

## Efectos de la acidificación oceánica en el comportamiento y anestesiado de juveniles de *Abudefduf troschelii*

*Effects of Ocean Acidification on the Behavior and Anesthetic Response of Juvenile Abudefduf troschelii*

Roddy M. Castro Morán<sup>1</sup>, Jennifer Stefania Mera Arteaga<sup>2</sup>,  
Francisco Navarrete-Mier<sup>3</sup>, Patricia Castillo-Briceno<sup>4</sup>

Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí. <https://orcid.org/0009-0005-8347-2111>

Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí. <https://orcid.org/0009-0003-5066-7217>

Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí. <https://orcid.org/0000-0001-5571-4527>

Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí. <https://orcid.org/0000-0001-9122-6002>

Correo de correspondencia: [pat.castillobriceno@gmail.com](mailto:pat.castillobriceno@gmail.com)

DOI: <https://doi.org/10.63804/CIBEN.25.bycg.e3>

### Resumen

La acidificación oceánica (AO) puede afectar la estructura, fisiología y comportamiento de diversos taxones marinos, sobre todo en sus primeras fases de desarrollo. Evaluamos los efectos de la AO sobre parámetros fisiológicos y etológicos en juveniles del pomacéntrido *Abudefduf troschelii*, mediante pruebas de anestesia y de comportamiento. Los resultados en las pruebas de comportamiento, analizados por grupos, no evidenciaron cambios significativos relacionados con la disminución de pH del agua. En el eje fisiológico, no hubo diferencia significativa para las fases de inducción y anestesia general, pero la fase de recuperación fue significativamente mayor en los organismos expuestos a AO. En conjunto, los resultados sugieren que las condiciones asociadas a la acidificación afectan a los juveniles de *A. troschelii* expuestos a periodos cortos de hipercapnia, lo cual, aunque no sea detectable en el comportamiento podría ser revelado mediante análisis de respuesta fisiológica.

Palabras clave: Acidificación. Anestesia. Comportamiento. Hipercapnia

### Abstract

Ocean acidification (OA) may affect the structure, physiology, and behavior of several marine

taxa, particularly during early developmental stages. We evaluated the effects of OA on physiological and ethological parameters in juveniles of the pomacentrid *Abudefduf troschelii* through anesthesia and behavioral tests. Behavioral test results, analyzed by groups, showed no significant changes associated with reduced seawater pH. Regarding physiological responses, no significant differences were observed during the induction and general anesthesia phases; however, recovery time was significantly longer in organisms exposed to OA conditions. Overall, the results suggest that conditions associated with ocean acidification affect juveniles of *A. troschelii* exposed to short periods of hypercapnia, which, although not detectable through behavioral analyses, may be revealed through physiological response assessments.

Keywords: Ocean acidification. Anesthesia. Behavior. Hypercapnia

## Introducción

El incremento pronunciado de las emisiones de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), ha provocado una reducción del pH promedio del océano y un desbalance del sistema de carbonatos, proceso denominado como acidificación oceánica (AO). Las proyecciones indican que esta alteración será mayor a fin de siglo (Bindoff et al., 2022).

Se ha demostrado que la AO puede generar problemas en diversos taxones marinos (Wang & Wang, 2021). En peces se ha reportado que la AO puede generar alteraciones en respuesta y capacidad limitada para afrontar el estrés adicional (Servili et al., 2020). En larvas de peces se han detectado afectaciones en capacidades sensoriales, incluyendo la confusión de señales ambientales potencialmente perjudiciales (Rossi et al., 2018). Además, se ha evidenciado que una breve exposición a elevaciones de CO<sub>2</sub> puede inducir alteraciones claras en la neurobiología y el comportamiento en organismos acuáticos (Tresguerres & Hamilton, 2017).

El objetivo de este estudio es evaluar el impacto de la reducción del pH en juveniles de *Abudefduf troschelii*, en los ejes de fisiología neurológica modulada mediante un agente anestésico, y de la manifestación de alteraciones comportamentales.

## Metodología

Un total de 39 juveniles de *A. troschelii* fueron colectados en Punta Blanca, Manabí, Ecuador, con el permiso de del Ministerio de Ambiente, Agua y Transición Ecológica y fueron llevados al laboratorio Bioma Ecuatorial y Acidificación Oceánica (EBIOAC). Los peces fueron aleatorizados y distribuidos en 6 acuarios en grupos de 5 animales, separados individualmente por jaulas flotantes. Luego de 24 h de aclimatación fueron sometidos a condiciones de AO por 13 días y posterior a una prueba de respuesta fisiológica ante un anestésico y pruebas de

respuesta comportamental (Novel tank y Mirror biting).

Se trabajó con un mesocosmos para controlar los niveles de pH a través de inyección de CO<sub>2</sub>, la cual fue monitoreada por un equipo IKS Aquasat V.2 con sensores de temperatura y válvulas solenoides. Se establecieron 2 niveles de pH: Control 7,94±0,06 pH (n=3); y T1 con un pH Δ teórico de -0,6 (n=3). La temperatura (25 °C) y la salinidad (33 ppt) se mantuvieron estables. Diariamente se midió el pH en escala total con un equipo Orion Star A210. Además, se midieron muestras de alcalinidad a través de un titulador Orion Star T910 con HCl 0,1 M.

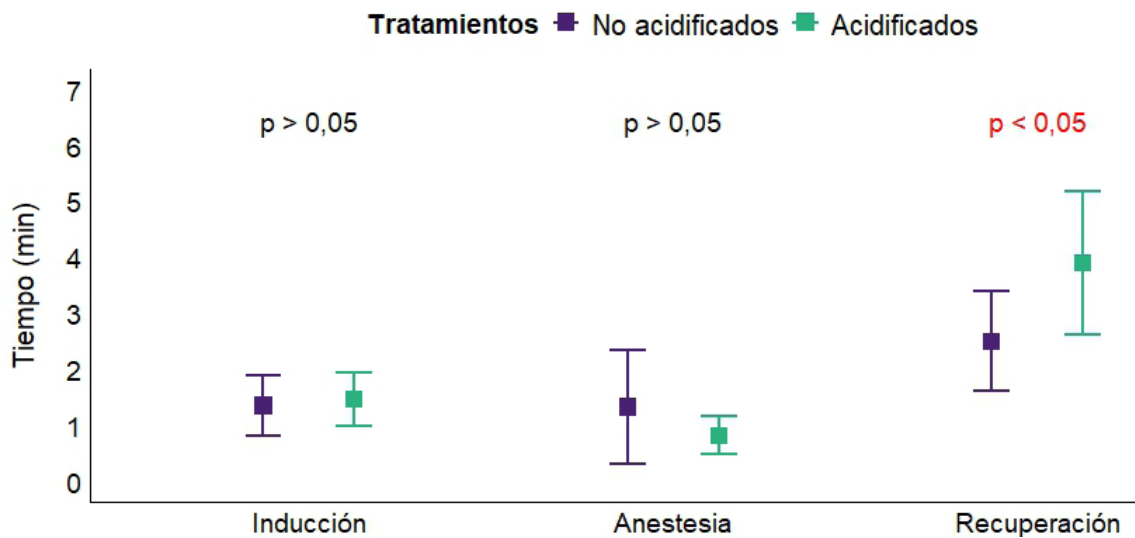
Para medir la respuesta fisiológica neurológica se empleó un agente anestésico, dado que durante el proceso de sedación este interactúa con el sistema nervioso central y provoca la pérdida de la sensibilidad y de la capacidad de respuesta a estímulos físicos (Barbas et al., 2021). Se utilizó eugenol (≥99%) a una concentración de 50 ppm diluido en agua de mar. Los organismos fueron anestesiados individualmente y de manera aleatorizada mediante inmersión. Durante el procedimiento se registraron tres tiempos: inducción, definido como el periodo hasta que el pez deja de responder a estímulos físicos; anestesia, correspondiente a la duración del efecto del anestésico; y recuperación, que abarca desde el cese del efecto hasta la recuperación del eje corporal y del patrón normal de nado.

Se aplicaron dos pruebas comportamentales la novel tank y mirror biting, que nos permite medir los niveles de ansiedad y actividad pro-social respectivamente (Audira et al., 2018). Para estos ensayos se utilizó un acuario trapezoidal y dentro de un set grabación. Los ensayos se grabaron con un celular (S.G. A15), ubicado a 30 cm del acuario. Las pruebas comportamentales llevaron el mismo orden que en test de anestesia y durante 5 min por individuo. Para las pruebas de comportamiento novel tank y mirror biting se usó un acuario semi-trapezoide, en la primera el acuario marcaba una línea horizontal que lo dividía en dos franjas de igual altura, mientras en la segunda prueba se colocó un espejo en la pared lateral vertical marcas pequeñas a 5 cm de distancia como referencia de zona de cercanía al espejo. Las pruebas comenzaban una vez que el pez cae dentro de la pecera y finalizaba a los 5 minutos. Las variables para novel tank fueron tiempo al pasar la mitad de la pecera, distancia recorrida hasta pasar la mitad de la pecera, tiempo sobre la mitad de la pecera y distancia total recorrida. Las variables de mirror biting tiempo en acercarse al espejo, distancia recorrida hasta llegar al espejo, tiempo transcurrido dentro de la zona de interacción y distancia total recorrida.

## Resultados y discusión

Nuestros resultados muestran que la fase de recuperación fue significativamente más prolongada en organismos expuestos al tratamiento acidificado en comparación con organismos no

acidificados (Figura 1), lo que podría deberse a las condiciones de hipercapnia o su efecto de disminución del pH del agua a la que estuvieron expuestos por 2 semanas. Esto podría tener relación con lo reportado por Li, (2021), sobre la acidificación oceánica como un elemento que altera la homeostasis de los peces y desencadena respuestas fisiológicas en cascada. Por otro lado, no se evidenciaron cambios significativos en el comportamiento de juveniles de *A. troschellii* en el análisis agrupado de los parámetros de respuestas exploratorias o de ansiedad ante un ambiente nuevo, ni de interacción o prosociales. Esto coincide con lo descrito en otros peces pomacéntricos que bajo exposiciones cortas a escenarios de bajo pH, no se registraron cambios comportamentales significativos (Hamilton et al. 2023). Estos resultados deberán ser contextualizados con datos de monitoreo de pH en zonas intermareales ya que en estas zonas la variabilidad de parámetros como pH y temperatura pueden ser amplias, y ello haría que los peces que habitan esas zonas puedan estar adaptados a exposiciones puntuales de muy bajo pH. Por otro lado, es posible que el tiempo de exposición de nuestro experimento no sea suficiente para desatar alteraciones medibles a nivel de comportamiento, pero el hecho de que la fase de recuperación a la exposición de un anestésico sea mayor a la del grupo control, podría indicar que ya existe alteración en la respuesta fisiológica de los peces. De ahí que es de alta importancia ampliar este tipo de estudios con exposiciones más prolongadas y/o analizar juveniles de otras especies que habitan ambientes más estables.



**Figura 1.** Tiempo de duración de las fases de anestesia en los tratamientos experimentales. Los tiempos de inducción y anestesia no mostraron diferencias significativas entre grupos, mientras que la fase de recuperación sí presentó diferencias, siendo más prolongada en los organismos expuestos al tratamiento acidificado. Los diagramas de violín incluyen el valor de p obtenido mediante una prueba t de Student para muestras independientes. El asterisco (\*) muestra diferencias significativas entre grupos.

## Conclusiones

En este estudio demostramos que los juveniles de *A. troschellii* expuestos a condiciones de bajo pH presentan una recuperación más lenta frente a la anestesia química en comparación con los organismos en condiciones control. Sin embargo, en el análisis agrupado para los parámetros de comportamentales de exploración o interacción no se detectó una alteración significativa.

## Referencias bibliográficas

Audira, G., Sampurna, B. P., Juniardi, S., Liang, S. T., Lai, Y. H., & Hsiao, C. Der. (2018). A Versatile Setup for Measuring Multiple Behavior Endpoints in Zebrafish. *Inventions 2018, Vol. 3, Page 75, 3(4)*, 75. <https://doi.org/10.3390/INVENTIONS3040075>

Barbas, L. A. L., Torres, M. F., da Costa, B. M. P. A., Feitosa, M. J. M., Maltez, L. C., Amado, L. L., Toda, Y. P. S., Batista, P. dos S., Cabral, D. A. C., & Hamoy, M. (2021). Eugenol induces body immobilization yet evoking an increased neuronal excitability in fish during short-term baths. *Aquatic Toxicology*, 231, 105734. <https://doi.org/10.1016/J.AQUATOX.2020.105734>

Bindoff, N. L., Cheung, W. W. L., & Kairo, J. G. (2022). Changing Ocean, Marine Ecosystems, and Dependent Communities. In *The Ocean and Cryosphere in a Changing Climate: Special Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/9781009157964.007>

Hamilton, T. J., Tresguerres, M., Kwan, G. T., Szaskiewicz, J., Franczak, B., Cyronak, T., Andersson, A. J., & Kline, D. I. (2023). Effects of ocean acidification on dopamine-mediated behavioral responses of a coral reef damselfish. *Science of The Total Environment*, 877, 162860. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2023.162860>

Li, S. (2021). Physiological impacts of ocean acidification on marine vertebrates. *Ocean Acidification and Marine Wildlife*, 53–108. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822330-7.00006-X>

Rossi, T., Pistevo, J. C. A., Connell, S. D., & Nagelkerken, I. (2018). On the wrong track: Ocean acidification attracts larval fish to irrelevant environmental cues. *Scientific Reports*, 8(1), 1–6. <https://doi.org/10.1038/S41598-018-24026-6;SUBJMETA>

Servili, A., Canario, A. V. M., Mouchel, O., & Muñoz-Cueto, J. A. (2020). Climate change impacts

on fish reproduction are mediated at multiple levels of the brain-pituitary-gonad axis. *General and Comparative Endocrinology*, 291, 113439. <https://doi.org/10.1016/J.YGCEN.2020.113439>

Tresguerres, M., & Hamilton, T. J. (2017). Acid-base physiology, neurobiology and behaviour in relation to CO<sub>2</sub>-induced ocean acidification. *The Journal of Experimental Biology*, 220(Pt 12), 2136–2148. <https://doi.org/10.1242/JEB.144113>

Wang, Y., & Wang, T. (2021). Behavioral impacts of ocean acidification on marine animals. *Ocean Acidification and Marine Wildlife*, 109–153. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822330-7.00002-2>