



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
UNIDAD ACADÉMICA SISAL
(BIOLOGÍA MARINA)

Preferencia térmica, balance energético y crecimiento de *Hippocampus erectus*,
el efecto de una temperatura de aclimatación variable

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

JOSE LUIS HORTA FERNÁNDEZ

TUTOR:

DRA. MAITE MASCARÓ MIQUELAJÁUREGUI
FACULTAD DE CIENCIAS-UNAM

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:

DR. ARMANDO ADOLFO ORTEGA SALAS
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

DR. CARLOS ROSAS VÁZQUEZ
FACULTAD DE CIENCIAS-UNAM

DR. FERNANDO DÍAZ HERRERA

CICESE

DRA. ANA DENISSE RE ARAUJO

CICESE

SISAL, YUCATÁN. ENERO, 2016.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

COMISIÓN DE
EXAMEN

MAITE MASCARÓ MIDUELAJAUREGUI, secretario del jurado

que examinó a JOSE LUIS HORTA FERNÁNDEZ

Para optar por el grado de MAESTRO

en CIENCIAS

Hace constar que obtuvo la calificación de APROBADO

Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 4 de marzo de 2016

EL SECRETARIO DEL JURADO

No. 4012067216776



Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología

Universidad Nacional Autónoma de México

Coordinación del Posgrado, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología,

Circuito Exterior s/n, Ciudad Universitaria, México, D.F. 04510

Teléfono y Fax: (52) 56-22-5803, 5829, 5990 y 5991

Correo electrónico: posgrado@mar.icmyl.unam.mx

http://www.unam.mx/ciencias_mar_posgrado



Preferencia térmica, balance energético y crecimiento de
Hippocampus erectus, el efecto de una temperatura de aclimatación
variable

T E S I S

Que para obtener el grado académico de:

Maestro en ciencias

(Biología Marina)

p r e s e n t a

JOSE LUIS HORTA FERNÁNDEZ

DIRECTOR DE TESIS: DRA. MAITE MASCARÓ MIQUELAJÁUREGUI

COMITÉ TUTORAL: DR. ARMANDO ADOLFO ORTEGA SALAS

DR. CARLOS ROSAS VÁZQUEZ

DR. FENANDO DÍAZ HERRERA

DRA. ANA DENISSE RE ARAUJO

Sisal, Yucatán, México, 2016.

Este trabajo fue realizado en la Unidad Multidisciplinaria de docencia e Investigación, Facultad de Ciencias UNAM, Sisal Yucatán, bajo la dirección de la Dra. Maite Mascaró Miquelajáuregui. La tesis fue parcialmente financiada con el apoyo financiero de: Universidad Nacional Autónoma de México, programa PAPIIT - IN 212012 "Tolerancia y preferencia térmicas de tres especies con distribución geográfica y rasgos fisiológicos contrastantes: *Octopus maya*, *Hippocampus erectus* y *Panulirus argus*." bajo la responsabilidad de la Dra. Maite Mascaró Miquelajáuregui y el Dr. Carlos Rosas Vázquez.

Dedicatoria.

A mis padres, José Luis y Celia.

Agradecimientos.

A mi directora de tesis la Dra. Maite Mascaró Miquelajáuregui, con quien fue un verdadero privilegio trabajar bajo su dirección, por todas las asesorías, consejos y charlas que forjaron una profunda admiración como docente y amiga.

Al Dr. Carlos Rosas, por toda la asesoría y conocimiento transmitido, un docente el cual admiro ampliamente, pero sobre todo por la calidad de persona que es.

Al Dr. Fernando Díaz Herrera, por todo el apoyo brindado durante su estancia en Sisal, siempre con una energía positiva muy característica.

A mis sinodales, Dra. Denisse Re y Dr. Armando Ortega por las correcciones, asesoría y dedicación para culminar este trabajo.

A las técnico académicas M. en C. Gemma Leticia y M. en C. Claudia Caamal, por todos los materiales, espacio y asesorías brindadas durante este proceso.

Al PCMyL, CONACYT y la UNAM, por abrirme sus puertas y lograr la obtención de grado.

A Daniela Méndez, por todo el apoyo, confianza y cariño incondicional que imprimió cada día en esta aventura, nos divertimos bastante.

A mis amigos, Arturo, Yasmin, Erika, Sarahi, Antar, Yessica y Ariadna, quienes tienen un lugar especial en mi pensamiento y considero afortunado de haber coincidido.

A Giulia del Vecchio por su amistad y apoyo en la realización de los experimentos, en lo cual espero pueda regresar todo este apoyo en un futuro.

A todos y cada uno de los caballitos de mar que participaron, quienes son el protagonista estrella de este trabajo, serán recordados con cariño y respeto que mantuve hacia ustedes y lo será con cualquier otro organismo acuático que se encuentre bajo mi manejo.

Índice.

Resumen	¡Error! Marcador no definido.
Introducción	2
Antecedentes	6
Generalidades de <i>Hippocampus spp</i>	7
Preferencia térmica.....	9
Temperatura crítica y zona de tolerancia térmica	11
Balance energético y crecimiento	15
Objetivos	18
General.....	18
Particulares.....	18
Hipótesis	18
Materiales y Métodos.	19
Obtención y mantenimiento de los organismos.....	19
Periodo de preparación.....	20
Periodo de exposición	20
Pruebas de valoración del desempeño bajo los distintos escenarios de exposición a la temperatura	21
Sobrevivencia y crecimiento	21
Preferencia térmica en un gradiente horizontal.....	22
Temperatura crítica máxima (TCMax).....	24
Balance energético parcial	26
Respiración (R)	26
Tasa de ingestión (I)	28
Incremento de calor aparente (ICA).....	28
Producción (P)	29
Análisis estadístico de resultados	29
Resultados	31
Sobrevivencia	31
Crecimiento	32

Preferencia térmica (PT)	33
Temperatura Crítica Máxima (TCMax).....	39
Consumo de oxígeno (VO ₂)	41
Balance energético parcial (BE).....	43
Discusión	48
Sobre la TCMax.....	49
Sobre el metabolismo	52
Sobre la energía.....	55
Sobre el preferéndum térmico.....	62
Conclusiones	64
Referencias	66

Resumen.

Se evaluó el efecto del cambio gradual de la temperatura de aclimatación en la respuesta fisiológica y conductual de juveniles de caballito de mar *Hippocampus erectus*, los cuales fueron sometidos a tres escenarios de exposición térmica previa: tratamiento 25-C (25°C constantes), tratamiento Rampa (aumento gradual de 1°C cada 5 días de 25-30°C) y tratamiento 30-C (30°C constantes) durante 30 días. Al concluir el periodo de exposición, se registraron los indicadores del balance energético parcial (BE), consumo de oxígeno (VO₂), preferencia térmica en un gradiente horizontal (PT) y temperatura crítica máxima (TCMax), así como el crecimiento y sobrevivencia en todos los individuos. Los organismos del tratamiento Rampa tuvieron una sobrevivencia de 97.7%, tasa de crecimiento exponencial (TCE% día⁻¹) de 1.10 ± 0.49 , PT de $28.7 \pm 0.4^\circ\text{C}$, TCMax de 37.8 ± 0.9 , respiración total entre asimilación (R total/AS%) de 13.8% y producción entre asimilación (P/AS%) de 86.2 %. Se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos Rampa y 30-C para el crecimiento, preferencia térmica, temperatura crítica máxima y balance energético parcial, demostrando que este conjunto de respuestas son afectadas por la forma y tiempo en que se presenta la exposición térmica. Cuando la temperatura se incrementa de forma gradual, se produce un ajuste fisiológico y conductual de los juveniles *H. erectus* que no se observa cuando la exposición es alta y constante, en cultivos a gran escala puede ser de especial interés desarrollar técnicas de aumento gradual de temperatura como una estrategia para mejorarla resistencia de los individuos bajo condiciones controladas. En el contexto del aumento de la temperatura de los océanos, el conocimiento en detalle de las respuestas fisiológicas y conductuales que consideren los tiempos de exposición, es decir, su duración, periodicidad y gradualidad, son esenciales para poder predecir de forma realista la vulnerabilidad tanto de las especies marinas como de los ecosistemas de los que forman parte.

Introducción.

Actualmente el calentamiento del océano es un tema omnipresente en el debate sobre impacto ambiental en los ecosistemas marinos (Halpern et al., 2008, Petit et al., 1999). Debido a que se ha presentado un incremento en la media global de la temperatura superficial del mar de 0.13°C por década desde 1979, y un incremento en la temperatura del océano interior >0.1 °C desde 1961 (Solomon et al., 2007). Aunque los sistemas climáticos son impredecibles, algunas predicciones consideran que la temperatura media global se podrá incrementar hasta en 2°C para el 2100 (Santos et al., 2002, Lenton et al., 2008; Miranda et al., 2002, citados por Aurelio et al., 2013).

La temperatura tiene gran influencia en la fisiología y conducta de los organismos marinos, y puede originar a un efecto de cascada en la dinámica de las poblaciones, comunidades y ecosistemas de los que forman parte (Brierley y Kingsford, 2009). Muchas especies son sensibles a alteraciones térmicas de tan solo unos pocos grados, y un aumento en la temperatura de 1°C puede tener efectos rápidos e importantes en la mortalidad, abundancia y distribución geográfica de algunas poblaciones (Kennedy et al., 2002; Perry et al., 2005; Brierley y Kingsford, 2009). Así, la temperatura juega un papel fundamental en la fisiología (e. g. Reyes et al., 2011; Becker y Genoway, 1979, Aurelio et al., 2013), biología reproductiva (e. g. Sheng et al., 2006), desarrollo embrionario (e.g., Lin et al., 2007; Lin et al., 2006), alimentación (Planas et al., 2012), crecimiento (Wong y Benzie, 2003; Lin et al., 2008), dinámica poblacional (Roessig et al., 2004; Pigliucci, 1996) y distribución de muchas especies de invertebrados y vertebrados marinos.

En los ectotermos marinos, la temperatura corporal interna varía de acuerdo con la temperatura del agua en su entorno inmediato, por lo que la temperatura de aclimatación afecta de forma directa su tolerancia y preferencia térmica (Ziegeweid, 2008; Somero, 2010). Una gran cantidad de investigaciones hasta el momento ha sido dirigidas al conocimiento del efecto de la aclimatación térmica en diversas especies marinas sobre la tolerancia térmica (Tepolt y Somero, 2014; Pörtner, 2010; Norin et al., 2014; Magozzi y Calosi, 2014).

La aclimatación consiste en mantener a los organismos a una cierta temperatura constante, durante un periodo de tiempo suficiente para asegurar la adecuación a estas temperaturas, y "romper" cualquier historial térmico anterior (Fry, 1947). De acuerdo con Clarke et al., (2013) típicamente en los ectotermos marinos la aclimatación metabólica ocurre dentro de las primeras semanas (1 a 3) de exposición a una nueva temperatura, una vez que los mecanismos fisiológicos se expresan debido a una nueva condición térmica. En este sentido, se ha reconocido que la temperatura a la cual un animal se ha aclimatado, puede cambiar la habilidad para sobrevivir a un intervalo de temperaturas, pudiendo afectar los límites térmicos que se habían observado previos a la aclimatación (Wang y Overgaard, 2007).

En la mayoría de los trabajos que se han publicado sobre la biología térmica de organismos ectotermos marinos, la aclimatación, se ha hecho en organismos mantenidos en temperaturas que se mantienen constantes. Aunque los resultados de estos trabajos han generado las bases del conocimiento actual sobre la biología térmica (Beitinger y Bennett, 2000), se sabe relativamente poco sobre los efectos de la aclimatación gradual y escalonada en las respuestas de tolerancia térmica tanto de invertebrados como vertebrados marinos. El establecimiento de los límites de tolerancia térmicos de los organismos marinos es de gran significado ecológico en la evaluación de su distribución y migración, en los ecosistemas (Rajaguru y Ramachandran, 2001).

Siendo la temperatura un factor modulador del metabolismo en los ectotermos marinos (Roessig et al., 2004), ésta controla la velocidad de las reacciones enzimáticas que se llevan a cabo en los procesos de degradación y aprovechamiento de la energía ingerida, y con ello marca de forma decisiva el crecimiento en biomasa de los individuos. Un incremento en el metabolismo puede mejorar las tasas de crecimiento, promover la embriogénesis, y reducir el periodo de incubación en algunos organismos (Pimentel et al., 2012; Rosa et al., 2012). Asimismo, ante un aumento térmico, la digestión puede acelerarse y las secreciones gástricas aumentar, mejorando la absorción de nutrientes (Love, 1970). Sin embargo, el calentamiento global, provoca un aumento en el consumo de oxígeno, y en consecuencia, cambios importantes en el balance energético y en el

crecimiento de un individuo (McElroy et al., 2012; Yoon et al., 2013; Noyola 2013). La temperatura y la disponibilidad de oxígeno, pueden actuar como estresores sinérgicos y resultar en un evento opresor para el individuo alterando los procesos fisiológicos de los cuales depende su sobrevivencia (Aurelio et al., 2013).

La posibilidad de refugiarse en zonas donde la temperatura se mantiene cercana a la preferida, hace que las consecuencias del calentamiento oceánico en la fisiología y crecimiento de los individuos puedan ser menos severas en organismos acuáticos (Golovanov, 2013). Sin embargo, en algunas especies con distribución asociada a hábitats de estructura compleja y movilidad reducida, la migración desde aguas cálidas hacia otras más frías puede ser una estrategia menos efectiva contra el calentamiento del océano. La peculiar característica de los caballitos de mar al ser peces con movimientos espacialmente limitados, los hacen particularmente sensibles a perturbaciones en su ambiente natural y constituyen un interesante modelo de estudio para el cambio climático (Aurelio et al., 2013). El cambio de temperatura en el mar debido al calentamiento global es un foco rojo para la conservación y diversidad en general de los Syngnátidos, y constituye también un factor importante que influye de forma decisiva en la dinámica poblacional y ecología reproductiva de estos peces (Ahnesjö et al., 2008).

Por su característica historia de vida, forma y colorido, los caballitos de mar son peces ornamentales con gran popularidad en la acuariofilia (Lin et al., 2009), y han sido explotados y comercializados para su uso en el mercado de “recuerdos y curiosidades” y en la medicina tradicional china durante casi 400 años (Vincent, 1996). Las 33 especies reconocidas de caballitos de mar del género *Hippocampus* han sido incluidas en el Apéndice II de la Convención Internacional sobre el Comercio de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES, 2004). Entre algunos rasgos, se señala que las poblaciones naturales de estos organismos además de ser afectadas por la captura y comercialización ilegal son objeto de pesca incidental en arrastres pesqueros, y son especies muy vulnerables a impactos antropogénicos tales como la modificación y degradación de hábitats costeros y por la contaminación. En los últimos años se ha registrado una fuerte disminución en las poblaciones naturales de caballitos de mar, con estimaciones de hasta

un decremento del 10% anual en algunas poblaciones silvestres (Vincent, 1996). Además de que poseen una distribución en parches (Yasué et al., 2012), sus densidades son muy reducidas. Curtis et al. (2004) mencionan densidades de aproximadamente 0.006 ind/m² en algunos arrecifes de coral de Filipinas y hasta 0.95 ind/m² en hábitats estuarinos de Europa. Finalmente, los caballitos de mar viven en costas poco profundas, las cuales pueden experimentar un impacto mayor ante el calentamiento global en el futuro que en el mar abierto (Philipart et al., 2011). A pesar del creciente interés en estudios sobre el efecto del incremento de la temperatura en la biología de animales marinos, no existen reportes de esta condición sobre los caballitos de mar. Las únicas excepciones son aquellos realizados en el contexto del cultivo de estos organismos. En todos estos estudios se señala que la temperatura afecta la sobrevivencia, crecimiento, alimentación, comportamiento, reproducción e incluso coloración de los caballitos de mar (Wong and Benzie, 2003; Foster y Vincent 2004; Lin et al., 2006, 2009; Sheng et al., Koldewey y Martin-Smith, 2010; Aurelio et al., 2013).

En este contexto el presente trabajo pretende examinar algunas alteraciones fisiológicas y conductuales del caballito de mar *Hippocampus erectus* (Perry, 1810) al ser expuesto a un incremento gradual en la temperatura del agua. Información al respecto servirá como base para la conformación de escenarios potenciales, que tomen en cuenta los cuerpos de agua costeros donde estos organismos habitan y cuya temperatura es un factor que varía a lo largo de distintas escalas espaciales y temporales (Enríquez et al., 2010).

Antecedentes

La Península de Yucatán es un sitio de transición entre el Mar Caribe y el Golfo de México. Presenta un clima cálido seco y semi-seco, con una temperatura anual promedio de 26.5°C y una precipitación anual del orden de 700 a 800 mm. Durante el año se definen tres épocas climáticas: sequías (de marzo a mayo), con precipitaciones mínimas de 0-30 mm y 36 a 38°C de temperatura; lluvias (junio a octubre), siendo septiembre el mes con mayor precipitación (125 mm) y septiembre a octubre, meses donde es común el arribo de huracanes y que presentan una precipitación de 350 mm y vientos de hasta 250 km/h; y nortes (noviembre a febrero), caracterizados por la influencia de vientos polares, con temperatura promedio de 23°C y una precipitación de 40 mm (Echeverría y Piña, 2003).

La plataforma continental noreste de la Península de Yucatán está caracterizada por la presencia de una surgencia de verano que reduce las temperaturas durante esta época en una zona que va desde las costas de Sisal hasta Río Lagartos, manteniendo la zona con temperaturas relativamente bajas. Las surgencias que se presentan debido a los vientos persistentes hacia el Este, favorecen la superficie del mar (5-30 m de profundidad) con temperaturas frías aumentan en el contenido de clorofila y una productividad alta para toda la plataforma interna de la Península de Yucatán desde mayo hasta septiembre (Zavala-Hidalgo et al., 2003, 2006).

A pesar de la presencia de temperaturas relativamente bajas y constantes en el agua superficial de la plataforma continental, los humedales y lagunas costeras del litoral de la Península de Yucatán, presentan condiciones térmicas muy distintas. Este es el caso de la laguna de Chelem (21°15'47"N y 89°43'40" O), un ecosistema acuático permanente que tiene una extensión de 13 km de largo y entre 0.7 y 1.8 km de ancho, con un área aproximada de 21 km² (Jerónimo, 2010). La temperatura promedio en la laguna de Chelem en 2010 fue de 26.5°C, pero, el intervalo térmico registrado a lo largo del año fue entre 19 y 31°C (Jiménez, 2012; Ponce et al., 2011). Siendo una laguna tropical somera (profundidad entre 0.25 y 1.5m), la temperatura del agua puede variar marcadamente a lo largo de un ciclo diurno, y dicha variación difiere estacionalmente. Durante la temporada

de sequía la temperatura en la zona central de la laguna tiene promedios entre 22 y 30°C (Marino-Tapia y Enríquez, 2010), mientras que en las zonas más someras la temperatura puede alcanzar los 36 y 38°C (Echeverría y Piña, 2003). Durante la temporada de lluvias y de nortes, la temperatura promedio en las zonas someras es de 23°C (Echeverría y Piña, 2003), pero en madrugadas frías pueden registrarse hasta 18 °C.

En Chelem se encuentran una población de caballitos de mar *H. erectus* que presenta una densidad particularmente baja (0.2 a 1 individuo en 1000 m²). Su distribución espacial, marginalmente agregada, hace que comúnmente se encuentran los caballitos en parejas o en pequeños grupos de 3-4 individuos. De acuerdo con un estudio sobre las variaciones espacio-temporales de *H. erectus* en Chelem realizado durante 2010 (Jiménez, 2012; Ponce et al., 2011), los adultos ocurren en la laguna a lo largo de todo el año, pero son más abundantes de julio hasta marzo (lluvias y nortes) que de abril a junio (secas). Asimismo, los machos preñados son más frecuentes en la época de nortes y casi exclusivos de una zona caracterizada por la cobertura moderada de pastos marinos (*Halodule* y *Syringodium*) y en menor medida algas (*Dasycladus* spp. y Rhodofitas). Mientras que la frecuencia de hembras es más constante a lo largo del año, los individuos más pequeños (< 9.5 cm de altura total) fueron todos registrados en la época de secas.

Generalidades de *Hippocampus* spp.

Los caballitos de mar comprenden un solo género (*Hippocampus*) de la familia *Syngnathidae*, la cual consiste en alrededor de 55 géneros de peces pipa, caballitos pipa y dragones marinos (Kuitert, 2000). Las especies de caballitos de mar están distribuidas circun-globalmente, lo que sugiere que el género es de origen pre-Thethyano y con un mínimo de 20 millones de años de antigüedad (Fritzsche, 1980). Habitan entre los corales, macroalgas, raíces de manglar, donde encuentran estructuras vegetativas para sujetarse, y algunas especies pueden encontrarse en sistemas lagunares-estuarinos. Tienden a distribuirse en parches de bajas densidades, con particular susceptibilidad a la degradación de hábitat ocasionado por actividades humanas (Lourie et al., 2004). En

general los caballitos de mar ocupan los hábitats costeros templados y tropicales, con una distribución cercana a los 50° Norte, hasta los 50° Sur. Usualmente se encuentran entre corales, macro algas, raíces de mangle, pastos marinos y en campo de arena abierto o fondos lodosos, ciertas especies son encontradas en estuarios y lagunas costeras (Lourie et al., 2004), distribuidos desde los 3.05°C hasta 28.41°C (EOL, 2015).

El caballito de mar, *Hippocampus erectus* (Perry 1810), se distribuye en la costa Atlántica de América, desde Nueva Escocia hasta Uruguay, incluyendo el Golfo de México, Bermuda y el Caribe (Dawson, 1982). Se caracteriza por tolerar un amplio intervalo de temperatura y de salinidad (Ginsburg, 1937; Bellomy, 1969; Hoese y Moore, 1977; Dawson 1982). Aunque se le asocia con algas marinas de zona someras, es más común encontrarlo en aguas relativamente profundas donde la vegetación es abundante (pastos marinos, esponjas, e incluso, entre *Sargassum* flotante; Lieske y Myers, 1994). La máxima profundidad en la que ha sido reportado es de 73 m (Vari, 1982).

Foster y Vincent (2004) señalan que la temperatura controla de forma importante muchos aspectos de la dinámica poblacional del género *Hippocampus*. En la mayoría de los singnátidos las temperaturas cercanas a los 30°C son letales para la sobrevivencia. En áreas marginales del estuario Swartveli en Sudáfrica, la combinación de inundaciones que indujeron cuerpos de agua someros, alcanzaron los 32°C provocando la muerte de varios centenares de *Syngnathus acus* y la muerte de al menos 309 *H. carpensis* en la región (Russel, 1994). También poblaciones de *Syngnathus scovelli* en el estuario de Thames de Reino Unido decrecieron en consecuencia de sequias que provocaron un aumento de la temperatura cercano a 31°C (Power y Attrill, 2003). Aurelio et al., (2013) y Lin et al., (2006), encontraron que para *H. guttulatus* los parámetros de sobrevivencia y crecimiento comenzaban a tener una tendencia negativa a partir de 30°C.

Preferencia térmica.

En la naturaleza, los organismos acuáticos usan sus habilidades adaptativas a través de ajustes metabólicos o de diversos comportamientos, para persistir en su hábitat en respuesta a los cambios en el medio ambiente (Pigliucci, 1996). Estos ajustes proveen al organismo de una plasticidad fisiológica y conductual ante condiciones ambientales fluctuantes, que en el contexto del aumento de la temperatura del océano pueden ser especialmente importantes para explicar la distribución de los ectotermos marinos (Buckley et al., 2001). Ante un ambiente térmico heterogéneo, los ectotermos marinos tienen cierto control sobre su temperatura corporal mediante la capacidad de desplazamiento. Los individuos pueden detectar y responder a la temperatura del agua, evitando temperaturas extremas y desplazándose hacia aquéllas donde el crecimiento, la reproducción y la condición general de salud se encuentren optimizados (Crawshaw, 1977; Beitinger y Fitzpatrick, 1979; Ward et al., 2010). En la tentativa de mantener la temperatura corporal dentro de intervalos preferidos aunque estrechos, muchos ectotermos pueden alterar el tiempo dedicado a la actividad, la elección de hábitat o la postura que adoptan, de tal forma que eso les permita incrementar el tiempo transcurrido a temperaturas fisiológicamente óptimas. Con este comportamiento termo-regulador, las especies son capaces de alcanzar un alto desempeño y eficacia en el uso de la energía (Anderson et al., 2007; Cadena y Tattersall, 2009). La conducta termorreguladora ha sido bien documentada en muchas especies y diferentes taxa (Beitinger y Fitzpatrick, 1979; Bennett y Beitinger, 1997; Bicego et al., 2007; Reyes et al., 2011).

Considerando lo anterior, el intervalo de temperatura en el que los organismos se congregan y pasan la mayor cantidad de tiempo ha sido operativamente definido como el *preferendum* térmico (Reynolds y Casterlin, 1979). El *preferendum* térmico es un parámetro individual, y aunque constituye una respuesta específica de cada especie, puede variar de acuerdo a la edad, peso, disponibilidad de comida, estación, calidad de agua, intensidad de luz, o por factores denso-dependientes como la competencia o la presencia de patógenos (Wedemeyer et al., 1999). La zona de preferencia térmica puede

ser representada como un intervalo de valores con una medida de tendencia central, una de dispersión, y una de sesgo (Reynolds y Casterlin, 1979).

Es común que la *preferencia térmica aguda* (que se verifica en un periodo < 2 h inmediatamente después de ser expuesto a un gradiente térmico) se vea influenciada por la temperatura de aclimatación inmediata anterior. Pero, se considera que el *preferendum* final de un individuo es “la temperatura alrededor de la cual todos los individuos de una especie ultimadamente se congregan independientemente de la experiencia térmica antes de haber sido expuestos al gradiente” (Fry, 1947). La representación gráfica de dicho *preferendum* es el punto en el cual se igualan la temperatura de aclimatación y aquella que los individuos seleccionan después de 24 h de haber sido colocados en un gradiente térmico.

Fry (1947), propuso dos métodos para medir el *preferendum* térmico (agudo y gravitacional) y ambos usan un gradiente de temperatura para que el individuo sea registrado en la zona con la temperatura de su elección. Con el agudo, la temperatura escogida es determinada durante las primeras 2 h a partir de la inmersión del organismo en el gradiente de temperatura. Con el método gravitacional, se obtiene el *preferendum* final, considerado hasta que el organismo ha tenido tiempo suficiente (generalmente 24 h) para avanzar hacia la región de su preferencia térmica (González et al., 2010). Actualmente muchos trabajos sobre *preferendum* térmico son determinados mediante ambos métodos (agudo y gravitacional) siguiendo lo descrito por Reynolds y Casterlin (1979).

Díaz et al., (2006), han usado el gradiente horizontal para realizar las mediciones de preferencia térmica en diversos organismos acuáticos. Siguiendo los métodos descritos por estos autores, se realizó un estudio sobre la preferencia térmica de juveniles de *H. erectus* aclimatados a 18 y 30°C durante 6 meses (Huipé-Zamora, 2015). En ese estudio se reportó que una temperatura de aclimatación previa no alteraba la temperatura que los caballitos preferían al ser introducidos en un gradiente térmico horizontal. Tanto los caballitos aclimatados a la temperatura baja como la alta, seleccionaron una temperatura

en el gradiente de 25.4 ± 0.9 °C (media \pm IC 95%). Posteriormente, estos organismos fueron re-aclimatados a 18°C (baja, B) y 30°C (alta, A) durante 4 meses más, dando como resultado 4 combinaciones de aclimatación: BB, BA, AA, AB en un total de 10 meses. Una vez más, la temperatura final en el gradiente que escogieron los caballitos en el gradiente fue estimada en 25.7 ± 0.9 °C, independientemente de los tratamientos de aclimatación previos. Estos resultados sugieren que la temperatura de aclimatación tiene poca influencia en el *preferendum* térmico de *H. erectus*, y que dada una opción, estos caballitos escogen congregarse en zonas con una temperatura entre 25 y 26°C. Cabe señalar, sin embargo que la aclimatación en este estudio consistió en una exposición a temperaturas distintas, pero siempre constantes, y aún se desconoce el efecto que tendría una aclimatación escalonada sobre la respuesta de preferencia térmica en esta especie.

Temperatura crítica y zona de tolerancia térmica.

En términos fisiológicos, las respuestas a la temperatura se han caracterizado históricamente como de preferencia, tolerancia y resistencia (Jobling, 1981). La temperatura crítica máxima o mínima (TCM), fue definida como una medida de la tolerancia térmica, y es un término que involucra los propios métodos para medir los parámetros que el concepto encierra. La definición de este concepto avanzado fue desarrollada por Cox (1974) como “la media aritmética de puntos térmicos colectivos, en los cuales la actividad locomotora se vuelve desorganizada y el organismo pierde la habilidad para escapar de condiciones que pueden provocar su muerte”. La TCM no es un equivalente de la temperatura letal incipiente (TLI), que constituye otra medida de tolerancia térmica entre los ectotermos elaborada de forma independiente a partir de los estudios de Fry (1947), Hart (1952) y Brett (1944, 1952). Ambas, la TCM y TLI son cuantitativamente expresadas como temperatura; ambas son determinadas experimentalmente con organismos aclimatados a una temperatura previa de aclimatación; y ambas involucran tiempo y temperatura como variables registradas. Sin embargo, la TCM requiere de un cambio progresivo de temperaturas por arriba o por

debajo de la temperatura de aclimatación, hasta que se presente una respuesta de desorganización fisiológica. En este caso se trata de una exposición a una temperatura que cambia a una tasa constante, lo suficientemente rápida como para no permitir que el individuo se aclimate a la temperatura cambiante de su entorno, y con ello ponga en marcha mecanismos de termorregulación de respuesta inmediata. En contraste, el método para establecer la TLI requiere de un cambio abrupto de temperatura por arriba o debajo de la temperatura de aclimatación, hasta que la respuesta letal ocurra. En ambos casos el tiempo de respuesta y temperatura son registrados. La pérdida de equilibrio, la desorientación, así como conductas típicas de respuesta al estrés son usuales en pruebas de TCM, mientras que en pruebas de TLI usualmente el punto final es la muerte (Becker y Genoway, 1979).

Se ha reportado que los ectotermos acuáticos realizan ajustes metabólicos en respuesta al cambio de temperatura pues de estos depende la forma en que los animales compensan las demandas de energía provocados por las alteraciones térmicas (Clarke, 1980). En los trabajos más recientes de biología térmica, se ha revelado que la temperatura ambiental no solo influye en la tasa metabólica total en organismos acuáticos, sino que también afecta significativamente la regulación del metabolismo induciendo la anaerobiosis incluso en aguas con saturación de oxígeno (Pörtner et al., 2001). Cuando la capacidad de entrega de oxígeno coincide con el alcance aeróbico máximo se puede definir el óptimo térmico. Por fuera de este óptimo la supervivencia únicamente es limitada por el tiempo, pues en esa condición los animales deben desplegar mecanismos de protección molecular que les permite amortiguar el exceso de radicales libres de oxígeno en presencia de un incremento del metabolismo anaerobio. A este intervalo de temperatura se le ha denominado "*pejus*" lo cual ha sido interpretado como una condición de transición entre el óptimo y el umbral que finalmente conducirán a la muerte. Por fuera del *pejus*, el tiempo que los animales pueden tolerar es un intervalo que se estrecha, provocando la intervención de moléculas que participan en la reparación de otras, como las proteínas de shock térmico que participan en la reparación del ADN (Pörtner, 2001). El concepto de "oxygen- and capacity -limited thermal tolerance", OLTT;

(Pörtner, 2010) sugiere que en extremos de temperatura (alta y baja), la función respiratoria y cardiovascular son sub-óptimas, y pueden dar como resultado hipoxemia sistemática, que al reducir el alcance aeróbico compromete el bienestar del organismo. En este contexto es evidente que el tiempo de exposición tiene un papel fundamental en la determinación de la tolerancia térmica.

Dado que la historia térmica previa de un individuo influye en su respuesta ante los cambios en la temperatura, los límites de tolerancia térmica son establecidos mediante las temperaturas críticas (alta: TCM_{max} y baja: TCM_{min}) de organismos mantenidos a distintas temperaturas de aclimatación. Estos parámetros constituyen los límites, a partir de los cuales los individuos expuestos a alteraciones térmicas progresivas y rápidas experimentan alteraciones en algunas de sus funciones fisiológicas las cuales no deben ser afectadas en forma irreversible. Más allá de las TCM se encuentra la zona de resistencia térmica cuyos límites son la muerte. Asimismo, dichos parámetros sirven para definir el polígono o ventana térmica, que a su vez proporciona información sobre las capacidades fisiológicas, distribución y biogeografía de la especies (Pörtner y Knust, 2007) y sobre su posible plasticidad frente al cambio climático (Sorte, 2011).

En sus trabajos de los años 1940, Fry y sus colegas utilizaron valores altos y bajos de tolerancia térmica para crear los primeros polígonos o ventanas térmicas, a partir de representaciones gráficas que evalúan el nicho térmico de un organismo. Los primeros polígonos fueron construidos usando la TLI (Fry et al., 1947). Además de que estas mediciones eran relativamente poco precisas, requerían un gran número de organismos y equipo que no era fácil de conseguir en los años 50's. Hoy en día, las mediciones de TCM han reemplazado en gran medida las de TLI para la determinación de las ventanas en peces (Lutterschmidt y Hutchison, 1997; Beitinger et al., 2000), debido a que la logística y el cuidado animal son menores. Las pruebas de temperatura crítica actuales, requieren pocos peces, menos equipo y proveen una medición rápida y no letal (Eme y Bennett, 2009).

Una de las ventajas de las ventanas térmicas es que revelan información ecológica importante de los organismos, que permiten explicar parcialmente su distribución y abundancia. Estos polígonos han sido usados para identificar estrategias de supervivencia relacionadas con la temperatura (Bennett y Beitinger, 1997), predecir la propagación de especies exóticas (Bennett et al., 1997), y cuantificar el nicho térmico de especies amenazadas (Walsh et al., 1998). La utilidad de los polígonos térmicos radica en su capacidad para proporcionar más información de la que los puntos de tolerancia reflejarían por si solos. El área de la ventana generalmente se reporta como $^{\circ}\text{C}^2$ y provee un conveniente y útil índice euritérmico para la comparación entre especies. Los polígonos definen las zonas de tolerancia térmica intrínseca, es decir, la tolerancia independiente de una historia previa de aclimatación térmica; pero también permiten determinar la parte superior e inferior de zonas de tolerancia adquirida a través de la aclimatación (Beitinger y Bennett, 2000).

En el caso de *H. erectus* un trabajo realizado por Amaral (2013) con juveniles aclimatados a 18° y 30°C reveló una temperatura máxima letal de $35.4 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ y $38.7 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ respectivamente. Sin embargo, no fue posible determinar la temperatura mínima letal ya que los organismos aclimatados a 18 y 30°C entraron en un estado de letargo a los $4.7 \pm 0.7^{\circ}\text{C}$ y $7.8 \pm 0.7^{\circ}\text{C}$, respectivamente, sin llegar a la muerte. En este mismo estudio, se observó que juveniles llevados a temperaturas de hasta 3.5 °C por arriba de la TCMáxima y 7.5 °C por debajo de la TCMínima (a razón de 1°C/minuto, sin alcanzar ni la letal ni la de letargo, en cada caso), presentaron una sobrevivencia y tasas de crecimiento estadísticamente similares a aquellos individuos que no habían sido expuestos a cambios térmicos agudos (control). Esto llevó al autor a concluir que *H. erectus* presenta una zona de tolerancia térmica amplia, con una gran capacidad para recuperarse de la exposición corta en duración, pero aguda, tanto a altas como a bajas temperaturas sin menoscabo del desempeño medido en procesos fisiológicos importantes que derivan en la acumulación de biomasa.

El único efecto térmico significativo en el estudio de Amaral (2013), sin embargo, estuvo asociado a la temperatura de aclimatación, ya que los juveniles aclimatados a 30°C

tuvieron tasas de crecimiento menores que aquellos aclimatados a 18°C. Estos resultados sugieren que los juveniles de *H. erectus* tiene gran capacidad de respuesta a eventos térmicos agudos, pero que ante una condición térmica elevada y constante puede verse disminuida su tasa de crecimiento. Las especies que ocupan ambientes térmicos variables cuentan con una plasticidad fenotípica con valor adaptativo, dichas especies poseen límites térmicos superiores altos, menor plasticidad en altas temperaturas, altas tasas metabólicas así como alta plasticidad metabólica (Magozzi y Calosi, 2014). La plasticidad metabólica registrada en una especie (CAAM), definida como la proporción de flujo de energía que queda disponible después de cubrir los costos de mantenimiento basales de un organismo (Sokolova et al., 2012), es la responsable de asegurar el suministro de energía suficiente para satisfacer las demandas en los tejidos dentro de un rango de temperatura (Pörtner, 2010). La teoría menciona que el campo aeróbico de actividad metabólica (CAAM) y la temperatura poseen una relación tal que cada especie se ha adaptado para alcanzar los valores máximos de CAAM de un intervalo de temperaturas dentro del óptimo. Con el aumento (o disminución) de la temperatura, el CAAM es mantenido a costa del incremento en el suministro de oxígeno hasta alcanzar el umbral "*pejus*", después de este punto la tolerancia depende exclusivamente del tiempo de exposición a la temperatura (Pörtner, 2010).

Balance energético y crecimiento.

La selección natural favorece aquellos individuos que utilizan la energía eficientemente, crecen rápido y se reproducen exitosamente (Pörtner et al., 2005). Los niveles en los que estos procesos operan son interdependientes, ya que todos ellos utilizan una parte de la energía fisiológicamente disponible. Por lo tanto, el crecimiento y éxito reproductivo de un organismo dependen del recambio energético (i. e. adquisición y uso de la energía fisiológicamente disponible), y están fuertemente influenciados por la temperatura y su variabilidad (Pörtner y Farrell, 2008).

De acuerdo con Lucas (1993), la energía puede ser definida como la cuantificación del intercambio y transformaciones de energía y materia entre el organismo y su

ambiente. Existen trabajos donde se hace uso del balance energético (BE) como herramienta para evaluar efectos como el de la temperatura, Sokolova et al., (2012) propuso integrar el balance energético (alcance aeróbico de crecimiento, reproducción, energía disponible en tejidos, tasa metabólica en depresión y compensación ante la anaerobiosis), para determinar los límites de tolerancia y adaptación al estrés incluido el térmico. Magozzi y Calosi (2014) también integran el desempeño metabólico junto con la tolerancia térmica y la plasticidad fisiológica, para elaborar mejores predicciones sobre la vulnerabilidad de las especies ante los efectos crónicos del aumento de la temperatura en el océano.

Como parte esencial del BE, los cambios en las tasas metabólicas han sido usados como una herramienta para determinar el impacto de diversos factores ambientales que experimentan los organismos tales como la temperatura, salinidad o exposición a contaminantes. Dicha tasa nos permite determinar los costos energéticos que tienen sobre el organismo (Stern et al., 1984; Lemos et al., 2001; Altinok y Grizzle, 2003; Manush et al., 2004; Brougher et al., 2005; Briceño-Jacques et al., 2010; García-Garrido et al., 2011; Noyola et al., 2013). La tasa metabólica, medida a través del consumo de oxígeno (VO_2), está íntimamente asociada con el trabajo metabólico y el flujo de energía que el organismo puede usar para los mecanismos de control homeostático (Salvato et al., 2001; Das et al., 2005). Hasta el momento sólo existen algunos resultados preliminares sobre los cambios en la tasa metabólica de juveniles de *H. erectus* sujetos a distintos tratamientos térmicos (Huipe-Zamora, 2015), donde parece existir un incremento en la tasa metabólica de juveniles *H. erectus* que fueron expuestos a temperaturas de 30°C por periodos de un mes, pese a esto, cuando los organismos permanecieron por un periodo más largo (6 meses) a esta misma temperatura se observaron signos de depresión metabólica, dichos resultados sugieren que mantener a los organismos por periodos muy prolongados bajo esta temperatura puede ocasionar la muerte de los organismos (Huipe-Zamora, 2015).

En el contexto de la acuicultura, se han realizado muchos trabajos de evaluación de crecimiento en función de la temperatura en caballitos de mar. Wong y Benzie (2003) evaluaron el efecto de la alimentación, densidad de cultivo, niveles de luz y la

temperatura, en el crecimiento de juveniles de *H. whitei*. Ellos encontraron que las tasas de crecimiento en peces cultivados durante 3 meses se incrementó de 0.14 mm/día⁻¹ a 17°C hasta 0.26 mm/día⁻¹ a 26°C. Sin embargo, observaron que varios índices de la condición corporal se redujeron con el incremento de temperatura, posiblemente como resultado del incremento de tasas metabólicas a altas temperaturas. Estos autores reportaron que la temperatura óptima para la reproducción fue a los 20°C.

Por otra parte, Sheng et al., (2006) encontraron que las tasas de ingestión de alimento de juveniles tempranos de *H. trimaculatus* dependieron significativamente de la temperatura del agua, con un máximo registrado en la tasa de alimentación a 26°C. Planas et al. (2012) evaluaron los efectos de la temperatura en el desarrollo y sobrevivencia de *H. guttulatus* con 30 días de nacidos, y concluyeron que las temperaturas entre 19-20°C son las recomendadas para el cultivo de esta especie en cautiverio. Quiang Lin et al., (2007) encontraron que el tiempo de incubación en *H. kuda* es más corto y la velocidad de liberación de juveniles al nacer aumenta, conforme aumenta la temperatura. Estos autores (Quiang Lin et al., 2006) también evaluaron el efecto de la variación de la temperatura sobre el desarrollo gonadal y la eficiencia de reproducción, y concluyeron que la temperatura optima fue de 28°C.

Actualmente se sabe mucho sobre los efectos de la aclimatación a temperaturas constantes en cuanto a la tolerancia térmica en un gran número de ectotermos marinos, pero se sabe muy poco sobre el efecto de la aclimatación de forma gradual sobre los principales indicadores de las respuestas fisiológicas y conductuales que describen la tolerancia térmica de los organismos. Tomando en cuenta las características de los singnátidos del género *Hippocampus* (poca movilidad, amplia distribución geográfica etc.) se ha considerado que, el caballito de mar *H. erectus* es un buen modelo para examinar los efectos de los cambios graduales de temperatura.

En este contexto surge la siguiente pregunta de investigación: ¿La fisiología energética, la preferencia térmica, y el crecimiento de los juveniles de *H. erectus* cambian

dependiendo de los escenarios de temperatura de aclimatación: i) temperatura alta y constante, y ii) temperatura que se incrementa de forma gradual?.

Hipótesis.

Dado que la temperatura de aclimatación tiene un efecto, en la tolerancia, resistencia y preferencia térmica, que afecta el recambio de energía y el crecimiento de los individuos, y que esta influencia, depende tanto de la temperatura como del tiempo de exposición. Se espera que los juveniles de *H. erectus* exhibirán variaciones en su preferencia térmica, balance energético, y crecimiento, dependiendo de dos escenarios de temperatura de aclimatación: i) temperatura alta y constante, y ii) temperatura que se incrementa de forma gradual.

Objetivos.

General

Evaluar el efecto del cambio gradual de la temperatura de aclimatación en la preferencia térmica, balance energético y crecimiento de *Hippocampus erectus*.

Particulares

- Evaluar el consumo de oxígeno (VO_2), tasa de ingestión (TI), incremento de calor aparente (ICA), preferencia térmica en un gradiente horizontal, temperatura crítica máxima (TCMax) y porcentaje de supervivencia en juveniles de *H. erectus* frente a distintos escenarios de temperatura de aclimatación: temperatura alta y constante vs. temperatura que se incrementa de forma gradual.
- Determinar la tasa de crecimiento de juveniles *H. erectus* ante distintos escenarios de temperatura de aclimatación: temperatura alta y constante vs. temperatura que se incrementa de forma gradual.

Materiales y Métodos.

Obtención y mantenimiento de los organismos.

Los juveniles de *H. erectus* fueron obtenidos a partir de adultos reproductores capturados directamente de la laguna Chelem, Yucatán, México (21°15'47"N y 89°43'40" W; permiso SGPA/DGVS/12741/13), y criados desde su nacimiento en condiciones de laboratorio. Durante los primeros 0-20 días de nacidos (crías) fueron alimentados con nauplios de *Artemia salina salina* enriquecida con DHA-protein-Selco MR (Hilomen-Garcia, 2003; Quintas et al., 2007) y mantenidos en acuarios de acrílico de 20L con una densidad de cultivo de 1.25 ind/L (Alexandre, 2009). A partir del día 20 y hasta el día 60 (etapa juvenil) fueron alimentados con metanauplios de *Artemia salina salina* enriquecida. De esta manera fueron obtenidas y criadas 3 camadas de juveniles provenientes de 3 machos, y que fueron agrupadas de acuerdo a su edad en Grupo 1 (nacidas entre octubre y noviembre de 2013) y Grupo 2 (nacidas entre mayo y junio de 2014). A partir de este momento el Grupo 1 (peso húmedo inicial de 1.96 ± 0.17 g) fue alimentado con *Artemia salina salina* adulta congelada y enriquecida (PROAQUA) tres veces al día durante 45 días. El Grupo 2 (peso inicial de 0.92 ± 0.05 g), fue alimentado tres veces al día con una mezcla de 75% *Artemia salina salina* adulta cultivada en el Área de Alimento Vivo de la Unidad Académica Sisal (enriquecida como se describe anteriormente) y 25% anfípodos congelados (*Elasmopus pecteniscrus*) cosechados a partir de estanques del Programa Pulpo de la misma unidad, durante 30 días. En el caso de ambos grupos, al final del día, los restos de alimento no consumido y las heces eran eliminadas mediante un sifón, siguiendo las recomendaciones de higiene y limpieza de otros autores (Planas et al., 2008; Faleiro et al., 2008).

Se llevaron a cabo dos experimentos, uno con cada grupo de organismos, utilizando los mismos métodos. Las diferencias entre cada experimento fueron: la fecha en que se realizaron, el peso (edad) de los organismos al inicio del experimento y el tipo de alimento que había sido suministrado durante el experimento. Los organismos fueron alojados en tres sistemas de acuarios independientes, cada uno con 5 unidades de vidrio

(6 mm de espesor de hoja) 30 x 50 x 70 cm (ancho, largo y alto). Dichos acuarios formaban parte de un sistema cerrado de recirculación, conectados a un reservorio de 150L con agua de mar filtrada. Los recambios de agua del sistema se realizaron de acuerdo con las mediciones de los niveles de nitritos y amonio realizadas quincenalmente con la ayuda de un kit de medición comercial (RED SEA^R). Para ambos experimentos los juveniles se mantuvieron desde su nacimiento y hasta el inicio de los experimentos a una temperatura de 25 ± 0.5 °C, de tal manera que ningún individuo tuvo antecedentes térmicos fuera de este intervalo. Durante todo el periodo de cría y hasta el final del experimento, el fotoperiodo se mantuvo en 12 h oscuridad, 1 h media luz, 10 h de luminosidad total y 1 h de media luz. Tanto este fotoperiodo, como los parámetros físico-químicos del agua fueron los recomendados para el cultivo de juveniles y recién nacidos de *H. erectus* (Quiang et al., 2008).

Periodo de preparación.

Para cada experimento se emplearon un total de 135 juveniles de *H. erectus* que fueron separados aleatoria y equitativamente en tres sistemas de recirculación (sistemas A, B y C, con las características mencionados anteriormente) a razón de 45 organismos por sistema (9 organismos/pecera). En el sistema A, se incrementó de temperatura desde 25°C hasta 30°C a razón de 1°C por día (durante 5 días). Para elevar la temperatura se utilizaron dos calentadores sumergibles (BioPro H-100) de 300 watts cada uno, directamente en el reservorio del sistema de recirculación. Los sistemas B y C se mantuvieron con la temperatura en 25°C constante durante los 5 días en que se llevó a cabo el aumento de temperatura en el sistema A.

Periodo de exposición

Inmediatamente después del periodo de preparación y antes de comenzar el de exposición, se llevó a cabo el registro del peso inicial (OAHUS Scout II SC200) de todos los organismos, así como el marcaje individual utilizando cuentas de plástico de colores

atadas con un monofilamento de nylon (3 mm de grosor) alrededor del cuello de los caballitos de mar. Este procedimiento de marcado no altera el comportamiento o la salud del caballito de mar (Vincent y Sadler, 1995; Jiménez-García, 2011; Muñoz Arroyo, 2012). A partir de entonces, los caballitos de los distintos sistemas fueron sometidos a un periodo de exposición térmica con base en los tratamientos térmicos y cuya nomenclatura es la siguiente:

- I. Tratamiento 30°C constante (30-C): Los caballitos del sistema A, fueron mantenidos a una temperatura de 30°C constante durante 30 días.
- II. Tratamiento Rampa (Rampa): Los caballitos del sistema B, fueron expuestos a un incremento térmico a razón de 1°C cada 5 días desde los 25°C hasta llegar a los 30°C (a lo largo de 30 días en total).
- III. Tratamiento 25°C constante (25-C): Los caballitos del sistema C, fueron mantenidos a una temperatura de 25°C constante, durante los mismos 30 días.

Para garantizar el aumento de temperatura de manera gradual dentro del tratamiento Rampa, se utilizaron dos calentadores sumergibles (BioPro H-100) de 300 watts y un enfriador (Resun CL-600).

Pruebas de valoración del desempeño bajo los distintos escenarios de exposición a la temperatura.

Sobrevivencia y crecimiento

El porcentaje de sobrevivencia se estimó considerando la totalidad el periodo experimental, desde el inicio del periodo de exposición hasta el comienzo de las pruebas que se describen a continuación (30 días). Esto se hizo mediante el registro de las mortandades por pecera y tratamiento cada 5 días.

La tasa de crecimiento relativa diaria (TCE% día⁻¹) se calculó de la siguiente manera:

$$TCE\% = \left(\frac{\ln Pf - \ln Pi}{t} \right) 100$$

Donde \ln es el logaritmo natural, pf es el peso final, pi es el peso inicial, t es la cantidad de tiempo (días) transcurridos desde el inicio del periodo de exposición y hasta el inicio de las pruebas (30 días después).

Preferencia térmica en un gradiente horizontal.

Para conocer el efecto del tratamiento térmico previo en la preferencia térmica de juveniles de *H. erectus* se empleó el método agudo descrito por Reynolds y Casterlin (1979), en un gradiente horizontal térmico (*GHT*) como el descrito por Díaz et al. (2006). El gradiente consistió en un tubo de PVC de 400cm de largo y 20 cm de diámetro, con 20 segmentos virtuales de 20 cm cada uno (**Imagen 1**). En el centro de cada segmento se encontraba una rafia trenzada para que los organismos pudieran sujetarse del segmento de su elección. La profundidad de la columna de agua dentro del tubo fue de 15 cm. Con un enfriador (PolyScience FT25) en un extremo y un calentador (MOELLER) de 1200 W hacia el otro extremo, se mantuvo el intervalo de temperatura dentro del tubo desde $20 \pm 1.5^\circ\text{C}$ en un extremo hasta $35 \pm 1.2^\circ\text{C}$ en el otro extremo. El tubo contaba con una manguera de aireación a todo su largo para evitar la estratificación de la temperatura en la columna de agua, y que a su vez ayudó a mantener el gradiente térmico entre 20 y 35°C con incrementos de 1°C cada 17 cm, aproximadamente.

En cada experimento, 10 organismos fueron seleccionados al azar de cada sistema, representando cada uno de los tratamientos térmicos experimentales (un total de 30 organismos). Las pruebas de gradiente consistieron en introducir a los caballitos individualmente en el segmento virtual del gradiente cuya temperatura era lo más similar a la temperatura de aclimatación de la cual provenían, y registrar el intervalo de su

posición final en el mismo. Así mismo, se registró la temperatura del agua tanto del intervalo de entrada al gradiente como el de la posición final mediante un termómetro digital (Cooper DPP400W $\pm 1^\circ\text{C}$). El criterio para definir la posición final de un individuo en el *GHT* fue establecido a partir de pruebas preliminares, en las que se observó que la selección del intervalo no varía marcadamente en un lapso de entre 10 y 30 minutos, tal y como fue observado previamente (Huipe-Zamora, 2015).

Con la finalidad de descartar la posibilidad de que los caballitos estuviesen seleccionando una zona del *GHT* por motivos distintos a la temperatura del agua, se realizaron pruebas con los mismos individuos utilizados anteriormente (control). En este caso cada organismo era introducido en el mismo segmento del tubo que en la prueba de gradiente, pero el tubo contenía agua a la misma temperatura del sistema de donde provenían: a 30°C los individuos del sistema A y B, y a 25°C el sistema C. El intervalo final elegido por cada individuo fue registrado de la misma manera que en las pruebas de gradiente, y la temperatura del agua medida en cada caso (sólo para corroborar la constancia en la temperatura). Con la finalidad de evitar cualquier interferencia con el alimento (Rosas, 2003), los caballitos de mar no fueron alimentados 24 horas antes de realizar las pruebas de preferencia térmica. Asimismo, para evitar un potencial efecto de la posición relativa del gradiente en el laboratorio sobre la elección del segmento, en el caso del Experimento 1 el extremo frío se mantuvo del lado izquierdo del gradiente, mientras que en el Experimento 2 se mantuvo del lado derecho.



Imagen 1. Gradiente horizontal térmico (GHT) empleado para conocer la preferencia térmica de juveniles de *H. erectus*.

Temperatura crítica máxima (TCMax).

Para conocer el efecto del tratamiento térmico previo en la TCMax de juveniles de *H. erectus*, se utilizó un acuario de vidrio con 25 L de agua de mar que funcionó como baño termorregulador (**Imagen 2**). Este contaba con una piedra aireadora para mantener el oxígeno disponible y una cabeza de poder (Boyu SP1800, 1100 L/h) para hacer recircular el agua y evitar la estratificación de temperatura. En un extremo del acuario y separado por una malla de plástico, se introdujo un calentador de inmersión de 1000 W cuya finalidad era incrementar la temperatura del agua a una tasa de $1^{\circ}\text{C min}^{-1}$ siguiendo la metodología de Lutterschmidt y Hutchison (1997). Con la finalidad de proveer a los juveniles de *H. erectus* de estructuras de sujeción se introdujeron 4 rafias trenzadas similares a las utilizadas durante el mantenimiento de los individuos experimentales.



Imagen 2. Dispositivo empleado para conocer la temperatura crítica máxima de juveniles de *H. erectus*. (Foto: López Ripoll E.).

En cada experimento se emplearon un total de 16 juveniles de *H. erectus* seleccionados al azar provenientes de cada tratamiento térmico, de los cuales 8 fueron utilizados para las determinaciones de la TCMax y 8 fueron sometidos a la misma manipulación, pero la temperatura del baño térmico se mantuvo constante (control). La observación e identificación de las conductas de respuesta al incremento térmico se

basaron en lo descrito por Amaral (2013) para la misma especie e intervalos térmicos (Tabla 1).

Tabla 1. Descripción de los comportamientos presentados (y la temperatura promedio \pm desviación estándar; n=6) por juveniles de *H. erectus* aclimatados a temperatura constante de 18 y 30°C durante un mes al ser expuestos a un incremento térmico de 1°C por minuto (Amaral, 2013).

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 \pm 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 \pm 0.8	Estrés. (Es)
Hocico abajo sin Incorporarse. (HAI)	29°C \pm 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 \pm 0.8	Hocico abajo sin Incorporarse. (HAI)
Convulsiones. (C)	33.1°C \pm 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 \pm 1.2	Convulsiones. (C)
Muerte. (M)	35.4°C \pm 0.5	-Cese de la respiración. -Cuerpo totalmente rígido. -Cola totalmente enroscada. -Boca abierta.	38.7°C \pm 0.5	Muerte. (M)

Las pruebas de TCM_{ax} consistieron en introducir simultáneamente a 2 juveniles de *H. erectus* en el baño con agua a la temperatura de cada tratamiento térmico correspondiente, aumentar la temperatura 1°C min⁻¹ y registrar la conducta de respuesta de cada uno conforme se daba el incremento térmico. En el instante en que cada individuo por separado presento espasmos musculares, éste fue extraído del acuario y se registró el tiempo transcurrido, así como la temperatura final del agua con un termómetro digital (Cooper DPP400W \pm 1°C). Los individuos fueron inmediatamente colocados dentro de cámaras respirométricas con agua a la temperatura del tratamiento térmico correspondiente. Con la finalidad de evaluar la recuperación de los caballitos a la

exposición a la TCMax, se realizaron mediciones continuas de consumo de oxígeno (VO₂) durante las 12 horas posteriores mediante un oxímetro de 10 canales (OXY 10 PreSens; véase la descripción detallada de este procedimiento más adelante).

Balance energético parcial.

La evaluación del balance energético parcial se realizó únicamente en los caballitos del Experimento 2 y se llevó a cabo utilizando las ecuaciones de Lucas (1993):

$$I = H + N + R + P$$

Donde I es la energía obtenida del alimento, H es la energía perdida por excreción fecal, N es la energía perdida por excreción nitrogenada, R es la energía invertida en el metabolismo respiratorio, P es la energía canalizada para la producción de biomasa. Todos los valores obtenidos fueron expresados en unidades de energía (joules g⁻¹ peso seco día⁻¹). Para este trabajo, el balance energético parcial se obtuvo a partir de los valores obtenidos de la tasa de ingestión, la respiración (consumo de oxígeno) y la producción de biomasa obtenida del crecimiento de los caballitos de mar bajo los diferentes escenarios de aclimatación. La energía de asimilación fue calculada como:

$$AS = R + P$$

La energía perdida en los productos de la excreción nitrogenada y productos fecales no fue objetivo de evaluación para este trabajo.

Respiración (R).

Para evaluar el efecto del tratamiento térmico previo sobre el balance energético parcial de juveniles de *H. erectus*, 8 organismos elegidos al azar de cada tratamiento fueron introducidos individualmente en cámaras respirométricas de 250 de ml con agua de mar a la temperatura del tratamiento del que procedían. Las cámaras estaban conectadas a un sistema de recirculación con un reservorio de 80 L impulsado por una cabeza de poder (Resun SP2500, 1400 L/h), con la cual se mantuvo un flujo de entrada de

agua de mar por cámara de 1 ml/s. La temperatura del agua fue regulada por un controlador térmico (Resun CW1000).

Los organismos fueron mantenidos dentro de las cámaras respirométricas desde las 7:00 pm para obtener el VO_2 basal o de reposo registrado cada minuto durante la noche. A las 10:00 am del día siguiente los caballitos fueron alimentados dentro de las cámaras respirométricas de manera correspondiente al alimento usado en cada grupo: en el Experimento 1 se suministró *Artemia salina* adulta enriquecida y descongelada (PROAQUA); para el Experimento 2 se suministró *Artemia salina* enriquecida y anfípodos (75 y 25% respectivamente). El alimento se suministró en una ración del 20% del peso húmedo del caballito de mar en una sola toma, de tal forma que la cantidad de alimento suministrado correspondió a una sola toma de alimento diario en la crianza de los caballitos de mar en el área experimental. El VO_2 registrado durante cada minuto durante las 8 horas siguientes de haber alimentado fue registrado mediante computadora. Todos los caballitos estuvieron bajo ayuno durante 18-20 horas previo a los experimentos de respirometría con el fin de evitar los efectos que pudiera tener la alimentación en la tasa respiratoria. El VO_2 se determinó a partir de la diferencia entre la concentración de oxígeno registrado en la entrada y la salida de cada cámara, y fue expresado como $mg\ O_2\ g^{-1}\ h^{-1}$ mediante la siguiente fórmula:

$$VO_2 = (([O_2\ mg/L]_{\text{entrada}} - [O_2\ mg/L]_{\text{salida}}) \times \text{flujo (L/h)}) / \text{peso (g)}$$

Donde VO_2 es el consumo de oxígeno expresado en mg por hora por organismo; $O_2\ mg/L$ ¹_{entrada} es la concentración de O_2 en el agua que entra a la cámara respirométrica; $O_2\ mg/L$ ¹_{salida} es la concentración de O_2 en el agua que sale de la cámara respirométrica; el flujo (L/h) es la corriente de agua a una velocidad conocida y el peso vivo es referente a los organismos expresado en gramos. Se contó con una cámara vacía (sin organismo), la cual se introdujo alimento y sirvió como control de la respiración por bacterias y algas presentes en el agua del sistema respirométrico.

Tasa de ingestión (I)

Al término de la prueba de VO_2 , los restos de alimento fueron retirados, enjuagados con agua dulce y secados a 60°C durante 24 horas en una estufa de secado (TERLAB). El procedimiento de secado se repitió durante tres días continuos para obtener el peso seco de la materia no ingerida con una balanza analítica (OAHUS Adventurer AR-2140). La tasa de ingestión se determinó por la diferencia entre el peso seco conocido del alimento proporcionado y el alimento seco residual obtenido dentro de las cámaras respirométricas. El alimento ingerido fue multiplicado por el contenido de energía del alimento empleado para ambos experimentos: para el Experimento 1 correspondió a 23024 Jg^{-1} ; para el Experimento 2 correspondió a 20291 Jg^{-1} . En ambos casos el alimento ingerido fue expresado como joules g^{-1} peso seco día^{-1} . Para la conversión del peso seco se consideró que los juveniles de *H. erectus* tuvieron un contenido de agua del 70%.

Incremento de calor aparente (ICA).

De acuerdo con Lucas (1993) el ICA puede ser definido como la cantidad de energía necesaria para las transformaciones mecánicas y bioquímicas del alimento tanto durante su ingestión como durante la digestión de contacto. El ICA fue evaluado a partir de las mediciones del (VO_2), y fue calculado como la diferencia entre el VO_2 máximo obtenido después del alimento y la respiración de rutina donde el organismo se encuentra en reposo (Rosas et al., 2003). Para ello, los valores de consumo de O_2 fueron transformados a sus equivalentes energéticos utilizando el coeficiente oxicalórico de 13.6 mgO_2 consumido Joule^{-1} y fue obtenido mediante la siguiente fórmula.

$$\text{ICA} = \text{Rmax} - \text{Rrut}$$

Donde Rmax es la tasa respiratoria máxima obtenida después de la alimentación y Rrut la respiración de animales mantenidos en ayuno por 18-20 hora. La tasa respiratoria fue convertida a valores por día considerando las horas que los caballitos de mar pasaron en condiciones de rutina, y el tiempo que les tomó alcanzar el pico de máxima actividad

metabólica posterior a la alimentación (tomando en cuenta que los organismos son alimentados 3 veces al día). Esto permitió expresarla R_{rut} y R_{max} como joules g^{-1} peso seco día⁻¹.

Producción (P).

Para ambos experimentos se llevó un seguimiento individual de los peces a través del tiempo desde el marcaje y hasta el final del periodo de exposición, de acuerdo a la fórmula:

$$Biomasa = \frac{pf - pi}{t} = g \text{ día}^{-1}$$

donde, pf es el peso final, pi es el peso inicial, t es el tiempo en días. A esta biomasa producida se le multiplicó por el factor de conversión de 14938 joules g^{-1} de peso seco obtenido mediante un análisis calorimétrico de *H. erectus* realizado previamente (Rosas et al., 2003). Esto permitió expresar los datos de producción (P) como joules g^{-1} peso seco día⁻¹.

Análisis estadístico de resultados.

La preferencia térmica fue analizada mediante pruebas de t de Student pareadas en las que se comparó la temperatura del agua del segmento donde cada individuo era liberado en el *GHT* con aquella registrada en el segmento elegido. Dado que los caballitos fueron siempre liberados en zonas del *GHT* donde la temperatura fuese similar a la del tratamiento de origen, de existir una diferencia entre ambas temperaturas ($\Delta T^{\circ}C \neq 0$), se consideraba que los caballitos habían elegido una temperatura (preferida) diferente de la que provenían (temperatura de exposición).

Para asegurar que no existía una influencia de las condiciones del *GHT* diferentes de la temperatura sobre la elección del segmento (por ejemplo, que los caballitos no permanecieran sedentarios en la entrada al *GHT*, o que no eligieran un segmento por

estar más alejado del ruido o la luz), se compararon visualmente la distribución de los individuos a lo largo del *GHT* en condición de control y de gradiente.

Para determinar si existían diferencias entre las temperaturas elegidas por los caballitos de los distintos tratamientos y experimentos, así como entre los valores de *TCMax* registrados en cada caso se utilizó un modelo de ANOVA que consideró el 'tratamiento térmico' como factor fijo (3 niveles: 25°C constante, Rampa de 25-30°C y 30°C constante) y el peso húmedo (g) de los caballitos como co-variable en el diseño. Así mismo, se usó 'experimento' como factor aleatorio anidado (2 niveles: 1 y 2). La introducción de estos términos en el modelo permitió hacer estimaciones precisas de las medias de cada nivel del tratamiento térmico, así como de la magnitud de sus diferencias. Si el factor aleatorio 'experimento' y la co-variable peso no resultaban significativos, se procedía a comparar las medias de los tres niveles de tratamientos mediante pruebas de Tukey. Los resultados de las temperaturas elegidas en cada tratamiento térmico fueron representados gráficamente junto con la isoterma (línea donde la temperatura elegida y la de exposición previa o aclimatación son iguales). El *preferendum* final fue considerado como el punto en el eje de las abscisas donde ambas líneas se cruzan, y corresponde con la media general de las temperaturas preferidas.

El consumo de oxígeno de rutina y máximo post-alimentario de los caballitos y la tasa específica de crecimiento fueron examinadas mediante un ANOVA similar al anterior, pero con la diferencia de que el peso húmedo no fue considerado como co-variable dado que ésta variable fue incorporada al realizar los cálculos de consumo de oxígeno de los individuos.

En todos los casos, se verificó que fuesen cumplidos los supuestos de los modelos de ANOVA (normalidad, homogeneidad de las varianzas e independencia estadística) mediante la inspección visual de los residuales (Zuur et al.,2007).

Las diferencias en el balance energético de los caballitos sometidos a los distintos tratamientos térmicos fueron examinadas mediante un análisis de coordenadas principales (PCO) sobre la matriz de distancias euclidianas calculadas entre individuos (Legendre y Legendre, 1998). Las variables de BE consideradas fueron producción (P), respiración total (Rtot), y tasa de ingestión (I), medidas en joules $\text{g ps}^{-1} \text{ día}^{-1}$. Previo al análisis los valores fueron transformados (raíz cuadrada) y normalizados. Sobre la matriz de disimilitudes se aplicó un ANOVA múltiple con permutaciones para distinguir entre tratamientos térmicos (modelo de ANOVA de un factor fijo con tres niveles). Para ello se utilizaron 9999 permutaciones de los residuales bajo el modelo reducido (Anderson 2001; McArdle & Anderson 2001).

Resultados.

En general, los resultados mostraron que existió un efecto significativo del tipo de aclimatación en las respuestas de sobrevivencia, crecimiento, balance energético y temperatura crítica máxima de los juveniles de *H. erectus*. Durante el periodo de 30 días de exposición, se observó que los animales expuestos a la Rampa, mostraron respuestas diferentes a los animales mantenidos en temperatura de 25-C y 30-C.

Sobrevivencia.

La sobrevivencia, calculada como el porcentaje de los individuos vivos al final del periodo de exposición (30 días) fue similar cuando se compararon el experimento 1 y el 2, lo que permitió conjuntar los datos de ambos, tanto en el análisis como en su representación gráfica.

La menor sobrevivencia se observó en los animales expuestos a 30-C, con un porcentaje final de 73.6%. La mortandad de estos organismos comenzó a partir del día 15 y fue aumentando hasta el final de periodo de exposición a la temperatura (días 25-30). La mayor sobrevivencia final fue registrada en el tratamiento Rampa seguido del tratamiento 25-C (97.7 y 94.2% respectivamente). Cabe resaltar que los caballitos del tratamiento 25-C

empezaron a morir a partir del día 15, mientras que en el tratamiento Rampa la mortandad se empezó a registrar únicamente a partir del día 25 (**Figura 1**).

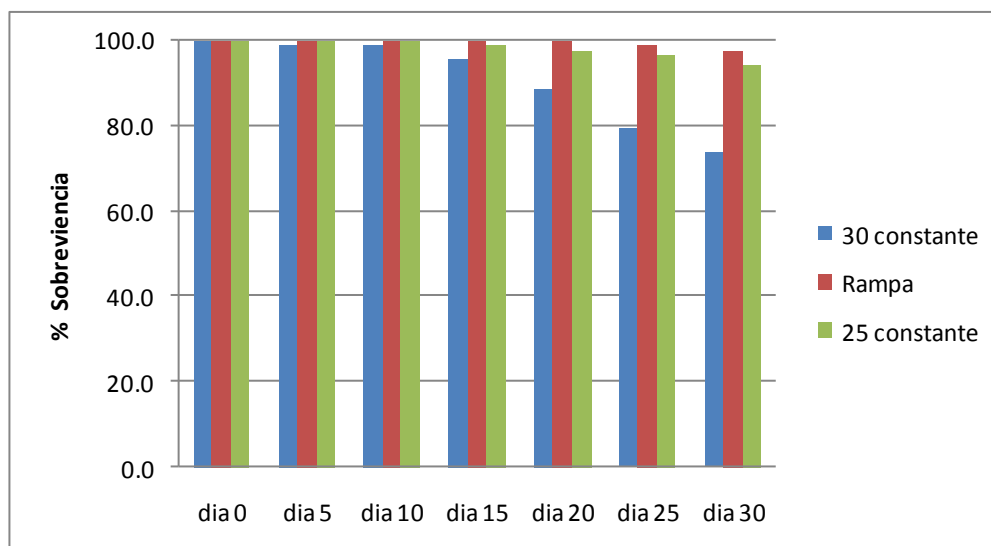


Figura 1. Sobrevivencia (%) de juveniles *H. erectus* sometidos a tres tratamientos de exposición térmica 25°C constante, Rampa y 30°C constante por 30 días, durante los Experimentos 1 y 2 (datos en conjunto).

Crecimiento.

Durante el Experimento 1, el cambio en biomasa a lo largo del tiempo (TCE% día⁻¹) fue en decremento, y se registraron tasas negativas de crecimiento de los juveniles *H. erectus* en todos los tratamientos por igual. Estos resultados, claramente indicaron que los organismos de este experimento estuvieron en una condición de estrés nutricional independientemente de la temperatura, por lo que el efecto de la exposición térmica en el crecimiento únicamente fue analizado en los caballitos del Experimento 2. En este caso, el análisis estadístico mostró diferencias significativas entre los tratamientos térmicos ($F = 19.9$; $p < 0.0001$), con un menor crecimiento en los animales expuestos a 30-C (TCE% día⁻¹ = 0.48 ± 0.32) comparado con aquel registrado en los organismos expuestos a la Rampa y a 25-C (TCE% día⁻¹ = 1.10 ± 0.49 y 1.05 ± 0.41 , respectivamente; $P > 0.05$), (**Figura 2**).

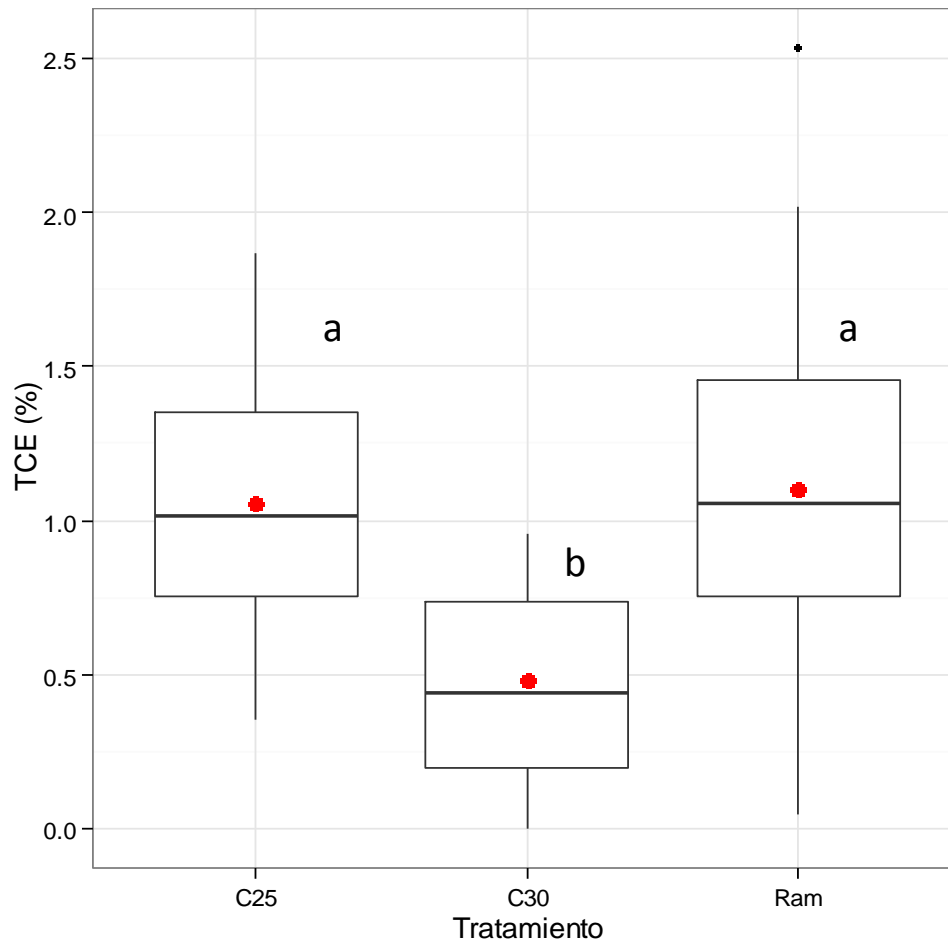


Figura 2. Tasa de crecimiento específico (TCE% día⁻¹) de juveniles *H. erectus* sometidos a tres tratamientos de exposición térmica (25°C constante, Rampa de 25-30°C y 30°C constante por 30 días) durante el experimento 2. Diagrama de caja con media (punto), mediana (línea gruesa), 1er y 3er cuartiles, desviación estándar y valores atípicos. Diferentes letras indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$).

Preferencia térmica (PT).

Las pruebas de PT correspondientes al Experimento 1 y 2 mostraron que la distribución de los caballitos en el *GHT* en presencia de un gradiente térmico fue marcadamente más agregada que cuando los mismos individuos eran liberados en el *GHT* con una temperatura constante (**Figuras 3 y 4**), indicando un efecto de la diferencia térmica en el gradiente sobre la distribución espacial de los caballitos. La prueba de t para muestras

pareadas mostró que en ambos experimentos la temperatura registrada en el segmento de salida (Exp 1: $28.4 \pm 2.6^{\circ}\text{C}$; Exp. 2: $27.6 \pm 0.8^{\circ}\text{C}$) de los caballitos del tratamiento 25-C fue significativamente mayor que aquella registrada a su entrada en el *GHT* (Exp 1: $25 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$; Exp 2: $25 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$; **Tabla 2**), indicando que los *H. erectus* de 25-C eligieron una temperatura consistentemente mayor que aquella a la que habían sido expuestos.

Tabla 2. Resultados de las pruebas de t de Student pareadas sobre la diferencia entre la temperatura de salida y de entrada en un gradiente horizontal (preferencia térmica) de juveniles de *H. erectus* sometidos a tres tratamientos de exposición térmica: 25°C constante, Rampa de 25-30°C y 30°C constante por 30 días, durante los Experimentos 1 y 2 (por separado); ns indica diferencias no significativas; ** indica $p < 0.05$.

	25-Constante	Rampa (25-30°C)	30-Constante
Experimento 1	**	ns	ns
Experimento 2	**	**	ns

En el caso del tratamiento de 30-C, la temperatura registrada en el segmento de salida (Exp. 1: $29.9 \pm 1.8^{\circ}\text{C}$; Exp. 2: $29.3 \pm 2^{\circ}\text{C}$) fue estadísticamente similar al de la entrada (Exp. 1: $30 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$; Exp. 2: $30 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$; **Tabla 2**). La evidencia de que los caballitos de este tratamiento eligieron consistentemente la zona del *GHT* donde la temperatura era la de su preferencia, y que ésta coincidió con la de su entrada, puede verse al comparar los segmentos que estos mismos individuos eligieron en la condición control (temperatura constante a lo largo de todo el *GHT*; **Figuras 3 y 4**).

Los caballitos provenientes del tratamiento de rampa fueron liberados en el *GHT* en aquel segmento con temperatura cercana a los 30°C (temperatura a la estaban aclimatados durante el último periodo de 5 días). De no haber un efecto de la gradualidad inherente al tratamiento Rampa, se esperaría una respuesta similar en este tratamiento comparado con la de los caballitos del tratamiento de 30-C. Mientras que ese fue el caso del Experimento 1 (la temperatura de entrada $30^{\circ}\text{C} \pm 0.1$ y de salida $30^{\circ}\text{C} \pm 2.4$ fueron similares), en el Experimento 2 la prueba de t encontró que la temperatura elegida por los

caballitos ($28.3 \pm 0.9^{\circ}\text{C}$) fue significativamente menor que $30 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$ (**Tabla 2**). Cabe hacer notar que en este último caso, los juveniles de *H. erectus* se trasladaron a la derecha en el *GHT* por un máximo de 2 segmentos, y se congregaron en los segmentos 9 y 10 con una dispersión particularmente baja, resultando así en una diferencia que por ser significativa no deja de ser mínima.

A pesar de estas inconsistencias, el modelo de ANOVA para comparar la PT en *H. erectus* provenientes de los distintos tratamientos y experimentos mostró que los resultados de ambos experimentos fueron similares (*L. ratio* = 0.098; *p* = 0.7533), lo que permitió analizarlos en conjunto. Este análisis mostró que la PT de los caballitos estuvo determinada por el tratamiento de exposición térmica previo (*F* = 4.51; *p* < 0.05; **Tabla 3**). Los individuos expuestos a 30-C eligieron una temperatura significativamente superior a la elegida en 25-C y Rampa (*t* = 1.64; *p* < 0.001, **Tabla 3**), y los caballitos de éstos últimos eligieron temperaturas estadísticamente similares entre sí (*t* = 0.93; *p* = 0.10; **Figura 5**).

Tabla 3. Preferencia térmica ($^{\circ}\text{C}$) de juveniles de *H. erectus* sometidos a tres tratamientos de exposición térmica: 25 $^{\circ}\text{C}$ constante, Rampa de 25-30 $^{\circ}\text{C}$ y 30 $^{\circ}\text{C}$ constante por 30 días, durante los Experimentos 1 y 2 (datos por separado y en conjunto). Valores promedio \pm desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas *p* < 0.05.

	25 $^{\circ}\text{C}$ -Constante	Rampa (25-30 $^{\circ}\text{C}$)	30 $^{\circ}\text{C}$ -Constante
Experimento 1			
<i>n</i>	10	10	10
Promedio	28.4 ± 2.7	30.0 ± 2.5	29.9 ± 1.9
Experimento 2			
<i>n</i>	10	9	10
Promedio	27.7 ± 0.9	28.3 ± 0.9	29.3 ± 2.0
Ambos experimentos			
<i>n</i>	20	19	20
Promedio	$27.8 \pm 0.3_a$	$28.7 \pm 0.4_a$	$29.4 \pm 0.3_b$

Al comparar los resultados de PT en su conjunto con la línea de isoterma (**Figura 5**), se observa que el *preferendum* térmico final para los juveniles de *H. erectus* bajo estas condiciones corresponde a 28.8 $^{\circ}\text{C}$. Este punto representa la media de todas las

temperaturas elegidas, y teóricamente es el punto en el que la temperatura de aclimatación iguala la temperatura elegida.

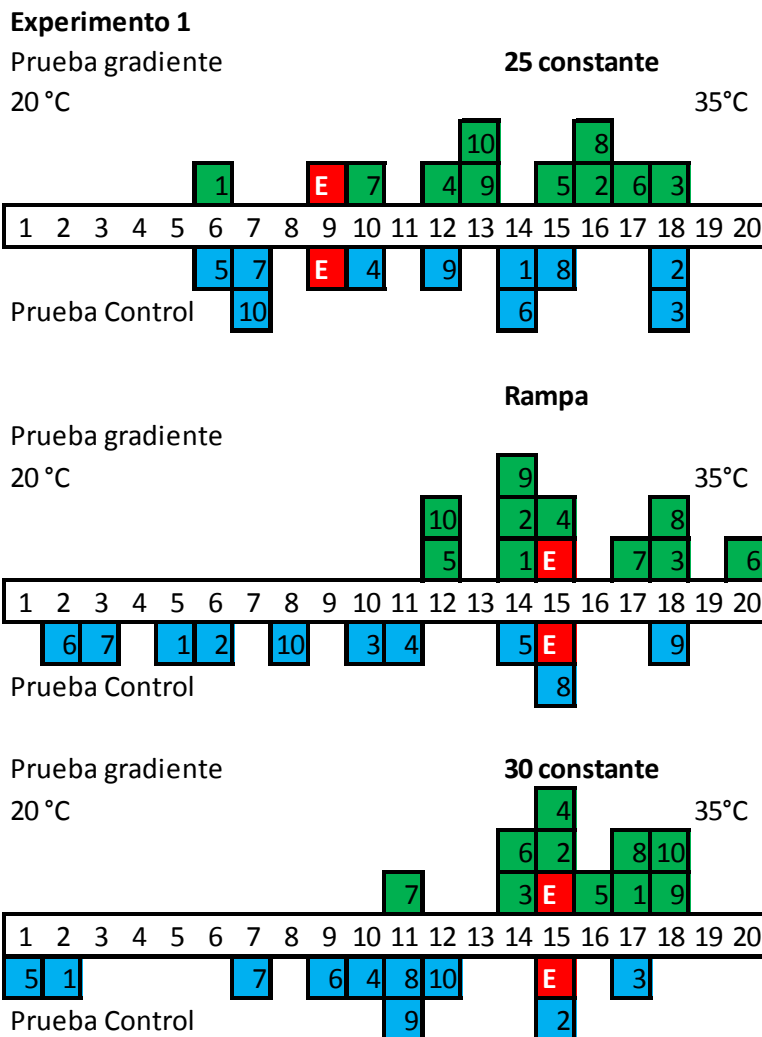


Figura 3. Preferencia térmica de juveniles *H. erectus* sometidos a tres tratamientos de exposición térmica: 25°C constante, Rampa de 25-30°C y 30°C constante por 30 días en un gradiente horizontal durante el Experimento 1. E = Sitios de entrada al inicio de la prueba, rectángulo blanco = *GHT* horizontal con segmentos numerados; cuadros verdes = segmentos de salida de la prueba bajo la condición gradiente (de 20 a 35°C); cuadros azules = segmentos de salida para la prueba bajo la condición control.

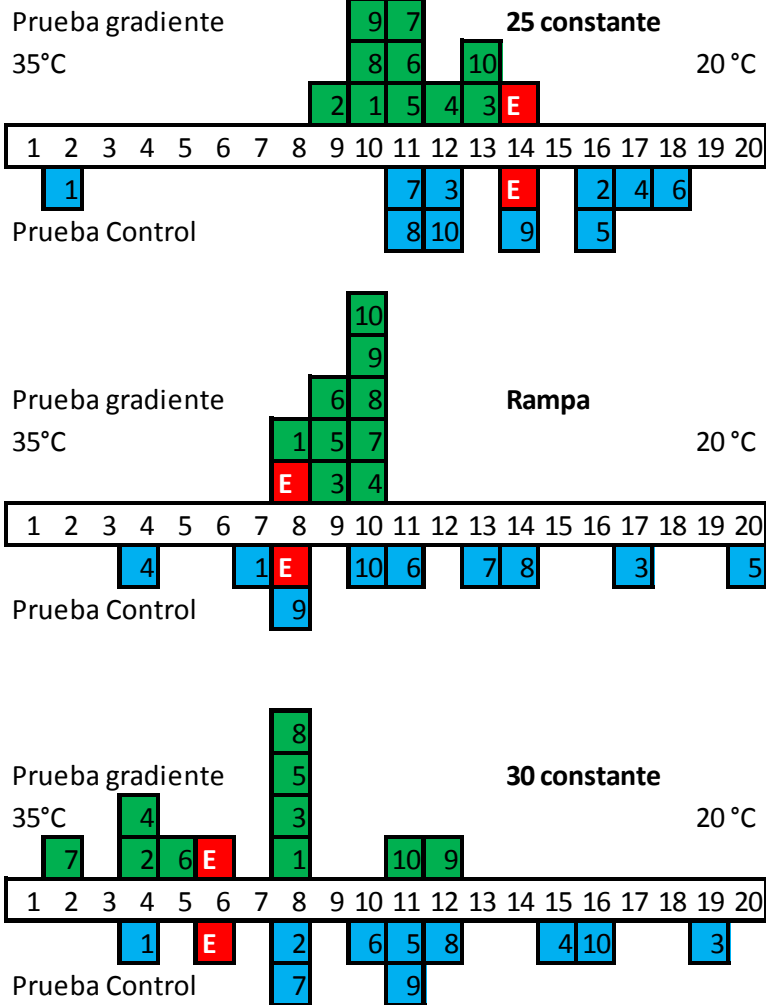
Experimento 2

Figura 4. Preferencia térmica de juveniles *H. erectus* sometidos a tres tratamientos de exposición térmica: 25°C constante, Rampa de 25-30°C y 30°C constante por 30 días en un gradiente horizontal durante el Experimento 2. E = Sitios de entrada al inicio de la prueba, rectángulo blanco = GHT horizontal con segmentos numerados; cuadros verdes = segmentos de salida de la prueba bajo la condición gradiente (de 35 a 20°C); cuadros azules = segmentos de salida para la prueba bajo la condición control.

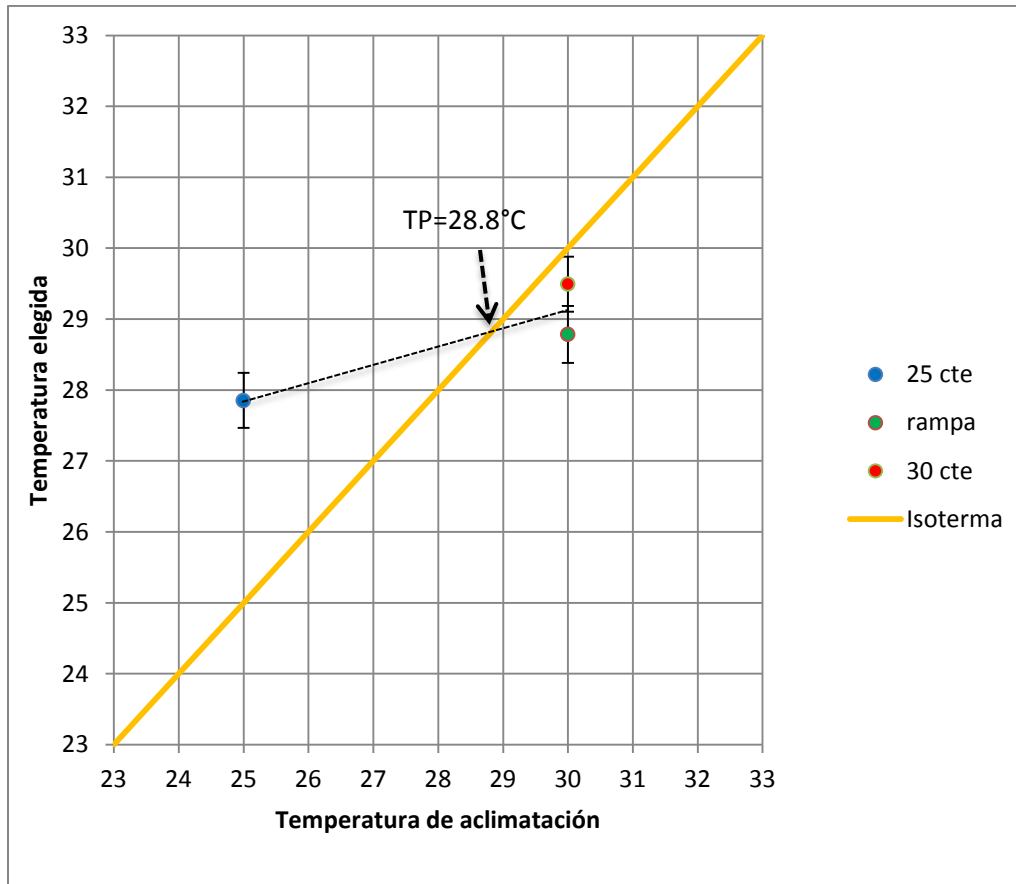


Figura 5. Relación entre temperatura preferida (media \pm error estándar residual) y temperatura de exposición de juveniles de *H. erectus* sometidos a tres tratamientos de exposición térmica: 25°C constante, Rampa de 25-30°C y 30°C constante por 30 días, durante los Experimentos 1 y 2 (datos en conjunto). Se muestra la línea que representa la isoterma (cuando la temperatura preferida es la misma que la de exposición). Nota: para efectos de mejorar la visualización gráfica, el valor del tratamiento 30°C constante se localizó en 30.5°C en el eje de las abscisas.

Temperatura Crítica Máxima (TCMax).

Los *H. erectus* que fueron sometidos a un incremento térmico agudo ($1^{\circ}\text{C min}^{-1}$), durante las pruebas de TCMax en el presente estudio, presentaron los mismos comportamientos y en la misma secuencia que los descritos por Amaral (2013). Aquí también se identificaron una actividad locomotriz desorganizada caracterizada por la pérdida del equilibrio y de la posición erecta (LE), seguido de la aparición de espasmos musculares involuntarios o convulsiones (OS), y esto ocurrió de forma consistente en los caballitos de ambos

experimentos. La aparición de OS fue el criterio utilizado para establecer el punto final de la TCMax en el presente estudio.

El modelo de ANOVA ajustado a la TCMax no encontró diferencias entre experimentos ($L. ratio = 1.99 \text{ e-}08$; $p = 0.99$), ni variación significativa en la respuesta que pudiera estar explicada por diferencias en el peso de los individuos ($F= 1.98$, $p= 0.17$), permitiendo conjuntarlos resultados de ambos experimentos para su análisis.

La TCMax de *H. erectus* dependió de forma significativa de los tratamientos de exposición a la temperatura ($F = 109.58$; $p < 0.001$), y las medias de TCMax de los tres tratamientos difirieron todas entre sí (t de 2.72 a 14.2; $p < 0.001$; **Tabla 4**). La TCMax registrada en el tratamiento 25-C fue inferior a la de 30-C, y ésta a su vez menor que la registrada en el tratamiento Rampa (**Figura 6**), evidenciando que la exposición a la temperatura de manera gradual produjo una respuesta en la tolerancia térmica de los juveniles de *H. erectus* distinta que la de una exposición constante a altas temperaturas.

Tabla 1. Temperatura crítica máxima (°C) de juveniles de *H. erectus* sometidos a tres tratamientos de exposición térmica (25°C constante, Rampa de 25-30°C y 30°C constante por 30 días) durante los Experimentos 1 y 2 (datos por separado). Valores son promedio \pm desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

	25°C-Constante	Rampa (25-30°C)	30°C-Constante
Experimento 1	n = 8	n = 7	n = 2
Promedio	31.2 \pm 1.1	37.8 \pm 0.8	37.1 \pm 0.9
Experimento 2	n = 8	n = 7	n = 8
Promedio	32.4 \pm 1.3	37.6 \pm 0.9	36.2 \pm 0.8
Ambos experimentos	n = 16	n = 14	n = 10
Promedio	31.9 \pm 1.4 _a	37.8 \pm 0.9 _b	36.5 \pm 1 _c

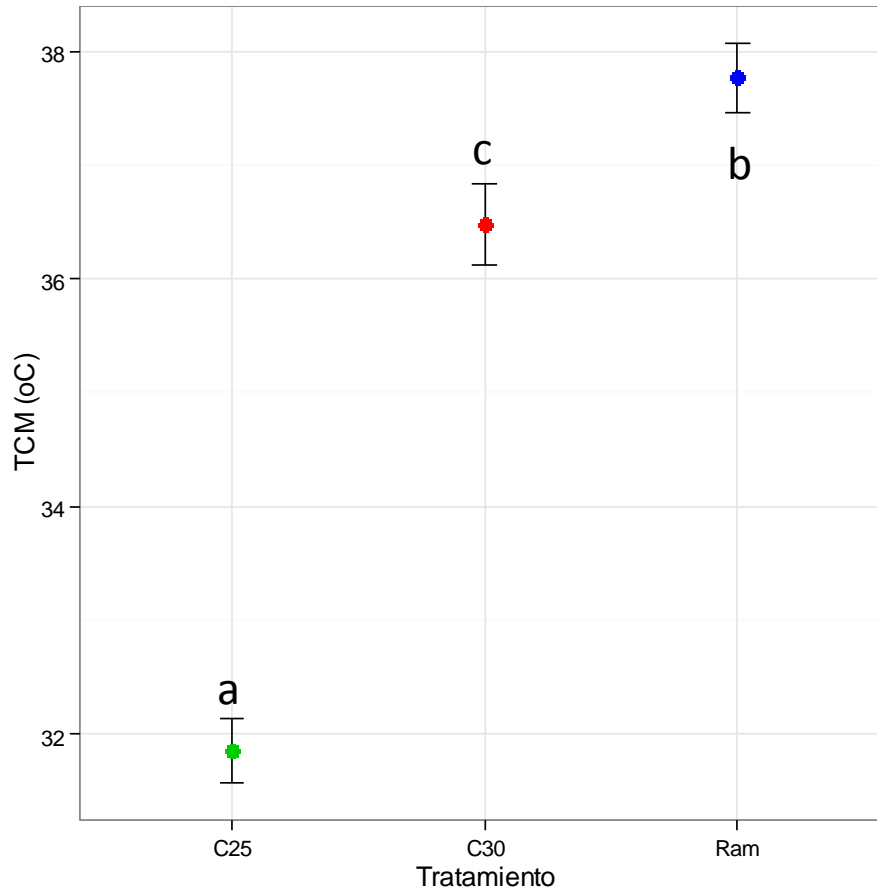


Figura 6. Temperatura Crítica Máxima (°C) de juveniles *H. erectus* sometidos a tres tratamientos de exposición térmica (25°C constante, Rampa de 25-30°C y 30°C constante por 30 días), durante los experimentos 1 y 2 (datos en conjunto). Valores son promedio \pm error estándar residual.

Consumo de oxígeno (VO₂).

El análisis estadístico del VO₂ mostró diferencias significativas entre los resultados de los dos experimentos ($L. ratio = 15.79$; $p < 0.0001$), por lo que no fue posible analizar todos los datos en conjunto. Sin embargo el análisis por separado, tampoco arrojó una conclusión contundente, ya que las respuestas de VO₂ del Experimento 1 habían sido medidas en organismos que se encontraban bajo una condición de estrés nutricional. Por otra parte, el número de datos en el Experimento 2 no fue suficiente y se encontró una variabilidad considerable. Estas características inherentes a los datos de VO₂ obligaron a

un análisis meramente gráfico, sin emplear pruebas de hipótesis cuyas conclusiones serían de cualquier modo poco confiables.

En el caso del Experimento 2, el VO_2 fue afectado por el tratamiento exposición térmica (**Figura 7**). En el tratamiento 25-Cse registró el mayor volumen de oxígeno respirado para los tres índices medidos (Rrut, Rmax y Rica). Sin embargo, los valores de VO_2 de los tratamientos Rampa y 30-C fueron similares, respectivamente (**Tabla 5**).

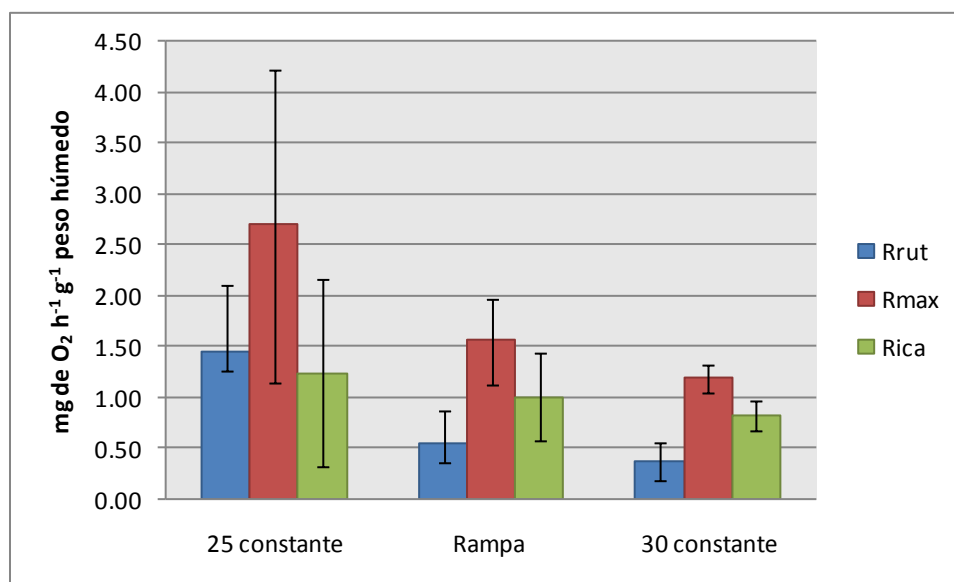


Figura 7. Consumo de oxígeno (mg de O_2 h^{-1} g^{-1} de peso húmedo) de juveniles *H. erectus* sometidos a tres tratamientos de exposición térmica ($25^{\circ}C$ constante, Rampa de $25-30^{\circ}C$ y $30^{\circ}C$ constante por 30 días) durante el Experimento 2. Valores promedio \pm desviación estándar. Rrut = consumo de oxígeno de rutina, Rmax = consumo de oxígeno máximo post alimentario y Rica = incremento de calor aparente (Rmax - Rrut).

Debido a que a lo largo de este estudio el tratamiento 25-C jugó un papel de tratamiento control, se pudo apreciar que los valores normales de respiración de los caballitos oscilaron entre 1.5 mg de O_2 h^{-1} g^{-1} de peso húmedo de respiración de rutina (Rrut; **Tabla 5**) para individuos mantenidos en temperatura "óptima" para el cultivo de la especie. Asimismo, se pudo apreciar que el efecto de un incremento térmico, fue de manera constante y sostenida (30-C) o gradual (Rampa) fue el de disminuir la cantidad de oxígeno consumido hasta 0.3 y 0.5 mg de O_2 h^{-1} g^{-1} , respectivamente (**Figura 7**), indicando

depresión del metabolismo. Pese a esta depresión metabólica, el rendimiento de los organismos para respirar en altas temperaturas fue ligeramente mayor en el tratamiento Rampa comparado con 30-C, tanto en la respiración de rutina (Rrut) como en la respiración máxima post alimentaria (Rmax) de ambos tratamientos (Experimento 2; **Tabla 5**).

Tabla 5. Valores medios (\pm desviación estándar) de consumo de oxígeno ($\text{mg de O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de peso húmedo) de juveniles *H. erectus* sometidos a tres tratamientos de exposición térmica (25°C constante, Rampa de 25-30°C y 30°C constante por 30 días), durante los Experimentos 1 y 2. Rrut = consumo de oxígeno de rutina, Rmax = consumo de oxígeno máximo post alimentario y Rica = incremento de calor aparente ($\text{Rmax} - \text{Rrut}$); n es el número de valores en cada caso.

	25°C-Constante	Rampa (25-30°C)	30°C-Constante
Experimento 1	n = 5	n = 6	n = 6
Rrut	1.5 \pm 0.3	1.6 \pm 0.6	2 \pm 0.5
Rica	1 \pm 0.4	0.9 \pm 0.3	0.6 \pm 0.1
Rmax	2.6 \pm 0.7	2.5 \pm 0.8	2.6 \pm 0.6
Experimento 2	n = 4	n = 5	n = 7
Rrut	1.4 \pm 0.6	0.5 \pm 0.3	0.3 \pm 0.1
Rica	1.2 \pm 0.9	1 \pm 0.4	0.8 \pm 0.1
Rmax	2.6 \pm 1.5	1.5 \pm 0.4	1.1 \pm 0.1

Balance energético parcial (BE).

Las evaluaciones de BE se realizaron únicamente con los organismos del Experimento 2, debido a que éstos organismos se encontraban en una condición nutricional apropiada. Una inspección descriptiva de los resultados de dicho cálculo (**Tabla 6**) mostraron que en el tratamiento 25-C los organismos tuvieron una ingesta de alimento mayor que los tratamientos Rampa y 30 -C, los cuales fueron a su vez similares entre sí (**Tabla 6**).

Tabla 2. Valores de balance energético parcial (joules g ps⁻¹ día⁻¹) de juveniles de *H. erectus* sometidos a tres tratamientos de exposición térmica (25°C constante, Rampa de 25-30°C y 30°C constante por 30 días), durante el experimento 2. Valores promedio \pm desviación estándar.

	25°C constante	Rampa (25-30°C)	30°C constante
	n=4	n=6	n=6
Ingestión (I)	6221.3 \pm 1796.1	4268.1 \pm 657.5	4505.8 \pm 1673.4
Asimilación (AS)	299.2 \pm 76.5	279.2 \pm 175.4	97.2 \pm 63.4
Respiración (R)			
Rutina	65.8 \pm 21.1	21.9 \pm 18.3	34.8 \pm 41
ICA	6.6 \pm 7.7	6.6 \pm 2.8	5.3 \pm 1.5
Total	72.4 \pm 27.3	28.5 \pm 17.6	40.17 \pm 40.2
Producción (P)	226.7 \pm 69	250.4 \pm 176.8	75.3 \pm 56
Porcentajes (%)			
AS/I %	5.1	6.6	2.9
Rtotal/I %	1.1	0.6	0.9
P/I %	4	5.9	2
P/AS %	75.2	86.2	60.2
Rtotal/AS %	24.8	13.8	39.8

Cabe resaltar que a pesar de que la ingesta fue mayor en el tratamiento 25-C, el porcentaje de asimilación de alimento está 1% por debajo del de tratamiento Rampa, el cual sorpresivamente fue el tratamiento con mayor porcentaje de asimilación del alimento (**Tabla 6**). Finalmente, los animales mantenidos en 30°C mostraron el menor porcentaje de alimento asimilado. Examinando los destinos de la energía asimilada que son distribuidos entre producción y respiración total (**Tabla 6**), se observó que el

tratamiento Rampa tuvo una producción mayor que en el tratamiento 25-C, lo cual también se reflejó en el crecimiento (**Figura 2**).

El PCO aplicado a los datos de BE del Experimento 2 mostró que entre los dos primeros ejes o coordenadas se logró explicar el 83% de la variación total del experimento (**Tabla 7**). El PCO1 explicó el 45% de la variación total con una contribución importante de las variables I y Rtot, mientras que el PCO2 explicó el 38% restante. La ordenación (**Figura 8**) mostró que los caballitos sometidos a 25-C y 30-C presentaron la I más alta. La Rtot estuvo correlacionada con la I, seguramente a través de la contribución del ICA a la respiración total, y los caballitos del tratamiento Rampa presentaron los valores más bajos en I y Rtot. En el eje vertical (PCO2), los caballitos que tuvieron P mayores fueron los de Rampa, seguidos de 25-C, mientras que los de 30-C presentaron los valores más bajos de P. En su conjunto, estos resultados indicaron que los *H. erectus* sometidos a un incremento térmico gradual llegando incluso a temperaturas tan altas como 30°C, pudo ajustar los mecanismos fisiológicos para responder a ese cambio de manera muy eficiente en cuanto al aprovechamiento de la energía del alimento para la producción de biomasa. Lo mismo no ocurrió con los animales mantenidos a 30°C de forma constante y sostenida durante el mismo periodo de tiempo.

Tabla 3. Porcentajes de variación total explicada por cada uno de los ejes resultantes del Análisis de Coordenadas Principales (PCO) sobre los datos de balance energético de juveniles de *H. erectus* sometidos a tres tratamientos de exposición térmica (25°C constante, Rampa de 25-30°C y 30°C constante por 30 días), durante el experimento 2. Las variables de respuesta fueron producción (P), respiración total (Rtot) y tasa de ingestión (I) expresado como joules g ps⁻¹ día⁻¹. Los datos fueron transformados (raíz cuadrada) y normalizados previo al análisis usando la distancia euclideana como medida de disimilitud.

	Eigenvalor (λ)	% variación total	% acumulado
PCO 1	20.3	45.1	45.1
PCO 2	17.03	37.83	82.94
PCO 3	7.68	17.06	100

Los resultados del PERMANOVA (**Tabla 8**) mostraron que hay diferencias significativas en la separación de los caballitos de acuerdo a su respuesta de BE entre los distintos tratamientos térmicos ($F = 5.2$; $p < 0.001$; 9884 permutaciones únicas). Cabe resaltar que estas diferencias fueron significativas a pesar de la gran variación intrínseca de los datos estimada a través del componente de variación residual ($1.3914 \text{ joules g ps}^{-1} \text{ día}^{-1}$).

Tabla 4. Resultados de un ANOVA múltiple mediante permutaciones realizado sobre los datos de balance energético de juveniles de *H. erectus* sometidos a tres tratamientos de exposición térmica (25°C constante, Rampa de 25-30°C y 30°C constante por 30 días), durante el experimento 2. Las variables de respuesta fueron producción (P), respiración total (Rtot) y tasa de ingestión (I) expresado como $\text{joules g ps}^{-1} \text{ día}^{-1}$. Los datos fueron transformados (raíz cuadrada) y normalizados previo al análisis usando la distancia euclideana como medida de disimilitud. Se utilizaron 9999 permutaciones irrestrictas para la obtención de los valores de probabilidad asociada al estadístico *pseudo-F*.

Fuente	g.l.	SS	MS	pseudo-F	p	Perm. únicas
Tratamiento	2	19.8	9.92	5.12	< 0.05	9884
Residuales	13	25.2	1.94			
Total	15	45				

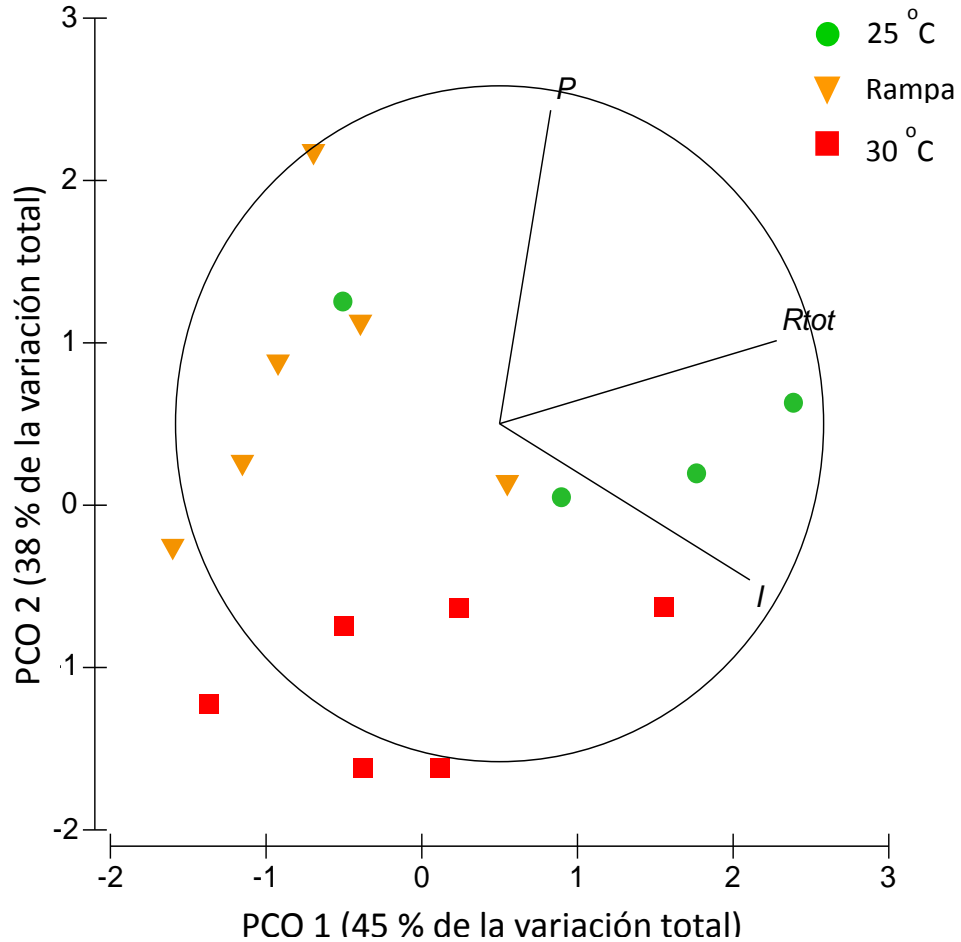


Figura 8. Configuración resultante de la ordenación mediante un Análisis de Coordenadas Principales (PCO) sobre los datos de balance energético de juveniles de *H. erectus* sometidos a tres tratamientos de exposición térmica (25°C constante, Rampa de 25-30°C y 30°C constante por 30 días), durante el experimento 2. Las variables de respuesta fueron producción (P), respiración total (Rtot) y tasa de ingestión (I) expresado como joules g ps⁻¹ día⁻¹. Los datos fueron transformados (raíz cuadrada) y normalizados previo al análisis usando la distancia euclídeana como medida de disimilitud.

Discusión.

Los resultados de la presente investigación mostraron que el tiempo de exposición térmica, y en particular, la velocidad con la que la temperatura de exposición se incrementó, jugó un papel importante en la tolerancia, resistencia y preferencia térmica, ya que afectó el uso de la energía y el crecimiento de los organismos. Al comparar todos los indicadores evaluados en juveniles de *H. erectus* en su conjunto se observó que cuando existió un incremento térmico de forma gradual (tratamiento Rampa), la respuesta fisiológica de los individuos difirió de cuando éstos fueron sometidos a un incremento abrupto (tratamiento 30-Constante). En términos de exposición a la temperatura se podría considerar al tratamiento 30-Constante como uno que produjo un efecto crónico (“long term exposure”), que resultó ser lo suficientemente largo para provocar alteraciones aparentemente irreversibles en los organismos, aumentando la mortalidad y afectando la forma en que son capaces de distribuir la energía para funciones como mantenimiento y crecimiento.

En los organismos expuestos a la Rampa se observó que el incremento térmico pudiera tener un efecto de corto plazo (“short term exposure”), consistente también con un incremento de la temperatura, pero con la característica de que éste es gradual en el mismo periodo de tiempo. Se ha puesto énfasis en que la exposición gradual a cambios de la temperatura (ya sea para aumentar o disminuirla), permite que transcurra el tiempo necesario para que se expresen los mecanismos de adaptación fisiológica ante el estrés térmico (Terblanche et al., 2007; Overgaard et al., 2011). Dicha expresión depende de la velocidad de cambio de temperatura (Mitchell y Hoffmann 2010; Chown et al., 2009) y no es posible en escenarios donde los organismos son expuestos de manera abrupta a temperaturas extremas (Terblanche et al., 2011). Se propone que el aumento gradual de la temperatura permitió a los organismos el tiempo suficiente para poner en marcha mecanismos de ajuste fisiológico poniendo de manifiesto la plasticidad fenotípica de *H. erectus*. Esta plasticidad es la que permitió a los organismos expresar su tolerancia térmica y, por tanto, refleja la capacidad de esta especie para ajustar su fisiología ante cambios

ambientales. Algo similar reportó Ghalambor et al., (2007) en su estudio general sobre biología térmica de distintas especies de peces, donde explica los ajustes posibles ante el cambio climático.

La plasticidad fenotípica puede ser definida como el alcance de la resiliencia que se obtiene a través de cambios fenotípicos producidos por un ambiente fluctuante (Waddington, 1942; Bradshaw, 1965). De acuerdo con Piglucci et al., (2006), no toda la plasticidad fenotípica es adaptativa, puesto que no conduce a un incremento en la adecuación del individuo (i.e. aumento en la sobrevivencia y reproducción). Mientras que ciertos rasgos son plásticos como resultado de las restricciones impuestas por la propia biología de los individuos (propiedades bioquímicas, fisiológicas y del desarrollo), existen diferencias considerables en el grado de reversibilidad de las respuestas plásticas (Piglucci et al., 2006). La aclimatación constituye una forma reversible de plasticidad fenotípica (Beitinger et al., 2000; Madeira et al., 2012) que opera en escalas relativamente cortas de tiempo. En consecuencia, el rendimiento metabólico y la tolerancia térmica han sido consideradas herramientas para medir la resiliencia al incremento térmico en diferentes escalas temporales (Bozinovic et al., 2011). En ese contexto, las respuestas fisiológicas y conductuales examinadas en el presente estudio se revelaron como indicadores útiles para medir la plasticidad de juveniles de *H. erectus* ante cambios térmicos graduales y abruptos, puesto que se registraron diferencias entre los tratamientos de Rampa y 30-Constante en casi todos los indicadores medidos. Esto, no solo pone en evidencia que el efecto del límite térmico de 30°C sólo puede ser comprendido en su magnitud cuando se consideran los tiempos de exposición a distintas temperaturas, sino que sugiere que los tiempos de exposición térmica son un componente evolutivo importante en la historia de vida de los juveniles de *H. erectus*.

Sobre la TCMax.

Los límites de tolerancia térmica han llamado mucho la atención de los investigadores en el pasado, debido a que proveen información sobre el efecto de la variación de temperatura en las respuestas fisiológicas (Pörtner, 2001), y sus consecuentes

implicaciones para la distribución de las especies acuáticas. Además, se han considerado una herramienta útil para estudiar los efectos de la temperatura por que proveen un índice de tolerancia bajo condiciones de exposición aguda (Somero 2005), y la determinación de las temperaturas críticas (máximas y mínimas) probablemente sea el de mayor importancia ecológica para organismos marinos expuestos variaciones térmicas (Dallas y Rivers-Moore 2012).

En el presente estudio, las diferencias en los valores de TCM_{Max} entre los tratamientos de exposición térmica (**Figura 6**), demostraron que cuando el incremento térmico ocurre de forma gradual (Rampa) el límite superior de tolerancia se incrementa más que cuando los organismos son expuestos a una temperatura alta y constante (30-Constante). Esto implica que la TCM_{Max} puede ser llevada a límites mayores cuando exista un incremento de temperatura dosificado en el tiempo, y demuestra que el tiempo de exposición térmica juega un papel fundamental en la determinación de la tolerancia máxima de *H. erectus*.

La TCM_{Max} obtenida en este estudio se basó en el trabajo que describió por primera vez la tolerancia térmica de caballito de mar *H. erectus* (Amaral, 2013). Ese autor reportó que ante el incremento de temperatura, los organismos mostraron una serie de respuestas cuya secuencia es consistentemente independiente de la temperatura de aclimatación de los caballitos. En este estudio, se corroboró la consistencia de esta secuencia con la aparición de una actividad locomotora desorganizada caracterizada por la pérdida del equilibrio y de la posición erecta (LE); seguida de la aparición de espasmos musculares involuntarios o convulsiones (OS). En algunos estudios realizados en peces para identificar el punto final térmico conocido como TCM_{Max}, los autores han considerado OS como una respuesta conductual menos fiable que LE (Becker y Genoway, 1979), y concluyen que LE es un punto final apropiado para establecer la TCM_{Max} sobre todo para fines de comparar los resultados con otros taxa (Yonfeng et al., 2014; Fries y Gibson, 2010). De acuerdo con White (1983) y Beitinger et al. (2000), sin embargo, el TCM_{Max} es el punto térmico que representa un escenario previo a la muerte, es decir, que está caracterizado por respuestas locomotoras desorganizadas debido al bloqueo neuromuscular y a fallas pre sinápticas que, en última instancia, llevan al individuo a un estado de coma y a una

inminente muerte. La adopción de OS como punto final de la TCMax se ha basado tanto en su naturaleza limítrofe con la muerte; en que existe una mayor variabilidad en la respuesta LE en comparación con OS en la mayoría de los ectotermos; y en las dificultades metodológicas para la identificación de otros límites en algunos peces en particular. Por tal razón Lutterschmidt y Hutchison (1997) consideraron OS como respuesta definitiva para el punto final de la TCMax. Tal es el caso del pez viruela (*Zoarces viviparus*), en el que Zakhartseb et al., (2003) observaron que la pérdida de equilibrio (LE) era un parámetro menos preciso para registrar la TCMax que los espasmos musculares involuntarios (OS), debido al estilo de vida de los peces que permanecen en el fondo y usan sus aletas pectorales para mantener el equilibrio corporal. Los autores relataron que mientras que la pérdida de equilibrio de los peces no era visible en la mayoría de los casos, los espasmos fueron muy notorios.

Considerando los resultados de Amaral (2013), así como la dificultad en identificar la pérdida de equilibrio en animales con el hábito de sujetarse al sustrato mediante una cola prensil, la recomendación para determinar temperaturas críticas en hipocampos es utilizar la presencia de OS como el signo más evidente de haber alcanzado el punto final de la TCMax. Con ese criterio como base, en el presente trabajo se encontró consistencia entre el valor registrado por Amaral (2013; $36.2 \pm 0.6^{\circ}\text{C}$ vs $36.48 \pm 1^{\circ}\text{C}$). En contraste, en el tratamiento Rampa donde la exposición fue gradual, se registró un valor de TCMax significativamente mayor ($37.77 \pm 0.9^{\circ}\text{C}$) al registrado tanto en 25-C como en 30-C.

De todos los factores que tienen influencia en la determinación de la tolerancia a la temperatura, el más importante es la historia térmica de un organismo (Lutterschmidt y Hutchison, 1997; Dallas y Rivers-Moore, 2012). Dado que las tasas de aclimatación en ectotermos son relativamente rápidas, la aclimatación completa ocurre en periodos que van desde unas cuantas horas hasta pocos días (Hutchison 1976). En consecuencia, se puede sugerir que los escenarios de cambios graduales constituyen pruebas útiles por que incorporan un cambio térmico en escalas "ecológicamente relevantes", es decir que los animales son expuestos a cambios de temperatura similares a los que pueden experimentar en la naturaleza (Terblanche et al., 2011).

Diversos autores han señalado que la temperatura de aclimatación y la duración de la exposición son factores que pueden tener una influencia importante en la determinación de los límites térmicos críticos provocando modificaciones distintas en la fisiología y comportamiento de los organismos (Terblance et al., 2007). La diferencia en la TCM_{max} entre el tratamiento Rampa y 30-C en nuestros resultados claramente demostraron que no sólo es importante la temperatura máxima a la que un individuo está expuesto durante un periodo de tiempo, sino la forma o dosificación en la que la exposición térmica ocurre. Así, los caballitos sometidos a un incremento gradual (dosificado) de la temperatura permitió el ajuste de mecanismos fisiológicos entre cada intervalo de la rampa, lo que derivó en una expansión del límite térmico superior más allá de aquel obtenido con una exposición constante y sostenida a la temperatura final. Entre los mecanismos fisiológicos se puede hablar de una ampliación de la ventana térmica, caracterizada por una respuesta tardía de espasmos musculares, lo que quizás permita que los caballitos puedan explorar ambientes térmicos extremos durante más tiempo. Por el contrario, el tiempo transcurrido en una exposición constante y sostenida a una temperatura alta provocó una acumulación de estrés térmico (en este caso el tratamiento 30°C de manera constante durante 30 días), que no permitió a los caballitos de mar desplegar las respuestas de plasticidad en la tolerancia observadas en el tratamiento rampa.

Sobre el metabolismo.

Dado que el metabolismo es altamente dependiente de la temperatura (Johnston y Dunn, 1987), eran de esperarse cambios en los indicadores metabólicos entre los distintos tratamientos de exposición térmica. Los caballitos del tratamiento 30-C tuvieron un crecimiento menor en comparación con el observado en los otros dos tratamientos (**Figura 2**). Se ha reportado que el incremento en las temperaturas provoca estrés, reduciendo el crecimiento de los organismos, inclusive cuando tienen recursos alimenticios suficientes (Atkinson, 1995). Con esto en mente, es probable que la disminución en el crecimiento de los caballitos de tratamiento 30-C no sea el resultado exclusivo de una disminución en la ingestión de alimento (**Tabla 6; Figura 10**), sino el

producto de eventos post-ingesta relacionados con el aprovechamiento de la energía contenida en el alimento.

Se observó un decremento de las tasas metabólicas conforme aumenta la temperatura (**Figura 7**). Por debajo de cierta temperatura, también conocida como temperatura *pejus*, la entrega de oxígeno a nivel celular es máxima (Pörtner et al., 2004). Pero, si la temperatura se eleva más allá del *pejus*, los mecanismos fisiológicos y bioquímicos que ponen a disposición el oxígeno a nivel celular no alcanzan a cubrir los elevados costos metabólicos que implica el mantenimiento a esa temperatura, de tal manera que la habilidad de un organismo para incrementar su metabolismo aeróbico se ve comprometida (Pörtner et al. 2004). Es posible que la razón por la cual el consumo de oxígeno tanto a nivel de respiración de rutina, como post-alimentario e ICA en los tratamientos Rampa y 30-C hayan disminuido en comparación con 25-C como resultado de haber extralimitado la zona *pejus* de la curva de tolerancia térmica en esta especie.

De acuerdo con Pörtner et al. (2004), aunque la sobrevivencia del organismo por encima de la temperatura *pejus* no necesariamente se ve amenazada, la habilidad para realizar las funciones vitales como la reproducción, crecimiento y alimentación se ven limitadas. Estas limitaciones bajo una condición térmica sub-letal, puede eventualmente determinar el éxito de este organismo, principalmente a largo plazo (Pörtner y Knust, 2007).

A pesar de que el metabolismo de los caballitos estresados térmicamente haya disminuido, la tasa de crecimiento de aquellos bajo el tratamiento Rampa fue similar a la del tratamiento 25-C (**Figura 2**). Esto es evidencia de que el tiempo de exposición juega un papel fundamental en la respuesta fisiológica de balance energético, ya que un aumento de temperatura de forma gradual permitió un mayor rendimiento fisiológico (i.e. una mayor cantidad de la energía ingerida fuese asimilada, Onthank y Cowles; 2011), y que una proporción mayor de la energía asimilada fuese empleada en la producción de biomasa (P/AS %; **Tabla 6; Figura 10**).

En el contexto zootécnico de mejoras al cultivo, estos resultados permiten sugerir que *H. erectus* cuenta con los mecanismos fisiológicos para aprovechar una condición de

incremento térmico y crecer incluso más que lo considerado óptimo, siempre que dicho incremento sea gradual. Si, por el contrario, el incremento es abrupto y la alta temperatura es sostenida (condiciones parecidas a las del tratamiento 30-C), la inversión energética en la producción de biomasa es menor, y existe una mayor inversión de respiración (R total/AS %). Tomando en cuenta que la respuesta a la temperatura es energéticamente demandante (Sokolova et al., 2012; Magozzi y Calosi, 2015), los resultados de la tasa de respiración y crecimiento de los caballitos en las diferentes condiciones experimentales son congruentes con la noción de que existió una mayor cantidad de energía invertida en la respiración y el mantenimiento del organismo bajo un escenario de mayor estrés térmico.

Mientras que es posible prever que este mismo escenario de respuestas desfavorables se presentaría en caballitos sometidos a un incremento gradual pero mantenidos a 30°C durante periodos mayores a los 5 días (tratamiento Rampa del presente estudio), los cambios graduales desde los 25 hasta 30°C son un escenario factible en las lagunas costeras que como la de Chelem forman parte de los ecosistemas donde se distribuye esta especie. La laguna de Chelem posee una extensión de 13 km de largo y entre 0.7 y 1.8 km de ancho, con una profundidad de entre 0.25 y 1.5 m (Jerónimo, 2010), lo cual contribuye a un ambiente de temperatura variable. El clima de la región ha sido clasificado como cálido seco y semi-seco, con una temperatura anual promedio de 26.5°C, dependiendo marcadamente de la época del año (Herrera-Silveira, 2006) y de la hora del día (Jiménez, 2012). En tanto que la temperatura en la zona central tiene promedios entre 22° y 30°C (Marino-Tapia y Enríquez, 2010), en las orillas la temperatura más alta registrada fue de 36-38°C. Asimismo, los cambios temporales de la temperatura indicaron una variación estacional entre 18 y 29°C lo que ocurre en un espacio de 4 meses entre febrero y mayo (Jiménez, 2012). Esto hace pensar que, por un lado la representación del aumento de la temperatura utilizada en nuestros experimentos es un escenario plausible bajo condiciones naturales, y por otro, que los juveniles de *H. erectus* poseen una plasticidad fenotípica que les permite obtener un mejor provecho de su desempeño fisiológico, y con ello una ventaja en el crecimiento, ante cambios graduales en la temperatura. Si, por el

contrario, se mantienen condiciones de temperaturas altas y sostenidas, se observará una reducción en la supervivencia (**Figura 1**; Huipe-Zamora, 2015) y un crecimiento limitado (**Figura 2**; Amaral-Ruiz, 2013). Los resultados obtenidos ahora permiten establecer que esto ocurre como resultado de una supresión del metabolismo, el cual trae como consecuencia una asimilación insuficiente.

Sobre la energía.

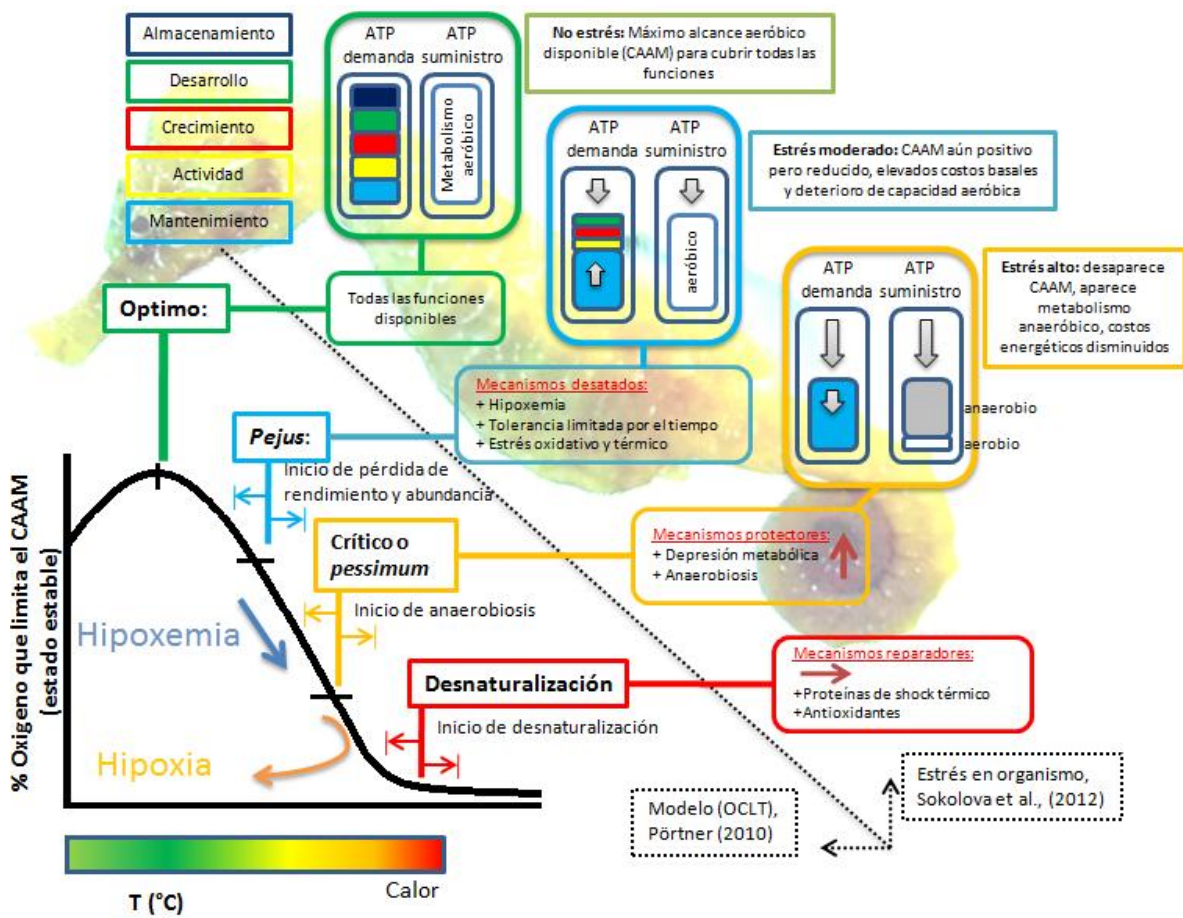


Figura 9. Esquema general basado en el concepto de oxígeno -y capacidad- limita la tolerancia térmica (OCLT) de (Pörtner, 2010) y sus efectos en los organismos acuáticos de Sokolova et al., (2012).

El concepto de tolerancia térmica limitada por el oxígeno -y capacidad- limita la tolerancia térmica (OCLT) provee una explicación mecanicista del cómo y porqué el campo de actividad metabólica (CAAM) es limitado por insuficiencia en suministro de oxígeno hacia ambos extremos térmicos (temperaturas altas y bajas) (Pörtner, 2010). Los niveles de oxígeno están relacionados directamente con el CAAM de un organismo, debido a que el oxígeno es requerido para la producción de ATP mediante la fosforilación oxidativa, y el CAAM se obtiene con de la diferencia del consumo de oxígeno en máxima actividad y basal (Fry, 1947). En la **figura 9** se observa el nivel **óptimo** donde las temperaturas permiten que la amplitud del CAAM sea máxima y el organismo disponga de la toda su capacidad respiratoria, es decir, esté disponible la máxima energía para cubrir todas las funciones. Con el incremento -o decremento- de la temperatura aparece el rango **pejus** - en latín significa peor- a partir del cual la capacidad funcional del organismo decrece (disminuye su actividad y crecimiento), se presenta hipoxemia porque la capacidad de entrega de oxígeno en el sistema circulatorio se vuelve limitada (suministro y demanda son rebasados). Como resultado de este proceso, el CAAM se mantiene positivo pero disminuido, la tolerancia térmica se vuelve limitada por el tiempo, ya largo plazo, los organismos no sobreviven debido a las limitaciones fisiológicas. Cuando la temperatura **crítica** es alcanzada (definidas con TCM_{max} en este caso), la hipoxemia extrema desvanece completamente el CAAM, dando lugar al metabolismo anaeróbico para cubrir los costos energéticos basales. Muy cercano al valor anterior se encuentra la temperatura de **desnaturalización**, punto a partir del cual el daño térmico amenaza la integridad molecular, entran en juego las proteínas de shock térmico y los mecanismos antioxidantes como mecanismos de reparación ante un estrés térmico extremo. Rebasando este último nivel se alcanza la muerte.

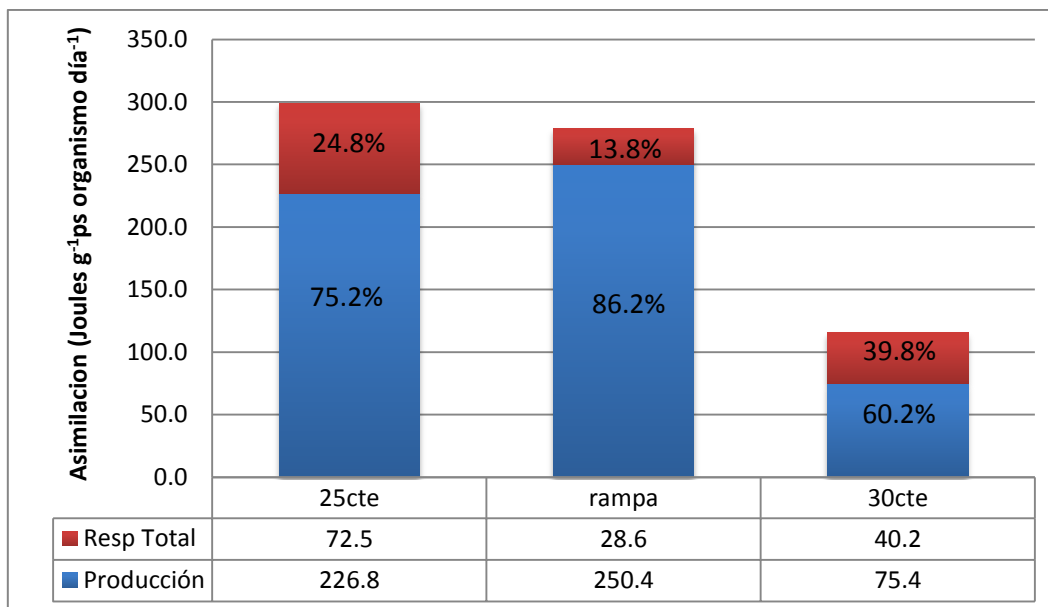


Figura 10. Respiración y producción de biomasa ($\text{joules g}^{-1}\text{ps organismo día}^{-1}$) de juveniles de *H. erectus* sometidos a tres tratamientos de exposición térmica (25°C constante, Rampa de $25\text{-}30^{\circ}\text{C}$ y 30°C constante por 30 días), obtenidos como parte de los cálculos de balance energético parcial del Experimento 2. Los valores relativos de las medidas (%) se presentan para facilitar la comparación.

A temperaturas altas sub-óptimas (*pejus* y críticas), los peces son incapaces de consumir suficiente comida para cubrir el incremento de los costos metabólicos. En los tratamientos Rampa y 30-C se observó una ingesta similar, pero mucho menor respecto al tratamiento 25-C (**Tabla 6**). Esto probablemente fue ocasionado porque el CAAM disponible para estos dos tratamientos fue insuficiente para cubrir el incremento postprandial en la demanda de oxígeno dando origen la pérdida de apetito. Cabe resaltar que esta condición que una previa a la muerte del organismo y que fue observada claramente en el tratamiento 30-C (**Figura 1**).

En contraste con el 30-C, en el tratamiento Rampa se registró la mejor sobrevivencia (**Figura 1**). A pesar de haber tenido una cantidad similar de ingesta que el tratamiento 30-C los destinos de la energía fueron diferentes (**Tabla 6**), como resultado del papel relativamente más importante del tiempo de exposición en una condición crónica de temperatura *pejus* o crítica.

En la **tabla 6** saltan a la vista los destinos de la energía asimilada en ambos tipos de exposición térmica (**Figura 10**). Considerando que el tratamiento 25-C representa las condiciones térmicas óptimas para la respiración, es posible afirmar que el escenario de temperatura 30°C mostro una mayor cantidad de energía invertida para la respiración porque esa condición de estrés térmico demandó una mayor cantidad de oxígeno para el mantenimiento. En contraste, en el tratamiento Rampa se observa la menor cantidad de energía invertida para la respiración. Es de hacer notar que el efecto de la exposición térmica gradual (Rampa) tiene un efecto positivo en la asimilación del alimento (**Figura 10**), asemejándose a un escenario de temperatura óptima (tratamiento 25 constante) pese al estrés térmico que representa un incremento acumulado de 5°C. A pesar de alcanzar una temperatura evidentemente limitante, la gradualidad del tratamiento Rampa no tiene consecuencias tan drásticas en la asimilación del alimento como en el escenario donde la temperatura es alta y constante. Estos resultados evidencian que más allá de los límites *pejus* las especies comienzan a explotar pasivamente su rango de tolerancia pero solo pueden hacerlo por tiempo limitado, porque su desempeño alimenticio, capacidad de crecimiento y su aptitud se vuelven progresivamente reducidos (Pörtner y Knust, 2007).

El incremento en las tasas metabólicas causa un incremento en la demanda de oxígeno, pero a temperaturas altas la cantidad de oxígeno en el agua es menor, por lo que la combinación de ambos factores constituye un estresor sinérgico demasiado abrumador para los procesos cardio-respiratorios, los cuales sufren una disminución de eficiencia para mantener la actividad muscular, el crecimiento y en última instancia la sobrevivencia (Pörtner y Knust, 2007). Esta pérdida de desempeño refleja el primer nivel de estrés térmico causado por hipoxemia (**Figura 9**), donde la falta de adecuación progresiva entre la oferta y demanda de oxígeno se acentúa conforme aumenta la temperatura -o el tiempo de exposición- (Pörtner, 2010) y entran en juego las adaptaciones metabólicas de los individuos (Sokolova et al., 2012; Magozzi y Calosi, 2014). En los tratamientos Rampa y 30-C se observó baja general de la tasa respiratoria, evidenciando una depresión metabólica. Esta respuesta ha sido registrada en la mayoría de los *phyla* animales en respuesta a una diversidad de estresores ambientales como la temperatura, desecación,

anoxia, hipersalinidad y privación de comida (Guppy y Withers, 1999). Mientras que los peces raramente explotan este rango anaeróbico (Guppy y Withers, 1999), muchos invertebrados que habitan los ambientes inter mareales que son altamente variables utilizan la depresión metabólica y otros mecanismos de estrés para hacer frente a temperaturas extremas (Magozzi y Calosi, 2014). Muy probablemente los tratamientos 30-C y Rampa responden de manera similar al estrés provocado por la temperatura de 30°C, con supresión metabólica provocada por el incremento de la temperatura (OCTL, **Figura 9**), resultando un decremento de energía para satisfacer los mecanismos que mantienen la homeostasis. Sin embargo, la forma gradual del aumento de temperatura (Rampa) toma ventaja de este escenario obteniendo respuestas más favorables que la exposición más rápida y constante (30-C).

El efecto limitante del tiempo sobre la tolerancia térmica fue particularmente evidente en el tratamiento 30-C: la sobrevivencia a partir del día 15 (**Figura 1**), crecimiento (**Figura 2**), balance energético (**Tabla 6**) y asimilación (**Figura 10**), constituyen evidencias de la forma como el efecto del tiempo exacerbó las consecuencias de estar más allá del límite *pejus* (**Figura 9**). Es factible que comenzando con los procesos de estrés térmico, los caballitos muy probablemente incurrieron en un estrés oxidativo que dañó las estructuras moleculares y mecanismos de protección y reparación celulares, los cuales tienen un periodo limitado para actuar. Ante una exposición crónica a temperaturas de 30°C existió mayor estrés y presión fisiológica para mantener la homeostasis del organismo (mecanismos de adquisición, conversión y conservación de energía), comparado con lo que ocurrió en el mismo periodo de tiempo bajo condiciones de incremento térmico gradual.

Pese a que existe una gran cantidad de estudios que ha demostrado que la temperatura puede resultar un factor positivo provocando crecimiento más rápido y mayor sobrevivencia en los hipocampos juveniles y recién nacidos (Lin et al., 2006, 2009, 2010), los resultados de este trabajo demuestran que todos estos beneficios se ven comprometidos cuando se alcanza cierta condición de exposición térmica. Estos resultados coinciden con los de Lin et al., (2008) quien encontró que el crecimiento y

sobrevivencia de juveniles *H. erectus* fue menor cuando los animales era mantenidos de forma constante a temperaturas superiores a 29°C. Este mismo autor encontró que para la especie tropical *H. kuda* el tiempo de desarrollo gonadal fue reducido mientras que el índice gonadosomático, fecundidad, fertilidad y las tasas de sobrevivencia aumentaron con la temperatura (Lin et al., 2006); pero, a partir de los 30°C todos estos indicadores comenzaron a mostrar una tendencia negativa.

La posición y amplitud de las ventanas de tolerancia térmica (incluyendo rangos óptimos, *pejus* y críticos) son flexibles, pueden alterarse mediante adaptación, aclimatación o aclimatización (Sokolova et al., 2012), y que pueden variar marcadamente inclusive entre poblaciones de la misma especie (Pörtner, 2001). La reorganización metabólica inducida por aclimatación, aclimatización y adaptación involucra ajustes en procesos mitocondriales, enzimáticos y de membranas (Hochachka y Somero, 2002). A la luz de los resultados de este trabajo es importante agregar el componente de gradualidad temporal a la fórmula para poder explorar diferentes adaptaciones metabólicas ante estrés térmico que implican la asignación flexible de recursos energéticos, e identificar el interruptor que dispara la mudanza entre los diferentes procesos metabólicos encargados de la adquisición y conversión de la energía. La gradualidad permitió un escenario donde el aumento de temperatura se manifiesta de manera natural y como ocurriría en el medio acuático. Esta condición estimularía la identificación de respuestas de plasticidad fisiológica (Pigliucci et al., 2006) ante condiciones de estrés térmico. Por su biología y distribución geográfica, los caballitos de mar están sujetos a escenarios donde hay cambios de temperatura relativamente rápidos. El género *Hippocampus* se encuentra a través de regiones tropicales y templadas en biomas tanto del Atlántico como del Indo-Pacífico, aunque su origen e historia evolutiva no es del todo comprendida (Teske et al., 2004). Tal como hoy en día son asociados a pastos marinos (Shokri et al., 2009; Pamala y Heck 1994), la distribución circunglobal de los caballitos de mar refleja uno de los mayores eventos de dispersión (Teske et al., 2004) en hábitats someros donde las variaciones de temperatura pudieron haber sido un factor cotidiano para este grupo de peces. Bajo este escenario evolutivo, es consecuencia natural que los caballitos de mar poseen

adaptaciones fisiológicas que le permiten compensar cambios de temperatura, y se puede decir que su dispersión seguramente estuvo asociada a la presencia de mecanismos fisiológicos y conductuales para ajustarse y sobre vivir en un hábitat térmicamente heterogéneo.

Magozzi y Calosi (2014) compararon un grupo de organismos marinos con nichos térmicos estrechos o poco variables con otros de nichos térmicos amplios o muy variables, encontrando en estos últimos mejores respuestas ante el estrés agudo (cambio rápido) de temperaturas que los primeros. Los autores, sin embargo, encontraron que existe un riesgo de vulnerabilidad mayor cuando la exposición al calentamiento es crónica (o lenta) debido a los mayores costos metabólicos involucrados. De acuerdo con estos autores, las especies que ocupan ambientes térmicamente heterogéneos presentan límites térmicos superiores altos, una reducción en la plasticidad una vez que se encuentran ante temperaturas altas, tasas metabólicas altas y una alta plasticidad metabólica. La magnitud de la plasticidad fenotípica (PF) con respecto a la tolerancia térmica, se calcula con la diferencia entre los valores promedio de las temperaturas umbrales máxima -y mínima- y las temperaturas de aclimatación (Magozzi y Calosi, 2014). La PF de la tolerancia térmica de juveniles *H. erectus* aclimatados a 25 y 30C constantes (TCMax 25-C: $31.9 \pm 1.4^{\circ}\text{C}$; TCMax 30-C: $36.5 \pm 1^{\circ}\text{C}$) fue de 4.6°C . Este valor concuerda con el calculado por Mascaró et. al. (2015 en prep.) con una PF de 4.7°C en juveniles de caballitos de mar aclimatados a 18 y 30°C para TCMax. Sin embargo, la PF entre 25-C y Rampa en el presente trabajo (TCMax 25-C: $31.9 \pm 1.4^{\circ}\text{C}$; TCMax Rampa: $37.8 \pm 1.4^{\circ}\text{C}$) es mayor (5.9°C). Es interesante hacer notar que la PF se ve disminuida cuando la temperatura es alta y constante (30-C). Esta idea concuerda con lo descrito por Magozzi y Calosi (2014) quienes demostraron que las especies que ocupan ambientes más variables parecen ser más tolerantes a eventos extremos agudos como resultado de sus límites térmicos superiores; pero que estos organismos pueden estar en riesgo cuando los efectos de la temperatura de exposición al calentamiento son crónicos (en el presente trabajo, tratamiento 30-C), ya que la plasticidad se reduce bajo condiciones de estrés consistentes. El incremento gradual de temperatura demuestra un incremento en la PF lo cual hace pensar, que les permite a los

organismos explorar ambientes térmicos extremos por periodos cortos de tiempo para beneficiarse de estos (búsqueda de alimento, escape de depredadores), sin embargo, hacen falta investigaciones que profundicen y confirmen estas suposiciones.

Sobre el *preferéndum* térmico.

En lo que se refiere a la preferencia de la temperatura, se observó que los resultados de la temperatura de aclimatación gradual (tratamiento Rampa) y la temperatura de aclimatación alta y constante (30-C) presentaron una preferencia térmica significativamente distinta (**Tabla 3**). Para muchas especies, la temperatura preferida es primariamente una función de la historia térmica reciente de la aclimatación térmica del individuo (Jobling, 1981). Sin embargo, la diferencia en la preferencia térmica entre el tratamiento Rampa y 30-C en esta investigación muestra que no sólo es la temperatura final inmediatamente anterior la que contribuye a explicar cambios en la preferencia, sino la forma como se ha alcanzado dicha temperatura. De tal forma que el conjunto de eventos térmicos previos, caracterizados tanto por el nivel térmico (temperatura) como por los periodos y tiempos en los que ocurren (temporalidad) conllevan a una condición de aclimatación térmica que, a su vez determina la temperatura seleccionada en pruebas de preferencia. En el contexto de la teoría sobre biología térmica más reciente, la preferencia térmica podría representar un estado fisiológico fuertemente ligado con los ajustes metabólicos que ocurren durante una aclimatación funcional y su paso a una aclimatación de protección o *pejus* (Pörtner, 2010; Sokolova et al., 2012).

Entre los peces, la relación entre temperatura preferida y temperaturas de aclimatación varía marcadamente entre especies, mostrando tendencias que van desde una relación directa, ninguna relación y hasta una inversamente proporcional (Kelsch y Neill, 1990). Sin embargo, esas relaciones tienden a ser consistentes dentro de las especies incluso a través de intervalos geográficos amplios (Johnson y Kelsch, 1998). En este estudio, los individuos del tratamiento de 25-C prefirieron una temperatura cercana a los 28°C es decir, superior a la de aclimatación; en tanto que los de los tratamientos Rampa y 30-C la eligieron por arriba de la temperatura última a la que habían sido expuestos. Pero

estudios previos han mostrado que juveniles de *H. erectus* provenientes de Chelem, y que han estado aclimatados a 18 y 30°C durante 5 meses y luego re-aclimatado a 18 y 30°C durante 1 mes más prefirieron todos una temperatura de 25.58 ± 0.87 (IC 95%, $n=40$, Huipe-Zamora (2015), sugiriendo que preferencia térmica varía por arriba y debajo de las de aclimatación. Estas variaciones no sólo fortalecen la idea de que el tiempo de exposición térmica previa juega un papel preponderante en la preferencia térmica de juveniles de *H. erectus*, sino que también permiten sugerir que más que identificar el *preferendum* térmico con una única temperatura preferida, se trata de un intervalo relativamente amplio de valores, cuyos extremos pueden llegar a ser seleccionados como consecuencia de la plasticidad que caracteriza a estos juveniles en cuanto a su respuesta a la temperatura. Consecuentemente, se podría proponer que el intervalo de temperaturas óptimo se encuentra entre 25 y 28°C. Como resultado de poseer cierta plasticidad fisiológica, los caballitos de mar en condiciones óptimas se permiten explorar temperaturas altas para buscar la maximización de su metabolismo, pudiendo así explotar de forma más eficiente su medio. Si se presentan condiciones de un incremento gradual de la temperatura (representado por el tratamiento Rampa), los organismos pueden dar una respuesta de tolerancia ampliando el intervalo térmico, pero prefieren temperaturas más bajas que las últimas experimentadas. La exposición prolongada a una temperatura fuera del óptimo, modifica la preferencia térmica subsecuente, tal y como se ha demostrado para otras especies de peces (Ihnat y Bulkley, 1984; Kelsch y Neil, 1990).

Determinar y evaluar las respuestas térmicas así como el balance energético bajo escenarios de temperatura de aclimatación variable, puede ser una herramienta útil para predecir las respuestas de estrés y límites de tolerancia bajo escenarios ambientalmente realistas. Estudios en organismos acuáticos han demostrado que el balance energético provee información que está relacionada directamente con los efectos de estrés fisiológico, así como la aptitud/estado físico del organismo (Sokolova et al., 2012). Esto aunado al modelo conceptual de OCLT, que implica la tolerancia térmica de los organismos ectotermos acuáticos y su capacidad para suministrar oxígeno conforme cambia la temperatura (Pörtner, 2010), constituye un marco teórico adecuado para guiar

y parametrizar la recolección e interpretación de datos sobre los efectos del cambio climático de especies en sus ecosistemas. También servirá tener en cuenta que en la naturaleza los organismos usan su habilidad adaptativa para persistir en un hábitat particular respondiendo a cambios ambientales a través de ajustes de comportamiento y metabólicos (Pigliucci, 1996). A la luz de los resultados de este trabajo, se confirma que es necesaria la integración del rendimiento metabólico, tolerancia térmica y la plasticidad fisiológica teniendo en cuenta la periodicidad, gradualidad y duración del efecto térmico para tener una predicción más realista sobre la respuesta de las especies al cambio térmico.

Conclusiones.

La exposición a una temperatura que se incrementa de forma gradual, en contraste con la exposición constante y sostenida a una temperatura alta, repercutió de manera distinta en el conjunto de respuestas que forman parte de los mecanismos de ajuste fisiológico y comportamiento de los juveniles de *H. erectus* a los cambios térmicos. De modo general, ante un incremento térmico gradual, el límite de tolerancia superior (TCMax) se extendió, y el *pejus* se amplió (**Figura 6; Tabla 4**). A pesar de la reducción del metabolismo de rutina y del máximo consumo de oxígeno post-alimentario en todos los caballitos térmicamente estresados (**Figura 7**), en aquellos sujetos a un incremento gradual se registró un mayor rendimiento fisiológico, y una mayor proporción de la energía asimilada que se empleó en la producción de biomasa (**Figura 9; Tabla 6**). Esto condujo a que los caballitos sujetos a un incremento térmico gradual no solo sobrevivieran de forma similar a los caballitos que no experimentaron ninguna alteración térmica (**Figura 1**), sino que presentaron tasas de crecimiento más altas que estos (**Figura 2**). En concordancia con lo anterior, la temperatura elegida por los caballitos sometidos a un incremento gradual fue similar a la de aquellos que no habían experimentado ninguna alteración térmica, a pesar de que los primeros y los segundos escogieron temperaturas inferiores y superiores a las de exposición previa inmediata.

En contraste, los caballitos que se expusieron a 30°C sostenida, también extendieron el límite superior térmico, pero lo hicieron en menor medida (**Figura 6; Tabla 4**), y presentaron signos de estrés térmico caracterizado por una depresión metabólica acompañada de una disminución en la tasa de ingestión, en el porcentaje de energía asimilada (del total ingerida), y la consecuente reducción de la producción de biomasa (**Figura 2**). Esto derivó en una disminución sustantiva de la tasa de crecimiento, así como de la sobrevivencia de los caballitos registrada a lo largo de 30 días de exposición continua a esta alta temperatura (**Figura 1**).

Los caballitos de mar *H. erectus*, generalmente se encuentran en cuerpos de agua someros donde las variaciones de la temperatura son considerables, pero ocurren de forma gradual a lo largo del año e incluso del día. Teniendo en cuenta la distribución geográfica de la especie y su historia de vida, los resultados de la presente investigación son evidencia suficiente para sugerir que los juveniles de esta especie han desarrollado mecanismos fisiológicos que se benefician de las variaciones de temperatura en estas escalas, lo que les permite habitar con éxito estos ambientes térmicamente variables. En el contexto del aumento de la temperatura de los océanos, el conocimiento en detalle de las respuestas fisiológicas y de comportamiento que consideren los tiempos de exposición, es decir, su duración, periodicidad, y gradualidad, son esenciales para poder predecir de forma realista la vulnerabilidad tanto de las especies marinas como de los ecosistemas de los que forman parte.

Referencias:

- Amaral Ruiz M. de J., 2013. Tolerancia térmica en los caballitos juveniles de *Hippocampus erecus* y su efecto sobre el crecimiento. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guadalajara. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Febrero, 2013.
- Anderson M.J. 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology* 26, 32-46.
- Anderson J.F., L. Albergotti, S. Proulx, C. Peden, R.B. Huey, P.C. Phillips. 2007. Thermal preference of *Caenorhabditis elegans*: a null model and empirical tests. *J. Exp. Biol.* 210, 3107–3116.
- Ahnesjö I., E. Forsgren, C. Kvarnemo. 2008. Variation in sexual selection in fishes. en *Fish Behaviour* (Magnhagen, C., Braithwaite, V., Forsgren, E. & Kapoor, B. G., eds), pp. 303–335. Enfield, NH: Science Publishers.
- Altinok I. y J.M. Grizzle. 2003. Effects of low salinities on oxygen consumption of selected euryhaline and stenohaline freshwater fish. *J. World Aqua. Soc.* 34, 113–117.
- Atkinson D., 1995. Effects of temperature on the size of aquatic ectotherms: exceptions to the general rule. *J. therm. Biol.* Vol. 20. No. 112. DD. 61-74.
- Aurelio M., F. Faleiro, V. M. Lopes, V. Pires, A. Rita Lopes, Marta S. Pimentel, T. Repolho, M. Baptista, L. Narciso, R. Rosa., 2013. Physiological and behavioral responses of temperate seahorses (*Hippocampus guttulatus*) to environmental warming. *Marine Biology*, 160:2663-2670.
- Becker C. D. y R. G. Genoway. 1979. Evaluation of the critical thermal maximum for determining thermal tolerance of freshwater fish. *Environ. Biol. Fish.* 4, No. 3, pp. 245-256.
- Beitinger T.L., L.C. Fitzpatrick. 1979. Physiological and ecological correlates of preferred temperature in fish. *Am. Zool.* 19, 319–330.
- Beitinger T.L., W.A. Bennet. 2000. Quantification of the role of acclimation temperature in temperature tolerance of fishes. *Environ. Biol. Fishes* 58, 277–288.
- Beitinger T.L., W.A. Bennett, R.W. McCauley. 2000. Temperature tolerance of North American freshwater fishes exposed to dynamic changes in temperature. *Environ. Biol. Fishes* 58, 237–275

- Bellomy M.D., 1969. Encyclopedia of seahorses. T.F.H. Publications, Jersey City, NJ, 192 pp.
- Bennett W.A., T. L. Beitinger. 1997. Temperature tolerance of the sheep head minnow, *Cyprinodon variegates*. *Copeia*1,77–87.
- Bennett W.A., R.J. Currie, P.F. Wagner, T.L Beitinger. 1997. Cold tolerance and potential over wintering of the Red-Bellied Piranha, *Pygocentrus nattereri*, in the UnitedStates.*Trans.Amer. FishSoc.*126,841–849.
- Bicego K.C., R.C.H. Barros, L.G.S. Branco. 2007. Physiology of temperature regulation: comparative aspects. *Comp. Biochem. Physiol.* 147A, 616–639.
- Bozinovic F., P. Calosi, J.I. Spicer. 2011. Physiological correlates of geographic range in animals. *Annu Rev. Ecol. Evol. Syst.* 42, 155–179.
- Bradshaw A.D., 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Adv. in Genetics.* 13, 115–155.
- Brett J. R., 1944. Some lethal temperature relations of Algonquin Park fishes. *Univ. Toronto Studies, Biol. Ser.* 52, Ontario Fish Res. Lab. Publ. 63: 1-49.
- Brett J. R. 1952. Temperature tolerance in young Pacific salmon, genus *Oncorhynchus*. *J. Fish. Res. Board Can.* 9:265-323.
- Briceño-Jacques F., Mascaró M., C. Rosas. 2010. Energy demand during exponential growth of *Octopus maya*: exploring the effect of age and weight. *ICES J. Mar. Sci.* 67, 1501-1508.
- Brierley A. S., M. J. Kingsford. 2009. Impacts of climate change on marine organisms and ecosystems. *Current Biology*, 19, R602-R614.
- Brougher D.S., L.W. Douglass, J.H. Soares. 2005. Comparative oxygen consumption and metabolism of striped bass *Moronesaxatilis* and its hybrid *M. chrysops* ~ x *M. saxatilis*. *J.World. Aqua.Soc.*36,521–529.
- Buckley B.A., M.E. Owen, G.E. Hofmann. 2001. Adjusting the thermostat: the thresholdinduction temperature for the heat-shock response in intertidal mussels (genus *Mytilus*) changes as a function of thermal history. *J. Exp. Biol.* 204, 3571–3579.
- Cadena V. y G.J. Tattersall, 2009. Decreased precision contributes to the hypoxic thermoregulatory response in lizards. *J. Exp. Biol.* 212, 137–144.

- Chown S.L., K.R. Jumbam, J.G. Sørensen, J.S. Terblanche. 2009. Phenotypic variance, plasticity and heritability estimates of critical thermal limits depend on methodological context. *Func. Ecol.* 23: 133–140.
- 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).
- Clark T.D., E. Sandblom, F. Jutfelt. 2013. Aerobic scope measurements of fishes in an era of climate change: respirometry, relevance and recommendations. *J. Exp. Biol.* 216, 2771–2778.
- Clarke A., 1980. A reappraisal of the concept of metabolic cold adaptation in polar marine invertebrates. *Biol. J. Linn. Soc.* 14, 77–92.
- Cox D. K., 1974. Effects of three heating rates on the critical thermal maximum of bluegill. pp. 158–163. In: J. W. Gibbons and R. R. Sharitz (ed.) *Thermal Ecology*, CONF- 730505, Nat. Tech. Inf. Ser., Springfield, VA.
- Curtis J., M.A. Moreau, D. Marsden, E. Bell, K. Martin-Smith, M. Samoilys y A. Vincent. 2004. Underwater visual census for seahorse population assessments. Project seahorse technical report series no. 8, Version 1.0. Project Seahorse, Fisheries Centre, University of British Columbia. 28 pp.
- Crawshaw L.I., 1977. Physiological and behavioral reactions of fish to temperature change. *J. Fish. Res. Board. Can.* 34, 730–734.
- Dallas, H. F. y N. A. Rivers-Moore. 2012. Critical thermal maxima of aquatic macro invertebrates: toward identifying bio-indicators of thermal alteration. *Hydrobiology* 679: 61–76.
- Das T., A.K. Pal, S.K. Chakraborty, S.M. Manush, N.P. Sahu, S.C. Mukherjee. 2005. Thermal tolerance, growth and oxygen consumption of *Labeorohita* acclimated to four temperatures. *J. Therm. Biol.* 30,378–383.
- Dawson C.E., 1982. *Fishes of the Western North Atlantic*. Memoir Sears Foundation for Marine Research. Sears Foundation for Marine Research, Yale University, New Haven, CT, 189 pp.
- Díaz F., A. D. Re, Z. Medina, G. Re, G. Valdez, F. Valenzuela. 2006. Thermal preference and tolerance of green abalone *Haliotis fulgens* (Philippi, 1845) and pink abalone *Haliotis corrugata* (Gray, 1828). *Aqua. Res.* 37,877–884.

- Dong Zhang, Yinghui Zhang, Junda Lin y Quiang Lin. 2010. Growth and survival of juvenile lined seahorse, *Hippocampus erectus* (Perry), at different stocking densities. *Aqua. Res.* 42, 9-13.
- Echeverría G.A.W. y H.G.A. Piña. 2003. Ficha Informativa de los Humedales Ramsar < <http://ramsar.conanp.gob.mx/documentos/fichas/16.pdf>> (con acceso 20/ene/2010).
- Eme J. y W. A. Bennett. 2009. Critical thermal tolerance polygons of tropical marine fishes from Sulawesi, Indonesia. *J. Ther. Biol.* 34 (5), 220-225.
- EOL. 2015. *Hippocampus* datos. <http://eol.org/pages/24646/data>. Consultado en 27 de abril de 2015.
- Faleiro F., L. Narciso, L. Vicente. 2008. Seahorse behaviour and Aquaculture: How to improve *Hippocampus guttulatus* husbandry and reproduction? *Aquaculture* 282: 33-40.
- Foster S.J., A.C.J. Vincent. 2004. Life history and ecology of seahorses: implications for conservation and management. *J. Fish. Biol.* 65:1-61.
- Fritzsche R. A., 1980. Revision of the eastern Pacific *Syngnathidae* (Pisces: Syngnathiformes) including both recent and fossil forms. *Proc. Cal. Acad. Sci.* 42, 181-227.
- Fry E.F. J., 1947. Effects of the environment on animal activity. *Univ. Toronto Studies, Biol. Ser.* 55, Ontario Fish. Res. Lab. Publ. 68: 1-62.
- García-Garrido S., P. Domingues, J.C. Navarro, I. Hachero-Cruzado, C. Rosas. 2011. Growth, partial energy balance, mantle and digestive gland lipid composition of *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) fed with two artificial diets. *Aquaculture Nutrition* 17 e174-e187.
- Geng Qin, Yanhong Zhang, Liangmin Huang, Quiang Lin. 2014. Effects of water current on swimming performance, ventilation frequency and feeding behavior of young seahorses (*Hippocampus erectus*). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 461, 337-343.
- Ghalambor C.K., J.K. McKay, S.P. Carroll, D.N. Reznick. 2007. Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Funct. Ecol.* 21, 394-407.
- Ginsburg I., 1937. Review of the seahorses (*Hippocampus*) found on the coasts of the American continents and of Europe. *Proc. USNM.* Vol. 83. pp. 497-594.

- Golovanov V.K., 2013. Ecophysiological patterns of distribution and behavior of freshwater fish in thermal gradients. *J. Ichthyol.* Vol. 53, No. 44, pp. 252-280.
- González R. A., F. Díaz, A. Licea, A. D. Re, L. N. Sánchez, Z. García-Esquivel. 2010. Thermal preference, tolerance and oxygen consumption of adult White shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) exposed to different acclimation temperatures. *Journal of thermal biology* 35 (2010) 218-234.
- Guppy M., W. Withers. 1999. Metabolic depression in animals: physiological perspectives and biochemical generalizations. *Biol. Rev.* (1999), 74, pp. 1-40.
- Halpern B.S., S. Walbridge, K.A. Selkoe, C.V. Kappel, F. Micheli, C. D'Agrosa, J.F. Bruno, K.S. Casey, C. Ebert, H.E. Fox, R. Fujita, D. Heinemann, H.S. Lenihan, E.M.P. Madin, M.T. Perry, E.R. Selig, M. Spalding, R. Steneck, R. Watson. 2008. A global map of human impact on marine ecosystems. *Science* 319:948–952.
- Hart J. S., 1952. Geographic variations of some physiological and morphological characters in certain freshwater fish. *Univ. Toronto Studies, Biol. Ser.* 60, Ontario Fish. Res.Lab. Publ. 72: 1-79.
- Herrera-Silveira J., 2006. La unas costeras de Yucatán (SE, México): Investigacion, Diagnostico y Manejo. *Ecotrópicos* 19(2): 94-108.
- Hilomen-Garcia G.V., R. De los Reyes, M.H. Garcia. 2003. Tolerance of seahorse *Hippocampus kuda* (Bleeker) juveniles to various salinities. *J. Appl. Ichthyol.* 19: 94- 98.
- Hochachka P.W., G.N. Somero. 2002. *Biochemical Adaptation: Mechanism and Process in Physiological Evolution.* Oxford University Press.
- Hoese H.D. y R.H. Moore. 1977. *Fishes of the Gulf Mexico, Texas, Louisiana and adjacent waters.* Texas A & M University Press, College Station, TX, 327 pp.
- Huipé-Zamora Itzel. 2015. Preferencia térmica en juveniles de caballito de mar (*Hippocampus erectus* Perry, 1810) aclimatados a temperaturas contrastantes. Resúmenes del XIV Congreso Nacional de Ictiología y III Simposio Latinoamericano de Ictiología . Morelia, Michoacán, México. 3 al 8 de noviembre de 2014.
- Hutchison V., 1976. Factors influencing thermal tolerance of individual organisms. In: Esch G.W., R. McFarlane (Eds.), *Symposium series of the national technical information service, Springfield, VA*, pp. 10-26.
- Inhat J.M. y Bulkley R.V., 1984. Influence of acclimation temperature and season on acute temperature preference of adult mountain whitefish, *Prosopium williamsoni*. *Env. Biol. of Fishes*, 11, 29-40.

- Jerónimo M.G., 2010. Evaluación de la calidad ambiental del sistema lagunar Chelem-Progreso, Yucatán. Symposium: Agua. SIIDETEX. Sisal, Yuc. Febrero, 2010.
- Jiménez G.L., 2012. Aspectos de la biología reproductiva y conducta del caballito de mar *Hippocampus erectus*. Tesis de postgrado. Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Jobling M., 1981. Temperature tolerance and the final preferendum: rapid methods for the assessment of optimum growth temperatures. *J.Fish Biol.* 19, 439-455.
- Johnston I.A. y J. Dunn. 1987. Temperature acclimation and metabolism in ectotherms with particular reference to teleost fish. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 41: 67-93.
- Kelsch S.W. y W.H. Neill. 1990. Temperature preference versus acclimation in fishes: selection for changing metabolic optima. *Tran.Amer. Fish. Soc.* 119: 601-610.
- Kennedy V.S., R.R. Twilley, J.A. Kleypas, J.H. Jr. Cowan. 2002. Coastal and marine ecosystems and global climate change: potential effects on U.S. resources. Pew Center on Global Climate Change, Arlington, VA.
- Koldewey H. y K. Martin-Smith. 2010. A global review of seahorse aquaculture. *Aquaculture*, 302, 131-152.
- Kuiter R.H., 2000. Seahorse, Pipefishes and their relatives: A comprehensive guide to Syngnathiformes. TMC Publishing. Chorleywood, U.K. 240pp.
- Legendre P. y L. Legendre. 1998. Numerical Ecology. Developments in Environmental Modelling, 20. Elsevier.
- Lenton T.M., H. Held, E. Kriegler, J.W. Hall, W. Lucht, S. Rahmstorf, H.J. Schellnhuber. 2008. Tipping elements in the Earth's climate system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105:1786–1793.
- Lemos D., V. N. Phan, , G. Alvarez. 2001. Growth, oxygen consumption, ammonia-N excretion, biochemical composition and energy content of *Farfantepenaeus paulensis* Perez-Farfante (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) early postlarvae in different salinities. *J.Exp.Mar.Biol.Ecol.* 261,55–74.
- Lieske E. y R. Myers. 1994. Collins pocket guide to the coral reef fishes of the Indo-Pacific and Caribbean. London, U.K.: Harper Collins Publishers.

- Lin Q., J. Lu, Y. Gao, L. Shen, J. Cai, J. Luo. 2006. The effect of temperature on gonad, embryonic development and survival rate of juvenile seahorses, *Hippocampus kuda* Bleeker. *Aquaculture* 254:701–713.
- Lin Q., Y. Gao, J. Sheng, Q. Chen, B. Zhang, J. Lu. 2007. The effect of food and the sum of effective temperature on the embryonic development of the seahorse *Hippocampus Kuda* Bleeker. *Aquaculture* 262, 481-492.
- Lin Q., J. Lin, D. Zhang. 2008. Breeding and juvenile culture of the lined seahorse *Hippocampus erectus* (Perry 1810). *Aquaculture* 283 (1-4): 92 – 96.
- Lin Q., J. Lin, L. Huang. 2009. Effects of substrate color, light intensity and temperature on survival and skin color change of juveniles seahorses, *Hippocampus erectus* Perry, 1810. *Aquaculture* 298: 157–161.
- Lin Q., J. Lin, L. Huang. 2010. Effects of light intensity, stocking density and temperature on the air-bubble disease, survivorship and growth of early juvenile seahorse *Hippocampus erectus*, Perry 1810. *Aqua. Res.* 42: 91-98.
- Lourie S. A., 2004. A Guide to the Identification of Seahorses. Project Seahorse and TRAFFIC North America. Washington D.C.: University of British Columbia and World Wildlife Fund.
- Love R.M., 1970. The chemical biology of fishes. Academic Press, London, pp 209–215.
- Lucas A., 1993. Bioénergétique Des Animaux Aquatiques. Masson, Paris.
- Lutterschmidt W.I. y V.H. Hutchison. 1997. The critical thermal maximum: data to support the onset of spasms as the definitive endpoint. *Can. J. Zool.* 75: 1553-1560.
- Madeira D., L. Narciso, H.N. Cabral, C. Vinagre. 2012. Thermal tolerance and potential impacts of climate change on coastal and estuarine organisms. *J. Sea Res.* 70: 32-41
- Magozzi S. y P. Calosi. 2014. Integrating metabolic performance, thermal tolerance, and plasticity enables for more accurate predictions on species vulnerability to acute and chronic effects of global warming. *Glob. Change Biol.* 21, 181-194.
- Manush S.M., A.K. Pal, N. Chatterjee, T. Das, S.C. Mukherjee. 2004. Thermal tolerance and oxygen consumption of *Macrobrachium rosenbergii* acclimated to three temperatures. *J. Therm. Biol.* 29,15–19.
- Marino-Tapia I. y C. Enríquez. 2010. Estudios batimétricos y de la calidad del agua de lagunas costeras de Yucatán. Proyecto FOMIX-CONACYT. Reporte Técnico. Laboratorio de procesos costeros y oceanografía física. CINVESTAV-IPN, Mérida, Yucatán. México.

- McArdle B.H. y M.J. Anderson. 2001. Fitting multivariate models to community data: A comments on distance-based redundancy analysis. *Ecology*, 82: 290-297.
- McElroy D.J., H. D. Nguyen, M. Byrne., 2012. Respiratory response of the intertidal sea star *Parvulastra exigua* to contemporary and near-future pulses of warming and hypercapnia. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 416-417, 1-7.
- Miranda P.M.A., F.E.S. Coelho, A.R. Tome, M.A. Valente. 2002. 20th Century Portuguese Climate and Climate Scenarios. In: Santos FD, Forbes K, Moita R (eds) *Climate change in Portugal. Scenarios, Impacts and adaptation measures—SIAM Project*. Gradiva, Lisboa, pp 27–83.
- Mitchell K.A. y A.A. Hoffmann. 2010. Thermal ramping rate influences evolutionary potential and species differences for upper thermal limits in *Drosophila*. *Funct. Ecol.* 24: 694–700.
- Norin T., H. Malte y T.D. Clark. 2014. Aerobic scope does not predict the performance of a tropical eurythermal fish at elevated temperatures. *J. Exp. Biol.* 217, 244-251.
- Noyola J., M. Mascaró, C. Caamal, E. Noreña-Barroso, F. Díaz, A. D. Re, A. Sánchez, C. Rosas. 2013. Effect of temperature on energetic balance and fatty acid composition of early juveniles of *Octopus maya*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 445, 156-165.
- Overgaard J., T.N. Kristensen, K.A. Mitchell, A.A. Hoffmann. 2011. Thermal tolerance in widespread and tropical *Drosophila* species: Does phenotypic plasticity increase with latitude? *Am. Nat.* 178: 580–596.
- Pamala L.J. y K.L. Heck, Jr. 1994. The effects of habitat complexity and light intensity on ambush predation within a simulated seagrass habitat. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 176, 187-200.
- Perry A.L., P.J. Low, J.R. Ellis, J.D. Reynolds. 2005. Climate change and distribution shifts in marine fishes. *Science* 308:1912–1915.
- Petit J.R., D. Raynaud, C. Lorius. 1999. Climate and atmospheric history of the past 420,000 years from the Vostok ice core, Antarctica. *Nature* 399:429–436.
- Philipart C.J.M., R. Anadon, R. Danovaro, J.W. Dippner, K.F. Drinkwater, S.J. Hawkins, T. Oguz, G. O’Sullivan, P.C. Reid. 2011. Impacts of climate change on European marine ecosystems: Observations, expectations and indicators. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 400:52–69.

- Pigliucci M., 1996. How organisms respond to environmental changes: from phenotypes to molecules (and vice versa). *Trends Ecol. Evol.* 11, 168–173.
- Pigliucci M., 2003. Phenotypic integration: studying the ecology and evolution of complex phenotypes. *Ecol. Letters* 6, 265–272.
- Pigliucci M., C.J. Murren, C.D. Schlichting. 2006. Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *J. Exp. Biol.* 209, 2362–2367.
- Pimentel M.S., K. Trübenbach, F. Faleiro, J. Boavida-Portugal, T. Repolho., R. Rosa, 2012. Impact of ocean warming on the early ontogeny of cephalopods: a metabolic approach. *Mar. Biol.* 159:2051–2059.
- Planas M., A. Chamorro, P. Quintas, A. Vilar. 2008. Establishment and maintenance of threatened long-snouted seahorse, *Hippocampus guttulatus*, broodstock in captivity. *Aquaculture* 283: 19 – 28.
- Planas M., A. Blanco, A. Chamorro, S. Valladares, J. Pintado. 2012. Temperature-induced changes of growth and survival in the early development of the seahorse *Hippocampus guttulatus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 438 (2012) 154-162.
- Ponce H., L. Jiménez, N. Simoes, M. Mascaró. 2011. Variaciones espacio-temporales en algunas medidas corporales de *Hippocampus erectus*, en la laguna de Chelem, Yucatán. Resúmenes del II Simposio para el Conocimiento de los Recursos Costeros del Sureste, 8-9 de junio, Cd. Del Carmen, Campeche.
- Pörtner H.O., 2001. Climate change and temperature-dependent biogeography: oxygen limitation of thermal tolerance in animals. *Naturwissenschaften* 88:137-146.
- Pörtner H.O., F.C. Mark, C. Boock. 2004. Oxygen limited thermal tolerance in fish? Answers obtained by nuclear magnetic resonance techniques. *Resp. Physiol. Neurobiol.* 141:243-260.
- Pörtner H.O. y R. Knust. 2007. Climate change affects marine fishes through the oxygen limitation of thermal tolerance. *Science* 315, 95.
- Pörtner H.O. y A.P. Farrell. 2008. Physiology and climate change. *Science*. 322, 690–692.
- Pörtner H.O. y M. A. Peck. 2010. Climate change effects on fishes and fisheries: towards a cause-and-effect understanding. *J. Fish Biol.* 77, 1745-1779.
- Pörtner H.O., 2010. Oxygen and capacity limitation of thermal tolerance: a matrix for integrating climate-related stressor effects in marine ecosystems. *J. Exp. Biol.* 213, 881-893.

- Power M. y M. J. Attrill. 2003. Long-term trends in the estuarine abundance of Nilsson's pipefish (*Syngnathus rostellatus* Nilsson). *Estuarine, Coastal and Shelf Sci.* 57:325–333.
- Quiang Lin, Junyi Lu, Yongli Gao, Li Shen, Jin Cai, Junning Luo. 2006. The effect of temperature on gonad, embryonic development and survival rate of juvenile seahorses, *Hippocampus Kuda* Bleeker. *Aquaculture* 254: 701-713.
- Quiang Lin, YongliGao, Junqing Sheng, Qingxiang Chen, Bin Zhang, Junyi Lu. 2007. The effects of food and the sum of effective temperature on the embryonic development of the seahorse *Hippocampus Kuda* Bleeker. *Aquaculture* 262: 481-492.
- Quintas P., A. Chamorro, S. Piñeiro, I. Medina, M. Planas. 2007. Producción de *Artemia salina* para la alimentación de caballito de mar *Hippocampus guttulatus* Cuvier 1829 en cautividad. XI congreso nacional de acuicultura, Vigo. España, 203- 206 pp. Del 24-28 de septiembre de 2007.
- Rajaguru S. y S. Ramachandran. 2001. Temperature tolerance of some estuarine fishes. *J. Therm. Biol.* 26, 41-45.
- Reyes I., F. Díaz, A. D. Re, J. Pérez. 2011. Behavioral thermoregulation, temperatura tolerance and oxygen consumption in the Mexican bullseye puffer fish, *Sphoeroides annulatus* Jenyns (1842), acclimated to different temperatures. *J. Therm. Biol.* 36, 200-205.
- Reynolds W.W., M.E. Casterlin. 1979. Behavioral thermoregulation and the final preferendum paradigm. *Am. Zool.* 19, 211–224.
- Roessing M.J., M.C. Woodley, J.J. Cech, L.J. Hansen. 2004. Effects of global climate change on marine and estuarine fishes and fisheries. *Rev. Fish. Bio. Fish.* 14:251–275.
- Rosas C., A. Sánchez, M.E. Chimal, R. Brito. 2003. Manual de métodos para la evaluación del balance energético en crustáceos. Jornadas iberoamericanas de nutrición acuícola. Avances de la Nutrición de Camarones Peneidos: Hacia la Optimización de Alimentos y Estrategias de Alimentación para una Camaronicultura Sustentable Centro de Formación de la Cooperación Española en Cartagena de Indias, Colombia, 7 a 11 de julio de 2003.
- Rosa R., M.S. Pimentel, J. Boavida-Portugal, T. Teixeira, K. Trübenbach, M.S. Diniz. 2012. Ocean warming enhances malformations, premature hatching, metabolic suppression and oxidative stress in the early life stages of a keystone invertebrate. *PLoS ONE* 7(6).

- Russell I. A., 1994. Mass mortality of marine and estuarine fish in the Swartvlei and Wilderness Lake Systems, Southern Cape. *South African Journal of Aquatic Science* 20, 93–96.
- Salvato B., V. Cuomo, R. Di Muro, M. Beltramini. 2001. Effects of environmental parameters on the oxygen consumption of four marine invertebrates: a comparative factorial study. *Mar. Biol.* 138, 659–668.
- Santos F.D., K. Forbes, R. Moita. 2002. Climate change in Portugal scenarios. Impacts and adaptation measures—SIAM Project. Gradiva, Lisbon.
- Sheng Junqing, Quiang Lin, Qingxiang Chen, Yongli Gao, Li Shen, Junyi Lu. 2006. Effect of food, temperature and light intensity on the feeding behavior of three-spot juvenile seahorses, *Hippocampus trimaculatus* Leach. *Aquaculture* 256, 596-607.
- Shokri M.R., W. Gladstone, J. Jelbart. 2009. The effectiveness of seahorses and pipefish (Pisces: Syngnathidae) as a flagship group to evaluate the conservation value of estuarine seagrass beds. *Aquatic Conserv: Mar. Freshw. Ecosyst.* 19: 588–595.
- Sokolova I.M., M. Frederich, R. Bagwe, G. Lanning, A.A. Sukhotin. 2012. Energy homeostasis as an integrative tool for assessing limits of environmental stress tolerance in aquatic invertebrates. *Mar. Environ. Res.* 79, 1-15.
- Solomon S., D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K.B. Averyt, M. Tignor, H.L. Miller. 2007. Contribution of working group I to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. Cambridge University Press, Cambridge. United Kingdom and New York, NY, USA, p 996.
- Somero G., 2005. Linking biogeography to physiology: evolutionary and acclimatory adjustments to thermal limits. *Front Zool.* 2:1.
- Somero G.N., 2010. The physiology of climate change: how potentials for acclimatization and genetic adaptation will determine "winners" and "losers". *J.Exp. Biology*, 213, 912-920.
- Sorte C.J.B. y S.J. Miller. 2011. Geographic variation in temperature tolerance as an indicator of potential population responses to climate change. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 400, 209-217.
- Stern S., A. Borut, D. Cohen. 1984. The effect of salinity and ion composition on oxygen consumption and nitrogen excretion of *Macrobrachium rosenbergii*. *Comp. Biochem. Physiol.* 79A, 271–274.

- Tepolt C.K. y G.N. Somero. 2014. Master of all trades: thermal acclimation and adaptation of cardiac function in a broadly distributed marine invasive species, the European green crab, *Carcinus maenas*. J. Exp. Biol. 217, 1129-1138.
- Terblanche J.S., A. J. Deere, S. Clusella-Trullas, C. Janion, S. L. Chown. 2007. Critical thermal limits depend on methodological context. Proc. R. Soc. B.274, 2935–2942.
- Terblanche J.S., A.A. Hoffmann, K.A. Mitchell, L. Rako, P.C. le Roux. 2011. Ecologically relevant measures of tolerance to potentially lethal temperatures. J. Exp. Biol. 214: 3713–3725.
- Teske P.R., M.I. Cherry, C.A. Matthee. 2004. The evolutionary history of seahorses (Syngnathidae: Hippocampus): molecular data suggest a West Pacific origin and two invasions of the Atlantic Ocean. Mol. Phylo. Evol. 30, 273–286.
- Vari R. P., 1982. Order Gasterosteiformes, Suborder Syngnathoidei (*Doryrhamphinae*, *Syngnathinae*, *Hippocampinae*). In: Fishes of the Western North Atlantic. Sears Foundation for Marine Research, Yale University, New Haven, USA. pp. 178-193.
- Vincent A.C.J., 1996. The international trade in seahorses. TRAFFIC International. Cambridge, UK.
- Walsh S.J., D.C. Haney, C.M. Timmerman, R.M. Dorazio. 1998. Physiological tolerances of juvenile robustred horse, *Moxostoma robustum*: conservation implications for an imperiled species. Environ. Biol. Fishes 51, 429–444.
- Ward A.J.W., E.M.A. Hensor, M.N. Webster, P.J.B. Hart. 2010. Behavioral thermoregulation in two freshwater fish species. J. Fish Biol. 76, 2287–2298.
- Wedemeyer G.R., F.P. Meyer, L. Smith. 1999. Environmental Stress and Fish Diseases. Narendra Publishing House, Delhi, India p: 107.
- Waddington C.H., 1942. Canalization of development and the inheritance of acquired characters. Nature, 150, 563–565.
- Wang T., J. Overgaard. 2007. The heartbreak of adapting to global warming. Science 315, 49-50.
- White, R., 1983. Effects of acute temperature change and acclimation temperature on neuromuscular function and lethality in crayfish. Physiol. Zool. 56, 174–194.
- Wong J.M. y J.A.H. Benzie. 2003. The effects of temperature, *Artemia salina* enrichment, stocking density and light on the growth of juvenile seahorses, *Hippocampus whitei* (Bleeker, 1855), from Australia. Aquaculture 228:107–121.

- XU Yongjian, Lin Junda, Shun Chen. 2010. Polyculture of the lined seahorse, *Hippocampus erectus* Perry, 1810 with two species of macroalgae in aquaria. *Acta Oceanol. Sin.*, 2010, Vol.29, No.1, 26-32.
- Yasué M., A. Nellas, A.C. J. Vincent. 2012. Seahorses helped drive creation of marine protected areas, so what did these protected areas do for seahorses?. *Environ. Conser.* 39: 183:193.
- Yong feng He, Yongfeng He, Xingbing Wu, Yongjiu Zhu, Haocheng Li, Xuemei Li, Deguo Yang. 2014. Effect of rearing temperature on growth and thermal tolerance of *Schizothorax (Racoma) kozlovi* larvae and juveniles. *J. Therm. Biol.* 46, 24–30.
- Yoon S., A. Hiroya, M. J. Kishi. 2013. Response of Manila clam growth and its food sources to global warming in a subarctic lagoon in Japan. *Progr. Ocean.* 119, 48-58.
- Zakharstev M.V., B. De Wachter, F.J. Sartoris, H.O Pörtner, R. Blust. 2003. Thermal physiology of the common eelpout (*Zoarces viviparus*). *J. Comp. Physiol.* 173: 365-378.
- Zavala-Hidalgo J., S.L. Morey, J.J. O'Brien. 2003. Seasonal circulation on the western shelf of the Gulf of Mexico using a high-resolution numerical model. *J. Geophys. Res.* 108, 1–19.
- Zavala-Hidalgo J., A. Gallegos-García, B. Martínez-López, S.L. Morey, J.J. O'Brien. 2006. Seasonal upwelling on the Western and Southern Shelves of the Gulf of Mexico. *Ocean Dyn.* 56, 333–338.
- Ziegedweid J.R., C.A. Jennings y D.L. Peterson. 2008. Thermal maxima for juvenile short nose sturgeon acclimated to different temperatures. *Environ. Biol.Fish.* 82: 299-307.
- Zuur A., E.N. Leno y G.M. Smith. 2007. *Analysing ecological data. Series: Statistics for Biology and Health.* Springer 700 p.