots*”) para cerciorarse de distribuciones normales y explorar la posibilidad de heterogeneidad en las varianzas asociadas a los niveles de los distintos factores (temperaturas de aclimatación, tratamientos de estrés térmico, periodo, etc.).

Con la totalidad de los datos se ajustó un modelo de ANOVA factorial (Tabla 3) usando técnicas de regresión lineal con el factor aclimatación (**A** con 2 niveles: 18, 30 °C), factor periodo (**P** con 2 niveles: antes y después de las pruebas térmicas), factor día (**D** con 2 niveles: inicio y final del periodo), y tratamientos (**T** con 5 niveles: 1, 2, 3, 4 y control) y todas las interacciones (para fines de simplicidad e interpretación, éstas últimas no están detalladas):

**Tabla 3. Factores, su tipo y sus niveles incluidos en el modelo de ANOVA factorial utilizado para analizar los resultados de los experimentos sobre el efecto de la temperatura en el crecimiento de juveniles de *H. erectus*.**

Factor (términos principales)	Tipo	Niveles
A: temperatura de aclimatación	Fijo	18°C 30°C
P: periodo	Fijo	Antes de la prueba Después de la prueba
D: día	Fijo	Inicio del periodo Final del periodo
T: pruebas de estrés térmico	Fijo	TC Máxima >TC Máxima TC Mínima <TC Mínima Control
B: pecera	Aleatorio	A B

El modelo fue ajustado utilizando herramientas de modelación mixta (GLMM) como es el método de mínimos cuadrados generales (GLS mediante REML). Este método permite comparar modelos con distintas estructuras de varianza (Zuur *et al.*, 2009), y en este caso, permitió incluir el factor pecera (Tabla 3) como factor aleatorio en el modelo. La significancia del factor aleatorio fue evaluada mediante una prueba de hipótesis usando la razón de verosimilitud ("*L.ratio*"; Zuur *et al.*, 2009).

Para asegurar el cumplimiento de los requisitos de la regresión lineal (normalidad, homogeneidad de varianzas e independencia estadística), se llevó a cabo una inspección visual de los residuales (Montgomery y Peck, 1992; Draper y Smith, 1998), usando los siguientes gráficos: (i) residuales estandarizados *versus* los valores predichos por modelo; (ii) diagramas de caja de residuales estandarizados *versus* cada uno de los factores en el modelo, (iii) histograma de los residuales estandarizados; iv) la función de auto-correlación con los residuales estandarizados (Zuur *et al.*, 2007).

Mediante pruebas de hipótesis (usando *F*) se evaluó el nivel de significancia de los factores en el modelo de ANOVA así como las interacciones que resultaron relevantes para las hipótesis del trabajo. En particular se evaluó:

- i. El crecimiento de los organismos en lo general a través de el factor D (1) para evaluar el incremento en peso en lo general entre el inicio y final de cada periodo;
- ii. El efecto de la aclimatación a través de el factor A, tanto como término principal (2) para evaluar diferencias en peso entre individuos aclimatados a 18 y 30°C en lo general, como en su interacción con el factor D (3: A x D) y con el factor P (4: A x D x P) para establecer si estas diferencias podían adjudicarse a variaciones entre días en general ó si éstos cambios diferían entre periodos;
- iii. El efecto de las pruebas térmicas a través de el factor T tanto en su interacción con los factores D y P (5: D x P x T), para establecer diferencias entre tratamientos entre el inicio y el final de los diferentes periodos, como en la

cuádruple interacción (6: A x D x P x T) para establecer si estas diferencias variaban dependiendo de la aclimatación previa de los organismos.

Siguiendo el procedimiento de optimización del modelo de ANOVA (Zuur *et al.*, 2007), los términos que no resultaron significativos fueron eliminados.

### XIII. Resultados.

#### 8.1 Parámetros fisicoquímicos.

Los parámetros fisicoquímicos de salinidad, amonio, nitritos y nitratos del agua se mantuvieron constantes con variaciones mínimas (Tabla 4).

Tabla 4. Sistema de aclimatación a 30°C y 18°C

Sistema 30 grados.				Sistema 18 grados				
n	CV%	desvest	Media		Media	desvest	CV%	n
70	1.55	0.46	29.7	Temperatura	18.2	0.53	2.89	71
58	3.21	1.13	35.25	Salinidad %	33.66	1.35	4.01	36
9	0	0	0	Amonio(mg/l)	0.05	0.105	210.81	10
9	70.71	0.14	0.2	Nitritos (mg/l)	0.345	0.235	68.13	10
9	82.2	10.2	12.44	Nitratos (mg/l)	15	12.9	86.06	10
9	3.18	0.26	8.22	pH	8.24	0.33	4.05	10

#### 8.2 Tasas de incremento y decremento de temperatura.

A partir de las pruebas preliminares para estandarizar las tasas de incremento y decremento de la temperatura en los sistemas empleados y de los valores registrados en el momento en el cual se llevaron a cabo cada una de las pruebas se presentan las tasas registradas a partir de cada temperatura de aclimatación. En la tabla 5 se muestran las tasas de cambio (°C/min) de temperatura (ascenso y descenso) a las que fueron sometidos los organismos en las diferentes pruebas térmicas.

**Tabla 5. Tasas de medias de ascenso y descenso de la temperatura.**

Temperatura de Aclimatación	Media ± °C/Min	d.e	C.V %	N
30°C. Ascenso	2.47 ±	0.419	0.065	39
30°C. Descenso	0.689 ±	0.178	0.029	39
18°C. Ascenso	0.861 ±	0.038	0.140	38
18°C. Descenso	1.072 ±	0.204	0.033	39

### **8.3. Descripción de la conducta de juveniles de *H. erectus* ante el estrés térmico agudo para la determinación de las temperaturas críticas máximas y mínimas.**

#### **8.3.1 Incremento.**

Las respuestas conductuales de los juveniles de *Hippocampus erectus* aclimatados a 30 °C y 18°C ante las pruebas de estrés térmico TCM<sub>ax</sub> y >TCM<sub>ax</sub> se clasificaron de la siguiente manera: estable (**E**), estrés (**Es**), hociro abajo sin incorporarse (**HAI**), convulsiones (**C**) y muerte (**M**). La descripción de cada una de las conductas que manifestaron los organismos y que permitieron establecer cada una de estas fases se describen en la Tabla 6.

**Tabla 6. Descripción de las respuestas conductuales del estrés térmico en los juveniles de *H. erectus* aclimatados a 18°C y 30°C durante el incremento de la temperatura.**

Aclimatación 18° C		DESCRIPCIÓN	Aclimatación 30 °C	
Fase	T.°C promedio		T.°C promedio	Fase
Estable. (E)	18 °C	-Organismo quieto o con poca actividad en la columna de agua. -Agarrado o suelto de alguna estructura. -Nado erecto o eventualmente de cabeza (poco frecuente). -Se mantiene en el fondo tranquilo.	30 °C	Estable. (E)
Estrés. (Es)	25°C ± 0.9	-Nado más activo en la columna de agua. -Se agarra o se suelta con más frecuencia. -Estira y/o enrosca la cola. -Se mantiene de cabeza agarrado o suelto pudiendo volverse a incorporar.	32.7°C ± 0.8	Estrés. (Es)
Hocico abajo sin incorporarse. (HAI)	29°C ± 1.9	-Mantiene la cabeza y hocico hacia abajo de forma permanente. -Nado sin coordinación aparente en la columna de agua. -Respiración agitada. -Encorva o rige el cuerpo, cola enroscada o suelta.	33.7°C ± 0.8	Hocico abajo sin incorporarse. (HAI)
Convulsiones. (C)	33.1°C ± 1.4	-Espasmos o estremecimientos musculares en todo el cuerpo débil o fuerte. -Nada sin coordinación alguna en la columna de agua. -Respiración muy agitada (hiperventila). -Se agarra de cualquier estructura, erecto o de cabeza. Recostado en el fondo.	36.2°C ± 1.2	Convulsiones. (C)
Muerte. (M)	35.4°C ± 0.5	-Cese de la respiración. -Cuerpo totalmente rígido. -Cola totalmente enroscada. -Boca abierta.	38.7°C ± 0.5	Muerte. (M)

Las conductas manifestadas en cada una de las fases fueron similares para los dos grupos de organismos. En la fase estable (**E**) los juveniles mantenían poca actividad, mostrando un comportamiento de nado normal en la columna de agua o bien sujetándose de cualquier estructura que estuviese en la cámara sin agitación alguna aparente.

Conforme se incrementaba o disminuía la temperatura la actividad del nado era más frecuente en la columna del agua. Los organismos se sujetaban y se soltaban con más frecuencia de cualquier estructura y dependiendo del caso enroscaban y/o estiraban la cola; nadaban de cabeza o bien presentaron movimientos ondulatorios de su cola en la fase denominada estrés (**Es**).

Todos los organismos que estuvieron expuestos a las pruebas de incremento de la temperatura manifestaron la respuesta conductual **HAI** (hocico abajo sin incorporarse) la cual se identificó en el momento en que los organismos presentaban una pérdida total del equilibrio al mantener el hocico dirigido hacia abajo de forma permanente (sin poder volverse a incorporar), esta fase también se caracterizó por la pérdida de la coordinación en el nado y respiración agitada.

Las convulsiones (**C**) se identificaron como espasmos o estremecimientos musculares involuntarios en todo el cuerpo (débiles o fuertes), acompañados de una respiración muy agitada. Inmediatamente después los organismos caían sin fuerza aparente en el fondo de la cámara. Una vez que los organismos perdieron toda coordinación y sin la capacidad de incorporarse su cuerpo se mantenía rígido en el fondo con la cola siempre enroscada; al detenerse la respiración se presentaba la muerte (**M**).

### **8.3.2 Decremento.**

A partir de la prueba de decremento de temperatura en los juveniles de *H. erectus* aclimatados a 18 y 30 °C se identificaron las siguientes fases: estable (**E**), estrés (**Es**), descoordinación del nado sin incorporarse (**DNI**), agitación de aletas (**AA**) y letargo(**L**).

Tabla 7. Descripción de las respuestas conductuales del estrés térmico en los juveniles de *H. erectus* aclimatados 18°C y 30°C durante el descenso de la temperatura.

18° C		DESCRIPCIÓN.	30 °C	
Fase	T.°C PROMEDIO		T.°C PROMEDIO	FASE
Estable. (E)	18°C	-Organismo quieto o con poca actividad en la columna de agua. -Agarrado o suelto de alguna estructura. -Nado erecto o eventualmente de cabeza (poco frecuente). -Se mantiene en el fondo tranquilo.	30°C	Estable. (E)
Estrés. (Es)	14.6°C ± 0.8	-Aumenta la actividad de nado. -Nado erecto o de cabeza en la columna del agua se agarra y se suelta de cualquier estructura con más frecuencia. -Agitación breve de las aletas.	27.2°C ± 2.2	Estrés. (Es)
Descoordinación del nado sin incorporarse. (DNI)	10.4°C ± 1.3	-No incorpora el nado. Respiración muy lenta, no es muy notoria. -Cuerpo encorvado o recto. Giran cuerpo dirigiendo el hocico hacia arriba y se recuesta el organismo en el fondo. -Se mantiene muy quieto. Ligeros espasmos musculares. -Hiperventila a través de grandes exhalaciones.	23.8°C ± 1.2	Descoordinación del nado sin incorporarse. (DNI)
Agitación de Aletas. (AA).	7°C ± 0.7	-Agitación de aleta dorsal, lateral o ambas (desmesuradas, muy evidente, muy prolongado, pausado, errático, muy leve) o no se presentaba. -Sin nado o muy quieto. Respiración no muy evidente. -Recostado en el fondo con cola enroscada y cuerpo rígido o curvado.	11.9°C ± 2.1	Agitación de aletas. (AA)
Letargo. (L)	4.7°C ± 0.7	-No presenta ningún movimiento corporal y de respiración, se mantiene recostado en el fondo. Se mantiene letárgico. -No muere el organismo.	7.8°C ± 0.7	Letargo. (L)

En el caso de los organismos aclimatados a 18 y 30 °C los individuos que fueron sometidos a las pruebas de decremento de la temperatura, sus repuestas conductuales fueron similares en la primera fase caracterizada como estable (**E**) con respecto a las pruebas de incremento de la temperatura. Sin embargo, estas fueron distintas a partir de la conducta registrada como **Es** en la cual los organismos mostraron signos de estrés particulares, tales como, el nadar de cabeza y la agitación de las aletas. La conducta identificada como **DNI** (descoordinación del nado sin incorporarse) se vio caracterizada por la pérdida de equilibrio y sin tener la capacidad de mostrar alguna en la recuperación del nado normal, girando el cuerpo y dirigiendo el hocico hacia arriba y con una respiración muy lenta. (Tabla 7)

La fase identificada como **AA** dependiendo del grupo de organismos experimentales (30 o 18 °C) se manifestó con movimientos de las aletas laterales y/o dorsal, las cuales se presentaban en diferentes intensidades y tiempos (desmesurados, muy prolongados, pausados, muy leves, intermitentes) o en algunos casos no se presentaba.

Cabe hacer mención que en ambos grupos, los organismos entraron en una fase de letargo en la cual los organismos dejaban de moverse, se iban al fondo de las cámaras con el cuerpo encorvado y la cola totalmente enroscada, era difícil detectar movimiento de respiración (prácticamente no la presentaban). Los organismos se mantenían así por un lapso de 2 a 4 minutos. En el momento en el que los organismos eran devueltos a la temperatura de aclimatación y al cabo de algunos minutos volvían a recuperar el movimiento y poco a poco la respiración se restablecía volviendo a incorporarse. No se registro ninguna muerte en los organismos que se llevaron hasta temperaturas de  $4.7 \pm 0.7$  °C (organismos aclimatados a 18 °C) y  $7.8 \pm 0.7$  °C (aclimatados a 30 °C).

#### 8.4 Temperaturas críticas y letales en organismos aclimatados a 30°C y 18°C ante el incremento de la temperatura.

En la tabla 8 se presenta un resumen de las temperaturas a las cuales se establecieron la TCM<sub>ax</sub>, >TCM<sub>ax</sub> y Temperatura Letal en organismos sometidos al estrés térmico ascendente. Cabe hacer mención que la Temperatura Crítica Máxima (TCM<sub>ax</sub>) se identifica por ser el límite superior de la zona de tolerancia térmica en tanto que la >TCM<sub>ax</sub> representa la zona de resistencia térmica de la especie. La temperatura letal se encontró a 38.7°C±0.5 y a 35.4°C±0.5 por arriba de la >TCM<sub>ax</sub> en organismos aclimatados a 30 y 18 ° C respectivamente.

**Tabla 8. TCM<sub>ax</sub>, >TCM<sub>ax</sub>, Temperatura letal y Temperatura de letargo en los juveniles de *H. erectus* sometidos al shock térmico.**

	TCM <sub>ax</sub> (HAI)	>TCM <sub>ax</sub> (C)	TL	TCM <sub>in</sub> (DNI)	<TCM <sub>in</sub> (AA)	TLt
<b>Organismos aclimatados a 30°C</b>	33.7°C±0.8	36.2°C±1.2	38.7°C±0.5	23.8°C±1.2	11.9°C±2.1	7.8°C ±0.7
<b>Organismos aclimatados a 18 °C</b>	29 °C±1.9	33.1°C±1.4	35.4°C±0.5	10.40°C±1.3	7°C±0.7	4.7°C ±0.7

TL Temperatura letal; TLt Temperatura de letargo

#### 8.5 Temperaturas críticas y letales en organismos aclimatados a 30 y 18°C ante el descenso de la temperatura.

De la misma forma, en aquellos organismos sometidos al estrés térmico descendiente se establecieron la TCM<sub>in</sub> y la >TCM<sub>in</sub>; siendo en este caso la >TCM<sub>in</sub> aquella que se considera dentro de la zona de resistencia de la especie y la TCM<sub>in</sub> la que representa el límite superior de la zona de tolerancia térmica. Cabe hacer énfasis en que en ambos casos (juveniles aclimatados a 30 y 18 °C), al continuar el descenso de la temperatura, los organismos no murieron, sino que entraron en un estado de letargo mismo que se registró a 7.8°C ±0.7 por debajo

de la <TCMin en organismos aclimatados a 30 °C y 4.7°C ±0.7 por debajo de la <TCMin (18 °C) (Tabla 8). Esta conducta se caracterizó por que resistieron las bajas temperaturas en una fase de letargo por un lapso de entre 5 y 7 minutos, al cabo de los cuales eran devueltos a la temperatura de aclimatación, los organismos poco a poco recuperaban el movimiento, se normalizaba la respiración y no se registro mortalidad.

## **8.6. Sobrevivencia.**

### **8.6.1 Pruebas de sobrevivencia a las 96 horas.**

Se realizaron dos pruebas de sobrevivencia, la primera ya fue mencionada en el subcapítulo 7.4 con el fin de determinar la sobrevivencia de los organismos a las 96 horas, tras haber sido sometidos al shock térmico, haciendo énfasis que esta prueba no está relacionado con los organismos experimentales.

### **8.6.2. Durante el experimento.**

Durante la aclimatación inicial, es decir, durante el periodo de 30 días previos a las pruebas de estrés térmico, se registro la muerte de 3 organismos por cada temperatura de aclimatación.

Cabe hacer énfasis en que se presentó una sobrevivencia del 100% durante las 96 horas posteriores a las pruebas de estrés térmico en todos los tratamientos experimentales.

Posteriormente, durante el mes de crecimiento (30 días después de las pruebas de estrés térmico) no se registró ningún organismo muerto en aquellos organismos aclimatados a 18 °C y solo se presentó una mortalidad de 4% en aquellos organismos aclimatados a 30 °C (4 organismos muertos en total).

### **8.7. Crecimiento de juveniles de *H. erectus* ante las pruebas de estrés térmico.**

En la tabla 9 se muestran los resultados de las pruebas de  $F$  aplicadas para evaluar el efecto de los distintos términos en el modelo y sus interacciones en el peso de juveniles de *H. erectus* sometidos a las pruebas térmicas. A: factor aclimatación, P: factor periodo, D: factor día, y T: factor tratamientos. Los numerales **1-6** (en **negritas**) se refieren a los términos e interacciones más relevantes para los objetivos experimentales.

Tabla 9. ANOVA resultados de pruebas de F.

FUENTE	g.l	F	P
Alfa	1	6659.30	<.0001
<b>1: Factor Día (D)</b>	<b>1</b>	<b>28.56</b>	<b>&lt;.0001</b>
Factor Temperatura (T)	4	1.86	0.1156
<b>2: Factor Aclimatación (A)</b>	<b>1</b>	<b>792.81</b>	<b>&lt;.0001</b>
Factor Periodo (P)	1	206.04	<.0001
D x T	4	0.15	0.9633
<b>3: A x D</b>	<b>1</b>	<b>7.38</b>	<b>0.0068</b>
A x T	4	1.20	0.3080
D x P	1	0.017	0.8960
P x T	4	0.24	0.9185
A x P	1	18.18	<.0001
A x D x T	4	0.154	0.9610
<b>4: A x D x P</b>	<b>1</b>	<b>0.27</b>	<b>0.6048</b>
<b>5: D x P x T</b>	<b>4</b>	<b>0.06</b>	<b>0.9941</b>
A x P x T	4	0.520	0.7214
<b>6: A x D x P x T</b>	<b>4</b>	<b>0.03</b>	<b>0.9985</b>
ERROR	741		

El efecto de haber sido colocado en peceras diferentes (considerado como efecto aleatorio en el modelo) no fue significativo ( $L.ratio = 3.60$ ;  $p = 0.99$ ), indicando que las diferencias en peso entre individuos colocados en peceras distintas fueron despreciables.

Una vez habiendo eliminado los términos no significativos, el modelo de ANOVA óptimo, es decir, aquel que mejor describió los cambios en peso húmedo (g) de *H. erectus* en los experimentos, fue el modelo que incluyó a los factores principales A, P y D y las interacciones AxP y AxD. Dicho modelo tuvo un valor de AIC = 89.68 y una varianza de los residuales  $\sigma^2 = 0.22$  con 775 grados de libertad.

Los valores estimados correspondientes a las medias que resultaron significativas en el modelo de ANOVA fueron calculados con base en el intercepto ( $\alpha$ ) y los coeficientes parciales de regresión ( $\beta$ ) del modelo mixto ajustado (Tabla 10).

Tabla 10. Valores estimados de  $\alpha$  y de los coeficientes parciales de regresión  $\beta_i$ ,  $\beta_j$ ,  $\beta_k$ ,  $\beta_{ij}$  y  $\beta_{ik}$  ( $\pm$  error estándar) correspondientes a los términos A (factor aclimatación), P (factor periodo), D (factor día), interacción A x P, e interacción A x D, respectivamente en el modelo óptimo de regresión lineal.

	Coeficiente
A	0.834 $\pm$ 0.024
Factor A, $\beta_i$	
<i>i</i> = 1: 18oC	0
<i>i</i> = 2: 30 oC	-0.408 $\pm$ 0.029
Factor P, $\beta_j$	
<i>j</i> = 1: antes de la prueba	0
<i>j</i> = 2: después de la prueba	0.367 $\pm$ 0.032
Factor D, $\beta_k$	
<i>k</i> = 1: inicio del periodo	0
<i>k</i> = 2: final del periodo	0.160 $\pm$ 0.031
Interacción A x P, $\beta_{ij}$	
<i>i</i> = 1, <i>j</i> = 1	0
<i>i</i> = 1, <i>j</i> = 2	0
<i>i</i> = 2, <i>j</i> = 1	0
<i>i</i> = 2, <i>j</i> = 2	-0.165 $\pm$ 0.038
Interacción A x D, $\beta_{ik}$	
<i>i</i> = 1, <i>k</i> = 1	0
<i>i</i> = 1, <i>k</i> = 2	0
<i>i</i> = 2, <i>k</i> = 1	0
<i>i</i> = 2, <i>k</i> = 2	-0.099 $\pm$ 0.036

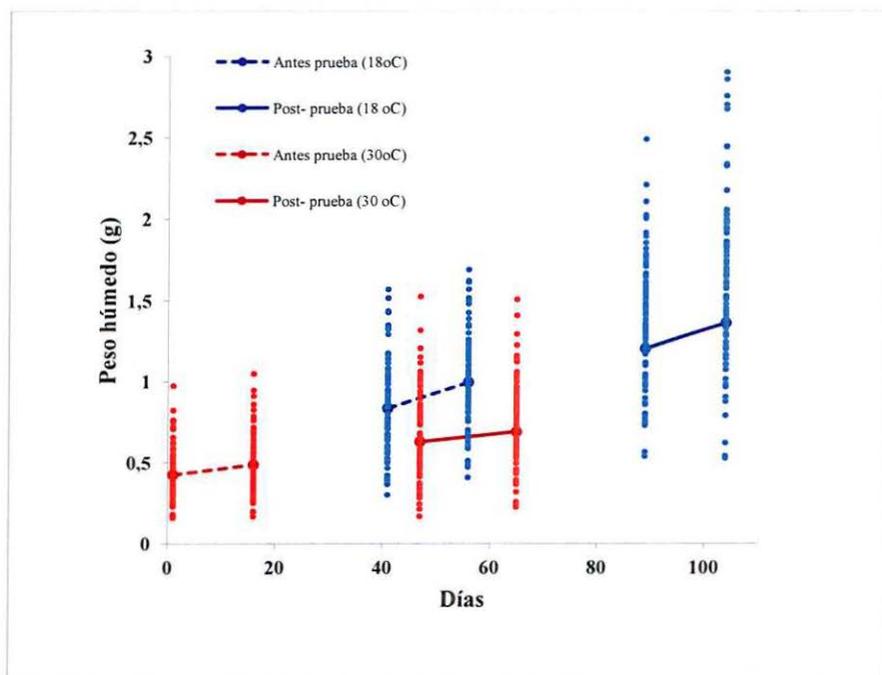
El experimento de los juveniles aclimatados a 18°C comenzó después de que comenzara el de los juveniles aclimatados a 30°C, por lo cual, los primeros tuvieron pesos significativamente mayores que aquellos aclimatados a 30°C, (0.8440 grs.  $\pm$  0.2667 y 0.4292 grs.  $\pm$  0.1577, respectivamente). Desde el inicio de cada uno de los experimentos y a lo largo de los mismos esto se vio reflejado en el valor significativo del factor A (2:  $F = 729.81$ ;  $p < 0.001$ ) y en su interacción con P (A x P:  $F = 18.18$ ;  $p < 0.001$ ) (Tabla 9).

Todos los juveniles en conjunto presentaron un crecimiento significativo a lo largo de los 105 días que duraron los dos experimentos (1:  $F = 28.56$ ;  $p < 0.001$ ; Tabla 9). Los organismos aclimatados a 18°C incrementaron su peso desde 0.8440  $\pm$

0.2667 hasta  $1.6428 \pm 0.4868$ , en tanto que aquéllos aclimatados a  $30^{\circ}\text{C}$  lo hicieron desde  $0.4292 \pm 0.1577$  hasta  $0.7521 \pm 0.2627$ .

Los juveniles aclimatados a  $18^{\circ}\text{C}$  presentaron tasas de crecimiento en peso (húmedo, g) mayores que aquellos aclimatados a  $30^{\circ}\text{C}$  (3:  $F = 7.38$ ;  $p < 0.01$ ). En la figura 8 se observa como estas diferencias se mantuvieron constantes antes y después de las pruebas de estrés térmico agudo (4:  $F = 0.27$ ;  $p = 0.61$ ), indicando que en ninguno de los dos casos dicha exposición modificaron las tasas de crecimiento de los individuos.

**Figura 8. Tasas de crecimiento de los juveniles de *H. erectus* aclimatados a 18 y  $30^{\circ}\text{C}$  antes y después de las pruebas de estrés térmico.**



El efecto de las pruebas de estrés térmico no fue significativo en ningún caso (ninguna de las fuentes donde aparece el término T fue significativo). El peso de los individuos sujetos a los distintos tratamientos térmicos y el control fueron similares entre sí ( $F = 1.86$ ;  $p = 0.12$ ) y esta similitud se mantuvo constante a lo largo de los días en todos los periodos (5:  $F = 0.06$ ;  $p = 0.99$ ). Esta similitud tampoco fue afectada por la aclimatación previa de los organismos, ya que dichas semejanzas se mantuvieron constantes para los organismos aclimatados a 18 y a 30°C (6:  $F = 0.03$ ;  $p = 0.99$ ) (Tabla 9).

En la Figura. 9 se muestra la similitud del incremento en peso de los juveniles de *H. erectus* aclimatados a la temperatura de 30° C y que fueron sometidos a las pruebas de estrés térmico agudo (TCMax, >TCMax, TCMin y <TCMin) comparadas con el control.

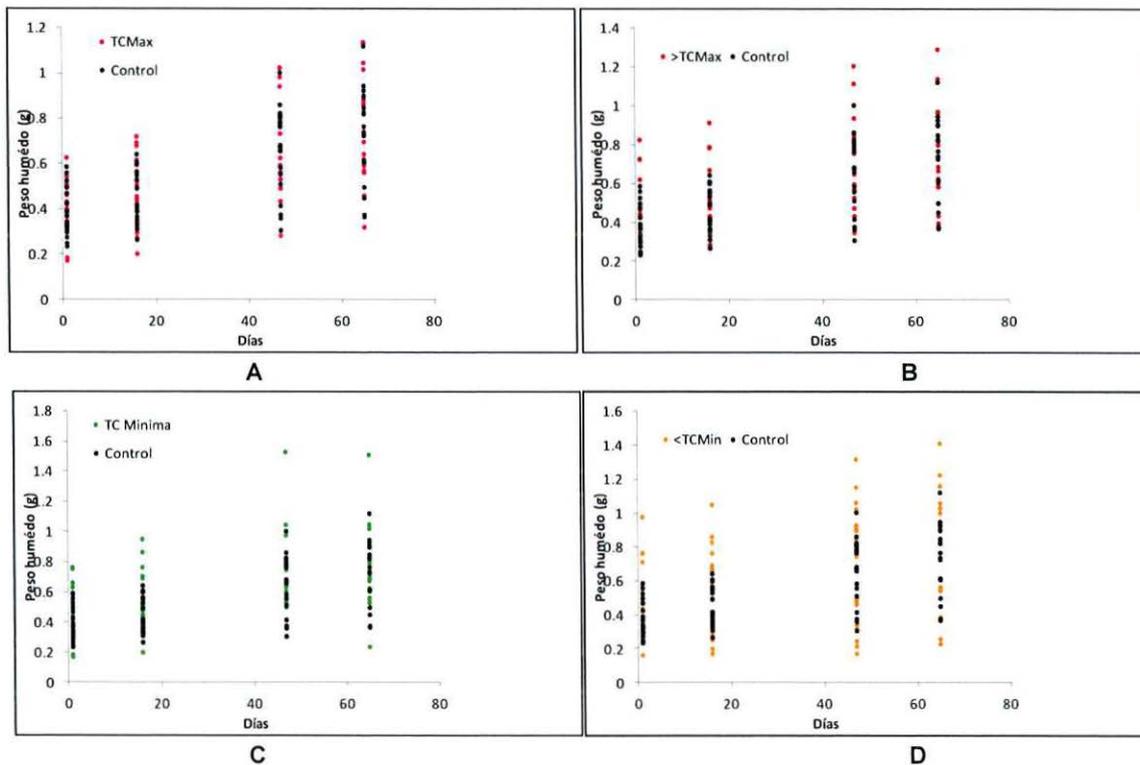


Figura. 9 Incremento en peso de los juveniles aclimatados a 30 °C antes y después de las pruebas de estrés térmico. a) TCMax; b) >TCMax; c) TCMin; d) <TCMin.

En el caso de los organismos aclimatados a 18°C se observa la misma similitud (Figura 10). El incremento en peso fue similar para los juveniles de *H. erectus* sometidos a cada una de las pruebas de estrés térmico agudo (TCMax, >TCMax, TCMIn y <TCMin) y el control. Cabe hacer mención que la aclimatación de los organismos aclimatados a 18°C inició 41 días después del inicio de la aclimatación de los organismos a 30° C. Por consiguiente, los experimentos tuvieron una duración total de 105 y 64 días.

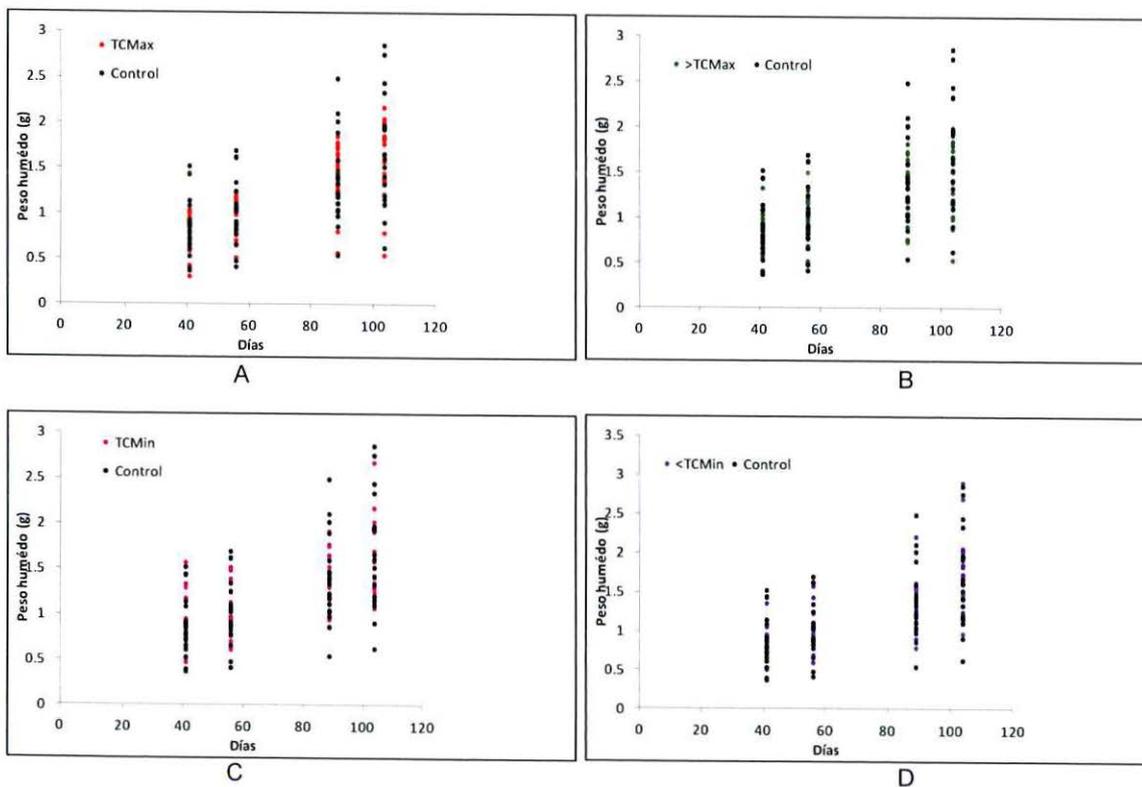


Figura 10. Incremento en peso de los juveniles aclimatados a 18°C antes y después de las pruebas de estrés térmico. a) TCMax; b) >TCMax; c) TCMin; d) <TCMin.

## IX. Discusión

En el presente estudio se observó que las temperaturas extremas que se presentan en el hábitat de los caballitos de mar en la Laguna de Chelem, Yucatán si afectan la tolerancia térmica de los peces, lo que permite rechazar la hipótesis planteada en este estudio. En particular la temperatura de aclimatación a 30°C reduce el intervalo de tolerancia térmica de los peces, en comparación con el obtenido de los animales aclimatados a 18°C. Los animales aclimatados a 30°C mostraron un intervalo de la zona de tolerancia (ZT) de 9.9°C ( $ZT = T_{CMax} - T_{CMin}$ ), mientras que los peces aclimatados a 18°C mostraron un valor de  $ZT = 19^\circ\text{C}$ , justo 10°C mayor que la observada en el otro tratamiento. Así mismo se observó que la temperatura afectó la tasa de crecimiento de los peces con valores menores en los aclimatados a 30°C en comparación con los aclimatados a 18°C, lo que sugiere que la temperatura de 30°C podría estar cercana al límite de tolerancia de la especie.

Para poder establecer esto fue necesario determinar primero las respuestas conductuales de los juveniles de caballitos de mar *Hippocampus erectus* nacidos en laboratorio al ser sometidos a pruebas de tolerancia térmica. Este estudio reporta por primera vez estas conductas en esta especie de pez.

### 9.1 Conducta.

Desde el punto de vista fisiológico, algunas de las conductas identificadas en *H. erectus* se podrían definir como las primeras líneas de sensibilidad térmica, principalmente aquellas que tienen que ver con la limitación del oxígeno cuando los organismos son sometidos a cambios rápidos de temperatura y temperaturas extremas. De acuerdo con Pörtner (2002), varias especies de invertebrados marinos y peces han mostrado que, al ser sometidos a un aumento y/o descenso progresivo de temperaturas experimentan una alteración en su ritmo respiratorio, la cual es inducida por el metabolismo aerobio mitocondrial.

En este sentido, durante la fase denominada como **HAI**, los juveniles de ambas temperaturas de aclimatación (18 y 30°C), sometidos al incremento de la temperatura manifestaron un aumento en la respiración asociada con la fase denominada **C**. Esto se observó a través de grandes exhalaciones en las que los organismos comenzaron a hiperventilar en la medida en la que se presentaban las convulsiones. Los organismos experimentales sometidos a un descenso de la temperatura, mostraron, durante las etapas de **DNI** y **AA** cambios en la respiración pasando por tres fases: i) Respiración muy lenta, ii) Respiración muy agitada, iii) y Respiración lenta al grado de volverse prácticamente imperceptible.

De acuerdo con Pörtner et al., (2000, 2002) los organismos sometidos a altas temperaturas en este tipo de pruebas de estrés térmico, presentan un desajuste entre la oferta y la demanda de oxígeno en los niveles de líquido del cuerpo, manifestando una pérdida crítica de energía en el tejido celular. A bajas temperaturas la presión parcial de oxígeno mantiene los fluidos corporales elevados para mantener una suficiente ventilación y circulación ya que la limitada capacidad mitocondrial produce energía en el frío, y es probable que contribuya a la pérdida de la función y el alcance, es decir, en la circulación y ventilación (Pörtner *et. al.*, 2000, 2002). La limitación en la disponibilidad de energía aeróbica puede ser la clave para entender la razón del aumento en la capacidad aeróbica mitocondrial que se produce durante la adaptación al frío. En condiciones normales de temperatura la presión parcial de oxígeno mantienen los fluidos corporales con suficiente ventilación y circulación para los tejidos (Pörtner *et. al.*, 2000, 2002). Esto explicaría las conductas observadas en el presente estudio.

Como ya se señaló, la temperatura afecta virtualmente todas las actividades bioquímicas y fisiológicas del organismo. Se ha determinado que el sistema nervioso central, posee gran sensibilidad a temperaturas altas o al incremento de la temperatura (Rajaguru, 2002). En estas condiciones los organismos presentan una desorganización de los movimientos locomotores y en la capacidad de mantenerse adheridos o sujetos al sustrato (cuando son organismos sésiles)

debido a un bloqueo neuromuscular y a un fallo pre-sináptico. De esta forma, la pérdida de la capacidad de volver a nadar en la posición normal (erectos) que se manifestó en los caballitos está asociada a una alteración en la integridad neural causada por el estrés térmico al que los organismos se vieron expuestos al incremento de la temperatura en tan corto periodo de tiempo. (Rajaguru, 2002). Se ha reconocido que cuando se presentan estas respuestas, los organismos pierden la capacidad de escapar a la condición de estrés lo cual, en determinadas circunstancias puede llevarlos a la muerte (Díaz, 2006).

## **9.2. Validación de la prueba de TCM a través de la medición de la sobrevivencia.**

La sobrevivencia de los peces sometidos a los cuatro tratamientos fue evaluada durante el periodo de 30 días previos a las pruebas de estrés térmico, durante las 96 horas subsiguientes a las pruebas y durante los 30 días posteriores. No hubo una mortalidad asociada a los tratamientos experimentales en ninguna de las temperaturas de aclimatación, antes, durante o después de las pruebas de incremento y decremento de la temperatura. Aunque los organismos control no fueron sometidos a las pruebas de estrés térmico, si fueron objeto de manipulación al ser llevados de los sistemas de aclimatación a los sistemas experimentales utilizando la misma metodología empleada con los organismos experimentales. Esto garantiza que la manipulación efectuada durante el estudio no tuvo un efecto adverso en la sobrevivencia de los animales experimentales.

Tomando en cuenta que no se observó mortalidad tanto durante las pruebas de estrés térmico agudo, como en las 96 hrs subsiguientes, se puede señalar que aún incrementos de temperatura de hasta  $36.2^{\circ}\text{C}\pm 1.2$  y  $33.1^{\circ}\text{C}\pm 1.4$  a razón de entre  $2.47\pm 0.149$  y  $0.861\pm 0.038^{\circ}\text{C}$  por minuto, no fueron suficientes para llevar a los organismos a la muerte. De manera similar, los decrementos de la temperatura de hasta  $11.9^{\circ}\text{C}\pm 2.1$  y  $7^{\circ}\text{C}\pm 0.7$  tampoco tuvieron efecto alguno en la sobrevivencia inmediata de los organismos. Dada la baja mortalidad en los 30 días

que sucedieron a las pruebas (4 de 194 organismos), se puede observar que la sobrevivencia no es un aspecto que se haya visto alterado como resultado de la exposición térmica aguda en ningún caso

En su conjunto estos resultados indican que los experimentos se condujeron dentro de los límites de la zona de tolerancia de la población, puesto que de otra forma, es decir, si se hubiesen llevado a cabo en la zona de resistencia, la sobrevivencia si se hubiese visto comprometida, ya que en esos casos siempre hay un cierto grado de mortalidad.

### **9.3. Validación de los valores de TCM a partir de la evaluación del crecimiento.**

Con respecto al crecimiento, los juveniles de *H. erectus* en general tuvieron un crecimiento significativo durante el experimento ( $F = 28.56$ ;  $p < 0.001$ ), confirmando que el periodo de tiempo dado fue suficiente para poder poner a prueba hipótesis sobre el crecimiento en peso húmedo. Asimismo, el hecho de que las tasas de crecimiento de los grupos aclimatados a 18 y 30°C fueron estadísticamente similares antes y después de las pruebas de TCM<sub>Max</sub> y TCM<sub>Min</sub> pone en evidencia que, efectivamente la desorganización motora y desorientación espacial registrada durante las pruebas fue solo momentánea, y que esta no presentó un efecto adverso en las funciones fisiológicas ni en el corto ni en el largo plazo. El hecho de que no hubiera diferencias entre las tasas de crecimiento antes y después de las pruebas a temperaturas por arriba y por debajo de aquellas identificadas como críticas ( $>TCM_{Max}$  y  $< TCM_{Min}$ ), sugiere que la exposición aguda a éstas temperaturas solo produce alteraciones conductuales reversibles.

Dado que, en el presente estudio se planteó que los organismos experimentales se encontrarían dentro de los límites de la zona de resistencia de la población, (los cuales están delimitados por las temperaturas letales), se esperaba que el efecto de la exposición térmica aguda no tuviese ningún efecto significativo en la sobrevivencia. Sin embargo en el caso del crecimiento si se esperaba registrar un efecto deletéreo en cuanto al crecimiento en aquellos organismos que se

sometieron a esta exposición aguda de temperatura (aquellos de los tratamientos  $>TC_{Max}$  y  $<TC_{Min}$ ), lo cual no sucedió, como ya se señaló, la tasa de crecimiento antes y después de las pruebas se mantuvo sin diferencias significativas.

Aun cuando los incrementos y decrementos de temperatura a la que se vieron sujetos los organismos experimentales no se asemejan a aquellos de las poblaciones naturales, es importante señalar que, debido a su condición estuarina, esta especie se enfrenta a variaciones térmicas pronunciadas en relativamente periodos cortos de tiempo. Los reproductores empleados provienen de Chelem, una laguna tropical de poca profundidad ( $87 \pm 1$  cm) en la cual se presenta una variación de temperatura considerable a lo largo del año. Esta laguna registra una temperatura mínima promedio de  $19.5 \pm 0$  °C en el mes de febrero y un promedio de  $30.2 \pm 0.5$  °C en el mes de julio en las áreas de la laguna en donde se ubica la población de *H. erectus* (Jiménez, 2012), a partir de la cual se obtuvieron los organismos que parieron las crías empleadas en el presente estudio.

Existen registros de variaciones diurnas del orden de los 3 y hasta los 7 °C al inicio de la temporada de secas en tanto que para la temporada de lluvias (junio a septiembre) la temperatura oscila entre 26 y 35°C a lo largo de los días (Mariño-Tapia 2011).

Sin embargo, efectos deletéreos se pueden presentar cuando estos organismos se ven expuestos a exposiciones prolongadas de condiciones térmicas extremas y constantes y como estas alteran la tasa de crecimiento en periodos de tiempo relativamente cortos. En el presente estudio, se evidenció un efecto negativo en la tasa de crecimiento en los organismos aclimatados a la temperatura de 30 °C en la que se mantuvieron durante un lapso de 60 días.

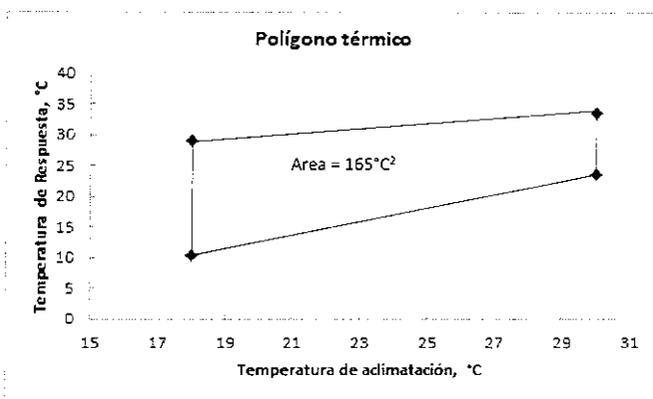
El conocimiento generalizado en estudios de la identificación los límites térmicos de una especie a través del establecimiento de las TC, señala que la historia termal reciente de un organismo lo puede ayudar a tolerar altas temperaturas

ampliando estos límites de tolerancia (lo que generalmente se lleva a cabo mediante la aclimatación previa); sin embargo en un punto determinado, esta capacidad es excedida cuando la exposición a temperaturas no letales, pero cercanas a los límites de tolerancia máximos es prolongada (Bevelhimer, 2000). De esta forma, los organismos experimentan una demanda metabólica alta que a su vez produce efectos sub-letales tales como una disminución del crecimiento y la presencia de enfermedades (Carvetha, 2007).

Por otro lado, la abundancia de *H. erectus* en la laguna de Chelem no varía de manera importante con las épocas del año, sin embargo, el número de machos preñados se incrementa durante los nortes (noviembre-febrero), cuando la temperatura alcanza los valores más bajos (Jimenez, 2012). Esto podría ser un indicador de que la reproducción podría verse afectada en primera instancia por la exposición a altas temperaturas, y que éstas delimitan fácilmente la zona de desempeño óptimo de la población, donde los individuos sobreviven, crecen y se reproducen en sus valores máximos. Los resultados del presente trabajo aportan evidencias que fortalecen el carácter euritérmico de las poblaciones de *H. erectus*, y ayudan a explicar su distribución estuarino-marina a todo lo largo de la costa occidental del Atlántico.

#### 9.4 Tolerancia térmica.

La determinación de la zona de tolerancia a la temperatura de una especie es posible conocerla a través de la evaluación de las temperaturas críticas máxima y mínima. En el presente estudio se han validado los valores de TCMax y TCMIn siguiendo los protocolos previamente establecidos (Hutchinson, 1961; Becker y Genoway, 1979; Luttershmidt y Hutchison, 1997a 1997b; Paladino, 1980; Mora y Maya, 2006). Una forma de conocer la ventana térmica de una especie es calculando el polígono que se forma al multiplicar el intervalo entre las temperaturas de aclimatación y el intervalo entre la TCMax y TCMIn (Bennett y Beitinger 1997). Con los resultados obtenidos en el presente estudio es posible construir un primer polígono que pueda servir de referencia y forma de comparación con la tolerancia térmica observada en otras especies (Figura 11). En un estudio reciente (Eme y Bennett, 2009) se obtuvieron los polígonos de tolerancia térmica de cinco especies de peces marinos tropicales con hábitats distintos: dos especies asociados a arrecifes (*Dascyllus aruanus*, *Apogon novemfasciatus*), dos especies residentes en pozas de mareas (*Bathygobius fuscus*, *Bathygobius sp*) y una especie de transición entre éstas y las zonas de arrecifes (*Liza vaigiensis*). En ese estudio se obtuvieron valores de los polígonos de las diferentes especies acorde con las zonas de distribución con los valores más altos para aquellas naturalmente expuestas a mayores variaciones de la temperatura (las que habitan las pozas de mareas) y menores a las que habitan en zonas de arrecife (Tabla 11).



**Figura 11. Polígono térmico de *H. erectus*.**

**Tabla 11. Polígonos térmicos de *H. erectus* y otras especies de peces tropicales que habitan diferentes tipos de ecosistemas.**

Especie	Hábitat	Polígono térmico (°C)	Referencia
<i>Etropius suratensis</i>	Estuario	512	Rajaguru, 2001
<i>Therapon jarbua</i>	Estuario	629	Rajaguru, 2001
<i>Ambassis commersoni</i>	Estuario	442	Rajaguru, 2001
<i>Dascyllus aruanus</i>	Arrecife	442.7	Emet y Bennet, 2009
<i>Apogon novemfasciatus</i>	Arrecife	408.4	Emet y Bennet, 2009
<i>Bathygobius fuscus</i>	Pozas de marea	829.1	Emet y Bennet, 2009
<i>Bathygobius sp</i>	Pozas de marea	638.8	Emet y Bennet, 2009
<i>Liza vaigiensis</i>	Transición	823.1	Emet y Bennet, 2009
<i>Hippocampus erectus</i>	Laguna de Chelem	165	Emet y Bennet, 2009

Al hacer una comparación es evidente que *H. erectus* resultó ser una especie mucho más sensible que las estudiadas por Rajaguru (2001) y Emet y Bennett (2009), muy probablemente debido a los efectos que produjo la temperatura de 30°C en la reducción de la tolerancia térmica. Los resultados obtenidos sugieren que los caballitos de mar de esta especie son sensibles a las temperaturas altas lo cual se vio reflejado, como ya se señaló anteriormente en la menor tasa de crecimiento presentada por los organismos que se mantuvieron en esta temperatura durante el desarrollo del estudio.

### **9.5 Temperatura letal y temperatura de letargo.**

En el presente estudio fue posible registrar la temperatura máxima letal de  $35.4 \pm 0.5$  °C y  $38.7 \pm 0.5$  °C para las temperaturas de aclimatación de 18 y 30 °C respectivamente, sin embargo, no fue posible determinar la temperatura mínima letal para *H. erectus* en el presente estudio, puesto que, como ya se señaló los organismos entraron en un estado de letargo en las temperaturas registradas de  $4.7 \pm 0.7$  °C y  $7.8 \pm 0.7$  °C (18 y 30°C respectivamente), en las cuales permanecieron por algunos minutos para posteriormente ser regresados a la temperatura de aclimatación original sin registrarse ninguna muerte posterior a las pruebas.

La distribución de esta especie en se extiende desde Nueva Escocia (Canadá) a través del Golfo de México y el Caribe hasta Argentina (Foster y Vincent, 2004), llevando una vida de hábitos característicamente estuarinos con fluctuaciones marcadas de temperatura y de salinidad a lo largo de distintas escalas temporales (días, meses y años). *H. erectus* se ha reportado como una especie resistente a fluctuaciones significativas de estas condiciones ambientales lo largo de las distintas temporadas del año, desarrollando para ello estrategias fisiológicas y conductuales. Teixeira *et. al* (2001) señala que en el invierno, cuando la temperatura de la Bahía de Chesapeake disminuye a 10°C, los caballitos de mar nadan hacia las zonas más profundas fuera de la bahía y permanecen inmóviles con la cola prensil estirada sin exhibir algún movimiento respiratorio notorio, en lo

que pareciera ser la principal estrategia que exhibe esta especie para resistir la exposición prolongada a tan bajas temperaturas por periodos prolongados en esta región. En el presente trabajo se aporta nueva evidencia de la capacidad adaptativa y resistencia de la especie al presentar tan pronta recuperación tras las pruebas de estrés térmico y la ausencia de muerte cuando los organismos fueron sometidos al decremento de la temperatura.

Cabe resaltar que las temperaturas letales máximas tanto para los caballitos aclimatados a 18 °C como los que estaban a 30 °C fueron identificadas como sólo 2 grados por arriba de las >TCMax. Esto refleja un intervalo muy delgado separando la zona de tolerancia y la temperatura de muerte, es decir, una zona de resistencia fisiológica a variaciones en la temperatura muy estrecha para este grupo particular de peces.

Los factores del cambio climático global (CCG), con fenómenos como el Niño o la Niña, dan como resultado variaciones temporales y estacionales de la temperatura del agua, lo que resulta en la modificación de la distribución, los periodos reproductivos y hábitos de los organismos acuáticos, ya que cada organismo está fisiológicamente adaptado para vivir en intervalos estrechos de variaciones ambientales y estos cambios pueden ser estresantes o fatales para ellos (Roessing et al., 2004). Por esta razón, cada organismo ha desarrollado respuestas adaptativas a las variaciones en los factores ambientales de tal modo que les permitan desempeñarse de manera normal fuera de los límites óptimos de dichos factores (Fry, 1977; Reynolds y Casterlin 1979; Díaz et al., 2002; Barua y Heckathorn, 2004; Mora y Maya, 2006). Estudios fisiológicos como el llevado a cabo en este trabajo, ayudan a predecir los efectos del cambio climático en las especies que actualmente viven cerca de sus límites de tolerancia superiores, a conocer que sistemas fisiológicos establecen estos límites y como las distintas especies difieren en sus capacidades de aclimatación para modificar sus niveles de tolerancia térmica (Somero, 2009; Mora 2006);

Los datos obtenidos de los juveniles de *H. erectus* en el presente estudio aportan información valiosa sobre los límites de su tolerancia térmica, contribuyendo al conocimiento de las condiciones térmicas para el desarrollo y crecimiento óptimo, aunque se requiere información más detallada principalmente de la fisiología de la especie. Al analizar los resultados más notables de este trabajo se puede resaltar el hecho de que si bien, los organismos presentan claras señales de estrés ante el incremento o decremento de la temperatura en tan corto tiempo, poseen la habilidad de recuperarse también en un lapso de tiempo pequeño sin una afectación significativa en la sobrevivencia y el crecimiento. Habilidad que podría ser una ventaja ante los impactos del cambio climático actual.

Es importante resaltar la importancia de trabajos futuros en los cuales se aborde con más profundidad el cambio ontogenético del ancho de las ventanas de tolerancia térmica que *H. erectus* presente en las otras etapas de su desarrollo (crías, pre-adultos y reproductores), ya que el rango de su tolerancia térmica pudiera presentarse de una forma distinta a lo reportado en el presente estudio; esta información resulta importante para conocer la adaptación de la especie ante el inminente cambio climático global.

## X. CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio permitieron identificar por primera vez las respuestas conductuales ante el incremento y decremento gradual de la temperatura y a través de ellas establecer para fines prácticos del estudio dos temperaturas críticas (TCMax y TCMIn), dos temperaturas identificadas como agudas ( $>$ TCMax y  $<$ TCMin), la temperatura letal y la temperatura de letargo en juveniles de *H. erectus* aclimatados a dos temperaturas extremas (30 y 18°C).

Todos los organismos presentaron un crecimiento significativo a lo largo del periodo de estudio. Esto significa que, durante las pruebas de estrés térmico, la exposición a las temperaturas críticas y agudas solo causaron alteraciones momentáneas reversibles y no generaron un efecto adverso inmediato (no se registró mortalidad durante las primeras 96 horas) ni a mediano plazo (no se presentaron diferencias significativas en la tasa de crecimiento antes y después de las pruebas).

Sin embargo, se identificó que, cuando los organismos son expuestos a temperaturas extremas (30°C) por un determinado periodo de tiempo (60 días), tanto la zona de tolerancia (ZT) como la tasa de crecimiento se ven afectadas. El valor obtenido del polígono térmico para los organismos aclimatados a esta temperatura ratifica que los juveniles de esta especie son sensibles a la exposición prolongada a una temperatura que se encuentra cercana a su límite de tolerancia térmica (TCMax 33.7 °C).

Por otro lado, se encontró que los organismos presentan una amplia capacidad de resistir y de recuperarse tanto a la exposición aguda a bajas temperaturas (durante las pruebas de estrés térmico), entrando para ello en un estado de letargo sin presentarse mortalidad, como a una exposición prolongada (durante el periodo de estudio) sin que esto afecte negativamente la sobrevivencia y el crecimiento.

Los resultados obtenidos permiten fortalecer el conocimiento del carácter euritérmico de *H. erectus* que vive predominantemente en ambientes estuarinos, permitiendo además identificar los límites de tolerancia de esta especie que, al igual que muchas otras alrededor del mundo actualmente vive más cerca de sus límites de tolerancia superiores debido al cambio climático global.

Con el fin de ampliar la información al respecto del conocimiento de la adaptación de esta especie ante este inminente cambio climático, es importante ahondar investigaciones futuras en el estudio del cambio ontogenético del ancho de las ventanas de tolerancia térmica que *H. erectus* pueda llegar a presentar en sus diferentes etapas de desarrollo pues es probable que el rango de tolerancia térmica en las crías pre-adultos y reproductores sea distinta a lo reportado en el presente estudio.

## XI. Bibliografía.

- Badillo, M. 2003. Bioenergetica y Temperatura Critica Maxima de *Bathygobius ramosus*, Ginsburg 1947. Tesis de maestria. Posgrado en Ciencias del Mar y Limnologia. UNAM. 66pp.
- Barua, D., Heckathorn S., A. 2004. Acclimation of the temperature set-points of the heat-shock response. *Journal of Thermal Biology* 29. 185–193
- Batlloiri, S. E., Gonzáles, P. J., Diaz, S. J., Febles, P. J. 2005. Caracterización hidrológica de la región costera noroccidental del estado de Yucatán, México. *Investigaciones Geográficas, Boletín del Instituto de Geografía, UNAM.*
- Becerril., J. M., 2008. Tolerancia térmica en los juveniles tempranos del pulpo rojo *Octopus maya* y su efecto sobre el crecimiento. Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación, Facultad de Ciencias, UNAM. Sisal, Yucatan.
- Becker, D.C and Genoway, G.R 1979. Evaluation of the critical thermal maximum for determining thermal tolerance of freshwater fish. *Env. Biol. Fish.* 4: 245-256.
- Beitinger, T.L., Bennett, W.A., McCauley, R.W. 2000. Temperature tolerance of North American freshwater fishes exposed to dynamic changes in temperature. *Environ. Biol. Fish.* 58: 237–275.
- Bevelhimer, M., Bennettb, W. 2000. Assessing cumulative thermal stress in fish during chronic intermittent exposure to high temperatures. *Environmental Science & Policy* 3. Pages 211-216
- Carvetha, C., J., Widmerb, A., M., Bonarc, S., A., Simmsd, J., R. 2007. An examination of the effects of chronic static and fluctuating temperature on the growth and survival of spinedace, *Meda fulgida*, with implications for management. *Journal of Thermal Biology* Volume 32, Issue 2. Pages 102–108
- CITES, 2004. Seahorses and other members of the family Syngnathidae (decision 12.54)—report of the working group. AC20 Doc. 17. Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES), Twentieth Meeting of the Animals Committee Johannesburg (South Africa).
- Cowles, R.B., Bogert, C.M. 1944. A preliminary study of the thermal requirements a desert reptile. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* 83: 265–296.

- Cross, E.E. y Rawding, R.S. 2009. Acute thermal tolerance in the round goby, *Apollonia melanostoma* (*Neogobius melanostomus*) *Journal of Thermal Biology* 34 85–92
- Das, T., Pal, A.K., Chakraborty, S.K., Manush, S.M., Chatterjee, N. y Mukherjee, S.C. 2004. Thermal tolerance and oxygen consumption of Indian Major Carps acclimated to four temperatures. *J. Therm. Biol.* 29: 157-163.
- Diaz, F., Re, D., Medina, Z., Re, G., Valdez, G. and Valenzuela, F. 2006 Thermal preference and tolerance of green abalone *Haliotis fulgens* (Philippi, 1845) and pink abalone *Haliotis corrugate* (Gray, 1828). *Aquaculture Research*. 37: 877-884.
- Draper, N. y H. Smith. 1998. *Applied Regression Analysis*. 3era edición. Hardcover. 736 pp.
- Eme, J. y Bennett, W.A. 2009. Critical thermal tolerance polygons of tropical marine fishes from Sulawesi, Indonesia. *Journal of Thermal Biology* 34 220–225
- Faleiro, F.; Narciso, L. y Vicente, L. 2008. Seahorse behaviour and aquaculture: How to improve *Hippocampus guttulatus* husbandry and reproduction? *Aquaculture* 282 33–40
- FAO, Departamento de Pesca y Acuicultura. 2010. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. (SOFIA). Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación Roma, 2010
- Foster, S. & Vincent, A. C. J. 2004. The life history and ecology of seahorses, *Hippocampus* spp.: implications for conservation and management. *Journal of Fish Biology* 65, 1–61. doi: 10.1111/j.0022-1112.2004.00429.x
- Fry, F.E.J. 1977. The effect of environmental factors on the physiology of fish. En W. S. Hoar y D. J. Randall (eds.). *Fish physiology VII: environmental relations and behavior*. Academic Press. London. 1-87 p.
- Galleher, S. N., Gilg, M. R., Smith, K. J. 2009. Comparison of larval thermal maxima between *Fundulus heteroclitus* and *F. grandis*. *Fish Physiol Biochem* DOI 10.1007/s10695-009-9347-1
- Guzmán, A., P. y Fuentes, C., D., F. 2006. Pesca, acuicultura e investigación en México. Comisión de pesca.
- Hernandez, M Bückle, F Guisado, C Baron, B., Estavillo, N. 2004. Critical thermal maximum and osmotic pressure of the red sea urchin *Strongylocentrotus*

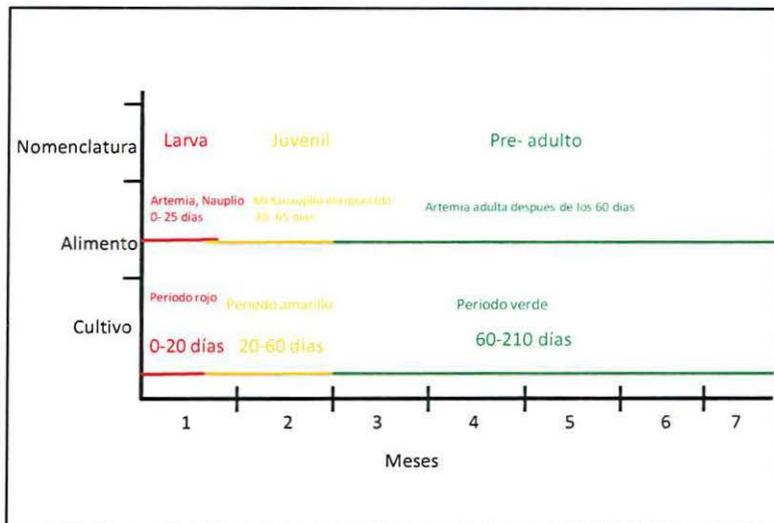
- fraciscanus acclimated at different temperatures .Journal of Thermal Biology.29: 231- 236.
- Hutchinson, V.H. 1976. Factors influencing thermal tolerances of individual organisms. ERDA (Energy Res. Dev. Adm.) Symp. Ser. CONF750425. 10-26 pp.
- Hutchison, V.H. 1961. Critical thermal maxima in salamanders. *Physiol. Zool.* 34: 92–125.
- IUCN (2004). 2004 IUCN Red List of Threatened Species. Available at <http://www.redlist.org>
- Jiménez, P. H., L. G. Simoes, N. Mascaró, M. 2011. "Abundancia y distribución del caballito de mar *Hippocampus erectus* en la laguna de Chelem, Yucatán". III Congreso Mexicano de Ecología. Libro de Resúmenes.
- Jobling, M. 1981. Temperature tolerance and the final preferendum- rapid methods for the assessment of optimum growth temperature . *Journal of Fish Biology.* 19: 439-455.
- Jobling, M.1994. *Fish Bioenergetics*. Chapman & Hall. Fish and Fisheries Series 13, 309pp.
- Jörg Urban, H.1994. Upper temperature tolerance of ten bivalve species off Peru and Chile related to El Niño. *Marine Ecology Progress Series.* 107: 139-145.
- Koldewey, H. J. y Smith, K. M. M. 2010. A global review of seahorse aquaculture. *Aquaculture* 302 (2010) 131–152
- Lin, Q.; Lin, J. y Huang, L. 2009. Effects of substrate color, light intensity and temperature on survival and skin color change of juvenile seahorses, *Hippocampus erectus* Perry, 1810. *Aquaculture* 298 157–161
- Lowe Jr., C.H., Vance, V.J. 1955. Acclimation of the critical thermal maxima of the reptile *Urosaurus ornatus*. *Science* 122: 73–74.
- Lu, J.Y., Wu, J.Y., Yang, D.W., 2001. Growth rate of *Hippocampus kuda* Bleeker under intensive culture. *Journal of Fisheries of China* 8 (1), 59–63 (in Chinese).
- Lutterschmidt, W. I. and Hutchison, V. H. 1997b. The critical thermal maximum: data to support the onset of spasms as the definitive end point. *Can. J. Zool.* 75: 1553-1560.
- Lutterschmidt, W.I and Hutchison, V:H 1997a. The critical thermal Maximum: history and critique. *Can. J Zool.* 75:1561-1574.

- Montgomery, D. C. and E. A. Peck. 1992. Introduction to Linear Regression Analysis, 2da edition, John Wiley & Sons, New York.
- Mora, C., Maya, M.F. 2006. Effect of the rate of temperature increase of the dynamic method on the heat tolerance of fishes. *J. Therm. Biol.* 31: 337–341.
- Mora, C., Ospina, A.F. 2001. Tolerance to high temperatures and potential impact of sea warming on reef fishes of Gorgona Island (tropical eastern Pacific). *Mar. Biol.* 139: 765-769.
- Paladino, F.V., Spotila, J.R., Schubauer, J.P., Kowalski, K.T. 1980. The critical thermal maximum: A technique used to elucidate physiological stress and adaptation in fishes. *Rev. Can. Biol.* 39: 115-122.
- Pérez, E., Díaz, F., Espina, S. 2003. Thermoregulatory behavior and critical thermal limits of angelfish *Pterophyllum scalare* (Lichtensein) (Pisces: Cichlidae). *J. Therm. Biol.* 28: 531-537.
- Planas, M., Quintas, P., Chamorro, A., Balcázar, J.L., 2009a. Husbandry and rearing of the seahorse *Hippocampus guttulatus* (Project Hippocampus). In: World Aq. Soc., World Aquaculture 2009, 25–29 September 2009, Veracruz, Mexico, p. 668.
- Poortenaar, C. W.; Woods, C. M. C.; James, P. J.; Giambartolomei, F. M. y Lokman, P. M.(2004) Reproductive biology of female big-bellied seahorses. *Journal of Fish Biology* (2004) 64, 717–725
- Pörtner, H.O., van Dijk, P.L.M., Hardewig, I., Sommer, A., 2000. Levels of metabolic cold adaptation: tradeoffs in eurythermal and stenothermal ectotherms. In: Davison, W., Williams, C.H. (Eds.), *Antarctic Ecosystems: Models for Wider Ecological Understanding*. Caxton Press, Christchurch, New Zealand, pp. 109–122.
- Pörtner, H.O. 2002. Climate variations and the physiological basis of temperature dependent biogeography: systemic to molecular hierarchy of thermal tolerance in animals. Part A. *Molecular and Integrate Physiology* 132. (4): 739-761.
- Rajaguru, S., 2002. Critical thermal maximum of seven estuarine fishes. *J. Therm. Biol.* 27, 125–128.
- Rajaguru, S., Ramachandran, S. 2001. Temperature tolerance of some estuarine fishes. *Journal of Thermal Biology* 26 (2001) 41-45

- Re, A.D., Díaz, F., Sierra, E., Rodríguez, J., Pérez, E. 2005. Effect of salinity and temperature on thermal tolerance of brown shrimp *Farfantepenaeus aztecus* (Ives) (Crustacea, Penaeidae). *J. Therm. Biol.* 30: 618-622.
- Re, A.D., Díaz, F., Valdez, G. 2006. Effect of salinity on the thermoregulatory behavior of juvenile blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* Stimpson. *J. Therm. Biol.* 31: 506-513.
- Reynolds, W.W., Casterlin, M.E. 1979. Behavioral thermoregulation and the final preferendum paradigm. *Am. Zool.* 19: 211-224.
- Roessing, J.M., Woodley, C.M., Cech, J.J., Hansen, L.J. 2004. Effects of global climate change on marine and estuarine fishes and fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries.* 14: 251-275.
- Selong, J.H., McMahon, T.E., Zale, A.V., Barrows, F.T., 2001. Effect of temperature on growth and survival of bull trout, with application of an improved method for determining thermal tolerance in fishes. *Trans. Am. Fish. Soc.* 130, 1026-1037.
- Sheng, J.Q., Lin, Q., Chen, Q.X., Gao, Y.L., Shen, L., Lu, J.Y., 2006. Effects of food, temperature and light intensity on the feeding behavior of three-spot juveniles, *Hippocampus trimaculatus* Leach. *Aquaculture* 256, 596–607
- Simoës, N. Revisión de la biología, alimentación y reproducción de camarones ornamentales de la península de Yucatán, México (Crustacea: Decapoda : Caridea). Universidade do Algarve CCMAR. 2004. Avances en Nutrición Acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 16-19 Noviembre, 2004. Hermosillo, Sonora, México.
- Somero, G.N., 2010. The physiology of climate change: how potentials for acclimatization and genetic adaptation will determine the 'winners' and 'losers'. *J. Exp. Biol.* 213, 912–920.
- Stiassny, M, L., J. 2004. Aquariums, once water-filled cabinets of curiosities, exert potent economic forces that can foster conservation in the wild. *Natural History Magazine. Studies, Biological Series* 55, 1–62.
- Teixeira, R.L. & Musick, J.A. (2001). Reproduction and food habits of the lined seahorse, *Hippocampus erectus* (Teleostei: Syngnathidae) of Chesapeake Bay, Virginia. *Revista Brasileira de Biología* 61, 79–90.

- Vincent, A.C.J., 1996. The International Trade in Seahorses. TRAFFIC International, Cambridge, UK.
- Wernberg, T., Thomsen, M., S., Tuya, F., Kendrick, G., A. 2011. Biogenic habitat structure of seaweeds change along a latitudinal gradient in ocean temperature. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 264–271
- Woods, C.M.C. 2003. Effect of stocking density and gender segregation in the seahorse *Hippocampus abdominalis*. *Aquaculture* 218, 167–176
- Wright, K. A.; Woods, C.M.C; Gray, B.E & Lokman, P.M (2007) Recovery from acute, chronic and transport stress in the pot-bellied seahorse *Hippocampus abdominalis*. *Journal of Fish Biology* 70, 1447–1457
- Zhang, D., Yin, F., Lin, J. 2011 Criteria for assessing juvenile quality of the lined seahorse, *Hippocampus erectus*. *Aquaculture* 322-323.
- Zuur, A. F., Ieno, E.N., Walker, N.J., Saveliev, A.A and Smith, G. M. 2009. Mixed effects models and extensions in ecology with R. Springer Verlag , New York. 574 pp.
- Zuur, A., F., Ieno, E.N and Smith, G.M. 2007. *Analysing Ecological Data Series: Statistics for Biology and Health*. Springer Verlag, New York New York. 698 pp.

## ANEXO



Anexo 1. Esquema de alimentación de cría y juveniles de *H. erectus* (Gomes, 2009).