UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA SUR
ÁREA DE CONOCIMIENTOS DE CIENCIAS DEL MAR Y DE LA TIERRA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MARINAS Y COSTERAS

TESIS

COSTO ENERGÉTICO Y CAMBIOS EN EL COMPORTAMIENTO DEL ABULÓN AZUL (*Haliotis fulgens*, PHILIPPI 1845) ANTE EVENTOS DE HIPOXIA E HIPERTERMIA

Que como requisito para obtener el título de:

Maestro en Ciencias Marinas y Costeras con orientación en Acuacultura

Presenta:

Biól. Gabriela Iveett Calderón Gurrola

Directores:

Dr. Carlos Cáceres Martínez

Dr. Teodoro Reynoso Granados

La Paz, Baja California Sur, septiembre de 2018

Dedicatoria

Resulta difícil agradecer a todos los que merecen parte del crédito por este trabajo y los que por convicción me acompañaron durante todo este tiempo, cada uno de mis logros son la consecuencia de lo que cada uno ha aportado:

Mis padres que me dieron la vida, el gran regalo de la educación, los consejos y los valores morales que hasta hoy me acompañan

(Mis Poqueanchis).

A mi hermana, aunque año con año nuestras vidas van tomando rumbos diferentes, nuestro amor es incondicional y nuestros lazos de hermandad son para siempre y en todo momento sinceros

(Mi Chiquis).

A mi otra mamá, quien vio mis inicios en el maravilloso mundo de la Ecofisiologia, quien me guio, me cuido, me presto su hogar, su calidez y hasta a su familia

(Mi Teresita).

A mi compañero de vida, no hay palabras para describir lo que el amor representa, es la base de todo. Y tú me has hecho sentir la más amada, la más cuidada, la más exitosa, gracias por el apoyo y el estímulo que has brindado contribuyendo enormemente en mi formación profesional, gracias por tomar mi mano y estar a mi lado en todo momento

(Mi Bubu).

Agradecimientos

Agradezco a la Universidad Autónoma de Baja California Sur y al posgrado en Ciencias Marinas y Costeras permitirme realizar mis estudios de Maestría en la Institución y brindarme el apoyo posible.

A CONACyT por la beca otorgada para realizar mis estudios de Posgrado con el número de beca 739928.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. por darme la oportunidad de realizar mis experimentos y bioensayos en sus instalaciones.

Agradezco al Laboratorio de Ecofisiología de Organismos Acuáticos por darme la oportunidad de trabajar en su laboratorio y por todas las facilidades otorgadas para realizar los bioensayos.

A la cooperativa Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera de Bahía Tortugas, Baja California Sur S.C de R.L por donar los abulones para este estudio.

A mi Director de Tesis Interno, Dr. Carlos Cáceres Martínez le agradezco la ayuda, la guía y los consejos para la realización de este trabajo. Así como siempre estar al pendiente de mis avances.

A mi Director de Tesis Externo, Dr. Teodoro Reynoso Granados le agradezco por la información proporcionada, las correcciones, los puntos de vista, el préstamo de algunos materiales que juntos enriquecieron esta tesis, así como su interés en mi formación académica durante este periodo.

Al Comité Tutorial, mis directores y la Dra. Ana Isabel Beltrán Lugo, les agradezco el apoyo, recomendaciones, correcciones del trabajo, aportaciones al escrito y las asesorías.

Agradezco a la Dra. María Teresa Sicard González por permitirme trabajar en el Laboratorio de Ecofisiología de Organismos Acuáticos, por ayudarme en la planeación de los Bioensayos, por las sugerencias y correcciones a este trabajo.

Resulta importante agradecer al Dr. César Ruiz Verdugo que me brindo su ayuda y guía durante las primeras etapas de la realización de esta tesis.

Al Maestro en Ciencias Gilberto González Soriano por el apoyo técnico en el montaje de los equipos y por la ayuda en la calibración de los equipos.

A la M.C Rosa Isela Vázquez Sánchez por los entrenamientos técnicos para el uso de equipos y sistemas, y por el apoyo en el procesamiento de muestras.

Al M.C Samuel Calderón Liévanos por el apoyo brindado en los bioensayos, la capacitación técnica en el mantenimiento de los organismos y la ayuda en el procesamiento de los datos.

Al M.C Sergio Alan Ulaje Fernández por ayudarme y brindarme su apoyo durante la realización de todos los bioensayos de tasa respiratoria.

Agradezco también a la Dra. Guillermina Alcaraz Zubeldia, de la Facultad de Ciencias de la UNAM, por sus aportaciones en las observaciones de comportamiento, especialmente al Biólogo Oscar Alberto Larrañaga Sosa, por su invaluable ayuda en el procesamiento de los videos mediante el programa Tracker®.

Al personal de la biblioteca del CIBNOR: Ana María Talamantes, Susana Luna García, Esther Ojeda y Elizabeth Sánchez Vázquez por todo el apoyo brindado en la búsqueda de información, por los artículos y por toda su ayuda.

Al departamento de Extensión y Divulgación Científica del CIBNOR por la ayuda y las facilidades brindadas en el manejo de la cámara de video, así como la edición de las videograbaciones en especial a Daniela Núñez García, Guillermina Verdugo Apodaca, Aldo Joaquín Vargas Mendieta y a Rubén Andrade Velázquez.

Gracias a mis compañeros del Posgrado en especial a Mary-Lú Robles, Brenda Bello y Yesenia Cota por su entrañable amistad que guardo como un tesoro muy valioso, gracias por los consejos, por el impulso y todo su apoyo.

Gracias a mi amigo Julio, que ha estado en cada uno de los pasos importantes de nuestras vidas y nos ha ayudado en todo momento, gracias por ser nuestra familia paceña.

Gracias Iselinsky por todas las pláticas de café, los panes, los pasteles, los burritos, bueno en general toda la comida que amablemente compartiste con nosotros. Gracias por darnos a probar otro sazón y ser como una mamá muy joven (aclaro) para nosotros con tantos tips y recetas.

ÍNDICE

DEDICATORIA…… i
AGRADECIMIENTOS…… ii
ÍNDICE…… iv
Índice de figuras…… vi
Índice de tablas…… viii
Lista de anexos…… ix
GLOSARIO DE TÉRMINOS…… x
RESUMEN…… xii
ABSTRACT…… xiii
INTRODUCCIÓN…… 1
ANTECEDENTES…… 4
JUSTIFICACIÓN…… 8
OBJETIVOS…… 9
General…… 9
Específicos…… 9
HIPÓTESIS…… 9
METODOLOGÍA…… 10
Organismos experimentales…… 10
Diseño experimental…… 10
Experimentación…… 11
Control de oxígeno…… 13
Control térmico…… 13
Evaluaciones…… 13
Comportamiento…… 13
Desplazamiento…… 14
Velocidad…… 14
Distancia…… 14
Desprendimiento y Volteamiento…… 14
Tasas fisiológicas…… 15
Tasa respiratoria…… 15
Tasa de ingestión…… 16
Análisis estadístico…… 16
RESULTADOS…… 17
Comportamiento…… 17
Desplazamiento…… 17
Desprendimiento y Volteamiento…… 20
Tasas fisiológicas…… 22
Tasa respiratoria…… 22
Tasa de ingestión…… 23
DISCUSIÓN…… 25
CONCLUSIONES…… 31
REFERENCIAS…… 32

ANEXOS……....…….……...…… 42

ÍNDICE DE FIGURAS

	Descripción	Página
Figura 1.	Figura 1. Diseño experimental en el que expusieron a organismos juveniles de *Haliotis fulgens* a condiciones extremas de temperatura y oxígeno disuelto. Cada condición corresponde a un bioensayo realizado en el que se evaluaron los cambios en el comportamiento, tasa respiratoria y tasa de ingestión.	11
Figura 2.	Organismos juveniles de abulón azul (*H. fulgens*), etiquetados con marcas plásticas para evaluar los cambios conductuales durante condiciones extremas de temperatura y oxígeno disuelto.	12
Figura 3.	Organismos de *H. fulgens* incubados de manera individual en cámaras herméticamente selladas con flujo continuo y conectados al sistema de control de variables, utilizadas para observar los cambios en la fijación al sustrato así como los cambios en la tasa respiratoria.	15
Figura 4.	Actividad de organismos juveniles de abulón azul (*H. fulgens*) expuestos a las diferentes condiciones experimentales. Se muestra el número de organismos promedio de lo observado en dos tinas por tratamiento.	17
Figura 5.	Desplazamiento de juveniles de abulón azul (*Haliotis fulgens*) sometidos a tratamientos de hipoxia, hipertermia y un reto combinado (hipoxia-hipertermina). El gráfico I indica la distancia recorrida (cm) y el gráfico II se refiere a la velocidad promedio (cm/min), las barras indican el error estandar, las letras señalan las diferencias entre tratamientos.	18
Figura 6.	Capturas de pantalla de las trayectorias realizadas por los organismos (*Haliotis fulgens*) en cada una de las condiciones experimentales. Las líneas de colores indican la trayectoria que siguieron los abulones.	19
Figura 7.	Cambio en la coloración y textura del pie de los organismos de *Haliotis fulgens* en las diferentes condiciones experimentales. A) Control (18°C–7.8 mgO_2/L), B) Hipoxia (18°C –1.0 mgO_2/L), C) Hipertermia (26°C–7.8 mgO_2/L) y D) Efecto combinado (26°C–1.0 mgO_2/L).	21

Figura 8. Organismos de abulón azul (*Haliotis fulgens)* expuestos a la combinación de factores estresantes de temperatura y oxígeno. Se observa un comportamiento de huida en los organismos, al colocarse justo en el límite del nivel del agua. 22

Figura 9. Tasa respiratoria observada durante todos los bioensayos. Las barras muestran el error estándar y las letras diferentes indican diferencias significativas entre los bioensayos. 23

Figura 10. Tasa de ingestión de los juveniles de abulón azul (*Haliotis fulgens*) en las diferentes condiciones experimentales. La falta de barra bajo el efecto combinado indica que los organismos no se alimentaron. 24

Figura 11. Fotografía de las mortalidades observadas de abulón azul (*Haliotis fulgens*) en las costas de Baja California. 42

ÍNDICE DE TABLAS

	Descripción	Página
Figura 12.	Condiciones establecidas durante los bioensayos realizados con juveniles de abulón azul (*H. fulgens*). Las flechas rojas hacia arriba indican condiciones de estrés térmico y las flechas azules hacia abajo indican condiciones de estrés por hipoxia.	12

Lista de anexos

	Descripción	Página
Anexo 1.	Fotografía de las mortalidades observadas de abulón azul (*Haliotis fulgens*) en las costas de Baja California.	42

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Bioenergéticos Procesos de absorción, transformación y entrega de energía en los sistemas biológicos.

Catabolismo proteico Transformación de las proteínas en aminoácidos y compuestos derivados simples para su transporte dentro de la célula a través de la membrana plasmática.

Ciclo circadiano Cambios físicos y conductuales de un periodo diario, que responden principalmente a la luz y la oscuridad en el ambiente de un organismo.

Comportamiento Cambio en la actividad de un organismo en respuesta a un estímulo, una señal externa o interna, o una combinación de señales.

Desplazamiento Variación de la posición de un cuerpo, a partir de un punto inicial en un tiempo X_1 al punto final a un tiempo X_2.

Ecofisiología Ciencia que estudia los cambios funcionales de los organismos, en respuesta a las variaciones del ambiente.

Efecto sinérgico Acción de dos o más factores que modifican a un fenómeno con mayor efecto que si actuaran por separado o sumados sus efectos.

Equilibrio osmótico Balance de dos disoluciones separadas por una membrana semipermeable, cuando igualan su concentración de iones aumentando o disminuyendo la cantidad de agua de cada compartimento que pasa por dicha membrana.

Fisiología Estudio de las funciones de los seres vivos y de cómo compensan o regulan a las circunstancias cambiantes.

Hemocianina Pigmento respiratorio presente en la hemolinfa de algunos invertebrados, compuesto por una proteína con dos átomos de cobre en su centro activo, encargado del transporte de oxígeno.

Hipertermia Aumento de la temperatura por encima del límite de tolerancia superior de un organismo.

Hipoxia Disminución en la concentración promedio de oxígeno, cercano a los límites de tolerancia inferior de los organismos.

Homeostasis	Conjunto de fenómenos de autorregulación, que permiten el mantenimiento de una relativa constancia en la composición y propiedades del medio interno de un organismo.
Locomoción	Movimiento que realiza un organismo para desplazarse de un lugar a otro, para trasladarse en el espacio.
Organismos gregarios	Aquellos que siguen una tendencia a agruparse en manadas o colonias.
Poblaciones bentónicas	Organismos que habitan el fondo de los ecosistemas acuáticos.
Respuestas Fisiológicas	Reacciones que se producen en el organismo ante estímulos.
Termotolerancia	Capacidad que presentan los organismos para sobrevivir dentro de cierto intervalo térmico.
Vías aerobias	Son las que utilizan oxígeno para extraer energía de la glucosa. Se efectúa en el interior de las células, en las mitocondrias.
Vías anaerobias:	Son las utilizadas por la célula cuando hay ausencia de oxígeno y de esta manera obtener energía.

RESUMEN

La modificación en temperatura y oxígeno provocado por el cambio climático, ha inducido estrés en las poblaciones bentónicas, en donde eventualmente los organismos pueden quedar fuera de sus límites de tolerancia provocando mortalidades. Este tipo de eventos han sido observados en la costa occidental de la Península de Baja California. Particularmente las poblaciones de abulón azul (*Haliotis fulgens*), han presentado cambios en su comportamiento como el desprendimiento y volteamiento sobre su concha, debilidad, provocando que los organismos sean arrojados hacia la costa y en ocasiones, resulta en mortandades que han sido asociadas a estos eventos. En este trabajo se evaluaron los cambios de comportamiento, como es el desplazamiento de los organismos y el desprendimiento-volteamiento que provoca la hipoxia (18°C – 1.0 mgO_2/L), hipertermia (26°C – 7.8 mgO_2/L) y los efectos combinados de ambos estresores (26°C – 1.0 mgO_2/L), que pueden funcionar como indicadores ante estos eventos. Asimismo, se estimó el costo energético que conllevan dichos cambios. El diseño experimental consistió en exponer organismos de *H. fulgens* a diferentes condiciones extremas de temperatura y oxígeno disuelto, para observar sus respuestas conductuales y cambios fisiológicos como la modificación en su Tasa Respiratoria (TR) (metabolismo), los resultados fueron evaluados con prueba de ANOVA y Tukey al 95% de confianza. Ante condiciones control los organismos se desplazan un promedio de 202 cm/día, a una velocidad de 2.73 cm/min y hacen movimientos zigzagueantes y ondulatorios, consumen 0.38 g de alimento/g/día. Se encontró que ante la hipoxia, los organismos pegan la concha al sustrato y mantienen los cilios retraídos, se desplazan menos (51 cm/día) y a menor velocidad (1.73 cm/min), disminuye el consumo de alimento a un 58% y la TR y energía libre disminuyen hasta un 67%. Ante estrés térmico, su velocidad de desplazamiento también disminuye a 1.30 cm/min y recorren menor distancia 84 cm/día, el movimiento de los organismos fue en línea recta, recordando un comportamiento de huida, también se observó que los organismos tenían los cilios totalmente extendido, su TR y energía libre se incrementan en un 32%. La combinación de ambos factores (hipoxia-hipertermia), resultó en que los organismos disminuyen hasta un 79% su desplazamiento (42 cm/día) y hasta un 52% la velocidad (0.97 cm/min). Se observó que trataban de escapar colocándose en el borde del agua y bajo esta condición los organismos no se alimentaron y se observaban muy débiles con los cilios hiperlaxos. Su TR y energía libre disminuyeron un 68% siendo estadísticamente igual a la hipoxia. Los resultados demostraron que los organismos presentan cambios de comportamientos y fisiológico que pueden funcionar como indicadores de estrés ante los efectos provocados por hipoxia e hipertermia. También se observó un efecto sinérgico de ambos factores reflejado en el comportamiento y energía disponible.

Palabras clave: hipoxia, temperatura, respuestas conductuales, cambios metabólicos, velocidad, distancia.

ABSTRACT

Ocean temperature and disolved oxygen changes caused by climate change have induced stress in benthic marine populations, eventually resulting in levels beyond the organisms limits of tolerance, and therefore causing mortalities. These types of events have been observed on the western coast of the Baja California Peninsula. Particularly, the populations of blue abalone (Haliotis fulgens) have shown behavior changes such as shedding, turning on their shell and weakness, resulting in organisms being drifted towards the coast and, in occasions, resulting in mortalities. In this work, behavioral changes were evaluated, such as the displacement of organisms and the detachment-turning caused hypoxia (18°C - 1.0 mgO_2/L), hyperthermia (26 °C - 7.8 mgO_2/L) and the combined effect (26°C - 1.0 mgO_2/L), which mimic the previously described events. Likewise, the energy cost of these changes was estimated. The experimental design consisted on exposing organisms of *H. fulgens* to different extreme conditions of temperature and dissolved oxygen, and register their behavioral responses and physiological changes, such as the modification in their Respiratory Rate (TR; metabolism). Under control conditions the organisms move an average of 202 cm/day, at a speed of 2.73 cm/min in zigzag and wave-like trajectories, and consume 0.38 g of food/g/day. It was found that under hipoxia condition, the organisms attach the shell to the substrate and keep the cilia retracted, reduce movement (51 cm/day) and speed (1.73 cm/min), food consumption decreases to 58% and the TR and free energy decrease up to 67%. In the presence of thermal stress, they also reduce speed to 1.30 cm/min and travelled distances to 84 cm/day, the trajectories follow straight lines, suggesting scape displacement, the organisms showed the cilia completely extended, and theri TR and free energy increased by 32%. The combination of both factors (hypoxia-hyperthermia), resulted in the organisms decreasing up to 79% displacement (42 cm/day) and up to 52% in speed (0.97 cm/min). It was observed that they were trying to escape by standing on the edge of the water and under this condition the organisms did not feed and were very weak with the hyperlax cilia. Their TR and free energy decreased by 68%, being statistically equal to the hipoxia condition. Results showed that the organisms present behavioral and physiological changes that can function as indicators of stress under hypoxia and hyperthermia. A synergic effect of both factors was also observed, reflected in the behavior and energy available.

INTRODUCCIÓN

El cambio climático global (incremento de la temperatura media del planeta) y sus manifestaciones en el ambiente marino, tienen impactos importantes en la distribución y abundancia de las poblaciones. La forma en que responden los organismos dependerá tanto de la intensidad de estos cambios como de la naturaleza propia de las especies. Existen diversos estudios acerca del efecto del cambio climático sobre los ecosistemas marinos (Pörtner *et al.,* 2014). Entre estos, resulta especialmente importante la modificación en temperatura y oxígeno en la columna de agua, exponiendo a las poblaciones bentónicas a condiciones que los pueden dejar fuera de sus límites de tolerancia, provocando estrés y eventualmente muerte (Vosloo *et al*., 2013). Se han reportado mortalidades masivas de diferentes comunidades, particularmente de las bentónicas, al parecer asociadas con estos procesos, en diferentes zonas costeras de países del mundo como Chile, Noruega, Japón, E.U.A. (Siikavuopio *et al.*, 2007; Cheung *et al.*, 2008; Gewin, 2010; Vaquer-Sunyer y Duarte, 2011).

México no es la excepción, en la costa occidental de la Península de Baja California se han reportado incidentes similares con disminuciones en la densidad de abulón de hasta 89% del 2008 a 2012 (Salcido-Guevara *et al.,* 2013; Micheli *et al.*, 2012). Fenómenos similares, donde la pesca no ha podido explicar el descenso de las poblaciones han sido observados en distintos miembros de la familia Haliotiae: *Haliotis fulgens*, *H. corrugata, H. diversicolor supertexta*, *H. tuberculata* (Zhou *et al.,* 2010; Pichon *et al.,* 2013). En este trabajo, se seleccionó al abulón azul (*Haliotis fulgens*), por ser un recurso de importancia económica (Cortés-Ortiz *et al*., 2006) en la costa occidental de la península de Baja California, en donde existen alrededor de 30 asentamientos humanos organizados en cooperativas pesqueras (Lluch-Cota *et al.,* 2014). En el último reporte estadístico de acuicultura y pesca, la producción se encontraba alrededor de 319 t con un valor aproximado de 3.4 millones de dólares (CONAPESCA, 2015). Sin embargo, la pesquería de este recurso ha disminuido desde 1968 (Casas-Valdez y Ponce-Díaz, 1996; Díaz *et al.,* 2006; Lluch-Cota *et al.,* 2006; Searcy-Bernal *et al.,* 2013) adicional, a las mortalidades reportadas por los pescadores durante los últimos 10 años, aunque no han sido documentadas. Si bien, no se tiene claridad sobre esto, se presentan algunos hechos ligados a cambios en el comportamiento como son: el desprendimiento de los organismos del sustrato, presuntamente por debilitamiento de los organismos por algún evento ambiental previo. También se observan individuos volteados sobre su concha que son incapaces de regresar a su postura original y adherirse al sustrato, pudiendo ser arrastrados por las corrientes hacia la costa (Lu *et al*., 2016).

El problema no es sencillo de resolver, debido a que en México enfrentamos fuertes deficiencias en la disponibilidad de registros continuos de variables ambientales y de información biológica básica de muchas especies, que en la región aludida hace difícil asociar las variaciones del ambiente con los cambios en los recursos marinos (Rodríguez-Valencia *et al.,* 2004; Lluch-Cota *et al*.,2006). Sin embargo, existen algunas iniciativas para realizar registros continuos en la costa occidental de la Península de Baja California, que han empezado a percibir el problema en esta especie (Micheli *et al.*, 2012), asociándolo a cambios en la temperatura y/o hipoxia.

La temperatura es considerado un factor de primer orden, debido a que provoca modificaciones en el metabolismo (Peck *et al.*, 2002) y penetra barreras físicas y puede tener efectos dramáticos sobre la estructura de todas las macromoléculas (Hickey y Singer, 2004). Sin embargo, los organismos tienen la capacidad de aclimatarse dentro de un intervalo de temperatura, lo que define su termotolerancia, la cual está asociada a la especie, al historial térmico de la población y otros factores externos (Green *et al*., 1983; Quinn *et al*., 1994). Además, el incremento de la temperatura del agua, produce cambios químicos en la calidad de la misma, tales como amonio elevado, cambios en el pH, menor oxígeno disuelto y factores nutricionales a la baja. Todos estos cambios comprometen el sistema inmunitario y hacen que las especies sean más vulnerables (Vandepeer, 2006).

Por su parte, el oxígeno, es un factor limitante para las especies acuáticas, ya que las reacciones metabólicas aerobias son controladas por la disponibilidad de éste (Villarreal, 1989) y la mayoría de los organismos marinos son intolerantes a condiciones de hipoxia extrema (Rabalais y Turner, 2001). Sin embargo, durante la hipoxia progresiva, los organismos tienen la capacidad de regular su metabolismo, para mantenerse relativamente independientes de la disponibilidad del oxígeno ambiental hasta ciertos niveles (Thuesen y Childress, 1994). Cuando la exposición a condiciones de hipoxia se prolonga, los organismos manifiestan diversos mecanismos compensatorios (Eriksson y Baden, 1997), que pueden incluir alteraciones en su tasa respiratoria, en la actividad cardio–ventilatoria, en la captación del oxígeno por la hemolinfa (Hagerman y Uglow, 1985; Taylor y Spicer, 1991) así como la obtención de energía parcial o total mediante vías anaeróbicas, dando por resultado, concentraciones elevadas de glucosa y lactato en la hemolinfa (Schwarz, 1995). También se documenta sobre el bombeo de sangre exclusivamente a órganos vitales, entre otras (Reiber y Mc Mahon, 1998). La manifestación de la compensación varía entre especies, de diversos factores ambientales entre ellos la temperatura (Pörtner, 2010) y de las características individuales de los organismos (Arai, 1997). Estas respuestas, dan una idea de la

vulnerabilidad de la especie ante condiciones de hipoxia. Los efectos de estas condiciones estresantes sobre el crecimiento del abulón y su fisiología ya se han abordado (Velasco-Echavarría, 2014; Calderón-Liévanos, 2015), y Calderón-Liévanos (2015) estableció que se presenta un efecto sinérgico sobre la supervivencia entre temperatura y oxígeno disuelto.

Por otra parte, los desafíos ambientales tienen un costo energético, ya sea preventivo o reparador de los efectos dañinos del estrés. Todas las especies tienen energía disponible que pueden utilizar en diversas funciones biológicas, entonces, si se gasta más energía en el mantenimiento o recuperación durante y/o después del estrés, la energía disponible que puede ser utilizada para el crecimiento será menor (Morash y Alter, 2016). Por lo tanto, entre mayor sea la frecuencia y duración de los eventos estresantes, el organismo reducirá o frenara su crecimiento.

Con estudios precedentes en *H. fulgens* sobre termotolerancia y tolerancia a la hipoxia, el presente trabajo, evaluó la capacidad de desplazamiento de los organismos, así como el costo energético de los cambios de comportamiento en hipoxia y estrés térmico y como cambios en los patrones de movimiento, como los demostrados por Donovan *et al* (1999) en *H. kamtschatkana* donde esta actividad tiene una alta demanda metabólica. Además, cambios en la locomoción, son considerados una causa de estrés en haliótidos (Baldwin *et al*., 2007; Cenni *et al*., 2009; Robinson *et al*., 2013).

Por lo tanto, en el presente trabajo se evaluaron cambios de comportamiento en los organismos de abulón azul (*H. fulgens*), como son la fijación o el desprendimeinto del sustrato, cambios en el desplazamiento, así como el costo energético de dichos cambios, por efecto de hipoxia, estrés térmico y la combinación de éstos factores.

ANTECEDENTES

La termotolerancia en abulón azul (*Haliotis fulgens)* ha sido abordada por diferentes autores (Leighton *et al*., 1981; Avilés y Shepherd, 1996; McBride *et al.,* 2001; Díaz *et al.*, 2006), sin embargo, existe mucha discrepancia entre ellos. Por ello, Velasco-Echavarría en 2014 realizó bioensayos para observar la termotolerancia (<3°C-33°C) y la temperatura óptima de crecimiento (23°C) en esta especie y buscó asociarla a la procedencia de la población. Por otro lado, se ha encontrado que la temperatura influye sobre la supervivencia, crecimiento, consumo de alimento y metabolismo de *Haliotis laevigata* y *H. rubra* (Edwards y Condor, 2001; Stone *et al*., 2013; Bansemer *et al*., 2015), así como sobre la morfología gastrointestinal y la fisiología digestiva observando que la actividad de las proteasas en general fue significativamente mayor (75%) a medida que la temperatura aumentó de 9 a 24°C, (Schaefer *et al*., 2013; Currie *et al*., 2015; Edwards y Condon, 2001).

En relación al oxígeno disuelto, Calderón-Liévanos (2015), estudió los límites de tolerancia a la hipoxia en *H. fulgens*, encontrando que a 26°C y en concentraciones de 1.0 y 1.5 mgO_2/L los abulones presentaron un tiempo letal medio de 32 y 33 h respectivamente, y por debajo de esta temperatura, los tiempos de mortalidad se incrementaron (76 h 23°C y 54 h 25°C). En Haliótidos, los estudios de respuesta ante hipoxia han sido enfocados a cambios fisiológicos, por ejemplo: en *H. lamellosa* y *H. asinina,* se observaron incrementos de los metabolitos secundarios D-Lactato y tauropina (Gäde, 1988; Balwdin *et al*., 2007) y en *H. diversicolor supertexta* se observó un incremento en la osmolaridad, en la concentración de glucosa y lactato, así como una disminución del pH en hemolinfa (Cheng *et al.,* 2004). En *H. midae* se encontró que, durante la hipoxia, el catabolismos del glucógeno, tiene como resultado la formación y acumulación de tauropina en el músculo aductor, así como D-lactato, ambos metabolitos se producen durante las primeras 6 h de exposición, lo que indica que el metabolismo aerobio se ve afectado desde una etapa temprana (O'omolo *et al.,* 2003). Con relación a cambio de proteínas, en juveniles de *H. midae* se encontró que los niveles totales de proteína muscular fueron menores en animales expuestos a 16 y 19 ° C y muy altos a 22 ° C, indicando para el último caso que los animales incorporan proteínas a su tejido, porque no dependen del catabolismo proteico, en la misma medida que a temperaturas más bajas y los organismos aclimatados a temperaturas frías. Estos organismos, tienen la capacidad de adaptarse a altas temperaturas, dentro de su rango óptimo de crecimiento, siempre que estén expuestos a temperaturas sostenidas y estables y no experimenten picos cortos y de alta temperatura (Vosloo y Vosloo, 2013).

En *H. fulgens* se encontró que, en respuesta aguda a la hipoxia, reduce su tasa respiratoria hasta en un 75% en temperaturas de 23 y 26°C. La hemocianina, las proteínas totales y la glucosa, se incrementaron con la hipoxia y se redujeron con el aumento de la temperatura (Calderón-Liévanos, 2015). Resultados similares a los hallados por el anterior autor, fueron encontrados para esta misma especie por Velasco-Echavarría (2014) donde la tasa respiratoria (TR) se incrementó alrededor del 100%, en organismos aclimatados de 17ºC a 26ºC y se observó también que los organismos aumentan su consumo de alimento en relación al incremento de temperatura; por consiguiente pudieran incrementar su ritmo cardiaco para trasportar la cantidad de oxígeno necesario. Otros trabajos como el de Harris *et al.* (1999), señalan en *H. laevigata* aclimatados a 18ºC, una reducción en la TR de alrededor del 50% en organismos expuestos a condiciones de hipoxia de 5.9 mgO_2/L.

En organismos marinos, existen pocos trabajos de ecofisiología en los que se haya estudiado la interacción de factores simultáneos (Pörtner, 2010). Lo anterior debido a la dificultad técnica que representa el control de los mismos y la complejidad en la interpretación de los resultados. Sin embargo, previo a la realización de los bioensayos de la presente tesis, se desarrolló un sistema para controlar variables en el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. En este sistema, es posible realizar estudios con dos o más factores simultáneamente, esto permite emular distintos escenarios ambientales para la realización de bioensayos; en este caso, temperatura y oxígeno. Derivado de investigaciones con este sistema, Carderón-Liévanos (2015) encontró un efecto sinérgico sobre la supervivencia en juveniles de *H. fulgens*, por efecto de la combinación entre temperatura y oxígeno disuelto, logrando obtener modelos predictivos de superficie de respuesta a diferentes tiempos. Por otro lado Tripp *et al* (2017), trabajaron con esta misma especie, evaluando los efectos del calentamiento bajo hipoxia e hipercapnia combinadas y observaron cambios en el metabolismo que implican una fuerte acumulación de aminoácidos, osmolitos y productos finales anaeróbicos a temperaturas intermedias, seguido de concentraciones decrecientes a temperaturas más cálidas.

Es importante remarcar que los estudios con abulón azul son complejos, debido a la conducta de este organismo. Son organismos claramente gregarios que presentan un marcado ciclo diurno-nocturno (Barkai y Griffiths, 1988), teniendo su actividad durante horas de la noche (nocturnos), que es cuando se alimentan (Bansemer *et al.,* 2015). Velasco-Echavarría (2014) logró establecer rutinas en estos organismos a diferentes temperaturas, que permitieron estandarizar estudios bioenergéticos.

El fenómeno de desprendimiento en haliótidos, ante condiciones adversas del medio como el cambio de sedimentación, así como el efecto de agentes patógenos ha sido estudiado en especies como *H. iris.* Se ha observado que los organismos suelen voltearse sobre su concha por debilitamiento, dejándoles a expensas de depredadores o a ser arrastrados por las corrientes, pero si las condiciones mejoran, recuperan la capacidad de enderezarse ("righting") (Diggles *et al.,* 2002; Chew *et al.,* 2013). En *H. tuberculata,* el enderezamiento se relacionó con una mejor supervivencia y un crecimiento más rápido (Lachambre *et al*., 2017). Mientras que en otros trabajos como los de Gäde (1988) y Donovan *et al.* (1999) con *H. lamellosa* y *H. kamtschatkana* respectivamente, encontraron incrementos en las concentraciones de metabolitos como tauropina, D-lactato, arginina y arginina fosfato, cuando los organismos son volteados y se enderezan por si solos. Esto suele usarse como un indicador de recuperación ante el estrés provocado, o bien para evaluar estados de condición, salud y energía en los organismos, tanto en campo como bajo condiciones de cultivo. Park *et al*. (2015) estudiaron los efectos del incremento de la temperatura, sobre la tasa de supervivencia, la capacidad de adhesión y las anomalías del pie en el abulón *H. discus hannai*. Estos autores aclimataron organismos a 20°C y pudieron observar que el aumento de la temperatura provoca desprendimiento y una estructura anormal del pie. Además, se observó también, un incremento en la actividad de las enzimas antioxidantes en abulones expuestos a altas temperaturas (26 y 28°C). Por otro lado y con la lapa *Nacella concinna*, Peck *et al*. (2002), encontraron que el 100% de los individuos son capaces de enderezarse dentro de las primeras 24 h después de haberse iniciado la exposición a temperaturas elevadas, pero la capacidad de enderezarse disminuye progresivamente con el aumento de la temperatura, hasta que ya no pueden realizar esta actividad. Estas observaciones las realizaron con los datos recolectados por una grabadora de video. Se pudo determinar si salían de su madriguera, la velocidad de los giros y los tiempos hasta la terminación del experimento. Por su parte Lu *et al*. (2016), encontraron que la exposición a estrés térmico e hipoxia, no solo puede afectar el metabolismo energético y el equilibrio osmótico en los tejidos musculares de la branquia de *H. diversicolor*, sino que también influye en el metabolismo de los nucleótidos y en el sistema inmunológico; estos resultados pueden llevar a comprender las influencias del estrés ambiental sobre las respuestas metabólicas de los organismos marinos.

Los estudios de comportamiento en abulones son escasos, sin embargo, en los últimos años se ha incrementado la importancia de considerarlos, ya que los cambios en el comportamiento pueden en si ser indicadores de algunas condiciones de estrés y pueden

proporcionar una medida no invasiva de cuantificarlo y estimarlo (Robinson *et al*., 2013). Recientemente y utilizando la técnica de videograbación ventral, Buss *et al*. (2015), estudiaron en *H. laevigata*, la conducta de alimentación durante la fase oscura de 12 h cuando los organismos son activos y Currie *et al*. (2016), usando el mismo método y la misma especie monitorearon la diferencias entre el desplazamiento y la actividad que realizan los abulones dependiendo del tipo de dieta y la temperatura del agua. Un estudio más reciente y con *H. rubra,* Alter *et al*. (2017), encontraron que este abulón tiene una fuerte respuesta térmica lo que implica un aumento en el movimiento lo cual requiere que la energía se dirija hacia el trabajo muscular, la producción de mucosa y el crecimiento quede en tercer término. Kaiser *et al*. (2017), probaron en *H. midae,* el efecto de distintas condiciones experimentales, como girar la placa de alimentación, mover y sacudir la placa de alimentación, levantar la cesta que contenía a los organismos y sacarla del agua, las alteraciones en el movimiento y la actividad de alimentación durante 6 días después de la perturbación, documentando que la actividad de los abulones se eleva en las primeras dos noches después de la perturbación, aunque, el consumo de alimento no se modificó.

En *H. fulgens* no ha sido posible asociar cambios de comportamiento con una condición ambiental definida, ni se ha estudiado el costo energético que representa para los organismos las alteraciones en el comportamiento. Este trabajo estudia la asociación de la incidencia de hipertermia e hipoxia, sobre las conductas mencionadas y evaluar el costo energético de la locomoción, el desprendimiento y el regreso a la postura normal de los organismos.

JUSTIFICACIÓN

En *Haliotis fulgens* no ha sido posible asociar los cambios de comportamiento como el desplazamiento ni el fenómeno de desprendimiento y volteamiento del sustrato a una condición ambiental definida, ni se ha estudiado el costo energético que representa para los organismos las alteraciones en el comportamiento. Esto, debido a que los estudios con abulón azul son complejos debido a la parte conductual de este organismo, ya que presenta un marcado ciclo diurno-nocturno y es claramente gregario. Otra complicación es la dificultad técnica y de interpretación de resultados cuando se combinan dos variables ambientales estresantes. Previo a la realización de la tesis se desarrolló un sistema de control que permite emular las condiciones ambientales y permite combinar dos o más factores, esto nos permitió realizar los bioensayos tanto de manera aislada como combinada. Esto permitió asociar la incidencia de hipertermia, hipoxia o la combinación de ambos, sobre las conductas mencionadas y evaluó el costo energético de la locomoción, el desprendimiento y el regreso a la postura normal de los organismos.

OBJETIVOS

General

Estimar el costo energético y cambios en el comportamiento del abulón azul (*H. fulgens*) ante eventos de hipoxia e hipertermia y la combinación de éstos.

Específicos, ante eventos de hipoxia y estrés térmico

Evaluar el desplazamiento de los organismos.

Evaluar la capacidad de fijación al sustrato.

Estimar el costo energético que impone a los organismos los cambios en el comportamiento.

HIPÓTESIS

En haliótidos y otros organismos marinos, se ha observado que ante el estrés ambiental, los organismos fijos al sustrato se desprenden y los que tienen concha o caparazón se voltean. Por lo tanto, al exponer organismos de abulón azul (*Haliotis fulgens*) a condiciones estresantes de temperatura e hipoxia, se espera observar que los organismos, presenten cambios en su respuesta fisiológica, como la tasa respiratoria; en sus patrones de movimiento, así como el desprendimiento y volteamiento sobre su concha. La magnitud de las respuestas dependerá del impacto del estrés y del efecto combinado de ambos factores.

METODOLOGÍA

Organismos experimentales: Obtención, trasporte y aclimatación

Se utilizaron 80 juveniles de abulón azul (*Haliotis fulgens*) de 66.5±0.94 cm de longitud de concha proporcionados por la Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera de Bahía Tortugas, Baja California Sur (114º53'45" W y 27º41'30" N). Los organismos fueron transportados al Laboratorio de Ecofisiología de Organismos Acuáticos (LEOA) del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR), donde se llevaron a cabo los bioensayos. El transporte se realizó en un recipiente de poliuretano conteniendo bolsas de hielo seco en gel en el fondo y hojas húmedas de la macroalga *Macrocystis pyrifera*, mezcladas en capas con organismos, para evitar la desecación de los mismos. A su llegada, los abulones fueron repartidos al azar en tanques plásticos de 80 L (32 x 73 x 42 cm) a una densidad de 20 organismos/tanque, con agua marina filtrada a 5 µm, salinidad de 38 ups, aireación constante, a 11°C (temperatura de transporte) y un fotoperiodo de 12:12. La temperatura fue llevada hasta al promedio de la temperatura de Bahía Tortugas (18°C), de acuerdo a los registros almacenados en la base pública de datos del Observatorio de Mares y Costas (Sicard *et al*., 2012). Lo anterior se logró incrementando paulatinamente 1°C/día, por medio de un sistema de control térmico automatizado. La alimentación se realizó *ad libitum* con hojas de la macroalga *M. pyrifera* deshidratadas al sol y rehidratadas previamente con agua marina. Cada dos días se aspiró el fondo de los tanques por medio de una manguera, se hicieron recambios de agua del 50% bajo las mismas condiciones y las hojas de alimento fueron cambiadas. Durante 2 meses se llevaron a cabo registros de mortalidad diarios, de temperatura con un termógrafos (HOBO, marca Onset modelo Pendant) programados cada 30 minutos y la salinidad se registró con un refractómetro (marca VEE GEE modelo STX-3).

Diseño de experimentación

El diseño, consistió en exponer organismos de *H. fulgens* a temperatura y concentración de oxígeno disuelto cercanos a sus límites de tolerancia (estrés térmico e hipoxia) y observar los cambios metabólicos, energéticos y respuestas conductuales (Figura 1).

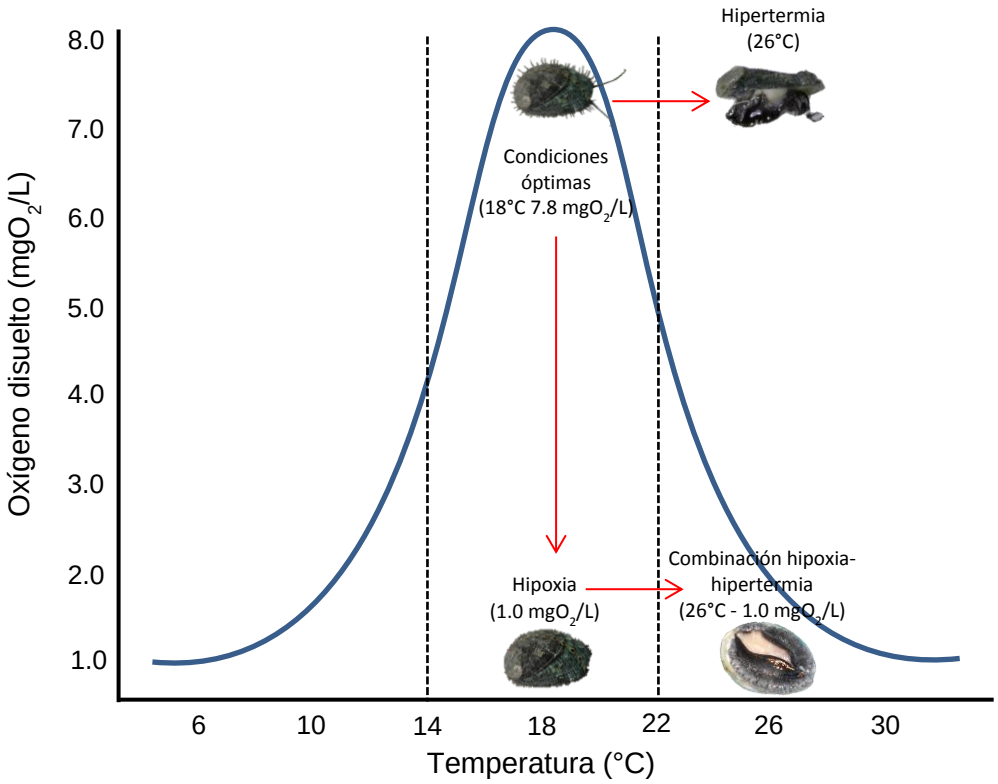

Figura 1. Diseño experimental en el que expusieron a organismos juveniles de *Haliotis fulgens* a condiciones extremas de temperatura y oxígeno disuelto. Cada condición, corresponde a un bioensayo realizado en el que se evaluaron los cambios en el comportamiento, tasa respiratoria y tasa de ingestión.

Experimentación

Una vez que los organismos fueron aclimatados, fueron repartidos al azar colocándolos en 8 tanques de fibra de vidrio (39 x 125 x 62 cm) de 300 L de capacidad a una densidad de 10 organismos/tanque. Se realizaron cuatro bioensayos por duplicado que consistieron en exponer a los organismos a las condiciones señaladas en la Figura 1. Estas fueron: Condiciones extremas de temperatura a 26°C e hipoxia a 1.0 mgO_2/L (Velasco-Echavarría, 2014; Calderón-Liévanos, 2015), una combinación de ambas, y condiciones óptimas (control). A fin de identificarlos, los abulones fueron marcados con etiquetas de plástico (vinilo) que fueron pegadas a la concha con pegamento epóxico (kola loka®) (Figura 2). Antes de la llegada de los organismos, se instaló dentro de cada tanque un tubo de PVC rígido (10 cm de diámetro) de forma paralela al ancho del tanque, con la finalidad de fungir como refugio.

Los bioensayos se realizaron durante las horas de mayor actividad (19:00 a 7:00 h) de acuerdo a lo observado por Velasco-Echavarría (2014) y el alimento fue colocado en el extremo opuesto al refugio para obligar a los organismos a desplazarse.

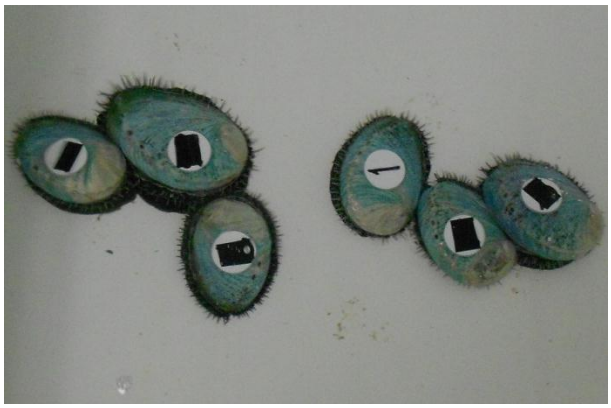

Figura 2. Organismos juveniles de abulón azul (*H. fulgens*), etiquetados con marcas plásticas para evaluar los cambios conductuales durante condiciones extremas de temperatura y oxígeno disuelto.

Para mantener la temperatura y el oxígeno disuelto en las condiciones experimentales (Tabla 1), se utilizó un sistema de control de variables ambientales automatizado (Ecosim).

Tabla 1. Condiciones establecidas durante los bioensayos realizados con juveniles de abulón azul (*H. fulgens*). Las flechas rojas indican condiciones de estrés térmico y las flechas azules indican condiciones de estrés por hipoxia.

Bioensayos	**Condición**	
	Temperatura (°C)	Oxígeno (mgO_2/L)
Control	18	7.8
1 Hipoxia	18	1.0 ↓
2 Hipertermia	26 ↑	7.8
3 Combinado	26 ↑	1.0 ↓

Control de oxígeno

Para mantener el control de oxígeno (bioensayo 1 y 3), el Ecosim inyecta nitrógeno directamente en los tanques con organismos, por medio de un difusor de poro fino, instalado en un costado de la tina. El oxígeno disuelto deseado 1.0 mgO_2/L, se logró monitoreando el oxígeno disuelto por medio de un oxímetro (Microx TX) y del programa específico Oxyview (Versión 4.16). El Ecosim fue programado para durar 12 h de exposición de los organismos a la condición experimental. Tanto el descenso de oxígeno a condiciones de hipoxia, como el regreso a normoxia (posterior a la exposición), duró un periodo de dos horas.

Control térmico

El control térmico (bioensayo 2) se logró gracias a un al calentador y un sistema de enfriamiento conectados al Ecosim, el cual se programó para que aumentara la temperatura del agua de los tanques de 18 a 26°C, en un periodo de dos horas de una manera escalonada; o en su caso (bioensayo 1) mantener la temperatura a 18 °C. Al llegar a la temperatura programada el sistema mantuvo la temperatura durante 12 h. Se colocó una bomba sumergible (marca Little GIANT® modelo PES-800-PW) con la finalidad de mantener la temperatura homogénea del agua en los tanques. Para regresar a los organismos a la condición control (18°C), se programó el sistema para que realizara la disminución de la temperatura de forma escalonada y en el mismo periodo de dos horas.

El efecto combinado de estrés térmico (26°C) y de hipoxia (1.0 mgO_2/L) (bioensayo 3), se logró por medio del sistema de la forma anteriormente descrita, pero de manera simultánea y en el bioensayo control se mantuvo la temperatura a 18°C y normoxia (7.8 mgO_2/L). Para cada bioensayo se realizaron 2 réplicas.

Evaluaciones

Comportamiento

Para evaluar el comportamiento de los organismos, se consideraron 3 aspectos: desplazamiento, desprendimiento del sustrato y volteamiento sobre su concha.

<u>Desplazamiento</u>. Los cambios en el desplazamiento se valoraron video grabando a los organismos durante cada bioensayo. Esto se realizó con una cámara de video (marca Sony©

modelo CCD-TRV 118) equipada con una lámpara infrarroja para visión nocturna (“Nightshot”), la cual fue instalada sobre un tripié y un soporte, con el fin de video grabar toda el área de los tanques. Las video grabaciones fueron digitalizadas en una computadora por medio de un convertidor analógico digital (marca STEREN® modelo COM-445). Posteriormente fueron procesados con ayuda del programa Tracker (Tracker© 2017), el cual es especializado en el análisis de videos y construcción de modelos. Este permite el seguimiento manual y automático de objetos con superposición para determinar velocidad y aceleración, entre otras variables.

La velocidad (V) de los organismos se calculó midiendo la distancia recorrida por unidad de tiempo (cm/min). Para ello, fue necesario calibrar el software con las medidas correspondientes al tanque (39 x 125 x 62 cm) y además, se superpuso una imagen del eje cartesiano con la imagen del tanque, haciendo coincidir el origen con el extremo inferior izquierdo del tanque. En el software se procedió a seleccionar la función masa puntual (el organismo etiquetado) para generar los datos en una tabla de trayectorias y el diagrama con los tiempos y la velocidad en cada punto. La velocidad a la cual se desplaza un organismo resultó del promedio de los desplazamientos puntuales.

La distancia (cm) se estimó por medio del cálculo de la velocidad promedio por el tiempo sumado de todos los puntos del recorrido.

Desprendimiento y Volteamiento

Posterior a cada bioensayo, los organismos fueron regresados a la normalidad (18°C y 7.8 mgO_2/L) y se les permitió recuperarse durante 3 días (de acuerdo a bioensayos preliminares). Después, fueron colocados en cámaras de incubación de vidrio de 800 mL, cerradas herméticamente, con flujo continuo (Figura 3). Las cámaras con organismos fueron colocadas en un sistema tipo baño maría, en juegos de 10 más una cámara blanco (sin organismo). Los juveniles fueron expuestos a las mismas condiciones experimentales descritas (Tabla 1), en el mismo horario de actividad. El sistema de cámaras se conectó a un distribuidor con válvulas para la entrada y salida de agua, y fue alimentado con agua marina filtrada a 5 µm a las condiciones experimentales.

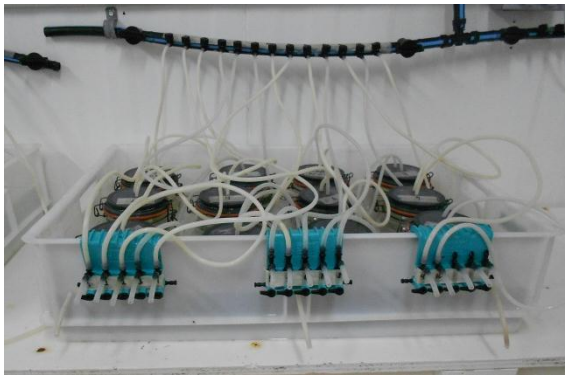

Figura 3. Organismos de *H. fulgens* incubados de manera individual en cámaras herméticamente selladas con flujo continuo y conectados al sistema de control de variables, utilizadas para observar los cambios en la fijación al sustrato así como los cambios en la tasa respiratoria.

El desprendimiento de los organismos del sustrato, se estimó observando a los organismos dentro de las cámaras de incubación transparentes, percibiendo cuando estos comenzabas a desprender parte de la concha o la totalidad de esta del sustrato, mostrando signos de perdida de adherencia. También se observó sí los abulones presentaban algún cambio de coloración en el músculo del pie, así como la modificación de la textura, básicamente como referencia de cambios físicos en los organismos.

El volteamiento se evaluó de la manera descrita anteriormente, observando si después del desprendimiento, los organismos al estar pegados al sustrato y por la pérdida de adherencia caían al fondo del frasco o si estaban en el fondo se colocaban sobre su concha.

Tasas fisiológicas

Tasa respiratoria

La tasa respiratoria (TR) se calculó midiendo el consumo de oxígeno por unidad de tiempo ($mgO_2/g/h$). De la misma manera anteriormente descrita (en las cámaras de incubación y conectadas al sistema de control de variables), la concentración de oxígeno disuelto (OD) fue medida y registrada a la salida de agua de cada cámara. Esto se logró, por medio de un oxímetro Microx TX equipado con un micro sensor de fibra óptica (10-30 µm de diámetro) adaptado a una celda de flujo continuo. Las lecturas de OD fueron registradas cada segundo por intervalos de 3 minutos en cada cámara. El consumo de oxígeno se calculó por

diferencia entre el OD de la cámara blanco (sin organismo) menos el OD de cada una de las cámaras con organismo. La tasa respiratoria se estimó de la siguiente forma:

TR = (Consumo de oxígeno x Flujo de la cámara) / peso de tejido seco

Los resultados fueron convertidos a valores energéticos, donde un mL de O_2 es equivalente a 20.2 Joules (Elliot y Davison, 1975).

Tasa de ingestión

La tasa de ingestión (TI) se determinó alimentando a los organismos a base de pellet durante 12 h. La alimentación se realizó *ad libitum* colocando pellets de marca Azteca® (previamente pesados) en el extremo contrario de los tubos de refugio a las 19:00 h. La cantidad de alimento ofertado se basó en las observaciones hechas por Velasco-Echavarría (2014), siendo un promedio de 0.56 g/organismo^{-1} para todas las condiciones experimentales. El alimento no consumido se retiró 12 h después de haberlos alimentado y se colocó en charolas de aluminio previamente pesadas. Al alimento residual se le determinó el peso seco constante colocando las muestras en una estufa a 65°C por 24 h. Posteriormente las charolas con alimento se colocaron en un refrigerador por 24 h a fin de rehidratar las muestras de la misma forma que el alimento ofertado.

La TI fue convertida de acuerdo al contenido calórico del alimento, tomando en cuenta que un Joule es equivalente a 4.16 calorías, por lo anterior un gramo de pellet contiene 4,231.72 cal·g^{-1}. Cabe destacar que el análisis de la TI se realizó de manera simultánea al estudio de comportamiento.

Análisis estadísticos

La información obtenida se analizó por medio de análisis de varianza de una vía (ANOVA) al 95% de confianza. Para estos análisis, se usó como variable independiente cada condición experimental y como variables dependientes las evaluaciones metabólicas, energéticas y conductuales realizadas. Para los casos donde se encontraron diferencias significativas, los datos fueron sometidos a una prueba *a posteriori* de Tukey al 95% de confianza para mostrar las diferencias.

RESULTADOS

Comportamiento

La actividad fuera del refugio de los organismos (n=7 organismos promedio activos en cada una de las tinas) se muestra en la Figura 4. Los organismos bajo condiciones control comienzan su actividad alrededor de las 19:00 h y se mantienen activos un promedio de 8 horas, tiempo en el cual exploran la tina y se alimentan. Los picos de mayor actividad se observaron entre 22:00 y 1:00 h y entre las 3:00 y 5:00 h, siendo estas últimas en las cuales los organismos comenzaban a regresar al refugio. En hipoxia e hipertermia los organismos salían del refugio, observándose que en muchos de los casos no llegaban al alimento y se quedaban inmóviles. Por otra, el 60% de los organimos no volvían al refugio en el caso de hipertermia y el 20% en el de hipoxia hasta que las condiciones control eran reestablecidas. Bajo condiciones combinadas de hipoxia-hipertermia, la mayoría de los organismos salieron del refugio durante las primeras horas de la noche (de 19:00 a las 21:00 h), estableciéndose dentro de la primera mitad de la tina cercanos al refugio, permaneciendo inmóviles hasta que las condiciones control fueron reestablecidas.

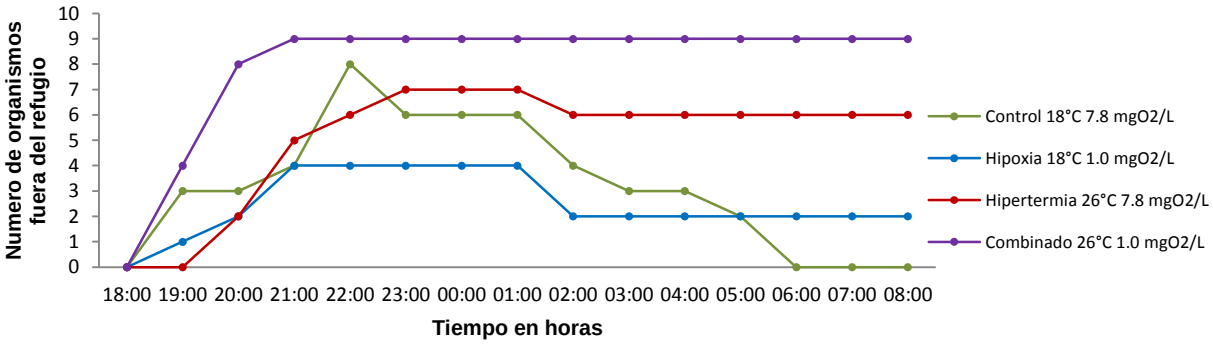

Figura 4. Actividad de organismos juveniles de abulón azul (*H. fulgens*) expuestos a las diferentes condiciones experimentales. Se muestra el número de organismos promedio observado en las dos tinas por tratamiento.

Desplazamiento

Los resultados del desplazamiento por noche de los organismos se muestran en la Figura 5. La distancia recorrida que se observó en las condiciones control fue de 200 ± 11.382 cm a un velocidad de 2.73 ± 0.266 cm/min. Los movimientos en condiciones control fueron mucho más erráticos que los observados en el resto de los tratamientos; ya que los organismos no iban directamente a la comida, sino que, hacían movimientos circulares y zigzagueantes. La distancia recorrida en las condiciones control con respecto a las demás condiciones estresantes fue significativamente mayor.

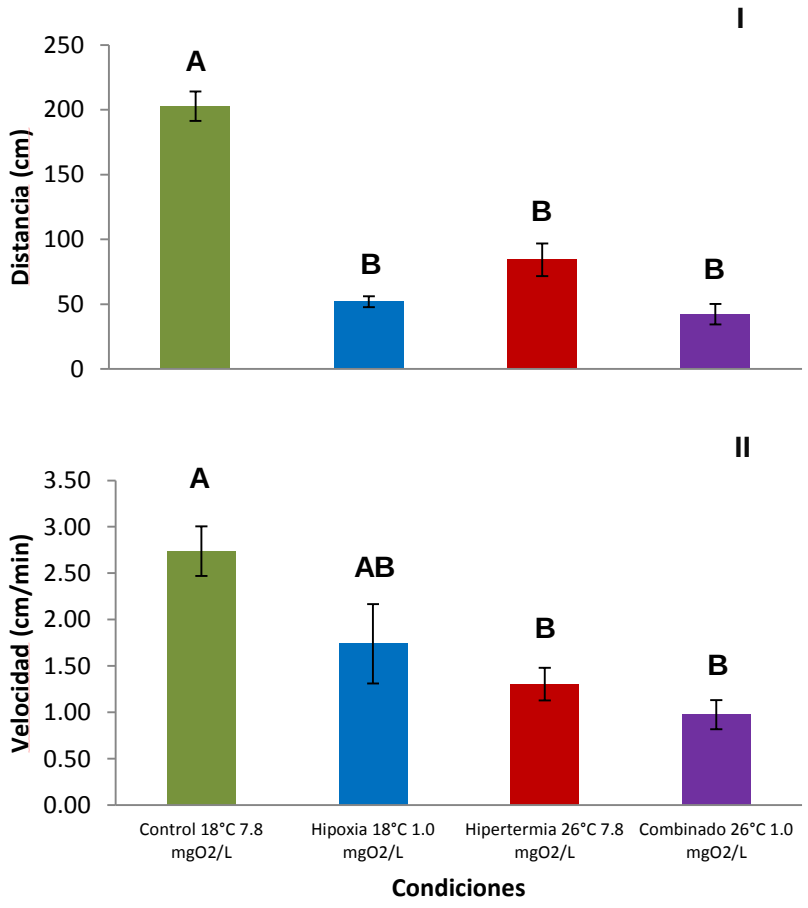

Figura 5. Desplazamiento de juveniles de abulón azul (*Haliotis fulgens*) sometidos a tratamientos de hipoxia, hipertermia y un reto combinado (hipoxia-hipertermina). El gráfico I indica la distancia recorrida (cm) y el gráfico II se refiere a la velocidad promedio (cm/min), las barras indican el error estandar, las letras señalan las diferencias entre tratamientos.

La distancia recorrida en las condiciones de hipoxia, hipertermia y el tratamiento combinado, fue en promedio 59 ± 8.250 cm, con movimientos mucho más rectilíneos que los observados en las condiciones control (Figura 6). Al aplicar la prueba *a posteriori* de Tukey, encontramos diferencias ($P<0.05$) en todas las condiciones estresantes respecto al control pero fueron iguales entre ellas ($P>0.05$).

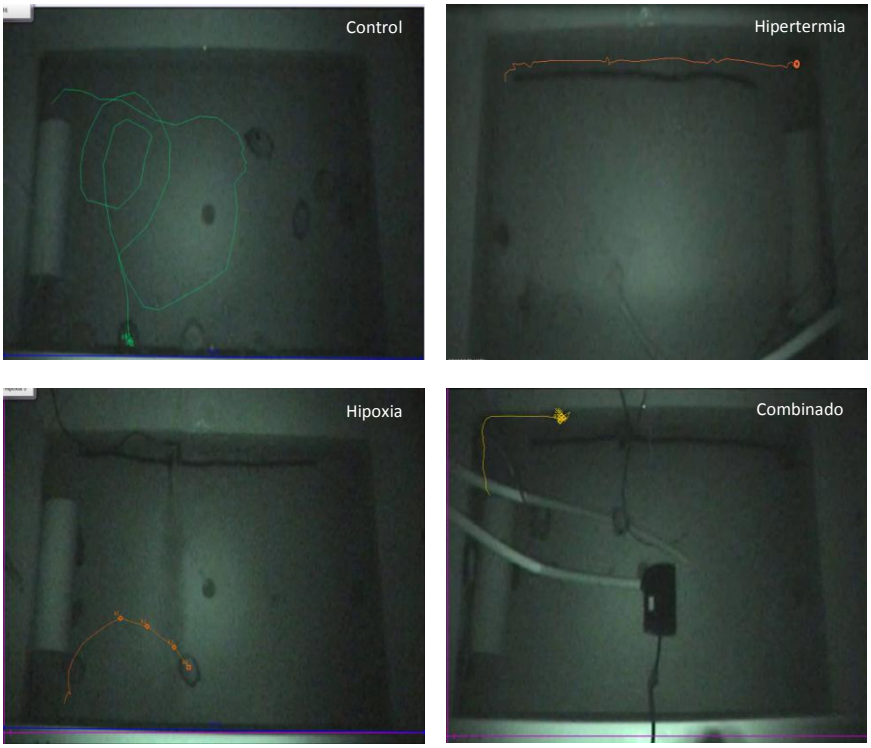

Figura 6. Capturas de pantalla de las trayectorias realizadas por los organismos de *Haliotis fulgens* en cada una de las condiciones experimentales, las líneas de colores indican la trayectoria que siguieron los abulones.

Respecto a la velocidad, los organismos en hipoxia alcanzaron una velocidad promedio de 1.73 ± 0.427 cm/min, siendo estadísticamente igual a las condiciones control ($P>0.05$), pero a su vez igual a las condiciones de hipertermia y a la combinación de ambos factores (hipertermia-hipoxia) (Figura 6). Se observaron menos organismos fuera de su refugio, los que salieron se quedaron cerca y prefirieron regresar, y los que se alejaron más, se quedaron inmóviles.

En los organismos sometidos a hipertermia, se observó un comportamiento de huida, bajo esta condición se observaron algunos organismos con la concha un poco despegada del resto del cuerpo (70% de los organismos), las antenas extendidas y reaccionaban a estímulos como la retracción de los cilios ante la presencia de una sombra o al ser tocados por una sonda.

La velocidad mínima observada fue de 0.97 ± 0.158 cm/min correspondiente a la condición combinada de hipertermia-hipoxia ($P<0.05$). En esta condición los organismos se notaron mucho más débiles y lentos, las antenas aunque se observaban extendidas tenían poca reacción de contracción (hiperlaxos) y algunos solo sacaron la mitad del cuerpo del refugio, esto se observó a las 5 horas de exposición.

Desprendimiento y Volteamiento

Los organismos sometidos a las condiciones experimentales presentaron desprendimiento parcial del pie del sustrato (nunca se despegaron totalmente). Los abulones en hipoxia presentaban la cocha totalmente pegada al sustrato, los cilios del cuerpo retraídos, se notó la aparición de estrías en el pie y cambio en la coloración del mismo, tornándose de color crema a un grisáceo claro (Figura 7 B). Bajo hipertermia, los organismos presentaron desprendimiento parcial del pie, los cilios estaban completamente extendidos pero tenían poco reacción de contracción, el pie tomo una en apariencia flácida, también se pudieron notar cambios de la coloración pasando de una coloración crema a un tono amarilloso (Figura 7 C). En el efecto combinado, los organismos desde las primeras horas de exposición se notaron débiles, presentaban la concha separada del sustrato, pero al detectar el movimiento (la presencia de sombras o al ser tocados por una sonda) los organismos volvían a pegar la concha al sustrato, los cilios estaban extendidos y no respondían a los estímulos. Se observó también, el cambio en la coloración del pie de crema a grisáceo obscuro así como la presencia de estrías, el pie de los organismos en estas condiciones se notó parcialmente despegado y notablemente flácido (Figura 7 D). Es importante señalar que se observó una recuperación de todos los organismos en aproximadamente 24 h y la supervivencia fue del 100%. La figura 7 A nos muestra a los organismos en condiciones control, en la cual se observa a los organismos con el pie totalmente pegado al sustrato y con una apariencia lisa.

Es preciso señalar que en ninguna de las condiciones experimentales se observó el volteamiento de los organismos sobre su concha.

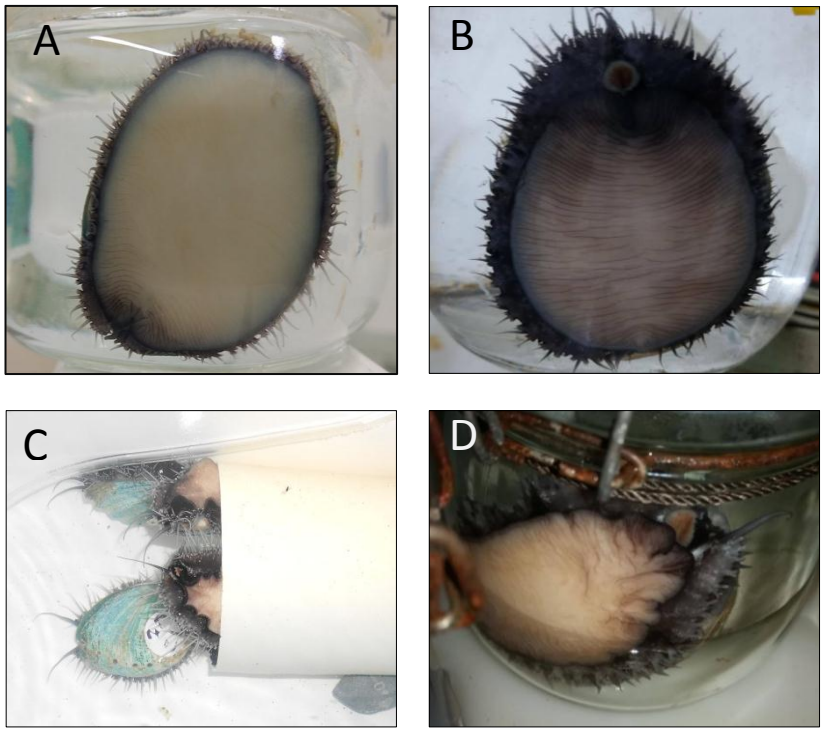

Figura 7. Cambio en la coloración y textura del pie de los organismos de *Haliotis fulgens* en las diferentes condiciones experimentales. A) Control (18°C–7.8 mgO_2/L). B) Hipoxia (18°C –1.0 mgO_2/L). C) Hipertermia (26°C–7.8 mgO_2/L) y D) Efecto combinado (26°C–1.0 mgO_2/L).

Cabe destacar que en condiciones de estrés combinado, los organismos presentaron un comportamiento parecido a una huida, como podemos ver en la Figura 8. Los organismos al percibir las condiciones desfavorables se colocaron entre el límite del agua de la tina y el resto de la tina, dando la impresión de querer salir del agua.

Figura 8. Organismos de abulón azul (*Haliotis fulgens)* expuestos a la combinación de factores estresantes de temperatura y oxígeno, se observa un comportamiento de huida en los organismos, al colocarse justo en el límite del nivel del agua.

Tasas fisiológicas

Tasa respiratoria

Los resultados de tasa respiratoria se muestran en la Figura 9 donde observamos que el promedio de la tasa respiratoria (TR) en las condiciones control fue de 0.75 ± 0.23 $mgO_2/g/h$. En condiciones de hipoxia la TR disminuyó (0.28 ± 0.06 $mgO_2/g/h$) y fue estadísticamente diferente al grupo control ($P<0.05$). En hipertermia la TR aumentó (0.98 ± 0.17 $mgO_2/g/h$) y mostró ser estadísticamente diferente al control a los organismos en hipoxia y al reto combinado. Bajo éste último, la TR disminuyó (0.24 ± 0.05 $mgO_2/g/h$) y mostró ser diferente al control y al reto en hipertermia, pero igual al reto en hipoxia ($P>0.05$). Los resultados de gasto energético se portaron de la misma forma que la TR anteriormente descrita.

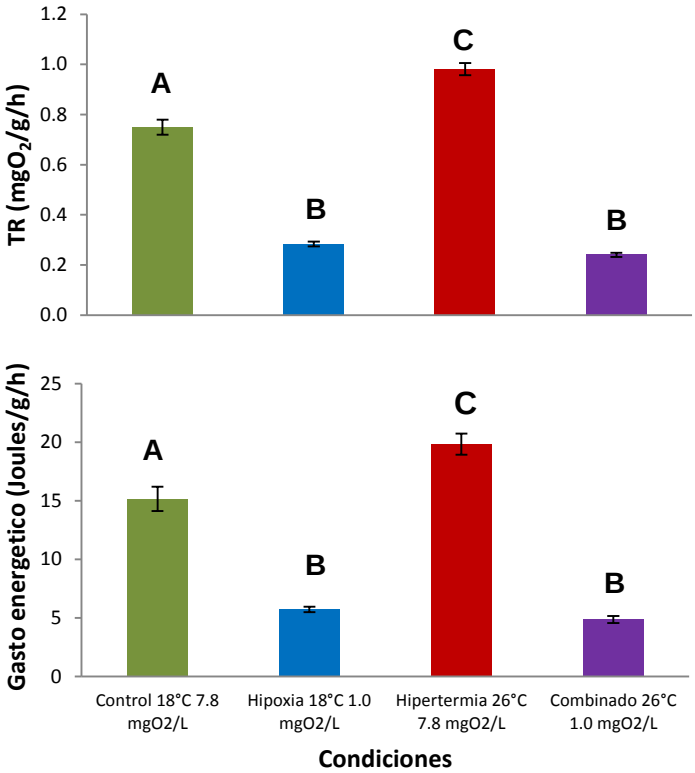

Figura 9. Tasa respiratoria observada durante todos los bioensayos, las barras muestran el error estándar y las letras diferentes las diferencias significativas entre los bioensayos.

Tasa de ingestión

Los resultados de tasa de ingestión se muestran en la Figura 10, donde se observó que los organismos bajo condiciones control tuvieron un consumo de 0.38±0.03 g alimento/g/día. Bajo condiciones de hipoxia los organismos los organismos disminuyeron la cantidad de alimento consumido (0.16±0.01 g alimento/g/día) encontrando una diferencia significativas respecto al control ($P<0.05$). Los organismos bajo condiciones de hipertermia disminuyeron también su consumo a 0.24±0.03 g alimento/g/día siendo menor que el control y estadísticamente igual a los organismos en hipoxia ($P>0.05$). Los organismos bajo el efecto combinado no consumieron alimento.

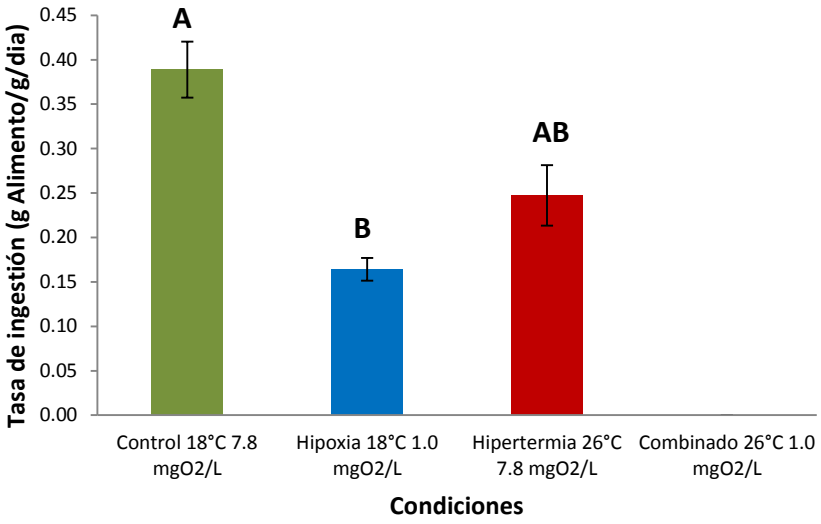

Figura 10. Tasa de ingestión de los juveniles de abulón azul (*Haliotis fulgens*) en las diferentes condiciones experimentales. La falta de barra bajo el efecto combinado indica que los organismos no se alimentaron.

DISCUSIÓN

Como señaló Pörtner (2010), existen muy pocos trabajos de ecofisiología que, hayan logrado la interacción de factores simultáneos, por un lado, por la dificultad técnica de lograr controlar distintos factores de forma simultánea y por otro, la complejidad en la interpretación de los resultados. En el presente estudio se logró asociar para juveniles de abulón azul (*Haliotis fulgens*) las respuestas fisiológicas, comportamentales y los cambios en la energía libre, por efecto de dos factores, específicamente; temperatura (hipertermia), oxígeno (hipoxia) y la combinación de ambos. Lo anterior, gracias al desarrollo de sistemas con los cuales es posible emular cambios ambientales con factores forzantes combinados (ECOSIM). Las condiciones programadas para los bioensayos fueron logradas con alta precisión, siendo las variaciones de temperatura 18 ± 0.22 °C, 26 ± 0.09°C y de oxígeno de 7.8 ± 0.05 mgO_2/L y 1.0 ± 0.07 mgO_2/L.

El diseño experimental se basó principalmente en los resultados previos presentados por Velasco-Echavarría (2014), quien determinó la actividad de organismos juveniles de la misma especie y misma localidad, basándose en cambios de la tasa respiratoria a lo largo de ciclos de 24 h a diferentes temperaturas. Este autor mostró que los organismos tienen un marcado comportamiento nocturno, incrementando su actividad a partir de las 20:00 h y disminuye a partir de las 8:00 h, cuando bajan su metabolismo hasta en un 17.71%. Un comportamiento semejante se observó en este trabajo, encontrándose que los organismos comienzan su actividad alrededor de las 20:00 h y se mantienen realizando actividades de locomoción y alimentación un promedio de 8 horas. Después de este tiempo, los organismos durante el periodo de luz, regresan a sus refugios y a su comportamiento gregario. Los ciclos diurno-nocturno para haliótidos ya han sido estudiados por varios autores: Barkai &Griffiths (1988) en *H. midae*, Tutschulte & Connell (1988) en *H. sp*., Pereira *et al*. (2007), en *H. discus*, por mencionar algunos. Y por otra parte, la práctica de la alimentación nocturna para distintas especies de *Haliotis,* ha sido ampliamente adoptada (Ino, 1952; Shepherd, 1973; Tutschulte & Connell., 1988; Hahn, 1989; Pereira *et al.*, 2007; Lloyd & Bates., 2008).

La alimentación nocturna en los abulones ha sido entendida por Hahn (1989), como una respuesta evolucionada para reducir la exposición y ser menos susceptibles a la depredación. Por otra parte para el abulón rosa *H. corrugata* y para el abulón rojo *H. rufescens*, Button (2008); Micheli *et al*. (2008), respectivamente han interpretado los hábitos gregarios, como una forma de mantener unidos a los organismos de una población para

garantizar su éxito reproductivo. Probablemente el comportamiento gregario de los abulones durante las horas de luz, es una forma de mantenerse menos vulnerable al ataque de los depredadores, dada la poca capacidad de escape que tienen. Este tipo de estrategias son seguidas por los peces y aves, que al mantenerse unidas en cardúmenes y parvadas respectivamente, son interpretadas por sus predadores como organismos grandes y no los atacan (Krause & Ruxton., 2002; Brierley & Cox., 2010)

En relación al desplazamiento, los resultados mostraron que los juveniles de *H. fulgens* bajo condiciones normales tienden a zigzaguear y hacer movimientos ondulatorios, mientras que para el caso de los organismos sometidos a condiciones estresantes modifican su comportamiento: en hipertermia mostraron un comportamiento de huida, ya que incrementan su velocidad y utilizan trayectorias rectas (Robinson *et al*., 2013), en hipoxia tienden a pegar su concha al sustrato y reducen su desplazamiento, resultados similares fueron encontrados por Alter *et al*., (2017) y en el reto combinado (hipertermia-hipoxia) tendieron a despegar parcialmente su pie del sustrato y mantenerse en el borde del agua del tanque. Según los estudios de Cenni *et al*. (2009) con *H. tuberculata*, demostraron en un ambiente natural que los organismos pueden mostrar diferentes estrategias locomotoras optando por ser vagabundos (trayectorias más largas) o sedentarios. Se puede decir que bajo condiciones control, los juveniles de abulón azul tuvieron trayectorias vagabundas, mientras que bajo condiciones de estrés a hipoxia y el reto combinado, los organismos disminuyeron su desplazamiento. Por otro lado los organismos sometidos a hipertermia no se apegaron a ninguno de los patrones anteriormente descritos. Por otra parte, Coates *et al*. (2013), observaron en el abulón rosado (*H. corrugata*) que en el campo los organismos se desplazan en distancias cortas y de forma lineal desde la posición inicial hasta la final, por lo que tampoco corresponde a lo observado por Cenni *et al*. (2009).

Muchos abulones tienen una alta fidelidad al mismo sitio durante varios meses, en este estudio pudimos observar que los organismos de *H. fulgens* salen del refugio y tienen movilidad, pero después de las horas de actividad regresan al mismo punto de partida. De manera similar en Australia se recuperaron pocos ejemplares marcados de *H. rubra* a más de 10 m de su posición inicial después de 4 meses (Dixon *et al*., 1998) y el 47% de *H. midae* marcados y recapturados en Sudáfrica permanecieron dentro del mismo sitio por 3 años, con un porcentaje de 81.5% de individuos exactamente en la misma posición (Tarr, 1995). Sin embargo, este comportamiento no es igual para todas las especies de *Haliotis*. En *H. rufescens* marcado en la costa norte de California esta especie se movió de 1 a 6 m por día y

hasta 150 m de distancia lineal como mínimo por mes, y no regresó a sitios anteriores (Ault y Demartini, 1987). Este comportamiento fue descrito por Chapman *et al*. (2011) como un fenómeno migratorio, que posiblemente está relacionado por escases de alimentos o recursos de apareamiento, descrito por Coates *et al*. (2013), en *H. corrugata* como impulsores ecológicos de la migración.

Los comportamientos de orientación se han observado en una variedad de taxones tanto de vertebrados e invertebrados en hábitats terrestres y marinos (Börger *et al*., 2008) y a menudo los organismos tienen gran fidelidad a sitios que ofrecen oportunidades superiores de alimentación (Thums *et al*., 2011), reproducción (Espeland *et al*., 2007), la prevención de depredadores (Mitamura *et al*., 2009) o la defensa territorial cuando los recursos son limitados (Kadota *et al*., 2011). En el caso de los abulones, los organismos que se mueven más tienen la capacidad de localizar más rápido el alimento o de huir en el caso de condiciones adversas. Estos organismos se ven en la necesidad de realizar un cambio compensatorio y claramente la estrategia fue la de alejarse buscando posibles condiciones favorables. Sin embargo, bajo condiciones de hipoxia los organismos recurrieron de inmediato a aislarse pegando sus conchas lo más posible al sustrato. Las diferencias entre las reacciones compensatorias de comportamiento se deben a que: la temperatura por un lado, es un factor de primer orden que influye en el nivel de actividad, procesos metabólicos, etc., (Bayne, 1976; Armitage & Wall, 1982) y los organismos tienen la capacidad de compensar cambios hasta cierto punto, siempre y cuando no sobrepasen su zona de tolerancia térmica cuando las estructuras moleculares pueden ser dañadas (Hickey & Singer, 2004). Por otra parte la concentración de oxígeno disuelto en el agua, es la variable ambiental más limitante en las especies acuáticas, ya que las reacciones metabólicas aerobias son controladas por la disponibilidad de éste (Villarreal, 1989) la sensibilidad al oxígeno es energéticamente cara debido a que la deuda de oxígeno, la reparación y el reemplazo de las macromoléculas dañadas por la falta de oxígeno tiene implicaciones costosas (Hawkins y Day, 1999; Somero, 2002). Cuando los organismos tienen carencia de oxígeno (anoxia) o la disponibilidad de éste es muy baja (hipoxia), la respuesta de los moluscos es la de aislarse temporalmente del medio cerrando las valvas o pegar las conchas al sustrato y recurren a rutas metabólicas alternativas anaerobias para la obtención de energía (Alter *et al*., 2017). Otra respuesta observada es que los organismos bajo condiciones control, tendieron a acercarse o permanecer cerca del difusor de aire, sin embargo los organismos bajo condiciones de hipoxia dado que el difusor agregaba nitrógeno, los organismos se alejaban de éste. En relación a los organismos bajo el reto

combinado, se observó que los organismos tendieron a escapar, colocándose en el borde de agua y buscando la forma de obtener oxígeno de aire y condiciones de temperatura más favorables. Sin embargo, los organismos bajo condiciones similares en campo, pueden debilitarse, desprenderse del sustrato y perder la capacidad de adhesión, quedar a la deriva de las mareas y ser sacados hacia la costa. Situaciones similares han sido observadas en las costas de la Península de Baja California (ver fotografía en Anexo I), donde se han encontrado organismos varados y cuyo fenómeno no ha sido asociado por falta de información ambiental. Ese es precisamente el interés del presente trabajo, obtener información biológica que permitiera asociar estos fenómenos.

En cuanto a la distancia recorrida por los juveniles de abulón azul, se observó un promedio de 200 cm/día en condiciones control, mientras que los sometidos a condiciones de estrés fue mucho menor encontrando un promedio de 59 cm/día. Robinson *et al*. (2013), midieron la distancia recorrida por abulones de *H. laevigata* y encontraron que la distancia que recorren es de aproximadamente 123.1 cm/día, cercana a las distancias recorridas por el abulón azul.

Respecto a la velocidad pudimos observar una velocidad máxima de 2.73 cm/min^{-1} en las condiciones control. Para el abulón *H. laevigata* se tienen reportes de velocidad cuando se les restringe de alimento alcanzando una velocidad de 2.65 cm/min^{-1}, en cambio para el abulón alimentado *ad libitum* se obtuvieron velocidades de 1.83 cm/min^{-1} (Buss *et al*., 2015), aproximadamente similares. Sin embargo, para el caso de *H. kamtschatkana* se reportó una velocidad de 60 cm/min^{-1} en condiciones normales, pero en las condiciones de escape se reportó una velocidad de 113 cm/min^{-1} (Donovan y Carefoot, 1997), lo cual indica que las velocidades de movimiento en la familia Haliotidae varían en cada especie. Debemos de recordar que la velocidad se correlaciona directamente con el área del pie, por tanto, con un pie más grande la velocidad alcanzada será mucho mayor, o bien por el tipo del sustrato. Miller, (1974) reporta que para la mayoría de las especies la velocidad de escape es aproximadamente el doble que la velocidad normal.

Los cambios en el comportamiento pueden ser utilizados como indicadores tempranos de estrés (Cenni *et al*., 2010). Para los organismos relativamente sedentarios, los cambios en el comportamiento asociados al estrés no son muy evidentes. En cambio en los organismos que tienen una clara capacidad de movimiento como son los peces, medusas, etc., es evidente, ya que pueden huir de las condiciones adversas. Los organismos con capacidad de desplazamiento limitado, como es el caso del abulón, la adhesión al sustrato es un punto importante de su salud y protección de las amenazas ambientales y cuando se presentan

condiciones adversas, se observa una presencia de cambios como el letargo, pérdida del reflejo de enderezamiento y fácil separación del sustrato (Diggles *et al*., 2002; Momoyama *et al*., 1999). Esto pudiera deberse a que, aunque el trabajo muscular implica el gasto de mucha energía, un costo adicional para los abulones es la producción de mucosa para adherirse al sustrato, la síntesis de sus componentes glicoproteicos representan aproximadamente 1/3 del presupuesto total del animal (Davies y Hawkins, 1998; Donovan y Carefoot, 1997). En el presente estudio monitoreamos el desprendimiento y volteamiento de los organismos del sustrato, en el tratamiento control no observamos ningún organismos debilitado o despegado del sustrato, caso contrario a lo que nos encontramos en los organismos en condiciones estresantes de hipoxia e hipertermia y el reto combinado, donde observamos organismo débiles, parcialmente desprendidos del sustrato y con algunas señales de daños en el pie (Figura 7). Cuando los organismos se debilitan, se observa una reducción en su capacidad de adhesión. No se observó el desprendimiento total ni volteamiento de los organismos, sin embargo, pensamos que esto puede deberse al corto tiempo de exposición. Park *et al*. (2015), en un estudio con *H. discus hannai* aclimatado a 20°C los abulones se desprendieron del sustrato en los tratamientos de 26 y 28 ° C después de 48 h, a las 96 h el 30% de los organismos se deprendieron a 26 °C y el 55% a 28 °C, mientras que en el control a 20 °C no se observó desprendimiento. Los tiempos utilizados en este trabajo para las condiciones de hipoxia e hipertermia fueron de 12 h de exposición, en estos tiempos los organismos se observaron débiles, con cambios en el pie, así como la perdida de retracción de los cilios (hiperlaxitud). En el reto combinado, el tiempo de exposición fue de 10 horas y se observaron igualmente cambios en el pie y cierto desprendimiento, aunque los efectos fueron más evidentes. No se prolongaron las horas de exposición debido a que se pretendía observar la capacidad de recuperación en cada condición, que fue del 100% después de 24 h.

La capacidad de enderezarse de los organismos es un buen indicador de salud. Lachambre *et al*. (2017), estudiaron en *H. tuberculata* que la probabilidad de supervivencia está relacionada con el la capacidad de endrezarse, así mismo, Baldwin *et al*. (2007), demostraron que esta capacidad es un buen indicador para evaluar la capacidad metabólica de un abulón. Este resultado podría indicar que después de someter a los juveniles a estrés, el abulón es capaz de enderezarse rápidamente si tiene una buena reserva energética. En este estudio no se evaluó la capacidad de enderezarse, debido a que los organismos no se voltearon, como se explicaba anteriormente posiblemente por los cortos tiempos de exposición utilizados.

Los cambios de coloración y formación de estrías en el pie bajo los distintos tratamientos, pueden deberse a cambios oxidativos. El estrés oxidativo induce diversos mecanismos de defensa antioxidante, por tanto las temperaturas elevadas pueden inducir estrés oxidativo en los abulones de *H. discus hannai* (De Zoysa *et al*., 2011). Después de 24 h, las actividades de las enzimas antioxidantes fueron mayores en abulones expuestos a temperaturas superiores a 24°C que en los controles a 20 ° C (Park *et al*., 2015). O 'Omolo *et al*. (2003), aseguran también que los cambios en la coloración puede deberse a la acumulación de d-lactato en la hemolinfa y posiblemente otros productos finales anaeróbicos como la tauropina en el tejido muscular.

H. fulgens redujo su tasa respiratoria a un 69% bajo condiciones de hipoxia y hasta un 75% bajo el efecto combinado, esto acorde con el trabajo de Calderón-Liévanos (2015), para esta misma especie. Lo anterior se debe a un mecanismo compensatorio ante la ausencia de oxígeno ante una exposición de hipoxia sostenida, demostrando que es un organismo capaz de cambiar su condición de oxi-conformador a oxi-regulador. De manera contraria, la tasa respiratoria en organismos expuestos a hipertermia se incrementó en un 32% respecto a los organismos control, esto se debe a que el incremento de actividad, impone un gasto metabólico mayor para poder conservar el aporte de energía. Sin embargo, el consumo de alimento en la hipertermia, se redujo igual que para los organismos bajo hipoxia y en el reto combinado no hubo consumo. Resultados similares fueron encontrados por Velasco-Echavarría (2014), quien observó que la tasa respiratoria se incrementó alrededor del 100%, en organismos aclimatados de 17ºC a 26ºC y de forma similar la tasa de ingestión. Otros trabajos como el de Harris *et al.* (1999), observaron en *H. laevigata* aclimatados a 18ºC, una reducción en la TR de alrededor del 50% en organismos expuestos a condiciones de hipoxia de 5.9 mgO_2/L. El costo energético para realizar las actividades y mantenerse en todas las condiciones, va ligado directamente al consumo de oxígeno, ya que la TR es una medida indirecta del metabolismo. Los bajos consumos de alimento bajo condiciones de hipoxia e hipertermia y el reto combinado, indican muy probable, el debilitamiento y la incapacidad de los organismos de llegar a la fuente de alimento y así mismo la baja de actividad enzimática que controla toda la actividad de alimentación.

El monitoreo del comportamiento de un recurso tan importante como el abulón azul, bajo condiciones naturales, puede ayudar a detectar eventos ambientales. Por otro lado, los cambios comportamentales bajo condiciones de cultivo puede ayudar también a monitorear eventos y la salud de los organismos.

CONCLUSIONES

- Los organismos juveniles de abulón azul (*Haliotis fulgens*) disminuyen su capacidad de desplazamiento en condiciones estresantes de hipertermia e hipoxia, así como en la combinación de ambos factores.
- Los organismos ante condiciones de hipertermia tienden a perder la adhesión al sustrato y a extender los cilios, en estas condiciones los organismos tendieron a presentar comportamientos de huida de las zonas de refugio.
- Si los organismos presentan en campo un comportamiento de huida/escape como el observado en este estudio, los abulones pueden quedar fuera de sus refugios y quedar expuestos a los depredadores.
- Los organismos sometidos a hipoxia se mostraron con la concha más fija al sustrato y su desplazamiento fue más corto.
- Se demostraron cambios fisiológicos en cuanto a la tasa respiración (TR) e ingestión del alimento por parte de los organismos, los cuales pudimos asociar a los cambios de comportamiento de los abulones.
- Al reducirse la TR el metabolismo también se ve afectado, por tanto la obtención de la energía disminuye.
- Bajo condiciones combinadas de ambos estresores, hipoxia – hipertermia, el abulón azul muestra un efecto sinérgico de todas sus respuestas.

REFERENCIAS

Alter, K., Andrewartha, S. J., Morash, A. J., Clark, T. D., Hellicar, A. D., León, R. I., & Elliott, N. G. (2017). Hybrid abalone are more robust to multi-stressor environments than pure parental species. Aquaculture, 478, 25-34.

Arai, M. N. (1997). A funcional biology of Scyphozoa.—Chapman S Hall. 316 p.

Ault, J. S., & DeMartini, J. D. (1987). Movement and dispersion of red abalone, *Haliotis rufescens*, in northern California. Calif. Fish Game, 73(4), 196-213.

Armitage, K. B., & Wall, T. J. (1982). The effects of body size, starvation and temperature acclimation on oxygen consumption of the crayfish Orconectes nais. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, *73*(1), 63-68.

Aviles, J. G. G., & Shepherd, S. A. (1996). Growth and survival of the blue abalone *Haliotis fulgens* in barrels at Cedros Island, Baja California, with a review of abalone barrel culture. Aquaculture, 140(1-2), 169-176.

Baldwin, J., Elias, J. P., Wells, R. M. G., & Donovan, D. A. (2007). Energy metabolism in the tropical abalone, *Haliotis asinina* Linné: comparisons with temperate abalone species. Journal Of Experimental Marine Biology and Ecology, 342(2), 213-225.

Bansemer, M. S., Qin, J. G., Currie, K. L., & Stone, D. A. (2015). Temperature-Dependent Feed Consumption Patterns for Greenlip (*Haliotis laevigata*) and Hybrid (*H. laevigata*× *Haliotis rubra*) Abalone Fed Fresh Macroalgae or a Formulated Diet. Journal of Shellfish Research, 34(3), 885-892.

Barkai, R., & Griffiths, C. L. (1988). An energy budget for the South African abalone *Haliotis midae* Linnaeus. Journal of Molluscan Studies, 54(1), 43-51.

Bayne, B. L. (Ed.). (1976). *Marine mussels: their ecology and physiology* (Vol. 10). Cambridge University Press.

Beiras, R., Camacho, A. P., & Albentosa, M. (1995). Short-term and long-term alterations in the energy budget of young oyster *Ostrea edulis* L. in response to temperature change. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 186(2), 221-236.

Börger, L., Dalziel, B. D., & Fryxell, J. M. (2008). Are there general mechanisms of animal home range behaviour? A review and prospects for future research. Ecology Letters, 11(6), 637-650.

Brierley, A. S., & Cox, M. J. (2010). Shapes of krill swarms and fish schools emerge as aggregation members avoid predators and access oxygen. *Current Biology*, *20*(19), 1758-1762.

Buss, J. J., Jones, D. A., Lumsden, A., Harris, J. O., Bansemer, M. S., & Stone, D. A. J. (2015). Restricting feed ration has more effect than diet type on the feeding behaviour of greenlip abalone *Haliotis laevigata*. Marine and Freshwater Behaviour and Physiology, 48(1), 51-70.

Button, C. A. (2008). The influence of density-dependent aggregation characteristics on the population biology of benthic broadcast-spawning gastropods: pink abalone (*Haliotis corrugata*), red abalone (*Haliotis rufescens*), and wavy turban snails (*Megastraea undosa*).Tesis de Doctorado. University of California, San Diego.

Calderón Liévanos S. (2015). Respuestas fisiológicas del abulón azul (*Haliotis fulgens*, Philippi 1845) por efecto combinado de hipoxia y estrés térmico. Tesis de Maestría, CIBNOR, La Paz. 56p.

Casas Valdez, M. M., & Ponce Díaz, G. (1996). Estudio del potencial pesquero y acuícola de Baja California Sur (No. SH 231. E87 1996). México.

Cenni, F., Parisi, G., & Gherardi, F. (2009). Use of space and costs/benefits of locomotion strategies in the abalone, *Haliotis tuberculata*. Ethology Ecology & Evolution, 21(1), 15-26.

Cenni, F., Parisi, G., Scapini, F., & Gherardi, F. (2010). Sheltering behavior of the abalone, *Haliotis tuberculata* L., in artificial and natural seawater: The role of calcium. Aquaculture, 299(1), 67-72.

Chapman, B. B., Brönmark, C., Nilsson, J. Å., & Hansson, L. A. (2011). The ecology and evolution of partial migration. Oikos, 120(12), 1764-1775.

Cheng, W., Liu, C. H., Cheng, S. Y., & Chen, J. C. (2004). Effect of dissolved oxygen on the acid–base balance and ion concentration of Taiwan abalone *Haliotis diversicolor supertexta*. Aquaculture, 231(1), 573-586.

Cheung, S. G., Chan, H. Y., Liu, C. C., & Shin, P. K. S. (2008). Effect of prolonged hypoxia on food consumption, respiration, growth and reproduction in marine scavenging gastropod *Nassarius festivus*. Marine Pollution Bulletin, 57(6), 280-286.

Chew, C. A., Hepburn, C. D., & Stephenson, W. (2013). Low-level sedimentation modifies behaviour in juvenile *Haliotis iris* and may affect their vulnerability to predation. Marine Biology, 160(5), 1213-1221.

Coates, J. H., Hovel, K. A., Butler, J. L., Klimley, A. P., & Morgan, S. G. (2013). Movement and home range of pink abalone *Haliotis corrugata*: implications for restoration and population recovery. Marine Ecology Progress Series, 486, 189-201.

CONAPESCA. (2015). Anuario estadístico pesquero. Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca. México.

Cortés Ortiz, R. A., Ponce Díaz, G., & Ángeles Villa, M. (2006). El sector pesquero en Baja California Sur: un enfoque de insumo-producto. Región y Sociedad, 18(35), 107-129.

Currie, K. L., Davidson, H., Bansemer, M. S., Harris, J. O., & Stone, D. A. (2016). Ventral videographic assessment of the feeding behavior of juvenile greenlip [*Haliotis laevigata* (Donovan, 1808)] and Hybrid (*H. laevigata*× *Haliotis rubra*) abalone in response to dietary and temperature manipulation. Journal of Shellfish Research, 35(3), 641-651.

Currie, K. L., Lange, B., Herbert, E. W., Harris, J. O., & Stone, D. A. (2015). Gastrointestinal evacuation time, but not nutrient digestibility, of greenlip abalone, *Haliotis laevigata* Donovan, is affected by water temperature and age. Aquaculture, 448, 219-228.

Davies, M. S., & Hawkins, S. J. (1998). Mucus from marine molluscs. Advances in marine biology, 34, 1-71.

De Zoysa, M., Whang, I., Nikapitiya, C., Oh, C., Choi, C. Y., & Lee, J. (2011). Transcriptional analysis of disk abalone (*Haliotis discus discus*) antioxidant enzymes against marine bacteria and virus challenge. Fish & Shellfish Immunology, 31(1), 155-160.

Díaz, F., Re, A. D., Medina, Z., Re, G., Valdez, G., & Valenzuela, F. (2006). Thermal preference and tolerance of green abalone *Haliotis fulgens* (Philippi, 1845) and pink abalone *Haliotis corrugata* (Gray, 1828). Aquaculture Research, 37(9), 877-884.

Diggles, B. K., Nichol, J., Hine, P. M., Wakefield, S., Cochennec-Laureau, N., Roberts, R. D., & Friedman, C. S. (2002). Pathology of cultured paua *Haliotis iris* infected with a novel haplosporidian parasite, with some observations on the course of disease. Diseases of Aquatic Organisms, 50(3), 219-231.

Dixon, C. D., Gorfine, H. K., Officer, R. A., & Sporcic, M. (1998). FISHERIES-Dispersal of tagged blacklip abalone, *Haliotis rubra*: Implications for stock assessment. Journal of Shellfish Research, 17(3), 881-888.

Donovan, D., & Carefoot, T. (1997). Locomotion in the abalone *Haliotis kamtschatkana*: pedal morphology and cost of transport. Journal of Experimental Biology, 200(7), 1145-1153.

Donovan, D., Baldwin, J., & Carefoot, T. (1999). The contribution of anaerobic energy to gastropod crawling and a re-estimation of minimum cost of transport in the abalone, *Haliotis kamtschatkana* (Jonas). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 235(2), 273-284.

Edwards, S., & Condor, C. (2001). Digestive protease characterization, localization and adaptation in blacklip abalone (*Haliotis rubra* Leach). Aquaculture Research, 32(2), 95-102.

Elliott, J. M., & Davison, W. (1975). Energy equivalents of oxygen consumption in animal energetics. Oecologia, 19(3), 195-201.

Eriksson, S. P., & Baden, S. P. (1997). Behaviour and tolerance to hypoxia in juvenile Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) of different ages. Marine Biology, 128(1), 49-54.

Espeland, S. H., Gundersen, A. F., Olsen, E. M., Knutsen, H., Gjøsæter, J., & Stenseth, N. C. (2007). Home range and elevated egg densities within an inshore spawning ground of coastal cod. ICES. Journal of Marine Science, 64(5), 920-928.

GÄDE, G. E. R. D. (1988). Energy metabolism during anoxia and recovery in shell adductor and foot muscle of the gastropod mollusc *Haliotis lamellosa*: formation of the novel anaerobic end product tauropine. The Biological Bulletin, 175(1), 122-131.

Gewin V. (2010). Dead in the water. NATURE 466: 812-814.

Green, R. H., Singh, S. M., Hicks, B., & McCuaig, J. M. (1983). An arctic intertidal population of Macoma balthica (Mollusca, Pelecypoda): genotypic and phenotypic components of population structure. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 40(9), 1360-1371.

Hagerman, L., & Uglow, R. F. (1985). Effects of hypoxia on the respiratory and circulatory regulation of *Nephrops norvegicus*. Marine Biology, 87(3), 273-278.

Hahn, K. O. (1989). Biotic and abiotic factors affecting the culture of abalone. Handbook of Culture of Abalone and Other Marine Gastropods. CRC Press, FL, USA, 113-283.

Harris, J. O., Maguire, G. B., Edwards, S. J., & Johns, D. R. (1999). Low dissolved oxygen reduces growth rate and oxygen consumption rate of juvenile greenlip abalone, *Haliotis laevigata* Donovan. Aquaculture, 174(3), 265-278.

Hawkins, A. J., & Day, A. J. (1999). Metabolic interrelations underlying the physiological and evolutionary advantages of genetic diversity. American Zoologist, 39(2), 401-411.

Hickey, D. A., & Singer, G. A. (2004). Genomic and proteomic adaptations to growth at high temperature. Genome Biology, 5 (10), 117.

Ino, S. (1952). Biological studies on the propagation of Japanese abalone (genus *Haliotis*). Japanese Society of Fisheries Science. Lab., 5, 1-102.

Kadota, T., Osato, J., Hashimoto, H., & Sakai, Y. (2011). Harem structure and female territoriality in the dwarf hawkfish *Cirrhitichthys falco* (Cirrhitidae). Environmental Biology of Fishes, 92(1), 79-88.

Kaiser, H., Erasmus, B., & Naylor, M. (2017). Behavioural responses of farmed South African abalone *Haliotis midae* L. to disturbances caused by husbandry procedures. Aquaculture International, 25(1), 21-29.

Krause, J., & Ruxton, G. D. (2002). *Living in groups*. Oxford University Press.

Lachambre, S., Huchette, S., Day, R., Boudry, P., Rio-Cabello, A., Fustec, T., & Roussel, S. (2017). Relationships between growth, survival, physiology and behaviour—A multi-criteria approach to *Haliotis tuberculata* phenotypic traits. Aquaculture, 467, 190-197.

Leighton, D. L., Byhower, M. J., Kelly, J. C., Hooker, G. N., & Morse, D. E. (1981). Acceleration of development and growth in young green abalone (*Haliotis fulgens*) using warmed effluent seawater. Journal of the World Aquaculture Society, 12(1), 170-180.

Lloyd, M. J., & Bates, A. E. (2008). Influence of density-dependent food consumption, foraging and stacking behaviour on the growth rate of the Northern abalone, *Haliotis kamtschatkana*. Aquaculture, 277(1), 24-29.

Lluch-Cota, D. B., Hernández-Vázquez, S., Balart-Páez, E. F., Beltrán-Morales, L. F., González-Becerril, A., Lluch-Cota, S. E & Ortega-García, S. (2006). Desarrollo sustentable de la pesca en México: Orientaciones estratégicas. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste/Senado de la República.

Lluch-Cota, S. E., Hoegh-Guldberg, O., Karl, D. M., Pörtner, H. O., Sundby, S., & Gattuso, J. P. (2014). Cross-chapter box on uncertain trends in major upwelling ecosystems. In climate change 2014: impacts, adaptation, and vulnerability. Part a: Global and sectoral aspects. Contribution of working group ii to the fifth assessment report of the intergovernmental panel of climate change (pp. 149-151). Cambridge University Press.

Lu, J., Shi, Y., Wang, S., Chen, H., Cai, S., & Feng, J. (2016). NMR-based metabolomic analysis of *Haliotis diversicolor* exposed to thermal and hypoxic stresses. Science of the Total Environment, 545, 280-288.

McBride, S. C., Rotem, E., Ben-Ezra, D., & Shpigel, M. (2001). Seasonal energetics of *Haliotis fulgens* (Philippi) and *Haliotis tuberculata* (L.). Journal of Shellfish Research, 20(2), 659-665.

Micheli F, Saenz-Arroyo A, Greenley A, Vazquez L, Espinoza JA, Rossetto M & GA De Leo. (2012). Evidence That Marine Reserves Enhance Resilience to Climatic Impacts. PLoS ONE 7(7): e40832. doi:10.1371/journal.pone.0040832.

Micheli, F., Shelton, A. O., Bushinsky, S. M., Chiu, A. L., Haupt, A. J., Heiman, K. W & Watanabe, J. (2008). Persistence of depleted abalones in marine reserves of central California. Biological Conservation, 141(4), 1078-1090.

Miller, S. L. (1974). Adaptive design of locomotion and foot form in prosobranch gastropods. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 14(2), 99-156.

Mitamura, H., Uchida, K., Miyamoto, Y., Arai, N., Kakihara, T., Yokota, T., Okuyama, J., Kawabata, Y & Yasuda, T. (2009). Preliminary study on homing, site fidelity, and diel movement of black rockfish *Sebastes inermis* measured by acoustic telemetry. Fisheries Science, 75(5), 1133-1140.

Momoyama, K., Nakatsugawa, T., & Yurano, N. (1999). Mass mortalities of juvenile abalones, *Haliotis* spp., caused by amyotrophia. Fish Pathology, 34(1), 7-14.

Morash, A. J., & Alter, K. (2016). Effects of environmental and farm stress on abalone physiology: perspectives for abalone aquaculture in the face of global climate change. Reviews in Aquaculture, 8(4), 342-368.

O'omolo, S., Gäde, G., Cook, P. A., & Brown, A. C. (2003). Can the end products of anaerobic metabolism, tauropine and D-lactate, be used as metabolic stress indicators during transport of live South African abalone *Haliotis midae*?. African Journal of Marine Science, 25, 301-309.

Park, K., Lee, J. S., Kang, J. C., Kim, J. W., & Kwak, I. S. (2015). Cascading effects from survival to physiological activities, and gene expression of heat shock protein 90 on the abalone *Haliotis discus hannai* responding to continuous thermal stress. Fish & Shellfish Immunology, 42(2), 233-240.

Peck, L. S., Pörtner, H. O., & Hardewig, I. (2002). Metabolic demand, oxygen supply, and critical temperatures in the Antarctic bivalve *Laternula elliptica*. Physiological and Biochemical Zoology, 75(2), 123-133.

Pereira, L., Riquelme, T., & Hosokawa, H. (2007). Effect of three photoperiod regimes on the growth and mortality of the Japanese abalone *Haliotis discus hannai* Ino. Journal of Shellfish Research, 26(3), 763-767.

Pichon, D., Cudennec, B., Huchette, S., Djediat, C., Renault, T., Paillard, C., & Auzoux-Bordenave, S. (2013). Characterization of abalone *Haliotis tuberculata–Vibrio harveyi* interactions in gill primary cultures. Cytotechnology, 65(5), 759-772.

Pörtner, H. O. (2010). Oxygen-and capacity-limitation of thermal tolerance: a matrix for integrating climate-related stressor effects in marine ecosystems. Journal of Experimental Biology, 213(6), 881-893.

Pörtner, H. O., Karl, D. M., Boyd, P. W., Cheung, W., Lluch-Cota, S. E., Nojiri, Y., & Armstrong, C. (2014). Ocean systems. In Climate change 2014: impacts, adaptation, and vulnerability. Part A: global and sectoral aspects. contribution of working group II to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change (pp. 411-484). Cambridge University Press.

Quinn, J. M., Steele, G. L., Hickey, C. W., & Vickers, M. L. (1994). Upper thermal tolerances of twelve New Zealand stream invertebrate species. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research, 28(4), 391-397.

Rabalais, N. N., & Turner, R. E. (2001). Coastal hypoxia: consequences for living resources and ecosystems. American Geophyical Union.

Reiber, C. L., & McMahon, B. R. (1998). The effects of progressive hypoxia on the crustacean cardiovascular system: a comparison of the freshwater crayfish,(Procambarus clarkii), and the lobster (*Homarus americanus*). Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology, 168(3), 168-176.

Robinson, N., Smith, B., Cooke, I., & Strugnell, J. (2013). A snail's pace: a preliminary analysis of the effects of stress and genetics on movement of *Haliotis*. Aquaculture, 376, 25-35.

Rodríguez-Valencia, J. A., Caballero-Alegría, F., & Castro-González, J. (2004). Tendencias temporales (1989-1999) en las poblaciones de *Haliotis fulgens* y *H. corrugata* (Gastropoda: Haliotidae) de Isla de Cedros, Baja California, México. Ciencias Marinas, 30(3), 489-501.

Salcido-Guevara LA, JL Gutiérrez-González y R Sánchez-Cárdenas. (2013). Estrategias y tácticas de manejo para las poblaciones deterioradas de abulón azul *Haliotis fulgens* y abulón amarillo *Haliotis corrugata* en la península de Baja California. Informe técnico (Documento interno). inapesca.crip - La Paz. 125p.

Schaefer, E. N., Harris, J. O., Howarth, G. S., Bansemer, M. S., & Stone, D. A. J. (2013). Comparative histological changes in the greenlip abalone *Haliotis laevigata* gastrointestinal tract in response to water temperature, different dietary protein levels, and animal age. Journal of Shellfish Research, 32(1), 131-141.

Schwarz A. (1995). Aspects of the physiology of some crustacean species with particular reference to their live marketing. Tesis de Doctorado, University of Hull, UK. 109 p.

Searcy-Bernal, R., Anguiano-Beltrán, C., Espinoza-Montes, J. A., & Carpizo-Ituarte, E. (2013). Restocking of abalone populations (*Haliotis* spp.) in Mexico. Journal of Shellfish Research, 32(1), 189-195.

Shepherd, S. A. (1973). Competition between sea urchins and abalone. Aust. Fish, 32(6), 4-7.

Sicard-González, M. T., Tripp-Valdéz, M. A., Ocampo, L., Maeda-Martínez, A. N., & Lluch-Cota, S. E. (2012). Coastal sea surface temperature records along the Baja California Peninsula. CICIMAR Oceánides, 27(2), 65-69.

Siikavuopio, S. I., Dale, T., Mortensen, A., & Foss, A. (2007). Effects of hypoxia on feed intake and gonad growth in the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*. Aquaculture, 266(1), 112-116.

Somero, G. N. (2002). Thermal physiology and vertical zonation of intertidal animals: optima, limits, and costs of living. Integrative and Comparative Biology, 42(4), 780-789.

Stone, D. A., Harris, J. O., Wang, H., Mercer, G. J., Schaefer, E. N., & Bansemer, M. S. (2013). Dietary protein level and water temperature interactions for greenlip abalone *Haliotis laevigata*. Journal of Shellfish Research, 32(1), 119-130.

Tarr, R. J. Q. (1995). Growth and movement of the South African abalone *Haliotis midae*: a reassessment. Marine and Freshwater Research, 46(3), 583-590.

Taylor, A. C., & Spicer, J. I. (1991). Acid-Base disturbances in the haemolymph of the prawns, *Palaemon elegans* (Rathke) and *P. serratus* (Pennant)(Crustacea: Decapoda) during exposure to hypoxia. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology, 98(3-4), 445-452.

Thuesen, E. V., & Childress, J. J. (1994). Oxygen consumption rates and metabolic enzyme activities of oceanic California medusae in relation to body size and habitat depth. The Biological Bulletin, 187(1), 84-98.

Thums, M., Bradshaw, C. J., & Hindell, M. A. (2011). In situ measures of foraging success and prey encounter reveal marine habitat-dependent search strategies. Ecology, 92(6), 1258-1270.

Tutschulte, T. C., & Connell, J. H. (1988). Feeding behavior and algal food of three species of abalones (Haliotis) in southern California. *Marine Ecology Progress Series*, 57-64.

Tripp-Valdez, M. A., Bock, C., Lucassen, M., Lluch-Cota, S. E., Sicard, M. T., Lannig, G., & Pörtner, H. O. (2017). Metabolic response and thermal tolerance of green abalone juveniles (Haliotis fulgens: Gastropoda) under acute hypoxia and hypercapnia. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, *497*, 11-18.

Vandepeer, M. (2006). Preventing summer mortality of abalone in aquaculture systems by understanding interactions between nutrition and water temperature. FRDC final report, SARDI Aquatic Sciences, Adelaide.

VAQUER-SUNYER, R. A. Q. U. E. L., & Duarte, C. M. (2011). Temperature effects on oxygen thresholds for hypoxia in marine benthic organisms. Global Change Biology, 17(5), 1788-1797.

Velazco-Echavarría, H. (2014). Marco ambiental y capacidad de recuperación ante estrés térmico del abulón azul (*Haliotis fulgens*, Philippi 1845) provenientes de la zona de bahía tortugas, B.C.S. Tesis de Maestría, CIBNOR, La Paz. 75p.

Villarreal, H. (1989). Prawn culture in Mexico. Austacia. Aquaculture, 3(6), 17-18.

Vosloo, A., Laas, A., & Vosloo, D. (2013). Differential responses of juvenile and adult South African abalone (*Haliotis midae* Linnaeus) to low and high oxygen levels. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 164(1), 192-199.

Zhou, J., Cai, Z. H., Li, L., Gao, Y. F., & Hutchinson, T. H. (2010). A proteomics based approach to assessing the toxicity of bisphenol A and diallyl phthalate to the abalone (*Haliotis diversicolor supertexta*). Chemosphere, 79(5), 595-604.

ANEXOS

Anexo I

Figura 11. Fotografía de las mortalidades observadas de Abulón azul (*Haliotis fulgens*) en las costas de Baja California.