



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA VIDA Y TECNOLOGÍAS

CARRERA DE BIOLOGÍA

TRABAJO DE TITULACIÓN

Modalidad Artículo Académico

Tema:

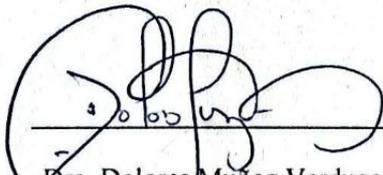
Impacto de la exposición prolongada a condiciones de bajo pH en el crecimiento y actividad natatoria en la acuicultura del camarón (*Litopenaeus vannamei*)

Autor:

Chica Cedeño Washington Ariel

Tutor:

Francisco Navarrete-Mier, PhD.



Dra. Dolores Muñoz Verduga, PhD.
Presidenta del Tribunal de Titulación



Blg. Javier Cañarte Pin, Mg
Miembro de Tribunal



Tania Lin Maldonado Sabando, Mg
Miembro de Tribunal

Manta, Manabí Ecuador

Martes, 11 de febrero de 2025

 Uleam <small>UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ</small>	NOMBRE DEL DOCUMENTO: CERTIFICADO DE TUTOR(A).	CÓDIGO: PAT-04-F-010
	PROCEDIMIENTO: TITULACIÓN DE ESTUDIANTES DE GRADO BAJO LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR	REVISIÓN: 1 Página 1 de 1

CERTIFICACIÓN

En calidad de docente tutor(a) de la Facultad ciencias de la Vida y Tecnologías de la Universidad Laica "Eloy Alfaro" de Manabí, CERTIFICO:

Haber dirigido y revisado el trabajo de Integración Curricular bajo la autoría del estudiante **CHICA CEDEÑO WASHINGTON ARIEL**, legalmente matriculado/a en la carrera de Biología , período académico 2024-2025, cumpliendo el total de 384 horas, cuyo tema del proyecto es **"Impacto de la exposición prolongada a condiciones de bajo pH en el crecimiento y actividad natatoria en la acuicultura del camarón (*Litopenaeus vannamei*)"**.

La presente investigación ha sido desarrollada en apego al cumplimiento de los requisitos académicos exigidos por el Reglamento de Régimen Académico y en concordancia con los lineamientos internos de la opción de titulación en mención, reuniendo y cumpliendo con los méritos académicos, científicos y formales, suficientes para ser sometida a la evaluación del tribunal de titulación que designe la autoridad competente.

Particular que certifico para los fines consiguientes, salvo disposición de Ley en contrario.

Manta, 06 de enero del 2025.

Lo certifico,



PhD. Francisco Navarrete-Mier
Docente Tutor(a)

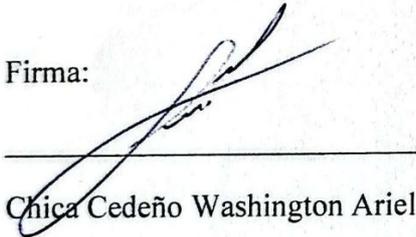
Declaratoria de autoría

Yo, Washington Ariel Chica Cedeño declaro que he concluido la realización del trabajo de titulación bajo la modalidad de Artículo Académico previo a la obtención de Artículo Académico previo a la obtención de título como Biólogo, con el tema "Impacto de la exposición prolongada a condiciones de bajo pH en el crecimiento y actividad natatoria en la acuicultura del camarón (*Litopenaeus vannamei*)".

Se ha revisado la versión final del manuscrito y apruebo su presentación para su publicación.

Me encuentro en el derecho de asegurar que este trabajo es original, no ha sido publicado previamente.

Firma:



Chica Cedeño Washington Ariel

CI: 1314020866

Impacto de la exposición prolongada a condiciones de bajo pH en el crecimiento y actividad natatoria en la acuicultura del camarón (*Litopenaeus vannamei*).

Washington Ariel Chica Cedeño¹, Patricia Castillo-Briceño², Francisco Navarrete-Mier².

¹ Carrera de Biología, Facultad de Ciencias de la Vida y Tecnologías, Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, ² Grupo de Investigación EBIOAC, Facultad de Ciencias de la Vida y Tecnologías, Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí.

Correo institucional: e1314020866@live.uleam.edu.ec¹

RESUMEN

La acidificación oceánica es el proceso donde se produce la disminución del pH del agua de mar causada por la alteración de la química de carbonatos debido a las altas concentraciones de CO₂ en la atmósfera, las proyecciones sugieren para próximos años esto pueda intensificarse. Estos procesos afectan a diferentes organismos invertebrados marinos entre ellos los crustáceos, este estudio pretende analizar el impacto de la exposición prolongada de bajo pH en el crecimiento y actividad natatoria para el camarón blanco del pacífico *Litopenaeus vannamei*, donde se encontró una alteración significativa del crecimiento para el nivel más alto de acidificación aplicado pH=7,15 mostrando un mayor aumento de tamaño, por el contrario, para la actividad natatoria se pudo evidenciar una reducción significativa en el periodo final de la exposición comparado con valores iniciales del experimento, siendo Ecuador uno de los principales productores de camarón en el mundo.

Palabras clave: comportamiento, tracking, desplazamiento, acidificación oceánica

ABSTRACT

Ocean acidification is the process where the pH of seawater decreases due to the alteration of carbonate chemistry due to high concentrations of CO₂ in the atmosphere, projections suggest that this may intensify in the coming years. These processes affect different marine invertebrate organisms including crustaceans, this study aims to analyze the impact of prolonged exposure to low pH on the growth and swimming activity of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*, where a significant alteration in growth was found for the highest level of acidification applied pH = 7.15 showing a greater increase in size, on the contrary, for swimming activity a significant reduction could be seen in the final period of exposure compared to initial values of the experiment, being Ecuador one of the main producers of shrimp in the world.

Keywords: behavior, tracking, displacement, ocean acidification

1. INTRODUCCIÓN.

Abundante evidencia científica publicada durante las últimas décadas indica que la actividad antropogénica ha impulsado alteraciones en los procesos bioquímicos a nivel planetario (Ciais et al., 2014). Uno de los procesos que genera más preocupación es la acumulación en la atmósfera del CO₂ emitido principalmente por el uso de combustibles fósiles (Mondragón, 2021). Las emisiones antropogénicas netas totales de gases de efecto invernadero han continuado aumentando durante el período 2010-2019 de forma que en valores promedio de emisiones en estos años registra picos más altos que otros años aunque con menor tasa de crecimiento que una década pasada, al igual que las emisiones netas acumuladas de CO₂ desde 1850 (AR6 Synthesis Report, 2023). La concentración global de CO₂ aumentó de 277 ppm en 1750 a 419,3 ppm en 2023 aumentando hasta un 51 %, reportando una emisión de 35 mil millones de toneladas de CO₂ hasta 2023 (Friedlingstein et al., 2023; Ritchie et al., 2023).

Debido a la capacidad de los océanos para absorber calor y gases de efecto invernadero como el dióxido de carbono (CO₂), han neutralizado parcialmente los efectos del aumento de los niveles de estos gases. Sin embargo, la capacidad de bufferización de los océanos es menor y por lo tanto ya se aprecian cambios en su la composición química (Reid et al., 2009). El principal gas de efecto invernadero es el CO₂, y este reacciona con el agua oceánica para formar ácido carbónico (H₂CO₃) el cual se descompone rápidamente en un ión bicarbonato (HCO₃⁻) más ión hidrógeno(+H); reduciendo así el pH marino, provocando el proceso conocido como acidificación oceánica (AO) (Doney et al., 2009; Hopkins et al., 2020; Orr et al., 2005). El cual, además desata otra serie de reacciones con la molécula de carbonato de calcio (CaCO₃) misma que deriva de la formación de estructuras en organismos marinos invertebrados. Las tasas de formación y disolución de (CaCO₃) varían con el estado de saturación (Ω), definido como el producto iónico de las concentraciones de iones de calcio y carbonato, las tasas de calcificación de muchos organismos formadores de estructuras calcáreas responden al grado de saturación y estas terminan con una disminución de los porcentajes de solubilidad de calcita y aragonita conllevando problemáticas para los organismos marinos (Doney et al., 2009; Millero et al., 2002).

A medida que aumenta la acidificación, muchos organismos invierten energía adicional para mantener su equilibrio ácido-base, procesos metabólicos u otras funciones biológicas, con consecuencias para su crecimiento, reproducción y supervivencia (Wittmann & Pörtner, 2013). Los arrecifes de coral, el plancton calcáreo y otros organismos cuyos esqueletos o caparazones contienen carbonato de calcio pueden verse especialmente afectados, los organismos calcáreos son particularmente sensibles debido a la disminución de la disponibilidad de iones de carbonato (Gazeau et al., 2011; Schiebel, 2002). El efecto mejor estudiado de los cambios de pH provocados por el CO₂ en el agua de mar es la reducción de las tasas de calcificación de varios grupos importantes de organismos que forman caparazones y esqueletos de carbonato de calcio (Caldeira et al., 2007). Los primeros trabajos experimentales con organismos marinos se enfocaron en los impactos de la acidificación oceánica sobre procesos de calcificación de corales, bivalvos, gasterópodos y crustáceos (Hofmann et al., 2010). El filo Crustácea es altamente diverso en ambientes marinos cumpliendo roles ecológicos (Hultgren et al., 2021), estos organismos adquieren importancia en las cadenas tróficas debido a su alta densidad y a su calidad nutricional, que permite transferir nutrientes y energía hacia los diferentes niveles tróficos (Hernández-Almaraz et al., 2018). Estos roles ecológicos determinan la importancia de esta fauna en el sostén de la biodiversidad y abundancia de los sistemas acuáticos sobre todo de aquellas especies valoradas socialmente (Hernández-Almaraz et al., 2018). Los crustáceos se enfrentan a una variedad de factores estresantes ambientales variables durante su complejo ciclo de vida, estos factores se consideran comúnmente como los más importantes para la supervivencia, el crecimiento y la reproducción (Lin et al., 2020). El camarón blanco es nativo de la costa oriental del Océano Pacífico distribuyéndose de forma natural desde México hasta Perú, en aguas cuya temperatura es normalmente superior a 20 °C durante todo el año. *Litopenaeus vannamei* se encuentra en hábitats marinos tropicales, los adultos viven y se reproducen en mar abierto, mientras que la postlarva migra a las costas a pasar la etapa juvenil y pre adulta en estuarios, lagunas costeras y manglares, los machos maduran a partir de los 20 g y las hembras a partir de los 28 g en una edad de entre 6 y 7 meses (FAO - *Penaeus vannamei*, 2009). La industria acuícola, en particular de los crustáceos, está extendida en

varios países del mundo sobre todo en zonas tropicales; los crustáceos representan el segundo grupo taxonómico más cultivado a nivel global registrando un evento histórico dado que la producción acuícola supera a la pesca de captura con un 51% por primera vez en la historia, el incremento se da principalmente en peces de aleta 58,1% seguido de los crustáceos 24.6% (FAO, 2024), y la mayor parte de la producción acuícola costera está predominada por una sola especie *Litopenaeus vannamei* (FAO, 2022). Entre los países líderes en producción acuícola de camarón blanco se encuentran Ecuador en conjunto con países del medio oriente como China, India y Vietnam sumando un 74% de la producción mundial en 2023, evidenciando la dominancia en la producción de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* como especie principal (Annual Farmed Shrimp Production Survey, 2023). Un aumento en la inversión tecnológica para el desarrollo acuícola en Ecuador beneficia el aumento de empresas productoras consolidadas y dedicadas al mejoramiento de la genética y tecnologías de producción (Annual Farmed Shrimp Production Survey, 2023; Cartagena, 2023). La investigación del impacto de la acidificación oceánica, el aumento de emisiones de CO₂, la variación natural presente en el sistema marino además de la tolerancia de los organismos marinos en este caso los crustáceos es un campo emergentemente en desarrollo y de rápida expansión, la disminución del pH en las aguas de mar causado por la acidificación del océano afecta a la mortalidad, el crecimiento y la reproducción de los crustáceos marinos esto debido a la sensibilidad que tienen a los cambios químicos del agua de mar, más específicamente a la química de carbonatos (Hofmann et al., 2010; Orr et al., 2005; Ritchie et al., 2023; Whiteley, 2011).

Cada vez existe mayor información de que las alteraciones generadas por acidificación oceánica en crustáceos podrían tener impactos a nivel ecosistema y en la soberanía alimentaria de las poblaciones que los utilizan como recurso, para la especie *Palaemon pacificus* se ha descrito que la tasa de supervivencia y la frecuencia de muda se vio afectada significativamente a causa de la acidificación (Kurihara et al., 2008), en el caso de *Portunus trituberculatus* fue descrito la supervivencia mejoró a costa de la reducción de crecimiento de la especie como lo describe en el estudio de (Lin et al., 2020), estudios en estadios larvales del cangrejo azul *Callinectes sapidus* y la reducción tanto en el

crecimiento como en la supervivencia fue descrito en el trabajo de (Giltz & Taylor, 2017), para una especie de krill del pacífico *Euphausia pacifica* se encontró que aunque en la tasa de supervivencia y muda no se vieron afectadas hubo una reducción significativa en el crecimiento de la especie (Cooper et al., 2017), para la especie *Cancer magister* o también conocida como Dungeness Crab se muestra que existe un retraso en el desarrollo embrionario y larvario temprano además de causar una mortalidad significativa (Miller et al., 2016), en este estudio que habla sobre la langosta americana *Homarus americanus* donde se encontró una mejor tolerancia a estrés causado por la acidificación en la fase larval que en estadios juveniles donde fueron evaluadas varias etapas del ciclo de vida (Noisette et al., 2021), en una especie de camarón *Palaemon elegans* se encontró que puede generar graves afectaciones en su crecimiento y el perfil bioquímico (Maia et al., 2022). En el caso de *Litopenaeus vannamei* existen pocas investigaciones realizadas que evalúen y valoren la susceptibilidad ante condiciones de acidificación oceánica y las investigaciones se han enfocado ámbitos como el análisis bioquímico de los tejidos con el medio donde se desarrolla bajo escenarios de estrés por pH como se aprecia en (Huang et al., 2018), en este estudio incluye el análisis de crecimiento y otras variables con enfoque bioquímico de la especie expuesta al agua de mar acidificada (Muralisankar et al., 2021), bajo el mismo enfoque de acidificación en este estudio se evalúa el rendimiento del crecimiento, capacidad antioxidante, funciones inmunes y daño histológico intestinal y microbiota como fue descrito en (Yu et al., 2020), *Litopenaeus vannamei* ha sido foco de estudio en otros ámbitos generales biológicos, por el contrario, se genera una falta de información general en lo que respecta a la respuesta de comportamiento, actividad natatoria, mecanismos de locomoción y otras perspectivas etológicas, existen estudios similares con una revisión a los comportamientos más comúnmente estudiados como lo son comportamientos de alimentación, anti-depredación y natación en varios otros grupos de organismos marinos invertebrados (Wang & Wang, 2020).

Al momento existen pocos estudios relacionados con las posibles alteraciones en la acuicultura del camarón bajo condiciones de acidificación oceánica. Previos trabajos del laboratorio EBIOAC-ULEAM han encontrado que la susceptibilidad a exposiciones cortas de pH reducido tendría diferentes respuestas dependiendo del estado de desarrollo.

Siendo los estadios de nauplio y zoea las edades más susceptibles a ligeras variaciones de pH, pero en postlarvas y juveniles parecería que la especie tiene cierta resistencia. Como contribución al entendimiento de como la acidificación oceánica afecta a los organismos marinos esta investigación tiene como objetivo analizar el impacto de la exposición prolongada ante condiciones de acidificación oceánica en el crecimiento y la actividad natatoria del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, esto mediante la evaluación del crecimiento y la determinación del cálculo de la actividad natatoria mediante análisis in silico durante la exposición prolongada.

2. MATERIALES Y MÉTODOS.

Sitio experimental

El trabajo experimental fue desarrollado dentro del Taller de Acuicultura en las instalaciones del Instituto Superior Tecnológico Luis Arboleda Martínez (ISTLAM), ubicado en el cantón Jaramijó provincia de Manabí, Ecuador.

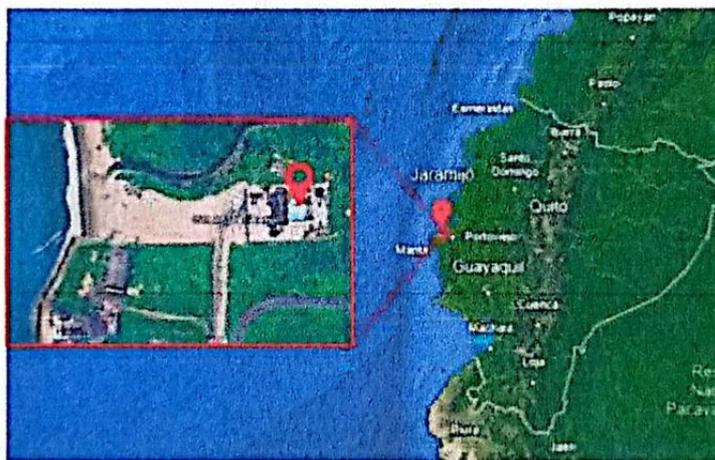


Figura. 1: Ubicación geográfica del sitio de experimentación, ubicación del Instituto Superior Tecnológico Luis Arboleda Martínez - Imagen Obtenida de Google Earth

Organismos experimentales

Los organismos experimentales fueron obtenidos de un laboratorio de producción comercial de larvas de camarón (BOCAYOLAR), ubicado en Puerto Cayo y posteriormente transportados a las instalaciones del (ISTLAM)

Se sembraron 500 organismos en estadio PL12 por cada tanque experimental, los tanques fueron preparados con agua de mar por cada tanque obtenida del reservorio general del

instituto, una vez sembrados los organismos entran en 10 días de aclimatación previo al inicio de la exposición prolongada, el proceso de aclimatación consistió en mantener a los organismos en los tanques con agua de mar, alimentación y monitoreo, sin que el sistema de acidificación esté en funcionamiento.

Los organismos fueron suministrados de alimento balanceado para camarones con un tamaño de 0,3mm durante los primeros meses, posteriormente con alimento balanceado peletizado con un cálculo del 10% del total de biomasa sembrado y aumentando su racionamiento con el tiempo del mismo 2% cada semana de exposición, siendo alimentados estos 2 veces por día en horario matutino y vespertino el alimento fue hidratado 10 minutos antes de ser suministrado.

Set experimental

Se trabajó con una distribución aleatoria de 3 tratamientos, por cada tratamiento se tuvo 3 réplicas. Los tanques usados que poseen longitudes de 2.1m de largo y 1.1m de ancho, y se usó un nivel de agua 50cm de altura de agua. Todos los tratamientos cuentan con aireación, sifoneo diario de residuos y recuperación de nivel. Con un recambio porcentual del 5 – 25% de agua previamente direccionado por la parte técnica del proyecto cada vez que fuese necesario considerando las condiciones del proyecto, con la participación del personal de apoyo del instituto fueron realizadas actividades como calibración de sensores, alimentación, mantenimiento, toma y control de parámetros físico químicos.

Control. - no incluye la alteración por medio de inyección de CO₂ pH=8,05

Tratamiento 1.- Cuenta con inyección de CO₂ con una reducción de un Δ -0,6 en el pH = 7,45

Tratamiento 2.- Cuenta con inyección de CO₂ con una reducción de un Δ -0,9 en el pH = 7,15

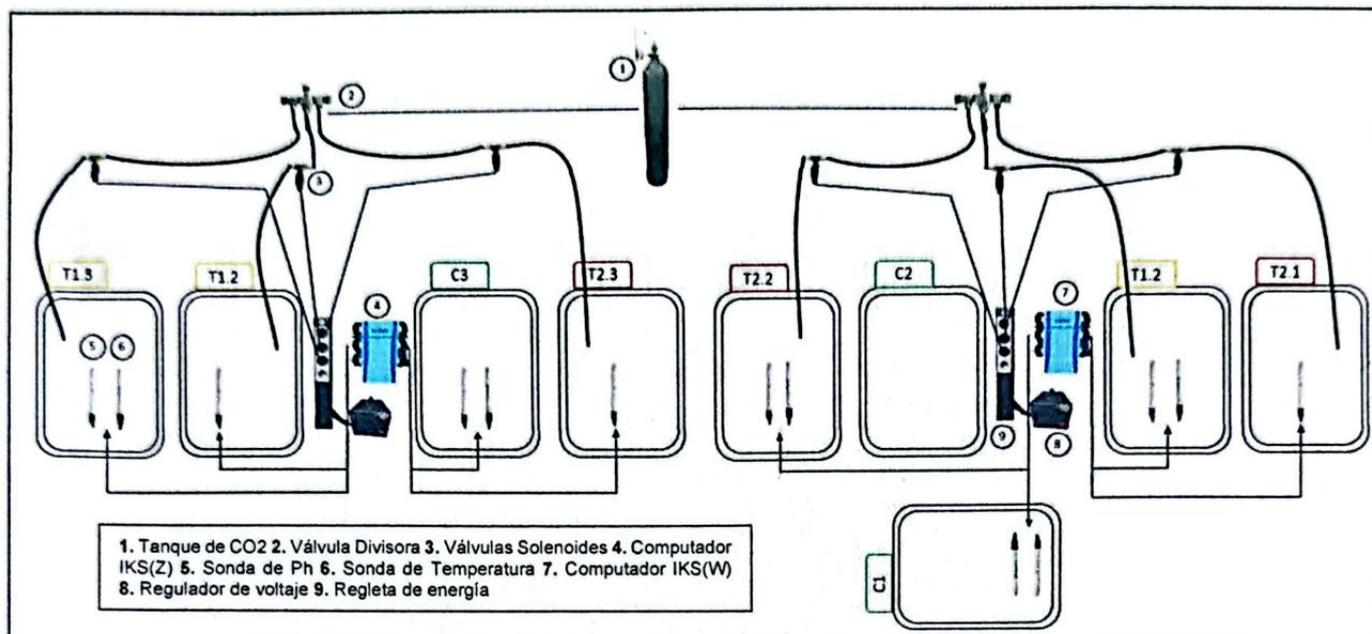


Figura. 2: Esquema de trabajo, disposición de los tanques, sistema IKS Aqua Star con sus sondas de temperatura y pH.

Para manipular los niveles de pH se usaron dos equipos IKS Aquastar versión 2 con varias sondas de pH y temperatura, las sondas de pH están conectadas a una válvula solenoide, que permite la inyección controlada de CO₂ grado alimentario, **Figura. 2**.

Se realizó además un control y ajuste de los niveles de pH tomando mediciones discretas mediante un potenciómetro de alta precisión Thermo Scientific Orion Star A211 conectado a un electrodo de vidrio RossUltra modelo 8102BNUWP con una resolución de 0,001 unidades de pH el cual será previamente es calibrado con TRIS Buffer Solution in Syntetic Seawater - BATCH #24 (Dickson's Lab, UCSD, San Diego).

Se tomarán mediciones diarias en los parámetros de (Salinidad, Oxígeno disuelto, Temperatura, pH en escala NBS) con el equipo multiparamétrico Hanna Hi9829 calibrado previamente, esto para control y manejo de los parámetros por parte del equipo del ISTLAM, estos datos no son reportados en este estudio.

Ensayos de actividad natatoria

La aplicación de disciplinas dedicadas al estudio del comportamiento animal en base al contexto de la acuicultura ha permitido desarrollar estrategias y protocolos que garanticen el bienestar animal en entornos gestionados, para así maximizar el potencial de una especie en la producción final resultante tanto en cantidad como en calidad (Bardera et al., 2019a; da Costa et al., 2016). En los ambientes acuáticos la contaminación tiene un potencial de incidir en el comportamiento de diferentes formas como alteración en respuestas de reacción y mecanismos metabólicos que retrasen las tasas de respuesta, es bien representado el estudio de comportamiento animal en diferentes especies marinas (Briffa et al., 2012; Wang & Wang, 2020). Los comportamientos no solo regulan la respuesta individual o poblacional de especies específicas o generales sino también tiene la capacidad potencial de afectar los ecosistemas en base a como escala la problemática en los niveles tróficos (Wang & Wang, 2020), es por esto que es importante un enfoque en el estudio del comportamiento de especies como *Litopenaeus vannamei* bajo el enfoque de posibles estresores ambientales como lo es la acidificación oceánica.

Se realizaron ensayos de actividad natatoria con los organismos desde el día 1 de exposición en el sistema (posterior a la aclimatación de los organismos), la toma de datos fueron cada 15 días hasta la semana 16 posteriormente la toma de datos fue cada 30 días hasta finalizar las pruebas conductuales estos fueron realizados en arenas de prueba compuestas por un protocolo de aclimatación previo a la grabación de la actividad natatoria de los organismos que consistió en dejar al organismo experimental dentro de la arena de prueba con una duración de 2 minutos para estandarizar la actividad de los organismos al ser trasladados de un tanque de exposición a una arena de prueba.

El sistema de seguimiento por vídeo (Tracking) consiste en grabar organismos con un dispositivo que permita la grabación y almacenamiento de video. El análisis puede ser directo con una serie de conexiones cámara – software o también se puede almacenar primero y analizar después, lo que resulta más seguro, ya que así se evitan fallos del sistema o errores de calibración por parte del experimentador, debido a que no es un método invasivo es el método más usado para análisis de seguimiento en organismos como lo indica en (Pérez-Escudero et al., 2014; Wang & Wang, 2020). Es necesario

investigar y establecer un protocolo adecuado para el organismo deseado a grabar considerando los requerimientos de cada especie para que pueda tener una actividad natural, el protocolo de grabación establecido consistía en verter agua del mismo tanque de exposición en la arena de prueba y manteniendo la distancia prudente para evitar la percepción de presencia humana en los organismos experimentales ya que esto podría alterar su actividad natatoria natural debido al estrés provocado por la manipulación, el tiempo establecido de grabación por individuo fue de 3 minutos, con un total de 447 videos grabados (1,341 minutos). Los organismos fueron colocados individualmente uno por uno dentro de la arena de grabación con agua del mismo tanque donde se extrajeron, esto 2 horas después de haber sido alimentados en cada muestra para disminuir la variabilidad de comportamiento por búsqueda de alimento.

Set experimental de actividad natatoria (Arena de prueba)

Se uso un dispositivo celular móvil para la grabación de los videos marca Huawei P10 lite, las especificaciones de la cámara fueron 12 Megapíxeles y la resolución de los videos fue ajustada a 1080p, con una tasa de fotogramas de 30 fotograma por segundo (fps), este dispositivo colocado en un trípode y ajustado a la altura necesaria para tener el área de la arena de prueba cubierta. La arena de prueba consistía en un balde blanco con dimensiones de (17cm diámetro de la base x 19cm altura) durante los primeras 4 semanas de exposición, posteriormente se ajustó una arena de prueba más grande con dimensiones de (25cm diámetro de la base x 34cm altura), la cual estaba superpuesto en una base rectangular de vidrio teniendo suficiente espacio con el objetivo de aislar el calor provocado por el aumento de temperatura de la luz, por debajo fue colocado el foco de iluminación (Luz LED) para con esto poder dar luz de fondo en la arena de prueba con el objetivo de mejorar opacidad del organismo en movimiento y la densidad de la columna de agua y así de esta forma mejorar la imagen en el análisis de seguimiento que posteriormente será realizado, para evitar la perturbación por la intensidad de la luz se colocó encima de la luz 3 filtros hechos de hoja de papel con un diámetro de 22,5cm que era el mismo que la del foco de iluminación, la fuente de energía era conectada a una regleta para controlar el paso de la misma.

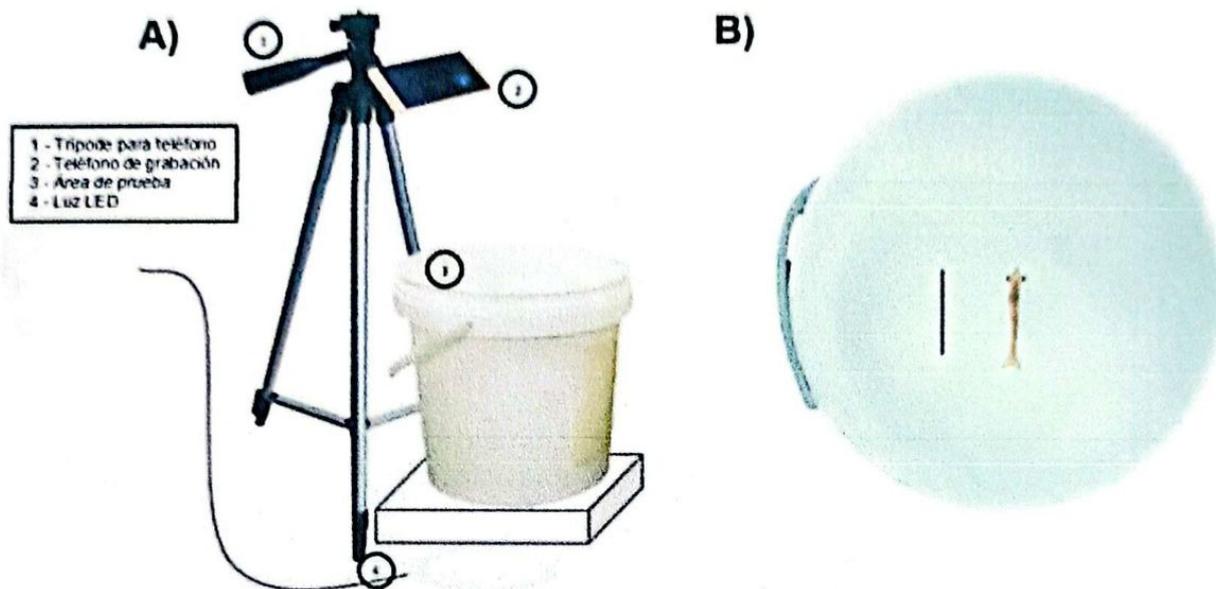


Figura. 3: A) Set de grabación con la arena de prueba colocada en posición B) Vista superior en la arena de prueba con un camarón dentro y la medida de referencia

Análisis de video seguimiento, estadístico y obtención de datos biométricos.

Los análisis de video seguimiento se realizaron usando el programa KINOVEA v2023 1.2 con las herramientas de análisis de seguimiento (Tracking), el protocolo de análisis fue llevado a cabo con el seguimiento del organismo experimental individual colocando el marcador de video seguimiento y haciendo el seguimiento in sílico durante los 3 minutos de grabación y realizando las correcciones necesarias cada que el programa marcara una ruta equivocada o estuviese fuera del organismo analizado, para el cálculo de distancia total recorrida se colocó una marca referencial, el programa fue previamente calibrado al iniciar un nuevo análisis de video individual para disminuir el error del cálculo de distancias mediante el programa, Figura 4.

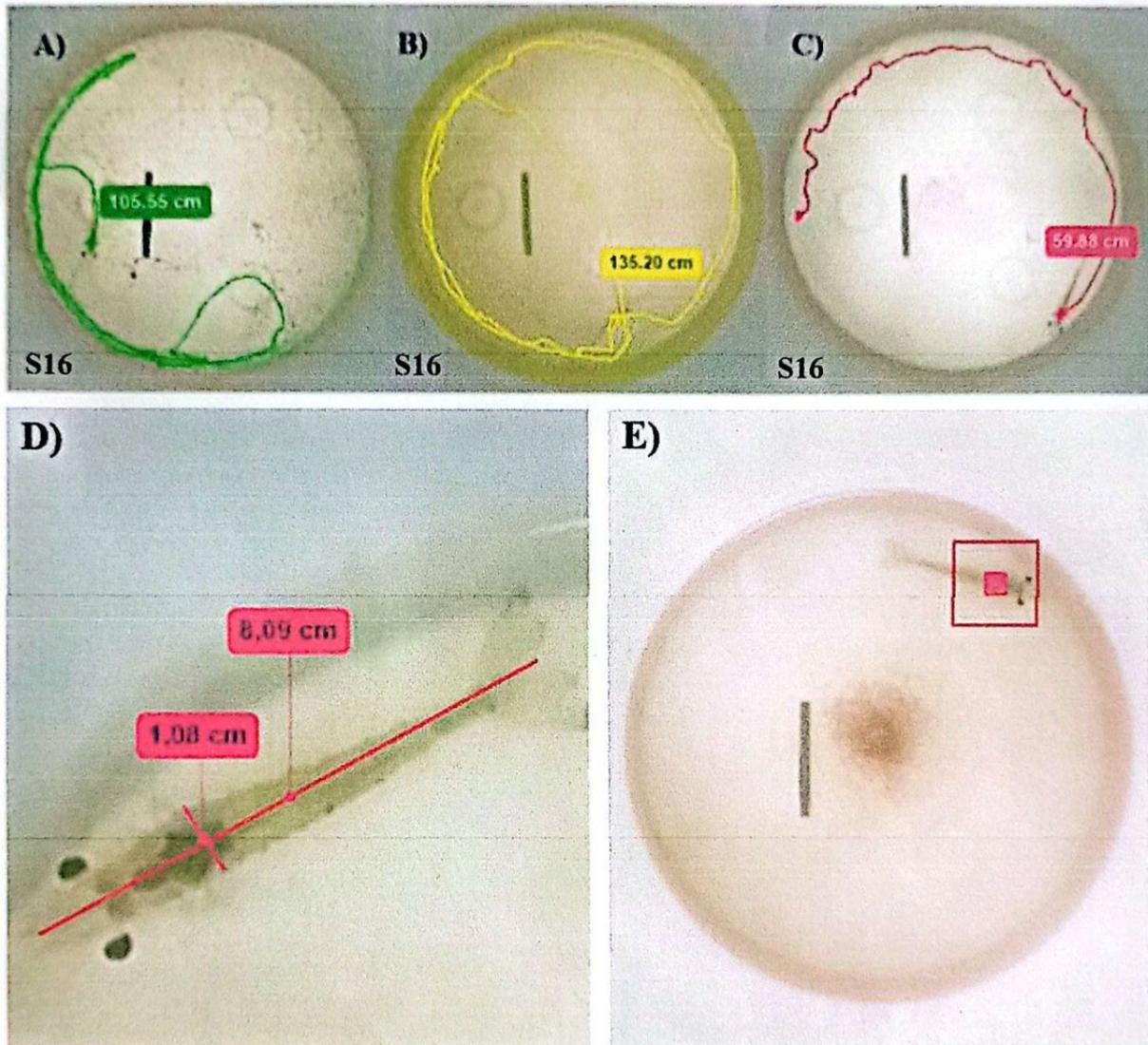


Figura. 4: A) Ejemplo de tracking "C-S16", B) Ejemplo de tracking "T1-S16", C) Ejemplo de tracking "T2-S16", D) Toma de medidas de longitud calculada con Kinovea E) Imagen tomada de Kinovea con el análisis de seguimiento en función

La biometría fue calculada mediante la herramienta Línea la cual permite conocer la distancia total de una línea colocada previamente realizada la calibración, de esta forma los datos tomados fueron, la Longitud total (LT) se tomó desde la punta del rostrum visible hasta la punta del telson, y el Ancho de cefalotórax (AC) se tomó identificando la zona del hepatopáncreas la toma fue antes del primer segmento del abdomen. Los datos fueron sometidos a las pruebas de normalidad y homogeneidad de varianza y al no cumplir con

los supuestos de paramétrica se utilizó pruebas no paramétricas para comparación de grupos el test Kruskal-Wallis y el test U de Man Withney para las comparaciones entre semanas de exposición inicial y final en cada uno de los tratamientos experimentales, y el test Post-hoc de comparaciones múltiples de Dunn's. Los análisis fueron llevados a cabo en Rstudio, también se usó SigmaPlot15 para la graficación de los datos.

3. RESULTADOS

Existió pérdida de datos durante el muestreo, los cuales fueron omitidos en los análisis estadísticos, una cantidad de 39 videos pertenecientes a diferentes semanas las cuales códigos de registro indica la semana y tratamiento perteneciente cuyo código son (S4-T2.1F), (S6-T1.3F), (S8-C3F), (S11-T2.1C, C1F(A, B, C), Réplica (D, E, F)), (S12-T1.3A, T1.2A, C3A), (S16-T1.3D), (S25-T2.1C, T2.3E, T2.2E), en la S11 existe un mayor número de pérdida de datos, sin embargo por la el diseño experimental planificado, la aleatoriedad de la toma de muestras y el número de replicas tomadas considerada para este estudio, se incluye el grupo en la estadísticas de semanas de exposición.

Crecimiento (Longitud Total, Ancho de Cefalotórax)

Los organismos analizados mostraron un crecimiento basal en las primeras semanas de exposición (S4 – S6) no superando valores mayores a (LT= 3,61cm ; AC= 0,51 cm), a medida que avanza el tiempo de exposición desde la S8 hasta la S20 los organismos muestran un crecimiento acelerado llegando a valores (LT= 8,09cm ; AC= 1,08 cm) a partir de ahí hasta la semana 25 donde concluye la toma de datos muestran un crecimiento estabilizado, identificándose diferencias significativas generales entre los tratamientos (LT, p-value=0.004), (AC, p-value = 0.005). Después de esto se llevó a cabo la prueba de comparaciones múltiples (post-hoc) individualmente para ambos factores entre los tratamientos el cual mostró en el factor de Longitud Total que no existe diferencias significativas entre C y T1, sin embargo, si mostró diferencias entre C y T2 (p-value=0.02) así también como entre T1 y T2 (p-value=0.008) (Figura. 5.A). De la misma forma el factor Ancho de cefalotórax no existe diferencias significativas entre C y T1, sin embargo, hubo diferencias significativas entre C y T2 (p-value=0.02) así también como entre T1 y T2 (p-value=0.009) (Figura. 5.B).

Luego del análisis entre la (S4) semana inicial contra la (25) semana final de exposición, tanto en la variable LT como en AC no se encontraron diferencias entre los tratamientos para S4 (LT, p-value=0.06 ; AC, p-value= 0,07), sin embargo, hubo significancia entre los tratamientos para la S25 semana final de exposición en ambos factores (LT, p-value=0.006; AC, p-value=0.02) (Figura. 6 y 7) , posterior a las comparaciones múltiples se encontró que entre C y T1, y, entre T1 y T2 no hubo diferencias significativas, existió significancia entre los tratamientos C y T2 en ambas medidas de crecimiento (LT, p-value= 0,004; AC, p-value= 0,02) (Figura. 6 y 7).

Actividad natatoria (Desplazamiento promedio)

Posterior al análisis no paramétrico del (Min 3) desplazamiento promedio general de todas las semanas acumuladas (Figura. 8), no existieron diferencias significativas (p-value = 0,44) entre los tratamientos (C, T1, T2). En el análisis entre los tratamientos de la S4 y S25 individualmente (Figura. 9) no hubo diferencias para S4, no obstante, existió significancia en la S25 entre los tratamientos (p-value = 0,44) a posteriori de la prueba de comparaciones múltiple resultó que entre los tratamientos C y T1 fue donde se identificaron las diferencias con un valor de (p-value = 0,02).

En la evaluación del efecto entre la S4 y S25 (inicial vs final) de exposición para cada uno de los tratamientos individualmente se distingue que ambos tratamientos T1 y T2 tuvieron un efecto significativo en el desplazamiento promedio de los camarones (Tratamiento 1, p-value = 0,0004; Tratamiento 2, p-value=0,004) al cabo de su recorrido de actividad natatoria a comparación del tratamiento C de referencia, indicando que hubo un mayor efecto en el tratamiento con acidificación moderada T1 reduciendo su distancia total promedio recorrida.

Crecimiento (Morfometría)

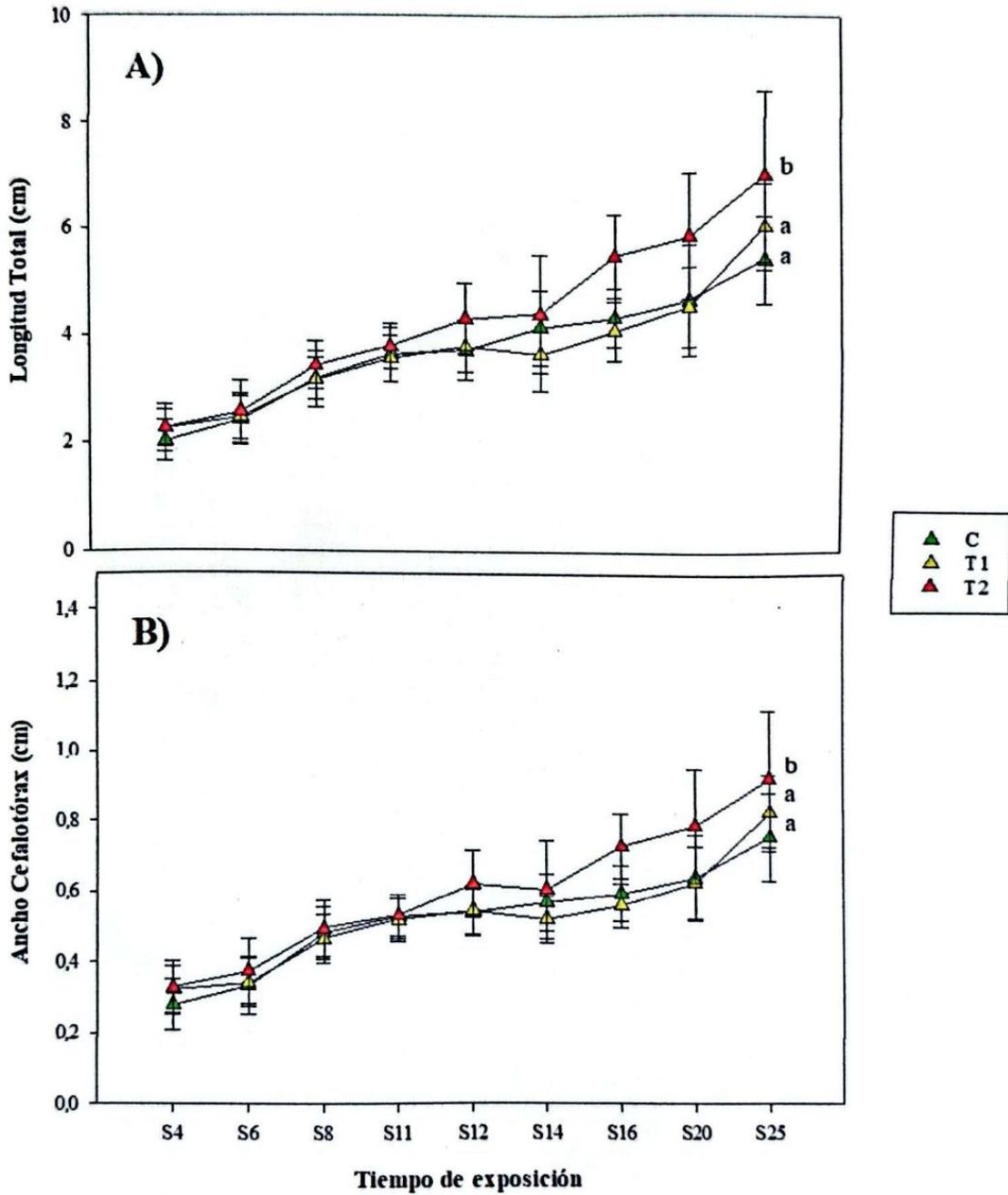


Figura. 5: A) Longitud Total B)Ancho de Cefalotórax, representa el nivel de crecimiento en centímetros a lo largo de las semanas de exposición, posterior a las comparaciones entre tratamientos para la Longitud total del T2 (b) presenta diferencias significativas en base a los tratamientos C y T1 (a); para el Ancho de cefalotórax del T2 (b) presenta diferencias significativas en base a los tratamientos C y T1 (a).

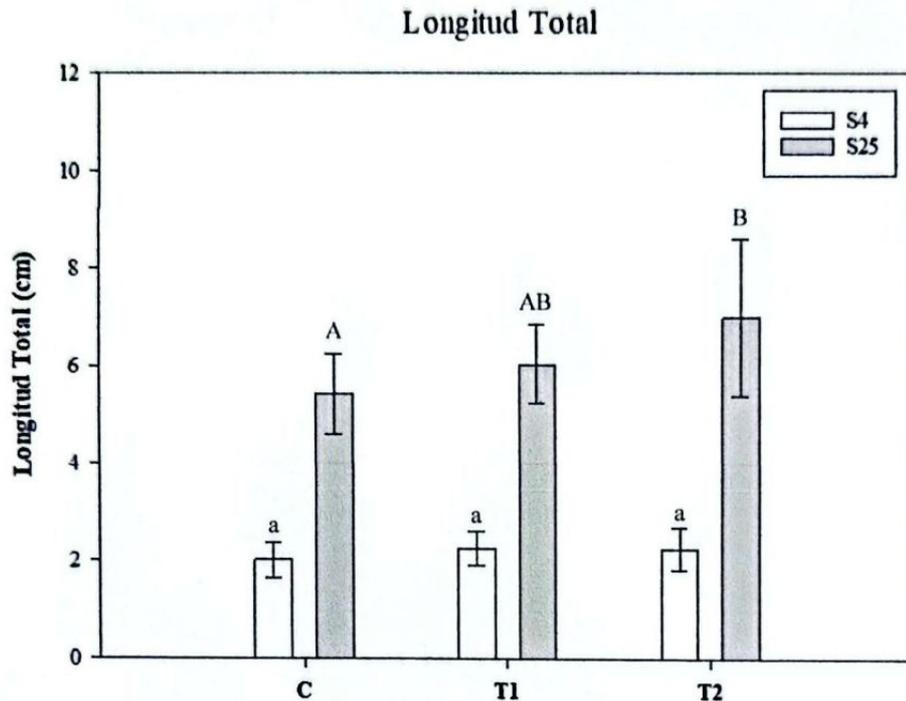


Figura. 6: Comparaciones entre la semana inicial y la semana final de la (LT) Longitud Total para los distintos tratamientos de acidificación.

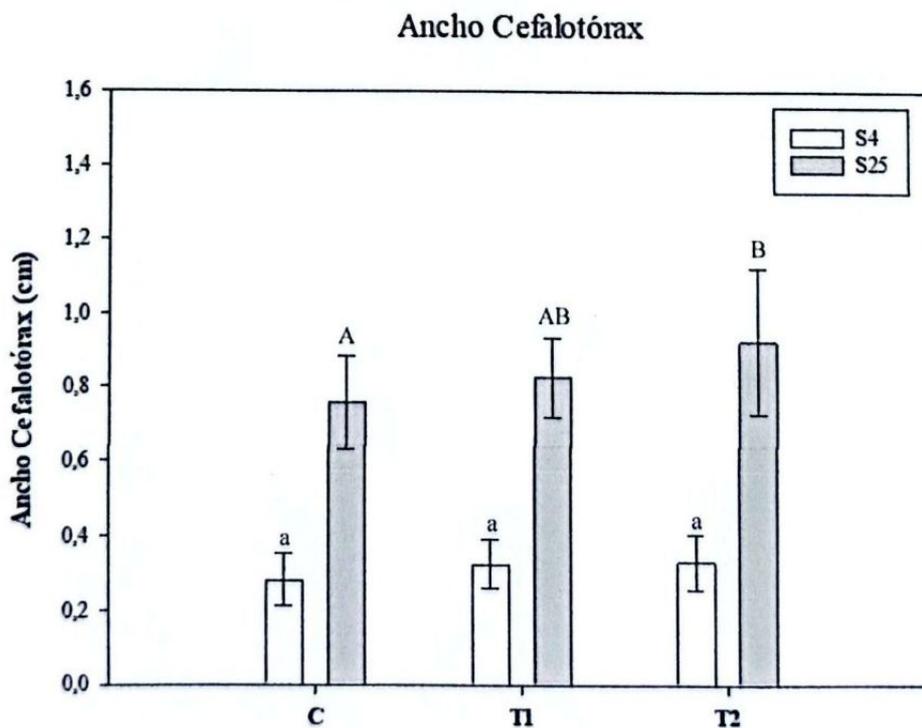


Figura. 7: Comparaciones entre la semana inicial y la semana final del (AC) Ancho de cefalotórax para los distintos tratamientos de acidificación.

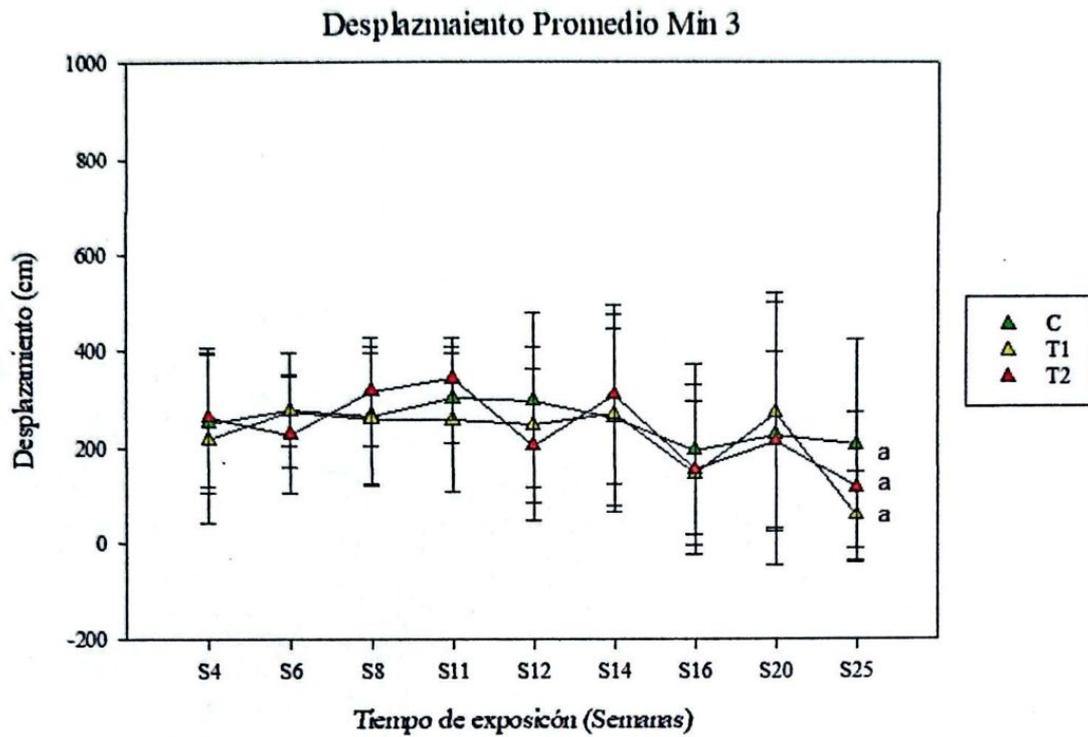


Figura. 8: Comparaciones múltiples entre las semanas de exposición en base a los tratamientos experimentales.

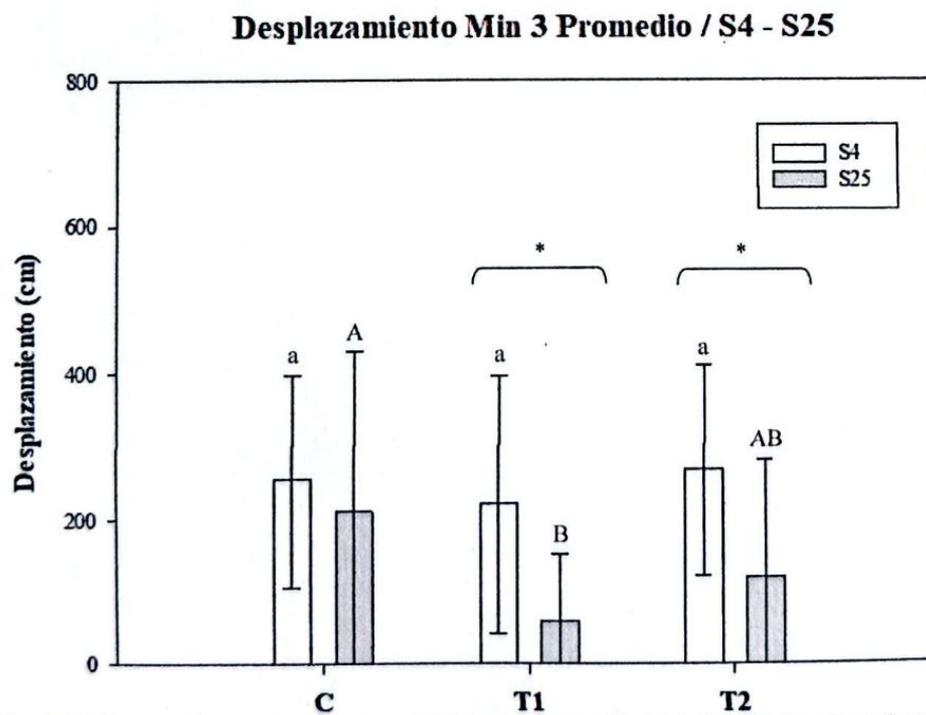


Figura. 9: Comparaciones entre la semana inicial y la semana final del (Min 3) Desplazamiento promedio para los distintos tratamientos de acidificación.

4. DISCUSIONES

Los resultados encontrados en este análisis indican que la exposición prolongada del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* ante condiciones de acidificación indican que existieron alteraciones en el crecimiento tanto de la Longitud Total como el Ancho de Cefalotórax, dado que al ser analizada las tallas inicial y final durante la exposición prolongada de CO₂ se identificaron alteraciones entre los tratamientos observando un crecimiento significativamente mayor en el tratamiento con acidificación alta (pH=7,15) T2 a diferencia de los tanques que no tuvieron alteración de pH (C, T1), esto se ve representado en las comparaciones entre la semana inicial y final de exposición en ambos factores, esta información sugiere a comparación de otros estudios aunque con menor tiempo de exposición y variables niveles reducidos de pH aplicados, en el análisis de crecimiento bajo distintas formas de calculo de valores de crecimiento a diferencia de este estudio en el que la S8 los valores muestran una estabilización entre los valores sin diferencias estos estudios tuvieron diferencias significativas con una reducción significativa en sus datos relacionados al crecimiento como en (Han et al., 2018) se midió en porcentaje de ganancia de longitud 28 días, donde hubo una reducción de crecimiento significativa en niveles muy bajo pH a diferencia de (Yu et al., 2020) que en 28 días reportado en tasa de aumento de peso conjugando variables de peso y longitud en niveles de pH reducido en donde se reportó valores mayor crecimiento en los tratamientos aplicados, similar al T2 de la S4 de nuestro estudio.

En un estudio sobre la exposición durante un periodo de 2 semanas donde no se encontraron diferencias en el crecimiento a dos niveles reducidos de pH, este fue reportado como tasa de crecimiento en cm/día y los organismos fueron sometidos a niveles similares de (pH=7,6) donde este fue el tratamiento de mayor nivel de acidificación, asemejándose a los niveles (-0,02; pH= 7,45) T1 de tratamiento en nuestro estudio (Weerathunga et al., 2021). A diferencia de otro estudio donde se documenta que en 7 semanas de exposición valores reportados como longitud y ganancia de longitud disminuyeron significativamente en el tratamientos de pH reducido (7,6 y 7,0) (Muralisankar et al., 2021). Otro autor demuestra que en 45 días de exposición a niveles reducidos de pH el crecimiento calculado en (cm/día) fue significativamente menor en

escenarios de pH con valores de (pH= 7,2 y 6,8) (Buróc et al., 2019). De igual forma en un estudio de 15 semanas en una especie de camarón relevante *Palaemon pacificus* se encontró reducción en su crecimiento con aumento de concentración de CO₂ en el agua a las que fueron expuestos (Kurihara et al., 2008). Previamente los crustáceos han sido usados como modelos de estudio para evaluar las afectaciones que tienen en diferentes enfoques de estudio principalmente (supervivencia, crecimiento, conversión alimenticia, y comportamiento), como lo es para otra especie de camarón *Hippolyte californiensis* o camarón herbáceo que durante 7 semanas de exposición se evaluó el crecimiento y la coloración de la especie donde los organismos mostraron un ligero mayor crecimiento a los organismos con el agua de mar tratada con CO₂ sin mostrar cambios en su coloración (Lowder et al., 2017).

La importancia de estudiar los organismos marinos de la acidificación en crustáceos reside en el valor comercial alto representativo para la industria acuícola y en general para distintos grupos taxonómicos de los crustáceos como en el caso de (Cooper et al., 2017; Giltz & Taylor, 2017; Lin et al., 2020; McLuckie et al., 2021; Miller et al., 2016).

Con respecto a la actividad natatoria siendo valorada como desplazamiento en este experimento no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos desde un enfoque general sin embargo posterior a las comparaciones de valores en desplazamiento promedio por minuto se pudo identificar diferencias tanto entre los tratamiento (T1 pH= 7,45 y T2 pH=7,15), así como entre las semanas de exposición viéndose una reducción significativa en la distancia recorrida durante el periodo de prueba analizado en la semana inicial S4 no hubo alteraciones pero luego de la exposición, la reducción de actividad fue disminuyendo significativamente más en el T1 que en el T2 al finalizar la exposición, en comparación con otros estudios de comportamiento en el camarón blanco que su enfoque va direccionado a otro tipo de estudio de comportamiento bajo escenarios de acidificación oceánica, desde un análisis de comportamiento bajo escenarios de acidificación en otros crustáceos de relevancia acuícola como la búsqueda de alimento alterada en el *Metacarcinus magister* o Dungeness crab (Miller et al., 2016), así como *Metapenaeus joyneri* un crustáceo penido expuesto a hipercapnia en el cual se reportó una reducción en

la velocidad crítica de natación la cual es una aproximación similar a el enfoque de este estudio (Dissanayake & Ishimatsu, 2011). La utilización de etogramas es un enfoque importante para la evaluación de distintos comportamientos como con la especie de camarón *Upogebia deltaura* en el cual se observó diferencias significativas en los distintos comportamientos y más específicamente una reducción en el porcentaje de comportamiento denominado “caminar” en los tratamientos con reducción de pH en comparación con los valores referenciales del estudio, asemejándose a la reducción encontrada en la distancia recorrida (Widdicombe, 2012). Cabe destacar que este método de análisis de seguimiento implementado es poco visto en estudios de comportamiento en *Litopennaeus vannamei*, el método más usado es de observaciones directas o indirectas creando tablas para valorar los comportamientos ocurridos durante un periodo de tiempo que podría llegar a ser otro enfoque importante en este estudio como lo es el comportamiento de atraktividad hacia los alimentos, el sexo o la densidad de cultivo, siendo estas aproximaciones necesarias para entender mejor el comportamiento los camarones sometidos a condiciones de acidificación oceánica (Bardera et al., 2019b, 2020; Briffa et al., 2012; da Costa et al., 2016; Wang & Wang, 2020). Es importante destacar los resultados de este estudio debido a las implicaciones que este podría tener en el desarrollo óptimo de esta especie altamente cultivada a nivel mundial, bajo un enfoque de acidificación oceánica este estudio sirve para establecer una línea base de datos de crecimiento y comportamentales ante una exposición prolongada de niveles reducidos de pH siendo esta una aproximación a escenarios futuros predichos, indicando una alteración tanto en el crecimiento como en el comportamiento evaluado, cabe mencionar que en este estudio aún no se han considerado otro tipo de observaciones comportamentales, y sería interesante incluir en este tipo de estudios más enfoques de evaluación.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente estudio de acidificación oceánica demuestran que después de la exposición prolongada en los camarones *Litopenaeus vannamei* se vio afectado significativamente el crecimiento apreciando un aumento de crecimiento en el T2 con niveles más altos de acidificación esto no se puede ver en el T1 con niveles moderados de acidificación ni en el grupo C de referencia o control.

Con respecto a la actividad la actividad natatoria medida en desplazamiento promedio por minuto en este trabajo se pudo evidenciar una reducción en su actividad que no fue significativa de forma general acumulada entre los tratamientos así como en las primeras semanas de exposición (S4) las cuales no tuvieron significancia, sin embargo, si hubo una disminución notable con el paso del tiempo en el experimento entre la semana inicial contra la última semana de exposición apreciándose en la semana final una diferencia significativa entre los tratamiento (T1 y T2),y con mayor intensidad lo refleja el T1 en la semana final del experimento

AGRADECIMIENTOS

A los organismos y personas que financiaron este proyecto, Francisco Navarrete-Mier y Patricia Castrillo-Briceño como encargados del proyecto, al EBIOAC como grupo de investigación por darme la oportunidad de formar parte de este experimento, al Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA) como institución de donde provinieron los fondos. Al laboratorio de larvas BOCAYOLAR por proporcionar los organismos, al ISTLAM como entidad asociada al proyecto y donde se desarrollo el mismo, a los estudiantes y docentes del instituto que me apoyaron en el proceso del proyecto, a las personas que colaboraron constantemente para que pudiese darse todo de la mejor forma, a mis colegas de laboratorio que siempre dieron aliento, a mis tutores que me guiaron por el camino del aprendizaje y el esfuerzo genuino, a mí mismo que a pesar de todos los obstáculos no me di por vencido y lo intenté hasta lograrlo. Gracias de todo corazón nunca olvidaré esta experiencia de trabajo.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Annual farmed shrimp production survey: A slight decrease in production reduction in 2023 with hopes for renewed growth in 2024 - Responsible Seafood Advocate. (2023, octubre 9). Global Seafood Alliance. <https://www.globalseafood.org/advocate/annual-farmed-shrimp-production-survey-a-slight-decrease-in-production-reduction-in-2023-with-hopes-for-renewed-growth-in-2024/>
- AR6 Synthesis Report: Climate Change 2023. (2023). <https://www.ipcc.ch/report/ar6/syr/>
- Bardera, G., Owen, M. A. G., Façanha, F. N., Alcaraz-Calero, J. M., Sloman, K. A., & Alexander, M. E. (2020). Evaluación de la capacidad de atracción del alimento en el camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) utilizando un software de seguimiento automatizado. *Aquaculture*, 529, 735692. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735692>
- Bardera, G., Usman, N., Owen, M., Pountney, D., Sloman, K. A., & Alexander, M. E. (2019a). The importance of behaviour in improving the production of shrimp in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 11(4), 1104-1132. <https://doi.org/10.1111/raq.12282>
- Bardera, G., Usman, N., Owen, M., Pountney, D., Sloman, K. A., & Alexander, M. E. (2019b). The importance of behaviour in improving the production of shrimp in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 11(4), 1104-1132. <https://doi.org/10.1111/raq.12282>
- Briffa, M., de la Haye, K., & Munday, P. L. (2012). High CO₂ and marine animal behaviour: Potential mechanisms and ecological consequences. *Marine Pollution Bulletin*, 64(8), 1519-1528. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.05.032>
- Bước Đ. V., Tào C. T., Hải T. N., Hương Đ. T. T., Phương N. T., & Ishimatsu A. (2019). Ảnh hưởng của CO₂ lên tỉ lệ sống, tăng trưởng, enzyme tiêu hóa và glucose của tôm thẻ chân trắng

(*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) giai đoạn tôm bột đến tôm giống. Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ, 55(3), Article 3. <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2019.077>

Caldeira, K., Archer, D., Barry, J. P., Bellerby, R. G. J., Brewer, P. G., Cao, L., Dickson, A. G., Doney, S. C., Elderfield, H., Fabry, V. J., Feely, R. A., Gattuso, J.-P., Haugan, P. M., Hoegh-Guldberg, O., Jain, A. K., Kleypas, J. A., Langdon, C., Orr, J. C., Ridgwell, A., ... Zeebe, R. E. (2007). Comment on “Modern-age buildup of CO₂ and its effects on seawater acidity and salinity“ by Hugo A. Loaiciga. *Geophysical Research Letters*, 34(18). <https://doi.org/10.1029/2006GL027288>

Cartagena, D. A. R. (2023). Impacto de la tecnología de alimentación automática en el cultivo de camarón en Ecuador. <https://repositorio.unitec.edu/xmlui/handle/123456789/9956>

Ciais, P., Sabine, C., Bala, G., Bopp, L., Brovkin, V., al., et, & House, J. I. (2014). Carbon and Other Biogeochemical Cycles. En O. Edenhofer, R. Pichs-Madruga, Y. Sokona, E. Farahani, S. Kadner, K. Seyboth, A. Adler, I. Baum, S. Brunner, P. Eickemeier, B. Kriemann, J. Savolainen, S. Schlömer, C. von Stechow, Z. T., & M. J.C. (Eds.), *Climate Change 2013* (pp. 465-570). Cambridge University Press.

Cooper, H. L., Potts, D. C., & Paytan, A. (2017). Effects of elevated pCO₂ on the survival, growth, and moulting of the Pacific krill species, *Euphausia pacifica*. *ICES Journal of Marine Science*, 74(4), 1005-1012. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsw021>

da Costa, F. P., Gomes, B. S. F. de F., Pereira, S. D. do N. A., & de Fátima Arruda, M. (2016). Influence of stocking density on the behaviour of juvenile *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture Research*, 47(3), 912-924. <https://doi.org/10.1111/are.12550>

Dissanayake, A., & Ishimatsu, A. (2011). Synergistic effects of elevated CO₂ and temperature on the metabolic scope and activity in a shallow-water coastal decapod (*Metapenaeus joyneri*;

<https://doi.org/10.1093/icesjms/fsq188>

Doney, S. C., Fabry, V. J., Feely, R. A., & Kleypas, J. A. (2009). Ocean acidification: The other CO₂ problem. Annual Review of Marine Science, 1, 169-192.

<https://doi.org/10.1146/annurev.marine.010908.163834>

FAO. (2022). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2022. FAO ;
<https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/cc0461es>

FAO. (2024). Versión resumida de El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2024.
<https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/cd0690es>

FAO - Penaeus vannamei. (2009).
https://www.fao.org/fishery/docs/CDrom/aquaculture/I1129m/file/es/es_whitelegshrimp.htm

Friedlingstein, P., O'Sullivan, M., Jones, M. W., Andrew, R. M., Bakker, D. C. E., Hauck, J., Landschützer, P., Le Quéré, C., Lujikx, I. T., Peters, G. P., Peters, W., Pongratz, J., Schwingshackl, C., Sitch, S., Canadell, J. G., Ciais, P., Jackson, R. B., Alin, S. R., Anthoni, P., ... Zheng, B. (2023). Global Carbon Budget 2023. Earth System Science Data, 15(12), 5301-5369. <https://doi.org/10.5194/essd-15-5301-2023>

Gazeau, F., Gattuso, J.-P., Greaves, M., Elderfield, H., Peene, J., Heip, C. H. R., & Middelburg, J. J. (2011). Effect of carbonate chemistry alteration on the early embryonic development of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). PLoS One, 6(8), e23010.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023010>

Giltz, S. M., & Taylor, C. M. (2017). Reduced Growth and Survival in the Larval Blue Crab *Callinectes sapidus* Under Predicted Ocean Acidification. Journal of Shellfish Research, 36(2), 481-485.
<https://doi.org/10.2983/035.036.0219>

Han, S.-Y., Wang, B.-J., Liu, M., Wang, M.-Q., Jiang, K.-Y., Liu, X.-W., & Wang, L. (2018).

Adaptation of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* to gradual changes to a low-pH environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 149, 203-210.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.11.052>

Hernández-Almaraz, P., Méndez Rodríguez, L., Serviere Zaragoza, E., & González Aravena, M.

(2018). Consumidores primarios: Bioacumulación y transferencia de metales a invertebrados. Bioacumulación y transferencia de metales y contaminantes emergentes a través de las cadenas tróficas marinas. SAMSARA Ed, 62-81.

Hofmann, G. E., Barry, J. P., Edmunds, P. J., Gates, R. D., Hutchins, D. A., Klinger, T., & Sewell, M.

A. (2010). The Effect of Ocean Acidification on Calcifying Organisms in Marine Ecosystems: An Organism-to-Ecosystem Perspective. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 41(Volume 41, 2010), 127-147.
<https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.110308.120227>

Hopkins, F. E., Suntharalingam, P., Gehlen, M., Andrews, O., Archer, S. D., Bopp, L., Buitenhuis, E.,

Dadou, I., Duce, R., Goris, N., Jickells, T., Johnson, M., Keng, F., Law, C. S., Lee, K., Liss, P. S., Lizotte, M., Malin, G., Murrell, J. C., ... Williamson, P. (2020). The impacts of ocean acidification on marine trace gases and the implications for atmospheric chemistry and climate. *Proceedings. Mathematical, Physical, and Engineering Sciences*, 476(2237), 20190769.
<https://doi.org/10.1098/rspa.2019.0769>

Huang, W., Li, H., Cheng, C., Ren, C., Chen, T., Jiang, X., Cheng, K., Luo, P., & Hu, C. (2018).

Analysis of the transcriptome data in *Litopenaeus vannamei* reveals the immune basis and predicts the hub regulation-genes in response to high-pH stress. *PLOS ONE*, 13(12), e0207771.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207771>

- Hultgren, K. M., Ossentjuk, L., Hendricks, K., & Serafin, A. (2021). Crustacean diversity in the Puget Sound: Reconciling species, phylogenetic, and functional diversity. *Marine Biodiversity*, 51(2), 37. <https://doi.org/10.1007/s12526-021-01172-1>
- Kurihara, H., Matsui, M., Furukawa, H., Hayashi, M., & Ishimatsu, A. (2008). Long-term effects of predicted future seawater CO₂ conditions on the survival and growth of the marine shrimp *Palaemon pacificus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 367(1), 41-46. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2008.08.016>
- Lin, W., Ren, Z., Mu, C., Ye, Y., & Wang, C. (2020). Effects of Elevated pCO₂ on the Survival and Growth of *Portunus trituberculatus*. *Frontiers in Physiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00750>
- Lowder, K. B., Allen, M. C., Day, J. M. D., Deheyn, D. D., & Taylor, J. R. A. (2017). Assessment of ocean acidification and warming on the growth, calcification, and biophotonics of a California grass shrimp. *ICES Journal of Marine Science*, 74(4), 1150-1158. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsw246>
- Maia, S., Marques, S. C., Dupont, S., Neves, M., Pinto, H. J., Reis, J., & Leandro, S. M. (2022). Effects of ocean acidification and warming on the development and biochemical responses of juvenile shrimp *Palaemon elegans* (Rathke, 1837). *Marine Environmental Research*, 176, 105580. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2022.105580>
- McLuckie, C., Moltschaniwskyj, N., Gaston, T., & Taylor, M. D. (2021). Efectos de la reducción del pH en un camarón peneido de estuario (*Metapenaeus macleayi*). *Environmental Pollution*, 268, 115929. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115929>

- Miller, J. J., Maher, M., Bohaboy, E., Friedman, C. S., & McElhany, P. (2016). Exposure to low pH reduces survival and delays development in early life stages of Dungeness crab (*Cancer magister*). *Marine Biology*, 163(5), 118. <https://doi.org/10.1007/s00227-016-2883-1>
- Millero, F. J., Pierrot, D., Lee, K., Wanninkhof, R., Feely, R., Sabine, C. L., Key, R. M., & Takahashi, T. (2002). Dissociation constants for carbonic acid determined from field measurements. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 49(10), 1705-1723. [https://doi.org/10.1016/S0967-0637\(02\)00093-6](https://doi.org/10.1016/S0967-0637(02)00093-6)
- Mondragón, F. (2021). Ciclos del dióxido de carbono en la formación y utilización de combustibles fósiles y su efecto en el cambio climático. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 45(176), 833-849. <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1364>
- Muralisankar, T., Kalaivani, P., Thangal, S. H., & Santhanam, P. (2021). Crecimiento, bioquímica, antioxidantes, enzimas metabólicas y hemocitos poblacionales del camarón. *Litopenaeus vannamei* expuesto al agua de mar acidificada. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 239, 108843. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108843>
- Noisette, F., Calosi, P., Madeira, D., Chemel, M., Menu-Courey, K., Piedalue, S., Gurney-Smith, H., Daoud, D., & Azetsu-Scott, K. (2021). Tolerant Larvae and Sensitive Juveniles: Integrating Metabolomics and Whole-Organism Responses to Define Life-Stage Specific Sensitivity to Ocean Acidification in the American Lobster. *Metabolites*, 11(9), 584. <https://doi.org/10.3390/metabo11090584>
- Orr, J. C., Fabry, V. J., Aumont, O., Bopp, L., Doney, S. C., Feely, R. A., Gnanadesikan, A., Gruber, N., Ishida, A., Joos, F., Key, R. M., Lindsay, K., Maier-Reimer, E., Matear, R., Monfray, P., Mouchet, A., Najjar, R. G., Plattner, G.-K., Rodgers, K. B., ... Yool, A. (2005). Anthropogenic

ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms.

Nature, 437(7059), 681-686. <https://doi.org/10.1038/nature04095>

Pérez-Escudero, A., Vicente-Page, J., Hinz, R. C., Arganda, S., & de Polavieja, G. G. (2014).

idTracker: Tracking individuals in a group by automatic identification of unmarked animals.

Nature Methods, 11(7), 743-748. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2994>

Reid, P. C., Fischer, A. C., Lewis-Brown, E., Meredith, M. P., Sparrow, M., Andersson, A. J., Antia,

A., Bates, N. R., Bathmann, U., Beaugrand, G., Brix, H., Dye, S., Edwards, M., Furevik, T.,

Gangstø, R., Hátún, H., Hopcroft, R. R., Kendall, M., Kasten, S., ... Washington, R. (2009).

Chapter 1 Impacts of the Oceans on Climate Change. En *Advances in Marine Biology* (Vol.

56, pp. 1-150). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0065-2881\(09\)56001-4](https://doi.org/10.1016/S0065-2881(09)56001-4)

Ritchie, H., Rosado, P., & Roser, M. (2023). CO₂ and Greenhouse Gas Emissions. Our World in Data.

<https://ourworldindata.org/co2-and-greenhouse-gas-emissions>

Schiebel, R. (2002). Planktic foraminiferal sedimentation and the marine calcite budget. *Global*

Biogeochemical Cycles, 16(4), 3-1-3-21. <https://doi.org/10.1029/2001GB001459>

Wang, T., & Wang, Y. (2020). Behavioral responses to ocean acidification in marine invertebrates:

New insights and future directions. *Journal of Oceanology and Limnology*, 38(3), 759-772.

<https://doi.org/10.1007/s00343-019-9118-5>

Weerathunga, V., Huang, W.-J., Dupont, S., Hsieh, H.-H., Piyawardhana, N., Yuan, F.-L., Liao, J.-S.,

Lai, C.-Y., Chen, W.-M., & Hung, C.-C. (2021). Impacts of pH on the Fitness and Immune

System of Pacific White Shrimp. *Frontiers in Marine Science*, 8.

<https://doi.org/10.3389/fmars.2021.748837>

Whiteley, N. M. (2011). Physiological and ecological responses of crustaceans to ocean acidification.

Marine Ecology Progress Series, 430, 257-271. <https://doi.org/10.3354/meps09185>

- Widdicombe, S. (2012). Impact of exposure to elevated pCO₂ on the physiology and behaviour of an important ecosystem engineer, the burrowing shrimp *Upogebia deltaura*. *Aquatic Biology*.
[https://www.academia.edu/104696357/Impact_of_exposure_to_elevated_pCO₂on_the_physiology_and_behaviour_of_an_important_ecosystem_engineer_the_burrowing_shrimp_Upogebia_deltaura](https://www.academia.edu/104696357/Impact_of_exposure_to_elevated_pCO2_on_the_physiology_and_behaviour_of_an_important_ecosystem_engineer_the_burrowing_shrimp_Upogebia_deltaura)
- Wittmann, A. C., & Pörtner, H.-O. (2013). Sensitivities of extant animal taxa to ocean acidification. *Nature Climate Change*, 3(11), 995-1001. <https://doi.org/10.1038/nclimate1982>
- Yu, Q., Xie, J., Huang, M., Chen, C., Qian, D., Qin, J. G., Chen, L., Jia, Y., & Li, E. (2020). Respuestas de crecimiento y salud a un estrés de pH a largo plazo en el camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Reports*, 16, 100280.
<https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100280>