

Prefacio: Trabajos selectos de investigación sobre rodolitos

Preface: Selected research papers on rhodoliths

Rafael Riosmena-Rodríguez, Diana L Steller, Michael S Foster

Los rodolitos son algas coralinas de vida libre que, en condiciones favorables, forman amplios mantos en el fondo del mar. Estos sustratos vivientes sostienen comunidades diversas de organismos sobre, debajo y entre sus complejos talos, y sus restos coralinos pueden aportar importantes cantidades de sedimento marino así como de depósitos de fósiles. Estos talos frágiles y de lento crecimiento se encuentran amenazados por las perturbaciones antropogénicas, por lo que requieren una mayor protección alrededor del mundo.

Parte de los contenidos de este ejemplar de *Ciencias Marinas* son resultado de trabajos presentados en el Segundo Taller Internacional sobre Rodolitos realizado en La Paz, BCS, México, del 23 al 30 de octubre de 2006, el cual fue organizado con el fin de discutir los avances más recientes en el conocimiento de la biología de los rodolitos (también conocidos como *maerl*) y sus mantos en todo el mundo. Investigadores y estudiantes de los EUA, el Reino Unido, España, Portugal, Nueva Zelanda, Australia, Brasil y México, presentaron un total de 25 ponencias acerca de la taxonomía, ecología, geología, cambio climático global y conservación en relación con estos organismos. El taller fue financiado por los gobiernos federales de México (beca CONACYT DASJ I100/590/05, ACAC_050144) y los EUA (NSF-0635435). El primer taller sobre “Las bases científicas para la conservación y el manejo de los mantos de rodolitos” se llevó a cabo en la Isla de Cumbrae, Escocia, en 2001, y ya se ha iniciado la planeación del tercer taller a celebrarse en 2008/09 en Río de Janeiro, Brasil, y del cuarto en Granada, España, para 2010/11.

Los nueve trabajos sobre rodolitos que se presentan en este número representan todo el espectro de resultados y conceptos de las nuevas investigaciones sobre la biodiversidad en los mantos de rodolitos, su aporte de sedimentos, su respuesta al cambio global y su conservación. Los trabajos de Sewell *et al.* y Ledesma *et al.* describen las enormes cantidades de restos de rodolitos que abastecen playas, dunas y depósitos fósiles en el Golfo de California. Dos trabajos describen la diversidad asociada con la flora de aguas profundas (Amado-Filho *et al.*) y la fauna de aguas someras (Figueiredo *et al.*) de los mantos brasileños de rodolitos. Los estudios a nivel de comunidad de un manto rodolítico somero en México demuestran que existe una fuerte estacionalidad y una mayor contribución de la criptofauna (114 especies) a la riqueza específica (Foster *et al.*). Dada la complejidad de la taxonomía de los rodolitos actuales y fósiles, en su trabajo Harvey y Woelkerling proporcionan una guía taxonómica que ayuda a identificar estas plantas ubicuas, incluyendo un resumen de la literatura sistemática vigente.

Existe una creciente degradación de los mantos de rodolitos debida a perturbaciones antropogénicas, por lo que resulta

Rhodoliths are free-living coralline algae that, under favorable conditions, form extensive beds on the sea floor. These living substrates support a diverse community of organisms on, under and within their complex thalli, and coralline debris can be a major contributor to coastal sediments and fossil deposits. The fragile, slow-growing thalli are threatened by anthropogenic disturbances and require more extensive protection worldwide.

The contents of this issue of *Ciencias Marinas* are partially based on presentations from the Second International Rhodolith Workshop held in La Paz, BCS, Mexico, 23–30 October 2006. The workshop was organized to discuss recent advances in understanding the biology and conservation of rhodoliths (also known as *maerl*) and rhodolith beds worldwide. Senior and student scientists from the USA, UK, Spain, Portugal, New Zealand, Australia, Brazil and Mexico gave 25 oral presentations covering taxonomy, ecology, geology, global climate change and conservation. The workshop was funded by the federal governments of Mexico (CONACYT grant DASJ I100/590/05, ACAC_050144) and the USA (NSF-0635435). The first workshop “The scientific basis for conservation and management of *maerl* grounds” was held at Isle of Cumbrae, Scotland, in 2001. Planning has begun for the third workshop to be held sometime in 2008/09 in Rio de Janeiro, Brazil, and a fourth workshop in 2010/11 in Granada, Spain.

The nine papers on rhodoliths in this issue represent the spectrum of new research results and concepts concerning rhodolith bed biodiversity, contribution to sediments, response to global change and conservation. The Sewell *et al.* and Ledesma *et al.* papers describe the enormous amount of rhodolith debris that contributes to beaches, dunes and fossil deposits in the Gulf of California. Two studies describe the diversity associated with the flora of deep-water (Amado-Filho *et al.*) and fauna of shallow-water (Figueiredo *et al.*) Brazilian rhodolith beds. Community level studies of a shallow Mexican bed demonstrate strong seasonality and the major contribution of cryptofauna (114 species) to overall species richness (Foster *et al.*). The taxonomy of present and fossil rhodoliths is complex, and the paper by Harvey and Woelkerling provides a taxonomic guide to help identify these ubiquitous plants, including a summary of the current taxonomic literature.

The degradation of rhodolith beds by anthropogenic disturbances is increasing, and it is imperative to understand how disturbances affect these diverse communities. The paper by Hall-Spencer and Bamber assessed the detrimental effects of increased organic material and anoxic conditions associated with Scottish fish farms on underlying rhodolith (*maerl*) communities. Blake *et al.* used radiocarbon dating and paleo-

imperativo entender como éstas afectan a comunidades tan diversas. El trabajo de Hall-Spencer y Bamber evalúa los daños del incremento en las cantidades de material orgánico y sus consecuentes condiciones anóxicas generadas por las granjas psicícolas escocesas sobre las comunidades subyacentes de rodolitos. Blake *et al.* utilizaron fechado con carbono radiactivo y paleoconstrucción para determinar que un manto de ~4200 AP fue sepultado por un incremento en la sedimentación asociado al cambio climático. Steller *et al.* reportan fuertes efectos de la temperatura en las tasas de fotosíntesis, calcificación y crecimiento de la especie rodolítica mexicana *Lithophyllum margaritae*, y sugieren un mecanismo que vincula los cambios en la temperatura superficial del mar directamente con la producción de los mantos. El aumento en la atención prestada a los mantos de rodolitos en todo el mundo, en especial a la gran biodiversidad que sostienen, su fragilidad y sus bajas tasas de crecimiento, han llevado a su protección legal en Europa. Esperamos que los trabajos aquí presentados estimulen un mayor interés en la conservación de estos organismos ampliamente diseminados y de los hábitats biogénicos que producen.

En el taller también se sostuvieron discusiones productivas sobre varios temas relacionados con la investigación sobre rodolitos. La terminología (*maerl* vs rodolito) fue largamente discutida entre los biólogos durante el primer taller (ver introducción en Vol. 13, Supl. 1, *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 2003). Los geólogos que participaron en este segundo taller contribuyeron a esta discusión sugiriendo el término “biocalcarenita rodoalgal” como el más apropiado para referirse tanto a material vivo como muerto. Se discutieron los rasgos distintivos de un manto de rodolitos, incluyendo el hecho de que las poblaciones de rodolitos sólo deben ser caracterizadas como mantos si tienen una cobertura mínima de 10% de material vivo. Las discusiones técnicas incluyeron las relacionadas con la medición de las tasas de crecimiento, la determinación de la edad de talos individuales, y los métodos para predecir los tiempos de recuperación de los mantos después de una perturbación. Una discusión sobre la tinción con alizarina roja (ver Steller *et al.* este volumen) advierte a los investigadores que usan esta técnica de la posible desaparición de las marcas una vez que se cortan las muestras para exponer las marcas internas, sugiriendo la inmediata documentación fotográfica. Se resalta la necesidad de estudios de largo plazo y de usar muestreos cuantitativos y métodos experimentales. Para cuestiones más específicas se necesitarán diseños de muestreo más rigurosos, particularmente cuando se trata de abordar al mismo tiempo tanto la diversidad de los rodolitos y las comunidades, como los cambios en los parámetros poblacionales de los rodolitos. Los avances en la taxonomía de los rodolitos siguen identificando problemas para evaluar la diversidad actual y la fósil, así como las interacciones entre especies coralinas.

Los organizadores del taller
Diciembre de 2007

reconstruction to determine that a ~4200 year BP bed was smothered by increased sedimentation associated with climate change. Steller *et al.* report on very strong temperature effects on photosynthetic, calcification and growth rates in the Mexican rhodolith species *Lithophyllum margaritae*, and suggest a mechanism that links changes in sea surface temperature directly to bed production. An increased awareness of rhodolith beds worldwide, specifically the high biodiversity they support, their fragility and slow growth rates, has led to legal protection in Europe. We hope that the papers in this issue of *Ciencias Marinas* will stimulate further interest in and conservation of these widely distributed organisms and the biogenic habitats they produce.

The workshop also included very productive discussions on various issues in rhodolith research. The terminology (*maerl* vs rhodolith) was discussed at length among biologists at the first meeting (see introduction to Vol. 13, Suppl. 1, *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 2003). Geologists attending this second workshop contributed further to this discussion by suggesting “rhodalgal biocalcarinite” as the proper term that encompasses living and dead material. The defining features of a rhodolith bed were discussed, including that rhodolith populations should only be characterized as beds if they have a minimum of 10% cover living material. Discussions on techniques included those for measuring growth rates, determination of age of individual thalli and methods for predicting bed recovery times after disturbance. A discussion on the use of alizarin red stain (see Steller *et al.* this issue) included a warning to researchers using the technique that after sectioning to expose the internal stain markings, the stain can disappear over time. Therefore, immediate photographic documentation is highly suggested post-sectioning. The need for long-term studies and for using quantitative sampling and experimental methods was emphasized. More rigorous sampling designs are needed to address specific questions, particularly those addressing both rhodolith and community diversity and changes in rhodolith population parameters. Advances in rhodolith taxonomy continue to identify problems in assessing present and fossil diversity and coralline species interactions.

Meeting organizers
December 2007



Building bridges not walls: the past, present, and future of international collaboration and research in northwest Mexico

Construyendo puentes en vez de muros: pasado, presente y futuro de colaboraciones internacionales e investigación en el noroeste de México

For the second time the annual meeting of the Western Society of Naturalists (WSN) was held in Mexico, acknowledging the importance of maintaining and augmenting collaboration and communication across regions within the California Current ecosystems regardless of political borders. To commemorate the society's "centenario" or 100th meeting and to mark the commitment among members to maintain international collaborations, this *Ciencias Marinas* issue includes 10 manuscripts from research presented at the WSN meeting held in Ensenada, Mexico, from October 31 to November 3, 2019, where 235 talks and 121 posters were presented. In concordance with the special topics addressed throughout the conference, here we present a brief summary of the history of marine research in northwest Mexico and emphasize how these efforts have changed through time. We also discuss the importance of continuing international collaborations to improve our understanding and management of ecosystems within the Northeast Pacific, as well as the role WSN plays in fostering transboundary international research.

Although indigenous communities of the region have held vast knowledge of marine species, coastal currents, and coastal geography, historically academia has failed to include and preserve indigenous knowledge. As such, the most commonly accessible early data from the Northeast Pacific on these marine subjects comes from Spanish conquistadores in the 1700s (Del Barco 1988) and American whalers in the early 1800s (Scammon 1874), who traveled extensively along the coast and published their observations. These early publications in the late nineteenth and early twentieth centuries were mainly descriptive, focusing on taxonomy (Verrill 1869) and species distribution (Jordan and Evermann 1896). In particular, these early observations highlighted the differences in fauna between the Gulf of California and the western Pacific coast side of the peninsula, and the similarities in fauna between Baja California and California (Deichmann 1941).

Despite the two World Wars resulting in a general hiatus in research, some "amateur" naturalists generated some quintessential information during this time and shortly after there was a swell in academic research (McClatchie 2014). For example, the book "Sea of Cortez: A Leisurely Journal of Travel and Research" by Steinbeck and Ricketts (1941) still represents the best available "pristine" baseline to compare to current conditions along the region (Sagarin et al. 2008). Scientific research programs such as the Allan Hancock Foundation Pacific Expeditions and the California Cooperative Oceanic Fisheries Investigations were created and improved the knowledge exponentially of the marine fauna and flora of California, northwest Mexico, and the entire Eastern Tropical

Por segunda vez la Western Society of Naturalists (WSN) llevó a cabo su reunión anual en México, acto con el que reconoce la importancia de mantener y aumentar la colaboración y la comunicación entre las diferentes regiones de la corriente de California, independientemente de las fronteras políticas. Para conmemorar el "centenario" o reunión número 100 de la sociedad y marcar el compromiso de los miembros de mantener las colaboraciones internacionales, este número de *Ciencias Marinas* incluye 10 manuscritos de investigaciones presentadas en la reunión de la WSN realizada en Ensenada, México, del 31 de octubre al 3 de noviembre de 2019, donde se presentaron 235 charlas y 121 pósters. En concordancia con los temas especiales abordados en el congreso (WSN 2019), aquí presentamos un resumen breve de la historia de la investigación marina en el noroeste de México y enfatizamos cómo estos esfuerzos han cambiado a través del tiempo. También discutimos la importancia de continuar las colaboraciones internacionales para mejorar nuestra comprensión y manejo de los ecosistemas marinos del Pacífico Nororiental, así como el papel que juega la WSN en fomentar la investigación internacional transfronteriza.

Aunque las comunidades indígenas de la región han poseído un conocimiento vasto de especies marinas, corrientes costeras y geografía costera, en el pasado la academia no ha incluido o preservado el conocimiento indígena. Debido a esto, la información temprana sobre el noroeste de México normalmente viene de los conquistadores españoles en el siglo XVIII (Del Barco 1988) y balleneros estadounidenses a principios del siglo XIX (Scammon 1874), quienes publicaron sus observaciones de sus extensos viajes a lo largo de la costa. Estas publicaciones de finales del siglo XIX y principios del siglo XX son principalmente descriptivas, centradas en la taxonomía (Verrill 1869) y la distribución de especies (Jordan y Evermann 1898). Particularmente, estas observaciones tempranas destacaron las diferencias entre la fauna del golfo de California y la del lado oeste de la península, y las similitudes entre la fauna de Baja California y California (Deichmann 1941).

A pesar de que las dos guerras mundiales resultaron en una pausa general en la investigación científica, algunos naturalistas "amateur" generaron información esencial durante este periodo y poco después hubo un incremento en la investigación marina (McClatchie 2014). Por ejemplo, el libro "Sea of Cortez: A Leisurely Journal of Travel and Research" por Steinbeck y Ricketts (1941) todavía representa el mejor registro de una línea base o "prístina" de ecosistemas no perturbados para comparar con condiciones actuales a lo largo de la región (Sagarin et al. 2008). Por otra parte, se crearon programas como las Allan Hancock Foundation Pacific

Pacific (Clark 1938, McClatchie 2014). Moreover, there was a surge in research during the 1950s and 1960s, and several US institutions, such as Scripps Institution of Oceanography, the American Museum of Natural History, Stanford University, the University of Southern California, San Diego Natural History Museum, and the University of California in Los Angeles, conducted research in northwest Mexico on varied subjects such as oceanography, ichthyology, and paleontology (Durham and Barnard 1952, Hubbs 1960, Roden 1958).

During this same period in Mexico, only a handful of universities offered undergraduate programs in biology, such as Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Instituto Politécnico Nacional, and Universidad Autónoma de Nuevo León, and so the first (taxonomic) papers written by Mexican researchers on the marine fauna of the Pacific appeared (Rioja 1948, Caso 1953). Systematic research on marine species of northwest Mexico started in the 1960s, likely fostered by the interest of the federal government to increase commercial fishing (Castro-Aguirre 1965). In 1960, the Universidad Autónoma de Baja California (UABC) established the Escuela Nacional de Ciencias Marinas, with a Bachelor of Science degree in Oceanology, the first in Mexico and Latin America, and initiated oceanographic research in Mexico. Subsequently, most university marine science programs throughout the country (i.e., marine biology, fisheries biology, hydrobiology, oceanology) started in the 1970s (Martin del Campo 1987).

The Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT, Mexico) was founded in 1970 with the goal of strengthening the development of science and technology in Mexico. The CONACYT budget reached an all-time high in the 1980s, and the number of marine research projects increased dramatically, particularly in the northwest. In 1981 Mexico bought its first fully-equipped oceanographic ships (“El Puma” and “Justo Sierra”, owned by UNAM and Petróleos Mexicanos; Hendrickx 2012). During this period, CONACYT’s national and international graduate scholarship programs were established. Throughout the 1980s research conducted by Mexican scholars increased, but most published research was done by US scholars (Fig. 1), in part due to the lack of PhD programs in Mexico. However, through CONACYT’s scholarship program, many students were able to obtain master’s and doctoral degrees abroad (e.g., ecology, aquaculture, and fisheries), mainly in the USA, Japan, the UK, and Spain, leading to subsequent increases in Mexican research publications.

In the 1990s, many Mexican students who had studied marine sciences abroad began to return to Mexico and continue their research. By then, Mexican marine research institutions were also awarding master’s and doctoral degrees, and funding was available for research from government sources, such as CONACYT, which increased the quality of research and the output. Coordination, collaboration, and exchanges with US researchers continued, but increasingly Mexican scholars worked independently. By the 2000s, the

Expeditions y la California Cooperative Oceanic Fisheries Investigations, que mejoraron exponencialmente el conocimiento de la fauna y flora marina de California, el noroeste de México y todo el Pacífico Tropical Oriental (Clark 1938, McClatchie 2014). Durante las décadas de 1950 y 1960, hubo un incremento en la investigación de varias instituciones estadounidenses, como Scripps Institution of Oceanography, the American Museum of Natural History, Stanford University, University of Southern California, San Diego Natural History Museum y University of California Los Angeles, las cuales condujeron investigaciones en varios tópicos como oceanografía, ictiología y paleontología en el noroeste de México (Durham and Barnard 1952, Hubbs 1960, Roden 1958).

Durante este mismo período, en México sólo unas cuantas universidades ofrecían programas de licenciatura en biología, tales como la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Instituto Politécnico Nacional y la Universidad Autónoma de Nuevo León, y aparecieron los primeros artículos (taxonómicos) escritos por autores mexicanos sobre la fauna marina del Pacífico (Rioja 1948, Caso 1953). La sistemática de las especies marinas del noroeste de México comenzó en la década de 1960, probablemente fomentada por el interés del gobierno federal de aumentar la producción de las pesquerías comerciales (Castro-Aguirre 1958). En 1960, la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) estableció la Escuela Nacional de Ciencias Marinas, la cual ofrecía una licenciatura en Oceanología, la primera en México y Latinoamérica, e inició la investigación oceanográfica moderna en México. Subsecuentemente, en la década de 1970, aparecieron la mayoría de los programas universitarios de ciencias marinas a nivel nacional (i.e., biología marina, biología pesquera, hidrobiología, oceanología, etc.; Martin del Campo 1987).

El Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT, México) fue fundado en 1970 con el objetivo de fortalecer el desarrollo científico y tecnológico en México. El presupuesto de CONACYT alcanzó su máximo en la década de 1980, y el número de proyectos de investigación marina se incrementó dramáticamente, particularmente en el noroeste del país. En 1981, México compró sus primeros buques oceanográficos completamente equipados (“El Puma” y “Justo Sierra”, propiedad de la UNAM y Petróleos Mexicanos; Hendrickx 2012). También, durante este periodo, se establecieron los programas de becas de posgrado nacionales e internacionales de CONACYT. Durante la década de 1980, se incrementó la cantidad de investigaciones conducidas por científicos mexicanos, pero la mayoría de las investigaciones publicadas fueron llevadas a cabo por investigadores estadounidenses (Fig.1), parcialmente debido a la escasez de programas de doctorado en México. Sin embargo, debido al programa de becas CONACYT, muchos estudiantes tuvieron la oportunidad de obtener maestrías y doctorados en el extranjero (e.g., ecología, acuicultura y pesquerías), principalmente en EUA, Japón, Inglaterra y España, lo cual subsecuentemente incrementó las publicaciones por investigadores mexicanos.

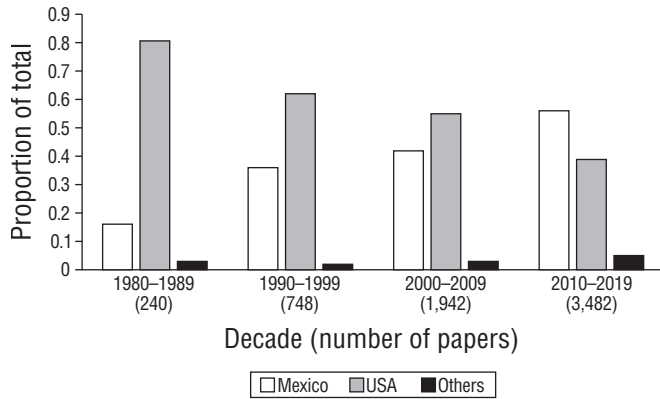


Figure 1. Percentage of marine science articles published from research done in Northwest Mexico by decade and country of the institution of the first author. The data were obtained by searching the Web of Science database using the key words “Gulf of California OR Pacific Coast Baja California”. Total number of papers found per decade are in parenthesis.

Figura 1. Porcentaje de los artículos de ciencias marinas publicados sobre investigaciones llevadas a cabo en el noroeste de México, clasificados por década y país de la institución del primer autor. Los datos fueron obtenidos de la base de datos Web of Science con las palabras clave “Gulf of California OR Pacific Coast Baja California”. El número total de artículos encontrados por década se encuentra en paréntesis.

undergraduate students of the 1970s and 1980s were now independent researchers with over 10 years of experience. Globalization also played a role in diversifying and strengthening marine science in Mexico; many PhD graduates from Europe (mainly Spain) and South America arrived to Mexican institutions, providing further avenues for diverse collaborations. Additionally, non-governmental organizations, such as ProNatura Noroeste, Sociedad de Historia Natural Niparajá, Comunidad y Biodiversidad, and many others became key actors supporting marine research in northwest Mexico with grants from national and international foundations and governments.

Finally, in recent years, Mexican scholars accelerated their output to the point that the majority of marine research published in the last decade (2010–2019) in Northwest Mexico has been authored by Mexican nationals (Fig. 1), although researchers from US institutions still produced around 40%. These trends and evident historically shared research interest among USA and Mexican scholars present great opportunities for continuing to foster and strengthen transboundary academic collaborations, a common theme during the 100th WSN meeting.

The synergistic nature of collaborating among scientists from different countries is an ideal to continue to strive for. Within this WSN special issue, the 10 articles published are a very small fraction of all the collaborative work presented and cited during the meeting but still highlight how research is enhanced by such diverse collaborations. The research by

En la década de 1990, muchos estudiantes mexicanos que estudiaron ciencias marinas en el extranjero empezaron a retornar a México para continuar sus investigaciones. Para entonces las instituciones mexicanas de investigación marina ya ofrecían maestrías y doctorados, y había financiamiento disponible por parte de agencias de gobierno, como CONACYT, lo cual incrementó la calidad y cantidad de las investigaciones llevadas a cabo. La coordinación, la colaboración y los intercambios con investigadores estadounidenses continuó, pero los investigadores mexicanos, cada vez más, trabajaban independientemente. Para la década de 2000, los estudiantes de licenciatura de las décadas de 1970 y 1980 eran ya investigadores independientes con más de 10 años de experiencia. La globalización también jugó un papel en la diversificación y el fortalecimiento de las ciencias marinas en México. Muchos investigadores extranjeros, con doctorado, de Europa (principalmente de España) y de América del Sur llegaron a instituciones mexicanas y proporcionaron nuevas y diversas vías de colaboración. También organizaciones no gubernamentales como ProNatura Noroeste, Sociedad de Historia Natural Niparajá, Comunidad y Biodiversidad, y muchas otras se convirtieron en actores clave para el apoyo a la investigación marina en el noroeste de México, con financiamiento de fundaciones y gobiernos, nacionales e internacionales.

Finalmente, en años recientes, los investigadores mexicanos aceleraron su producción a tal punto que la mayoría de la investigación marina publicada en la última década (2010–2019) en el noroeste de México ha sido escrita por mexicanos (Fig 1.), aunque los investigadores de instituciones estadounidenses aún producen alrededor del 40%. Estas tendencias y los intereses de investigación que históricamente han sido similares y compartidos entre académicos estadounidenses y mexicanos, presentan grandes oportunidades para continuar fomentando y fortaleciendo colaboraciones académicas transnacionales, un tema común durante el centenario del congreso de la WSN.

La naturaleza sinérgica de las colaboraciones científicas entre personas de diferentes países es un ideal que merece seguir fomentándose. Dentro de esta edición especial de la WSN, los 10 artículos publicados son una pequeña fracción de todo el trabajo colaborativo presentado y citado durante la reunión; no obstante, resaltan cómo la calidad de la investigación puede ser mejorada por estas colaboraciones tan diversas. La investigación de Bauer et al. (este número) integró perspectivas de investigadores mexicanos y estadounidenses y una cooperativa pesquera local para brindar información para los esfuerzos de acuicultura, manejo y conservación de una pesquería de gran valor, pero amenazada. Otras colaboraciones binacionales incluyen la de Thonlan et al. (este número), quienes describieron la ictiofauna de islas remotas y poco estudiadas en las aguas del Pacífico frente a México, y la de Velasco-Lozano et al. (este número), quienes analizaron comunidades de peces mesofóticas en el sur del golfo de California e identificaron refugios profundos para algunas

Bauer et al. (this issue) integrated wide perspectives from Mexican and USA researchers and a local fishing cooperative to inform aquaculture, management, and conservation of a valuable, endangered fishery. Other binational collaborations include Tholan et al. (this issue), who described the ichthyofauna of remote and rarely studied islands in Pacific waters off Mexico, and Velasco-Lozano et al. (this issue), who analyzed mesophotic fish communities in the southern Gulf of California and identified the reservoir of species found at these previously unknown depths that are in need of protection.

Other papers within this issue are also of key regional relevance. Lowe and Galloway (this issue) identified a greater depth range of red sea urchins than had previously been reported, information relevant to the management and future research of this important marine resource that distributes from Mexico to Canada. Vendetti (this issue) described the larval development of the Kellet's whelk, a large gastropod that is part of an emerging fishery in California and Baja California. Leonardi et al. (this issue) analyzed the morphological variation of coloblasts (specialized cells for predation) from 20 species of ctenophores, contributing to a better understanding of the functional diversity of pelagic species. Vargas-Peralta et al. (this issue) reported the complete genome of the halibut, *Paralichthys californicus*, improving the knowledge of a species that is distributed and exploited across the temperate northeastern Pacific. Hansen et al. (this issue) highlighted the strong negative impact of introduced red mangroves on endemic Hawaiian fish populations, supporting the need for eradication of the invasive mangroves. Payan-Alcacio et al. (this issue) described the functional fish diversity in arid mangrove habitats of the Gulf of California, highlighting this important yet fragile ecosystem. Dolinar et al. (this issue) quantified the effects of mooring disturbance on rhodolith community ecophysiology, a research with broad implication to management of this important ecosystem both in Mexico and the Northeast Pacific (highlighted Cabello-Pasini and Riosmena-Rodriguez 2007).

Transcending political borders and promoting collaborative work among nations is an important goal in the management and conservation of shared marine resources. Canada, the USA, and Mexico share marine resources and a long history of social, economic, cultural, and ecological interactions. In our dynamic and stochastic world, and particularly in a region as the Northeast Pacific, transboundary research is not only an important goal but also meets a definite research and management need. A transboundary, interdisciplinary, and collaborative approach to research projects fosters greater breadth and efficacy when tackling complicated issues that do not stop at political borders. The WSN intends to continue to support such essential communication and collaboration among a diverse array of scientists regardless of race, gender, religion, sexual orientation, disability, socioeconomic background, language, ability, age, and political perspective in order to shed light on the common ground of elucidating ecology, evolution, natural history, and marine biology.

especies, que nunca habían sido halladas a estas profundidades y necesitan protección.

Otros artículos dentro de esta edición son también de gran relevancia regional. Lowe y Galloway (este número) identificaron un nuevo máximo de profundidad para el erizo rojo, información que es relevante para el manejo y las investigaciones futuras de este importante recurso marino que se distribuye desde México hasta Canadá. Vendetti (este número) describieron el desarrollo larval del buccino de Kellet, un gasterópodo grande que es parte de una pesquería emergente en California y Baja California. Leonardi et al. (este número) analizaron la variación morfológica de los coloblastos (células especializadas para la depredación) de 20 especies de ctenóforos, lo cual contribuye a una mejor comprensión de la diversidad funcional de especies pelágicas. Vargas-Peralta et al. (este número) reportaron el genoma completo del lenguado californiano, *Paralichthys californicus*, lo cual mejora el conocimiento de una especie que se distribuye y explota a través del Pacífico Nororiental templado. Hansen et al. (este número) resaltaron el fuerte impacto negativo del mangle rojo, una especie introducida, en poblaciones endémicas de peces hawaianos, un trabajo que apoya la necesidad de erradicar estos mangles invasores. Payan-Alcacio et al. (este número) describieron la diversidad funcional de peces en manglares de zonas áridas en el golfo de California, algo que resalta la importancia y la fragilidad de estos ecosistemas. Dolinar et al. (este número) cuantificaron los efectos de la perturbación causada por anclajes en la ecofisiología de las comunidades de rodolitos, resultados con implicaciones para el manejo de este importante ecosistema tanto en México como en el Pacífico Nororiental (destacado en Cabello-Pasini y Riosmena-Rodriguez 2007).

Una meta importante en el manejo y la conservación de recursos marinos compartidos es el de trascender fronteras políticas y promover trabajos colaborativos entre naciones. Canadá, EUA y México comparten recursos marinos y una larga historia de interacciones sociales, económicas, culturales y ecológicas. En este mundo dinámico y estocástico, y particularmente en una región como el Pacífico Nororiental, la investigación transfronteriza no es tan sólo una meta importante, sino que satisface una necesidad concreta de manejo y de investigación. Un enfoque transfronterizo, interdisciplinario y colaborativo de los proyectos de investigación fomenta una mayor eficacia y amplitud de respuesta al enfrentar problemas complejos que no obedecen fronteras políticas. La WSN pretende continuar apoyando la comunicación y la colaboración entre científicos de diversas razas, géneros, religiones, orientaciones sexuales, capacidades diferentes, historiales socioeconómicos, lenguas, habilidades, edades y perspectivas políticas con el fin de destacar nuestro interés común de elucidar temas de ecología, evolución, historia natural y biología marina.

Agradecemos todo el apoyo recibido para llevar a cabo la reunión de la WSN en Ensenada en 2019 y para la realización de esta edición *Ciencias Marinas*. Estamos en deuda

We gratefully acknowledge the wide range of support received that led to both the 2019 WSN Ensenada meeting and this special issue of *Ciencias Marinas*. We are indebted to the support from the WSN, UABC students, faculty and administrators, Hotel Coral y Marina, invited speakers, and meeting attendees. This special issue of *Ciencias Marinas* was improved by the work of special issue section editors, reviewers, and authors. We would like to specially thank Lucía M Rodríguez and Sarah J Teck for their valuable comments. All of these contributions to the meeting and journal are an example of collaborative investigation and work.

con la dirección ejecutiva de la WSN por su apoyo, al igual que con los estudiantes, profesores y administradores de la UABC, el Hotel Coral y Marina, los ponentes invitados y los asistentes a la reunión. La calidad de este número especial de *Ciencias Marinas* es gracias al trabajo de los editores, revisores y autores. Nos gustaría agradecer especialmente a Lucía M Rodríguez y Sarah J Teck por sus valiosos comentarios. Todas estas contribuciones a la reunión y a la revista son un ejemplo de investigación y trabajo colaborativo.

Traducido al español por Lucía M Rodríguez.



Logo: ©

Julio Lorda, Rodrigo Beas-Luna
Organizers/Organizadores

Luis Malpica-Cruz, Héctor Reyes-Bonilla
WSN members/Miembros WSN

Brian N Tissot
WSN President in 2019

Diana Steller
Guest editor/Editora invitada

REFERENCES

- Caso ME. 1953. Estado actual de los conocimientos acerca de la fauna de los equinodermos de México. *Memoria Del Congreso Científico Mexicano*, Vol. 11. Mexico City: Universidad Nacional Autónoma de México. p. 209–222.
- Castro-Aguirre JL. 1965. Peces sierra, rayas, mantas y especies afines de México. *Anal Inst Nac Invest Biol Pesq.* 1:169–256.
- Cabello-Pasini A, Riosmena-Rodriguez R (editors). 2007. *Ciencias Marinas: II International Workshop on Rohodoliths*. *Cienc Mar.* 33(4):335–501.
- Clark HL. 1938. The Hancock Pacific Expeditions. *Sci Mon.* 47:511–518.
- Deichmann E. 1941. The Holothuroidea collected by the *Velero III* during the years 1932 to 1938. Part I, Dendrochirota. *Allan Hancock Pacific Exped.* 8:61–194.
- Del Barco M. 1988. *Historia Natural y Crónica de la Antigua California: adiciones y correcciones a la Noticia de Miguel Venegas*. 2nd ed. Mexico City: Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Investigaciones Históricas. 482 p.
- Durham JW, Barnard BL. 1952. Stony corals of the eastern Pacific collected by the *Velero III* and *Velero IV*. *Allan Hancock Pacific Exped.* 16:1–110.
- Hendrickx ME. 2012. Operaciones oceanográficas en aguas profundas: los retos del pasado, del presente y del proyecto TALUD en el Pacífico mexicano (1989-2009). In: Zamorano P, Hendrickx ME, Cas M (eds.), *Biodiversidad y Comunidades del Talud Continental del Pacífico Mexicano*. Mexico City: Instituto Nacional de Ecología. p. 23–104.
- Hubbs CL. 1960. The Marine Vertebrates of the Outer Coast. *Syst Biol.* 9(3–4):134–147.
<https://doi.org/10.2307/2411962>
- Jordan DS, Evermann BW. 1896. *The fishes of North and Middle America: a descriptive catalogue of the species of fish-like vertebrates found in the waters of North America, north of the Isthmus of Panama*. Washington (DC): US Government Printing Office. 1240 p.
- Martin del Campo D. 1987. *Los Mares de México: Crónicas de la Tercera Frontera*. Mexico City: Universidad Autónoma Metropolitana. 237 p.
- McClatchie S. 2014. Introduction to the Fisheries and the Surveys. In: McClatchie S (ed.), *Regional Fisheries Oceanography of the California Current System*. Dordrecht (Netherlands): The CalCOFI Program. Springer. p. 1–11.
- Rioja E. 1948. Estudios Anelidológicos. XVII. Contribución al conocimiento de los anélidos poliquetos de Baja California y Mar de Cortés. *Anal Inst Biol Univ Nac Autónoma México.* 18:197–224.
- Roden G. 1958. Oceanographic and meteorological aspects of the Gulf of California. *Pacific Sci.* 12:21–45.
- Sagarin RD, Gilly WF, Baxter CH, Burnett N, Christensen J. 2008. Remembering the Gulf: changes to the marine communities of the Sea of Cortez since the Steinbeck and Ricketts expedition of 1940. *Front Ecol Environ.* 6:372–379.
<https://doi.org/10.1890/070067>
- Scammon CM. 1874. *The Marine Mammals of the North-western Coast of North America, Described and Illustrated; Together with an Account of the American Whale-fishery*. San Francisco (CA): John H. Carmany and Co. 319 p.
- Steinbeck J, Ricketts E. 1941. *Sea of Cortez: A Leisurely Journal of Travel and Research*. New York (NY): The Viking Press. 288 p.
- Verrill AE. 1869. Notes on Radiata in the Museum of Yale College, Number 6: Review of the corals and polyps of the West Coast of America. *Trans Connect Acad Arts Sci.* 1:418–518.
<https://doi.org/10.5962/bhl.title.13387>

A brief history of international meetings of the Western Society of Naturalists

Una breve historia de las reuniones internacionales de la Western Society of Naturalists

Diana L Steller¹, Julio Lorda², Rodrigo Beas-Luna², Michael S Foster¹

¹ Moss Landing Marine Laboratories, San José State University.

² Universidad Autónoma de Baja California.

“The object of this society shall be the stimulation of general interest in the fields of biological science. The society shall be broad enough in scope and liberal enough in its organization to meet the needs of all naturalists.”

Western Society of Naturalists By-laws, 1916

Beginning in 1916, the Western Society of Naturalists (WSN) has had an annual meeting goal to be “the provision of opportunities for presentation and discussion of problems of common interest to biologists,” and it still attempts to “exercise an integrative function which cannot be performed by more specialized organizations.” Since the society’s inception, the meeting location has varied annually along the countries and states of western North America, namely the United States, Mexico, and Canada. Varying the meeting location increases attendance opportunities geographically among members. The society has historically encouraged international attendance leading to enhanced research collaborations and student exchanges.

In the United States, meetings have been held in 7 western states, with the majority (82%) of meeting locations being in California and Washington (Foster et al. 1999). There have been 2 meetings in Mexico and 3 in British Columbia, Canada, and 1 meeting, for the first time, held online in 2020. In 1996 the first Mexican meeting was held in La Paz, Baja California Sur, in collaboration with the Universidad Autónoma de Baja California Sur. It enhanced the cross-border exchange of ideas and both expanded ongoing and initiated new fruitful collaborations. These exchanges continued when the 2019 WSN meeting was held in Ensenada, Baja California, in collaboration with the Universidad Autónoma de Baja California from 31 October to 3 November, 2019. The impressive expansion of Mexican research by Mexican scientists was highlighted in the special plenary session by Hector Reyes Bonilla entitled “Marine research in northwest Mexico: past, present and future” and the wide variety of presentations. The need for ongoing international collaboration in marine research was emphasized in the presidential symposium presentations by Rodrigo Beas-Luna, “Oceans don’t have borders, science

“El objetivo de esta sociedad será la estimulación del interés general en las áreas de las ciencias biológicas. La sociedad será suficientemente amplia en su alcance y suficientemente liberal en su organización para satisfacer las necesidades de todo naturalista.”

Estatutos de la Western Society of Naturalists, 1916

Comenzando en 1916, la Western Society of Naturalists (WSN) ha tenido como meta para su reunión anual “la provisión de oportunidades para la presentación y discusión de problemas de interés común para biólogos” y todavía intenta “ejercitar una función integrativa que no puede ser llevada a cabo por organizaciones más especializadas.” Desde el comienzo de esta sociedad, el lugar de reunión ha variado anualmente a lo largo de los países y estados del oeste de Norteamérica, a saber Estados Unidos, México y Canadá. El variar el lugar de reunión aumenta las oportunidades geográficas de asistencia entre los miembros. La sociedad ha fomentado históricamente la asistencia internacional que lleve a investigaciones colaborativas e intercambios estudiantiles.

En Estados Unidos, se han celebrado reuniones en 7 estados del oeste y la mayoría de ellos (82%) han sido en California y Washington (Foster et al. 1999). Han habido 2 reuniones en México y 3 en British Columbia, Canadá, y una reunión, por primera vez, celebrada en línea en 2020. En 1996, la primera reunión mexicana se celebró en La Paz, Baja California Sur, en colaboración con la Universidad Autónoma de Baja California Sur. Esta reunión reforzó el intercambio transfronterizo de ideas, además de expandir previas e iniciar nuevas fructíferas colaboraciones. Estos intercambios continuaron cuando el congreso de la WSN en 2019 fue celebrado en Ensenada, Baja California, en colaboración con la Universidad Autónoma de Baja California del 31 octubre al 3 de noviembre de 2019. La impresionante expansión de la investigación en México por científicos mexicanos fue destacada en la sesión plenaria especial por Hector Reyes Bonilla titulada “Marine research in northwest Mexico: past, present and future” y la gran variedad de presentaciones. La necesidad de colaboraciones internacionales continuas en la investigación marina fue enfatizada en las presentaciones del simposio presidencial por Rodrigo Beas-Luna, “Oceans don’t have borders, science shouldn’t either”, y Sergio Navarrete,

shouldn't either," and Sergio Navarrete, "The importance of cultural diversity for sustainability and the successful development of inter-disciplinary studies." WSN is committed to spatially varying annual meeting locations, including periodically at international venues.

"No doubt the true and most important history of WSN occurs every year but is not recorded—the ideas stimulated and tested, collaborations formed, careers launched, and friendships made and revisited as a result of papers presented and the informal social interactions that follow. The Western Society of Naturalists continues its long tradition of stimulating interest in and understanding nature, and adjusting attitudes" (Foster et al 1999).

International locations of WSN meetings since 1916

1974: University of British Columbia, Vancouver & Simon Fraser University, Burnaby, British Columbia, Canada (President: G. Frank Gwilliam).

1983: Simon Fraser University, Burnaby, British Columbia, Canada (President: John Pearse).

1996: Universidad Autónoma de Baja California Sur, La Paz, Baja California Sur, Mexico (President: Gregor Cailliet).

2008: University of British Columbia, Vancouver, British Columbia, Canada (President: Kathy Ann Miller).

2019: Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, Baja California, Mexico (President: Brian Tissot).

REFERENCE

Foster MS, Hansen GI, Amrein YUL. 1999. History of the Western Society of Naturalists. Santa Barbara Museum of Natural History, Contributions in Science, No. 2. Goleta (CA): Wilson Printing. p. 42.

"The importance of cultural diversity for sustainability and the successful development of inter-disciplinary studies". La WSN está comprometida a variar espacialmente el lugar de reunión anual e incluir, periódicamente, localidades internacionales.

"Sin duda, la verdadera y más importante historia de la WSN ocurre cada año, pero no es registrada —la estimulación y pruebas de ideas, las colaboraciones formadas, el inicio de carreras y las amistades formadas y reencontradas como resultado de artículos presentados y las interacciones sociales informales que le siguen. La Western Society of Naturalists continúa su larga tradición de estimular el interés en y la comprensión de la naturaleza, y ajustando actitudes" (Foster et al 1999).

Ubicaciones internacionales de los congresos de la WSN desde 1916

1974: University of British Columbia, Vancouver y Simon Fraser University, Burnaby, Columbia Británica, Canadá (Presidente: G. Frank Gwilliam).

1983: Simon Fraser University, Burnaby, British Columbia, Canadá (Presidente: John Pearse).

1996: Universidad Autónoma de Baja California Sur, La Paz, Baja California Sur, México (Presidente: Gregor Cailliet).

2008: University of British Columbia, Vancouver, Columbia Británica, Canadá (Presidenta: Kathy Ann Miller).

2019: Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, Baja California, México (Presidente: Brian Tissot).

Traducido al español por Lucía Rodríguez.

Invasive mangroves produce unsuitable habitat for endemic goby and burrowing shrimp pairs in Kāneʻohe Bay, Oʻahu, Hawaiʻi

Los manglares invasores producen hábitats inadecuados para las parejas de góbidos endémicos y camarones excavadores en la bahía de Kāneʻohe, Oʻahu, Hawaiʻi

Mandy Hansen^{1*}, Karen D Crow¹, Margot V Buchbinder², Katharyn E Boyer²

¹ Department of Biology, San Francisco State University, 1600 Holloway Avenue, San Francisco, California 94132, USA

² Estuary & Ocean Science Center, San Francisco State University, 3150 Paradise Drive, Tiburon, California 94920, USA

* Corresponding author. E-mail: mhansen2@mail.sfsu.edu

ABSTRACT. Hawaiʻian ecosystems evolved in relative isolation and support an abundance of native and endemic species. As such, they are particularly vulnerable to introduced species that alter habitat and interfere with species interactions. Although mangroves are valued globally for shoreline protection and other services, their invasion of the Hawaiʻian islands may have negative effects on the abundance and functions of native species. On an island in Kāneʻohe Bay, Oʻahu, we explored the relationship between invasion of the red mangrove, *Rhizophora mangle*, and abundance of the native burrowing shrimp *Alpheus rapax*, which shares its burrows with the endemic goby *Psilogobius mainlandi* in a mutualism that reduces predation on both. We hypothesized that the abundance of shrimp/goby burrows is reduced beneath mangroves due to increased cover associated with mangrove prop roots, which trap leaves and debris and may harbor the invasive red alga *Gracilaria salicornia*. At 3 mangrove-invaded sites, we conducted a survey of burrow density and benthic debris and found ~4–5× lower burrow density and 4× greater cover of debris under the mangrove edge compared to sandflats that were 1.5 and 5.0 m away. Burrow density was negatively correlated with total cover of benthic debris and with subgroups of that cover composed of *G. salicornia* or leaves. We tested the effect of debris removal over 2 weeks, which resulted in 3–8× more burrows. Thus, we provide evidence that invasive red mangroves, through trapping leaves and promoting presence of invasive *G. salicornia* among their prop roots, have strong negative effects on shrimp/goby burrow density. Although our study was limited in spatial scope, we propose that current efforts to remove mangroves in Hawaiʻi, for both cultural and ecological reasons, will mitigate negative effects on endemic goby and native shrimp habitat.

Key words: mangrove, *Rhizophora mangle*, *Gracilaria salicornia*, invasive, Hawaiʻi.

RESUMEN. Los ecosistemas hawaianos evolucionaron en aislamiento relativo y sostienen una abundancia de especies nativas y endémicas. Como tal, son particularmente vulnerables a las especies introducidas que alteran el hábitat e interfieren con las interacciones entre especies. Aunque los manglares son valorados globalmente por la protección a la costa y otros servicios, su invasión de las islas hawaianas podría tener efectos negativos sobre la abundancia y las funciones de las especies nativas. En una isla en la bahía de Kāneʻohe, Oʻahu, exploramos la relación entre la invasión del mangle rojo, *Rhizophora mangle*, y la abundancia del camarón excavador nativo *Alpheus rapax*, que comparte sus madrigueras con el góbido endémico *Psilogobius mainlandi* en un mutualismo que reduce la depredación de ambos. Presumimos que la abundancia de madrigueras de camarones y góbidos disminuye debajo de los manglares debido a la mayor cobertura asociada con las raíces de los manglares, que atrapan las hojas y los escombros y pueden albergar al alga roja invasiva *Gracilaria salicornia*. En 3 sitios invadidos por manglares, realizamos un estudio de la densidad de madrigueras y los escombros bentónicos y encontramos ~ 4–5× menor densidad de madrigueras y 4× más cobertura de escombros debajo del borde del manglar en comparación con los fondos arenosos que estaban a 1.5 y 5.0 m de distancia. La densidad de madrigueras se correlacionó negativamente con la cobertura de escombros bentónicos total, así como con los subgrupos de esa cobertura compuestos por *G. salicornia* u hojas. Probamos el efecto de la remoción de escombros durante 2 semanas, lo que resultó en 3–8× más madrigueras. Por lo tanto, proporcionamos evidencia de que los manglares rojos invasores, al atrapar las hojas entre sus raíces fúlcreas y facilitar la presencia del alga invasiva *G. salicornia*, tienen fuertes efectos negativos en la densidad de madrigueras de camarones y góbidos. Aunque nuestro estudio tuvo un alcance espacial limitado, proponemos que los esfuerzos actuales para eliminar los manglares en Hawaiʻi, tanto por razones culturales como ecológicas, mitigarán los efectos negativos sobre el hábitat endémico del camarón y del góbido.

Palabras clave: manglar, *Rhizophora mangle*, *Gracilaria salicornia*, invasivo, Hawaiʻi.

INTRODUCTION

Human-mediated introduction of species to new geographic locations is an unprecedented and unique form of

INTRODUCCIÓN

La introducción de especies en nuevas zonas geográficas mediada por humanos es una forma de cambio global

global change (Ricciardi 2007). For the majority of these introductions, impacts have not been quantified, challenging our understanding of the consequences of invasion and complicating management decisions (Blackburn et al. 2014, Jeschke et al. 2014). However, some generalizations have emerged over several decades of synthesis, including that introduced species performing a novel function within the invaded locale often produce the greatest impacts (Parker et al. 1999, Simberloff 2011). This is because the distinctiveness of the invader's traits leads to novel resource use or changes in habitat structure that fundamentally change the invaded system (reviewed by Kumschick et al. 2015). For example, plants that colonize intertidal mud or sandflats are a category of invasive species that are considered "transformers," i.e., the ~10% of invading plant taxa that have clear ecosystem impacts through wholesale changes to the character, condition, form or nature of ecosystems over substantial areas (Richardson et al. 2000).

The Hawai'ian islands are among the world's marine invasion hotspots, with a high proportion of harmful invaders (Molnar et al. 2008), including a sandflat "transformer", the red mangrove, *Rhizophora mangle*. This mangrove species was introduced from Florida to Hawai'i in 1902 to help stabilize shorelines around the island of Moloka'i. Since their introduction, mangroves have spread rapidly, colonizing vast areas across the archipelago (Chimner et al. 2006) and causing habitat loss for native birds including the Hawai'ian duck (*Anas wyvilliana*), Hawai'ian coot (*Fulica alai*), Hawai'ian stilt (*Himantopus mexicanus knudseni*), and common moorhen (*Gallinula chloropus sandvicensis*), which find the mangroves unsuitable for foraging and nesting (Allen 1998). Instead, Hawai'ian mangroves provide habitat for invasive species such as the cattle egret (*Bubulcus ibis*), which feeds on the chicks of native birds (Allen 1998). In general, Hawai'ian mangroves appear to be underutilized ecologically (Walsh 1967); for example, Hawai'ian sediment invertebrates do not consume mangrove detritus as in the mangrove's native range, likely because they have not evolved to consume the tannin-rich leaves, which are unpalatable and/or toxic to some species (Demopoulos et al. 2007). However, these mangroves have created novel habitat through increased detritus deposition (exceptionally high in Hawai'i) (Allen 1998, Cox and Allen 1999) and accumulation of finer sediments and organic matter, shifting the community to subsurface deposit feeders not found on nearby sandflats (Demopoulos and Smith 2010). Further, introduced shrimp, fish, and crabs have all been identified within this new habitat (Nakahara 2007), and the mangrove's prop roots support at least 6 species of introduced barnacles and sponges (Demopoulos and Smith 2010). These mangrove prop roots may also provide a substratum on which the red alga *Gracilaria salicornia* can attach and grow or may trap drifting mats (authors' personal observations). *Gracilaria salicornia* was introduced to the state sometime before 1946 and collected from the island of Hawai'i for

única y sin precedentes (Ricciardi 2007). Para la mayoría de estas introducciones, los impactos no han sido cuantificados, lo que obstaculiza nuestra comprensión de las consecuencias de la invasión y complica las decisiones de gestión (Blackburn et al. 2014, Jeschke et al. 2014). Sin embargo, han surgido algunas generalizaciones a lo largo de varias décadas de síntesis, incluso que las especies introducidas que desempeñan una nueva función dentro del sitio invadido suelen producir los mayores impactos (Parker et al. 1999, Simberloff 2011). Esto se debe a que las particularidades distintivas de las características del invasor conducen a un uso novedoso de los recursos o a cambios en la estructura del hábitat que modifican fundamentalmente el sistema invadido (revisado por Kumschick et al. 2015). Por ejemplo, las plantas que colonizan el lodo intermareal o las planicies arenosas son una categoría de especies invasoras que se consideran "transformadoras", i.e., el ~10% de los taxones de plantas invasoras que tienen impactos claros en el ecosistema a través de cambios drásticos en el carácter, la condición, la forma o la naturaleza de los ecosistemas en áreas sustanciales (Richardson et al. 2000).

Las islas hawaianas se encuentran entre los puntos críticos de invasiones marinas del mundo, con una alta proporción de invasores dañinos (Molnar et al. 2008), incluido un "transformador" de planicies arenosas, el mangle rojo, *Rhizophora mangle*. Esta especie de manglar se introdujo desde Florida a Hawai'i en 1902 para ayudar a estabilizar las costas alrededor de la isla de Moloka'i. Desde su introducción, los manglares se han extendido rápidamente y, desde entonces, han colonizado vastas áreas en todo el archipiélago (Chimner et al. 2006) y causado la pérdida del hábitat de aves nativas, como el pato de Hawai'i (*Anas wyvilliana*), la focha hawaiana (*Fulica alai*), la monjita americana (*Himantopus mexicanus knudseni*) y la gallineta común (*Gallinula chloropus sandvicensis*), las cuales son incapaces de utilizar los manglares para alimentarse o para anidar (Allen 1998). En cambio, los manglares hawaianos proporcionan hábitat para especies invasoras como la garza ganadera (*Bubulcus ibis*), que se alimenta de los polluelos de aves nativas (Allen 1998). En general, los manglares hawaianos parecen estar infrautilizados ecológicamente (Walsh 1967); por ejemplo, los invertebrados sedimentarios hawaianos no consumen los detritos de los manglares como en el área de distribución nativa del manglar, probablemente porque no han evolucionado para consumir las hojas ricas en taninos, las cuales son desagradables y/o tóxicas para algunas especies (Demopoulos et al. 2007). Sin embargo, estos manglares han creado un hábitat nuevo al aumentar la deposición de detritos (excepcionalmente alta en Hawai'i) (Allen 1998, Cox y Allen 1999) y la acumulación de sedimentos más finos y materia orgánica, lo cual ha cambiado la comunidad a detritívoros subsuperficiales que no habitan en las planicies arenosas cercanas (Demopoulos y Smith 2010). Además, se han identificado camarones, peces y cangrejos introducidos dentro de este nuevo hábitat (Nakahara 2007), y las raíces

use in aquaculture on O'ahu and subsequently on Moloka'I (Smith et al. 2002, Smith et al. 2004). This alga can form mats up to 2 m across (Larned 1998), affecting the food web through its relative unpalatability and habitat degradation for reef fishes and corals (Smith et al. 2004, Williams and Smith 2007). Red mangroves were introduced to the island of O'ahu circa 1922 (Chimner et al. 2006) and the shores of Kāne'ohē Bay support some of the largest mangrove stands (Devaney et al. 1982).

The red mangrove stands interrupt shallow sandflats that are home to the endemic Hawai'ian shrimp goby *Psilogobius mainlandi*, which co-occurs in burrows with the native snapping shrimp *Alpheus rapax* (Langston and Spalding 2017). Other mutualistic shrimp/goby pairs are abundant throughout the Pacific, but *P. mainlandi* is the only shrimp-associated goby that occurs in Hawai'i (Karplus and Thompson 2011). In this obligate mutualistic relationship (Karplus and Thompson 2011, Lyons 2013), the shrimp excavates a burrow and, because of its poor eyesight (Zeng and Jaafar 2012), relies on the goby to act as a lookout. The fish alerts the shrimp to potential predators with a flick of its tail, triggering both to retreat into the burrow (Hoover 2016). Small, cryptobenthic fishes, including gobies, comprise up to 60% of the consumed biomass in and around coral reefs, making these fishes a cornerstone of ecosystem functioning. Therefore, we expect factors affecting the abundance and distribution of the native shrimp/goby pairs in Hawai'i to likely have ripple effects through multiple trophic levels. However, to our knowledge the effects of red mangrove invasion on these species has not been examined.

We propose that mangroves invading Hawai'ian shorelines reduce habitat for the sandflat dwelling native shrimp and goby pairs. In places where *G. salicornia* has invaded, it may also contribute cover that interferes with shrimp/goby burrowing; this alga can grow either attached to substrata, in dense mats without anchorage points near the shore, or as loose thalli that dislodge and become trapped in depressions (Nelson et al. 2009). The potential for mangroves to trap and promote growth of *G. salicornia* is a concern for nearby coral reefs as well, as spread of this alga can lead to smothering and killing of coral (Smith et al. 2004).

We conducted a field survey to estimate density of shrimp/goby burrows, percent cover of benthic debris, and composition of this debris along mangrove-invaded shores of a small island in Kāne'ohē Bay, O'ahu. Specifically, we hypothesized that shrimp/goby burrows are less abundant under mangroves than on nearby sandflats, and that burrow densities increase with distance from the mangrove edge. We predicted that burrow density would be negatively correlated with benthic cover, including *G. salicornia* and accumulated leaves. We also conducted a benthic debris removal experiment to evaluate whether numbers of shrimp/goby burrows quickly increase after debris removal; if so, this would suggest that accumulation of debris (perhaps including invasive

aéreas del manglar sustentan al menos 6 especies de percebes y esponjas introducidas (Demopoulos y Smith 2010). Estas raíces aéreas de manglar también pueden proporcionar un sustrato sobre el cual el alga roja *Gracilaria salicornia* puede adherirse y crecer o el cual puede atrapar mantos a la deriva (observaciones personales de los autores). *Gracilaria salicornia* se introdujo en el estado en algún momento antes de 1946 y se recolectó en la isla de Hawai'i para su uso en acuicultura en O'ahu y posteriormente en Moloka'I (Smith et al. 2002, Smith et al. 2004). Esta alga puede formar mantos de hasta 2 m de ancho (Larned 1998), lo que afecta la red alimentaria debido a su relativa falta de palatabilidad y la degradación del hábitat de los peces de arrecife y los corales (Smith et al. 2004, Williams y Smith 2007). Los manglares rojos se introdujeron en la isla de O'ahu circa 1922 (Chimner et al. 2006), y las costas de la bahía de Kāne'ohē sustentan algunas de las rodales de manglares más grandes (Devaney et al. 1982).

Los rodales de mangle rojo interrumpen las planicies arenosas poco profundas que son el hogar del góbido camarero endémico de Hawai'i *Psilogobius mainlandi*, que coexiste en madrigueras con el camarón pistola nativo *Alpheus rapax* (Langston y Spalding 2017). Otras parejas mutualistas de camarón/góbido abundan en todo el Pacífico, pero *P. mainlandi* es el único góbido asociado a camarones presente en Hawai'i (Karplus y Thompson 2011). En esta relación de mutualismo obligado (Karplus y Thompson 2011, Lyons 2013), el camarón excava una madriguera y, debido a su visión deficiente (Zeng y Jaafar 2012), depende del góbido para que actúe como vigía. El pez alerta al camarón sobre posibles depredadores con un golpe ligero de su cola, lo que provoca que ambos se retraigan a la madriguera (Hoover 2016). Los pequeños peces criptobentónicos, incluidos los góbidos, comprenden hasta el 60% de la biomasa consumida en los arrecifes de coral y sus alrededores, lo que los convierte en una piedra angular para el funcionamiento del ecosistema. Por lo tanto, esperamos que los factores que afectan la abundancia y la distribución de las parejas nativas de camarón/góbido en Hawai'i probablemente desencadenen efectos a través de múltiples niveles tróficos. Sin embargo, hasta donde sabemos, no se han examinado los efectos de la invasión del mangle rojo en estas especies.

Proponemos que los manglares que invaden las costas de Hawai'i reducen el hábitat para las parejas nativas de camarones y góbidos que habitan en las planicies arenosas. En los lugares que ha invadido, *G. salicornia* también puede crear una cobertura que interfiere con la construcción de las madrigueras de camarones/góbidos; esta alga puede crecer ya sea adherida a sustratos, en densos mantos sin puntos de anclaje cerca de la costa, o como talos sueltos que se desprenden y quedan atrapados en depresiones (Nelson et al. 2009). El potencial de los manglares para atrapar y promover el crecimiento de *G. salicornia* también es una preocupación para los arrecifes de coral cercanos, ya que la propagación de

G. salicornia) is a primary mechanism for reduced shrimp/goby burrowing along the mangrove edge.

MATERIALS AND METHODS

Survey of burrow density and benthic cover with distance from the mangroves

We chose 3 study sites where mangroves were abundant next to sandy shrimp/goby habitat along the shores of Moku o Lo'e, at the Hawai'i Institute of Marine Biology (Fig. 1). Sites 1 and 2 were located in shallow lagoons with little to no coral nearby, while site 3 was located near a deeper lagoon with scattered coral heads in close proximity. A 25-m transect tape was placed along the mangroves and the number of shrimp/goby burrows was counted every 5 m within a 0.25-m² quadrat that extended into the mangroves from the prop root edge. The quadrat could be opened in order to place it around prop roots when encountered. These burrow counts were repeated along 2 parallel transects on the adjacent sandflats at 1.5 m and 5.0 m from the mangrove edge. Within each quadrat, we first used the point-intercept method at 9 points to estimate percent benthic cover (following Karl et al. (2016), then gently lifted the debris to count burrows underneath. The types of cover evaluated were leaves, coral rubble, *G. salicornia*, no benthic debris (bare sand), or, rarely, "other cover". We also counted the prop roots within each quadrat under the mangroves. As our presence sometimes led to retreat of shrimp/goby pairs into their burrows, we counted all the burrows whether or not we saw the shrimp and gobies.

Analyses were conducted in R v.3.6.3 (R Core Team 2020). Generalized linear models were used to evaluate the effects of site and distance from mangrove edge on measured variables. Burrow density was analyzed using a Poisson distribution, while percent cover metrics were logit-transformed to achieve homogeneity of variances and analyzed with a Gaussian distribution. Tukey tests were used to evaluate significant main effects using the multcomp package (Hothorn et al. 2008). We also evaluated the relationship between total percent cover of benthic debris (logit transformation) and burrow density ($\log_{10} + 1$) using a linear regression. The relationship of burrow density to both *G. salicornia* and leaf cover were evaluated separately using linear regressions with logit transformations of cover data.

Debris removal experiment

In order to determine if cover of benthic debris is a factor that affects the distribution of shrimp/goby burrows, we manipulated debris beneath the mangrove edge. After initially evaluating burrow density and percent cover of all material, we removed the loose or attached debris (primarily leaves and algae) within a 0.25-m quadrat at 3 of the plots along the transects (0, 10, and 20 m) at all 3 sites. Additional material that accumulated in the plots was cleared every other day for

esta alga puede provocar la asfixia y la muerte de los corales (Smith et al. 2004).

Realizamos un muestreo de campo para estimar la densidad de las madrigueras de camarones/góbidos, el porcentaje de cobertura de escombros bentónicos y la composición de estos escombros a lo largo de las costas invadidas por manglares de una pequeña isla en la bahía de Kāne'ohe, O'ahu. Específicamente, planteamos la hipótesis de que las madrigueras de camarones/góbidos son menos abundantes debajo de los manglares que en las planicies arenosas cercanas, y que la densidad de las madrigueras aumenta con la distancia al borde del manglar. Predijimos que la densidad de las madrigueras se correlacionaría negativamente con la cobertura bentónica, incluida *G. salicornia* y hojas acumuladas. También realizamos un experimento de eliminación de escombros bentónicos para evaluar si el número de madrigueras de camarones/góbidos aumenta rápidamente después de la eliminación de escombros; de ser así, esto sugeriría que la acumulación de escombros (quizás con la especie invasora *G. salicornia*) es un mecanismo principal que reduce el establecimiento de madrigueras de camarones/góbidos a lo largo del borde del manglar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo de la densidad de madrigueras y la cobertura bentónica con respecto a la distancia de los manglares

Elegimos 3 sitios de estudio donde abundaban los manglares junto al hábitat arenoso de los camarones/góbidos a lo largo de las costas de Moku o Lo'e, en el Instituto de Biología Marina de Hawai'i (Fig. 1). Los sitios 1 y 2 estaban ubicados en lagunas someras con poco o ningún coral cerca, mientras que el sitio 3 estaba ubicado cerca de una laguna más profunda con cabezas de coral dispersas en las proximidades. Se colocó una cinta de transecto de 25 m a lo largo de los manglares y, cada 5 m, se contó el número de madrigueras de camarones/góbidos que había dentro de un cuadrante de 0.25 m² que se extendía hacia el interior de los manglares desde el borde de las raíces aéreas. El cuadrante se podía abrir para colocarlo alrededor de las raíces aéreas cuando se atravesaban. Estos conteos de madrigueras se repitieron en las planicies arenosas adyacentes a lo largo de 2 transectos paralelos a 1.5 y 5.0 m del borde del manglar. Dentro de cada cuadrante, primero usamos el método de puntos de intercepción en 9 puntos para estimar el porcentaje de cobertura bentónica siguiendo a Karl et al. (2016); posteriormente, levantamos suavemente los escombros para contar las madrigueras debajo. Los tipos de cobertura evaluados fueron hojas, escombros de coral, *G. salicornia*, sin restos bentónicos (arena sin vegetación) o, raras veces, "otra cobertura". También contamos las raíces aéreas dentro de cada cuadrante debajo de los manglares. Como nuestra presencia algunas veces provocó que las parejas de camarones/góbidos se retrajeran a sus madrigueras,

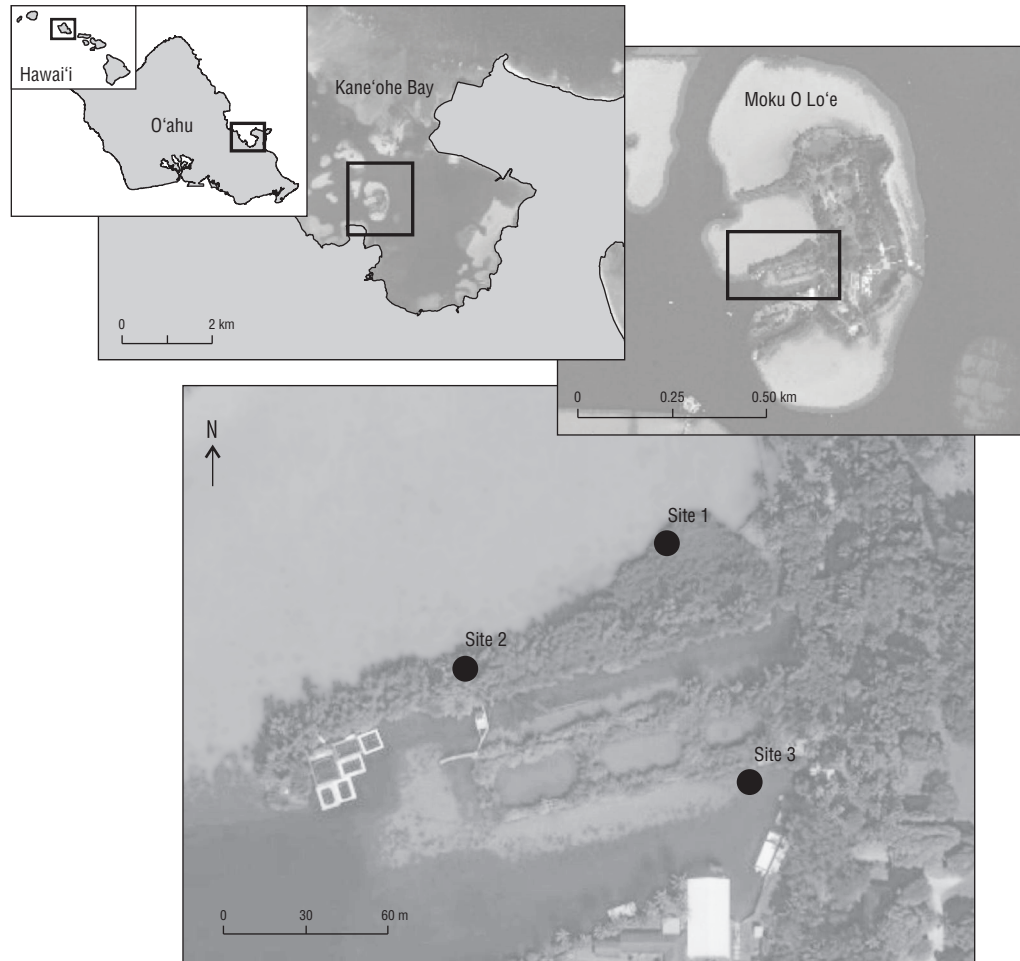


Figure 1. Map of study locations at the Hawai'i Institute of Marine Biology on Moku O Lo'e, Kāne'ohe Bay, O'ahu, Hawai'i, USA. Site 1: 21°26'01.2" N, 157°47'20.9" W; site 2: 21°25'59.7" N, 157°47'23.4" W; and site 3: 21°25'58.4" N, 157°47'20.1" W.

Figura 1. Mapa de los sitios de estudio en el Instituto de Biología Marina de Hawai'i en Moku O Lo'e, bahía de Kāne'ohe, O'ahu, Hawai'i, EUA. Sitio 1: 21°26'01.2" N, 157°47'20.9" W; sitio 2: 21°25'59.7" N, 157°47'23.4" W y sitio 3: 21°25'58.4" N, 157°47'20.1" W.

a 2-week period. After 2 weeks of maintaining cleared plots, burrow density was re-assessed. We evaluated the effects of time (before and after debris removal) and site as fixed factors and their interaction using a generalized linear model with a Poisson distribution.

RESULTS

Distance from mangroves is associated with lower cover of debris and higher burrow density

We found $\sim 4\text{--}5\times$ lower densities of shrimp/goby burrows under the mangrove edge compared to either distance away on the adjacent sandflat (Fig. 2, Table 1; Tukey tests $P < 0.0001$ for both sandflat distances). There were 11.6 burrows $\cdot\text{m}^{-2}$ under the mangrove edge, compared to the 52.7 and 64.7 burrows $\cdot\text{m}^{-2}$ at 1.5 and 5.0 m from the mangroves, respectively (Fig. 2); these sandflat burrow densities were somewhat different from each other (Tukey test, $P =$

contamos todas las madrigueras, se observaron o no camarones y góbidos.

Los análisis se realizaron en R v.3.6.3 (R Core Team 2020). Se utilizaron modelos lineales generalizados para evaluar los efectos del sitio y la distancia al borde del manglar sobre las variables medidas. La densidad de madrigueras se analizó utilizando una distribución de Poisson, mientras que para las métricas de cobertura porcentual se realizó una transformación logit para lograr la homogeneidad de las varianzas y se analizaron con una distribución gaussiana. Se utilizaron pruebas de Tukey para evaluar los efectos principales significativos utilizando el paquete multcomp (Hothorn et al. 2008). También evaluamos la relación entre el porcentaje total de cobertura de detritos bentónicos (transformación logit) y la densidad de madrigueras ($\log_{10} + 1$) mediante una regresión lineal. La relación de la densidad de madrigueras con la cobertura de *G. salicornia* y la cobertura de hojas se evaluó por separado usando regresiones lineales con transformaciones logit de los datos de cobertura.

0.047). There was also a difference in burrow densities by site, with site 1 having greater densities than site 3 (Tukey test, $P = 0.0238$) and site 2 having intermediate densities. The pattern of increasing burrow density with distance from the mangrove was consistent across sites (no interaction, Table 1).

Benthic debris cover consisted primarily of fallen leaves, *G. salicornia*, or rubble (coral skeletons or rock). Of all benthic debris cover observations, 48% were fallen mangrove leaves; therefore, benthic debris cover under the mangroves and in nearby sandflats was largely associated with mangroves *per se*. In addition, *G. salicornia* composed 28.7% of the total debris cover, while coral rubble and “other” cover made up 21.3% and 0.1% of the debris cover observations, respectively. Prop root density was variable and ranged from a mean of 12.7 roots·m⁻² (SD = 8.5) at site 2 to 16.7 roots·m⁻² (SD = 10.3) at site 1 to 27.3 roots·m⁻² (SD = 19.2) at Site 3.

Total percent cover of benthic debris, which could exceed 100% if cover types were layered, was ~4× higher under the mangrove edge compared to that on sandflats at 1.5 m and 5.0 m away (Fig. 3; Tukey tests, $P < 0.0001$ for both distances). Benthic debris cover reached 66% under the mangrove edge (75% total cover with layering) and was composed of leaves, algae, and other debris. The adjacent sandflats exhibited significantly less cover of debris, with

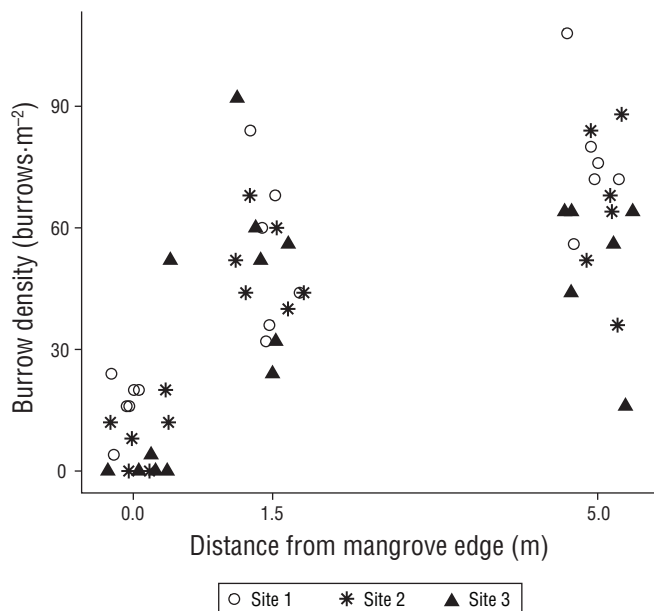


Figure 2. Burrow counts per square meter with distance (0, 1.5 and 5.0 m) from the mangrove edge at the 3 study sites. Points were jittered at each discrete distance to improve visibility.

Figura 2. Conteo de madrigueras por metro cuadrado de acuerdo con la distancia (0, 1.5 y 5.0 m) del borde del manglar en los 3 sitios de estudio. Se les añadió un desplazamiento a los puntos en cada distancia discreta para mejorar la visibilidad.

Experimento de eliminación de escombros

Para determinar si la cobertura de escombros bentónicos es un factor que afecta la distribución de las madrigueras de camarones/góbidos, manipulamos los escombros debajo del borde del manglar. Después de la evaluación inicial de la densidad de las madrigueras y el porcentaje de cobertura de todo el material, retiramos los escombros sueltos o adheridos (principalmente hojas y algas) dentro de un cuadrante de 0.25 m² en 3 parcelas a lo largo de los transectos (0, 10 y 20 m) en los 3 sitios. El material adicional que se acumuló en las parcelas se limpió cada 2 días durante un periodo de 2 semanas. Después de 2 semanas de mantener las parcelas despejadas, se volvió a evaluar la densidad de las madrigueras. Evaluamos los efectos del tiempo (antes y después de la eliminación de escombros) y el sitio como factores fijos y su interacción utilizando un modelo lineal generalizado con una distribución de Poisson.

RESULTADOS

La distancia a los manglares está asociada con una menor cobertura de escombros y una mayor densidad de madrigueras

Encontramos densidades de madrigueras de camarones/góbidos ~4–5× más bajas debajo del borde del manglar en comparación con las densidades en cualquiera de las 2 distancias en la planicie arenosa adyacente (Fig. 2, Tabla 1; prueba de Tukey $P < 0.0001$ para ambas distancias en la planicie arenosa). Se encontraron 11.6 madrigueras·m⁻² debajo del borde del manglar, en comparación con las 52.7 y 64.7 madrigueras·m⁻² a 1.5 y 5.0 m de los manglares, respectivamente (Fig. 2); estas densidades de madrigueras en la planicie arenosa difirieron algo entre sí (prueba de Tukey, $P = 0.047$). También hubo una diferencia en las densidades de las madrigueras por sitio: el sitio 1 tuvo mayores densidades que el sitio 3 (prueba de Tukey, $P = 0.0238$) y el sitio 2 presentó densidades intermedias. El patrón del incremento de la densidad de madrigueras con el aumento de la distancia al manglar fue consistente en todos los sitios (sin interacción, Tabla 1).

La cubierta de escombros bentónicos consistió principalmente en hojas caídas, *G. salicornia* o detritos (esqueletos de coral o rocas). De todas las observaciones de la cobertura de escombros bentónicos, el 48% fueron hojas de manglar caídas; por lo tanto, la cobertura de escombros bentónicos debajo de los manglares y en las planicies arenosas cercanas se asoció en gran medida con los manglares *per se*. Además, *G. salicornia* representó el 28.7% de la cobertura total de escombros, mientras que los detritos de coral y la “otra” cobertura constituyeron el 21.3% y el 0.1% de las observaciones de cobertura de escombros, respectivamente. La densidad de raíces aéreas fue variable y osciló entre una media de 12.7 raíces·m⁻² (desviación estándar [DE] = 8.5) en

Table 1. Results of generalized linear models, with model used and transformations (if needed) indicated in parentheses.**Tabla 1.** Resultados de los modelos lineales generalizados, con el modelo utilizado y las transformaciones (si fue necesaria) indicadas entre paréntesis.

(a) Burrow density with distance from mangrove and site (generalized linear model with Poisson distribution)				
	d.f.	Residual d.f.	Deviance	<i>P</i>
Distance	2	51	197.94	<0.0001
Site	2	49	7.14	0.0282
Distance × Site	4	45	5.74	0.2175
(b) Total percent cover (log+1) with distance from mangrove and site (generalized linear model with Poisson distribution)				
	d.f.	Residual d.f.	<i>F</i>	<i>P</i>
Distance	2	51	24.81	<0.0001
Site	2	49	10.61	0.0002
Distance × Site	4	45	1.04	0.3994
(c) <i>Gracilaria salicornia</i> percent cover (logit) with distance from mangrove and site (generalized linear model with Gaussian distribution)				
	d.f.	Residual d.f.	<i>F</i>	<i>P</i>
Distance	2	51	9.10	0.0005
Site	2	49	0.25	0.7797
Distance × Site	4	45	2.50	0.0556
(d) Leaf percent cover (logit) with distance from mangrove and site (generalized linear model with Gaussian distribution)				
	d.f.	Residual d.f.	<i>F</i>	<i>P</i>
Distance	2	51	9.10	0.0005
Site	2	49	0.25	0.7797
Distance × Site	4	45	2.50	0.0556
(e) Effect of debris removal at 3 sites on burrow density (generalized linear model with Poisson distribution)				
	d.f.	Residual d.f.	Deviance	<i>P</i>
Time	1	16	49.24	<0.0001
Site	2	14	32.26	<0.0001
Time × Site	2	12	7.09	0.0289

19% and 13% at 1.5 m and 5.0 m from the mangrove edge, respectively (and no difference between 1.5 m and 5.0 m; Tukey test, $P = 0.312$). There was also a significant difference in total cover of benthic debris by site (Table 1); site 3 had greater total debris cover than sites 1 and 2 (Tukey test, $P < 0.02$ for both), which were not different from each other (Tukey test, $P = 0.9899$). There was no interaction between distance from the mangroves and site (Table 1).

el sitio 2 a 16.7 raíces·m⁻² (DE = 10.3) en el sitio 1 y hasta 27.3 raíces·m⁻² (DE = 19.2) en el Sitio 3.

El porcentaje total de cobertura de escombros bentónicos, que podría exceder el 100% si los tipos de cobertura estuvieran estratificados, fue ~4× mayor por debajo del borde del manglar en comparación con las planicies arenosas que se encontraban a 1.5 y 5.0 m de distancia (Fig. 3; pruebas de Tukey, $P < 0.0001$ para ambas distancias). La cobertura

Because *G. salicornia* is invasive in Hawai'i, and the only alga we encountered under or near the mangroves, we compared algal cover separately. We found significantly (~4×) less algal cover at both distances from the mangroves than under the mangrove edge (Fig. 3, Table 1; Tukey tests, $P < 0.003$ for both), with the 2 sandflat locations not different from each other (Tukey test, $P = 0.9586$). Algal cover was 20% under the mangrove edge and 5.5% and 4.9% at 1.5 and 5.0 m away, respectively. There was no difference in cover of the alga by site and no interaction between distance from mangrove and site (Table 1).

On average, the cover of fallen leaves dropped markedly with distance from the mangrove edge (32.7% vs 6.2% and 3.1% at 1.5 and 5.0 m away, respectively); however, this was largely due to very high cover of leaves at site 3 (Fig. 3; Table 1, significant interaction between distance and site). Leaf cover was approximately the same at the 2 sandflat distances at all sites (Fig. 3).

Evaluating burrow density and total percent cover in all surveyed quadrats, we found a significant negative relationship between burrow density and total benthic debris cover (Fig. 4; adjusted $R^2 = 0.53$, $P < 0.0001$). Burrow density also decreased with increasing *G. salicornia* cover (Fig. 3; adjusted $R^2 = 0.22$, $P < 0.0002$) and leaf cover (Fig. 3; adjusted $R^2 = 0.58$, $P < 0.0001$) when those cover classes were evaluated separately.

Removal of benthic debris resulted in increased shrimp/goby burrow density

Removal of loose and attached debris (primarily leaves and algae), maintained over 2 weeks, substantially increased the number of shrimp/goby burrows under the mangrove edge. The average burrow density across sites was 8.44 per square meter before removal and 39.6 per square meter after removal. However, burrow density increased more dramatically at site 2 (8-fold) than at the other sites (3-fold), explaining the interaction between time (before and after debris removal) and site (Fig. 5, Table 1).

DISCUSSION

We hypothesized that invasive red mangroves (*R. mangle*) in Hawai'i create inhospitable conditions for sandflat-dwelling obligate pairs of an endemic goby (*P. mainlandi*) and native shrimp (*A. rapax*). Our field survey at 3 sites along an island in Kāne'ohe Bay, O'ahu, documented that shrimp/goby burrow density was at least 4× lower under the mangrove edge compared to nearby sandflats, which had 4× less benthic debris. Further, our experiment testing the effects of debris removal under mangroves resulted in large increases in burrow densities after just 2 weeks, indicating that this debris reduces habitat suitability for the native shrimp and goby pairs.

The benthic debris along the mangroves was largely composed of fallen and trapped leaves, which accounted for 58%

de escombros bentónicos alcanzó el 66% debajo del borde del manglar (75% de cobertura total con capas) y estaba compuesta por hojas, algas y otros escombros. Las planicies arenosas adyacentes presentaron una cobertura de escombros significativamente menor, con 19% y 13% a 1.5 y 5.0 m del borde del manglar, respectivamente (sin diferencias entre 1.5 y 5.0 m; prueba de Tukey, $P = 0.312$). También hubo una diferencia significativa en la cobertura total de detritos bentónicos por sitio (Tabla 1); el sitio 3 presentó una mayor cobertura total de escombros que los sitios 1 y 2 (prueba de Tukey, $P < 0.02$ para ambos), los cuales no difirieron entre sí (prueba de Tukey, $P = 0.9899$). No hubo interacción entre la distancia a los manglares y el sitio (Tabla 1).

Debido a que *G. salicornia* es invasora en Hawai'i, y que fue la única alga que encontramos debajo o cerca de los manglares, comparamos la cobertura de algas por separado. Encontramos que la cobertura de algas era significativamente (~4×) menor en ambas distancias del manglar que debajo del borde del manglar (Fig. 3, Tabla 1; pruebas de Tukey, $P < 0.003$ para ambos), sin diferencias entre los 2 sitios de planicies arenosas (Prueba de Tukey, $P = 0.9586$). La cobertura de algas fue 20% bajo el borde del manglar y 5.5% y 4.9% a 1.5 y 5.0 m de distancia, respectivamente. No hubo diferencia en la cobertura del alga por sitio y no hubo interacción entre la distancia al manglar y el sitio (Tabla 1).

En promedio, la cobertura de hojas caídas se redujo notablemente con la distancia al borde del manglar (32.7% vs 6.2% y 3.1% a 1.5 y 5.0 m de distancia, respectivamente); sin embargo, esto se debió en gran parte a la cobertura de hojas en el sitio 3, que fue muy alta (Fig. 3; Tabla 1, interacción significativa entre la distancia y el sitio). La cobertura de las hojas fue aproximadamente la misma a las 2 distancias sobre las planicies arenosas en todos los sitios (Fig. 3).

Al evaluar la densidad de madrigueras y el porcentaje de cobertura total en todos los cuadrantes muestreados, encontramos una relación negativa significativa entre la densidad de madrigueras y la cobertura total de escombros bentónicos (Fig. 4; R^2 ajustado = 0.53, $P < 0.0001$). La densidad de madrigueras también disminuyó conforme aumentó la cobertura de *G. salicornia* (Fig. 3; R^2 ajustado = 0.22, $P < 0.0002$) y la cobertura de hojas (Fig. 3; R^2 ajustado = 0.58, $P < 0.0001$) cuando esas clases de cobertura se evaluaron por separado.

La eliminación de desechos bentónicos dio como resultado una mayor densidad de madrigueras de camarones/góbidos

La eliminación de escombros sueltos y adheridos (principalmente hojas y algas), que se realizó de manera continua por 2 semanas, incrementó sustancialmente el número de madrigueras de camarones/góbidos debajo del borde del manglar. La densidad promedio de madrigueras en todos los sitios fue de 8.44 por metro cuadrado antes de la eliminación y de 39.6 por metro cuadrado después de la eliminación. Sin

of the variation in shrimp/goby burrowing density across sites and distances from the mangrove. Further, as our initial observations suggested, the mangrove roots trap drift *G. salicornia* and also provide surfaces onto which the alga attaches. While a small amount (~5% cover) of this invasive red alga was found on the sandflats at both 1.5 and 5.0 m from the mangrove edge, much more (average of 20% cover) was present under the mangrove edge. We sometimes found accumulation of leaves and algae together, the combination of which created a thick mat on the benthos. The mangrove prop roots themselves also may have inhibited burrowing, as lower burrow densities were found at site 3, where mangrove root counts ranked highest (although variability was quite high). As the accumulation of leaves was also significantly greater at site 3, we suspect that the cover of leaves was a greater deterrent to burrowing than the prop roots; however, more prop roots may trap more leaves, making the 2 potential controlling factors difficult to disentangle.

Our survey and the rapid increase in burrowing densities following experimental removal of debris beneath mangrove roots provide clear evidence that material covering the

embargo, la densidad de las madrigueras aumentó más drásticamente en el sitio 2 (8 veces más alta) que en los otros sitios (3 veces más alta), lo que explica la interacción entre el tiempo (antes y después de la eliminación de escombros) y el sitio (Fig. 5, Tabla 1).

DISCUSIÓN

Planteamos la hipótesis de que los manglares rojos invasores (*R. mangle*) en Hawai‘i crean condiciones inhóspitas para los pares obligados de un góbido endémico (*P. mainlandi*) y un camarón nativo (*A. rapax*) que habitan en las planicies arenosas. Nuestro estudio de campo en 3 sitios a lo largo de una isla en la bahía de Kāne‘ohe, O‘ahu, documentó que la densidad de las madrigueras de camarones/góbidos era al menos 4× menor debajo del borde del manglar en comparación con la de las planicies arenosas cercanas, que tenían 4× menos detritos bentónicos. Además, nuestro experimento para investigar los efectos de la eliminación de escombros debajo de los manglares dio como resultado grandes aumentos en la densidad de las madrigueras después

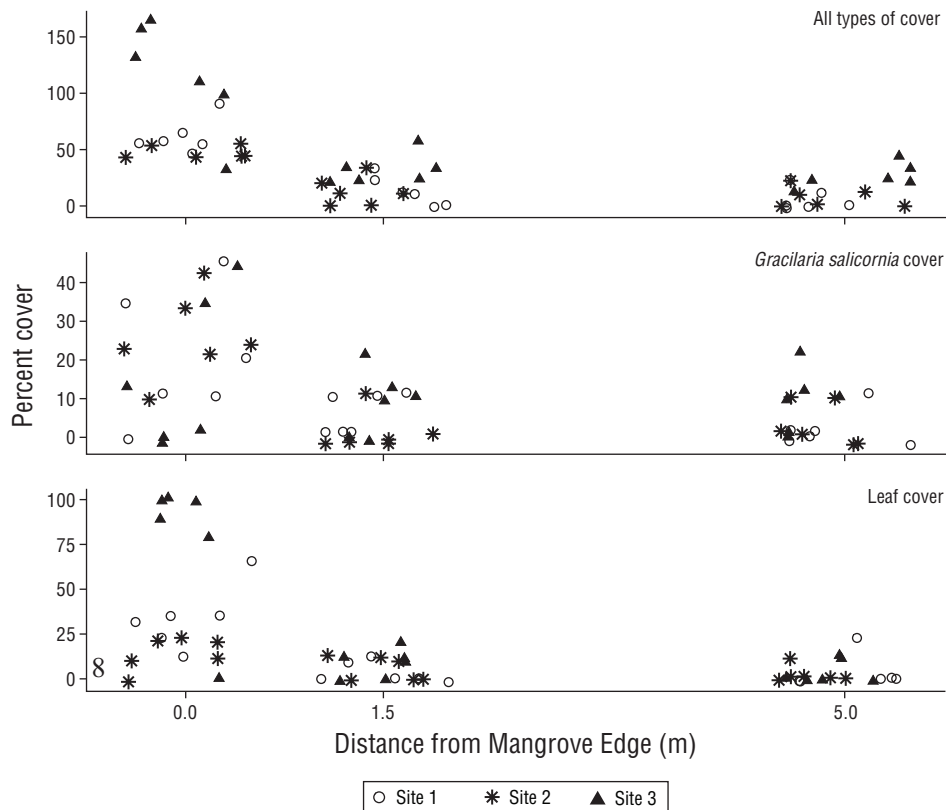


Figure 3. Total cover of benthic debris, as well as the subsets of *Gracilaria salicornia* cover and leaf cover, with distance (0, 1.5 and 5.0 m) from the mangrove edge at the 3 study sites. Points were jittered at each discrete distance to improve visibility.

Figura 3. Cobertura total de los escombros bentónicos, así como los subconjuntos de la cobertura de *Gracilaria salicornia* y la cobertura de hojas, con la distancia (0, 1.5 y 5.0 m) al borde del manglar en los 3 sitios de estudio. Se les añadió un desplazamiento a los puntos en cada distancia discreta para mejorar la visibilidad.

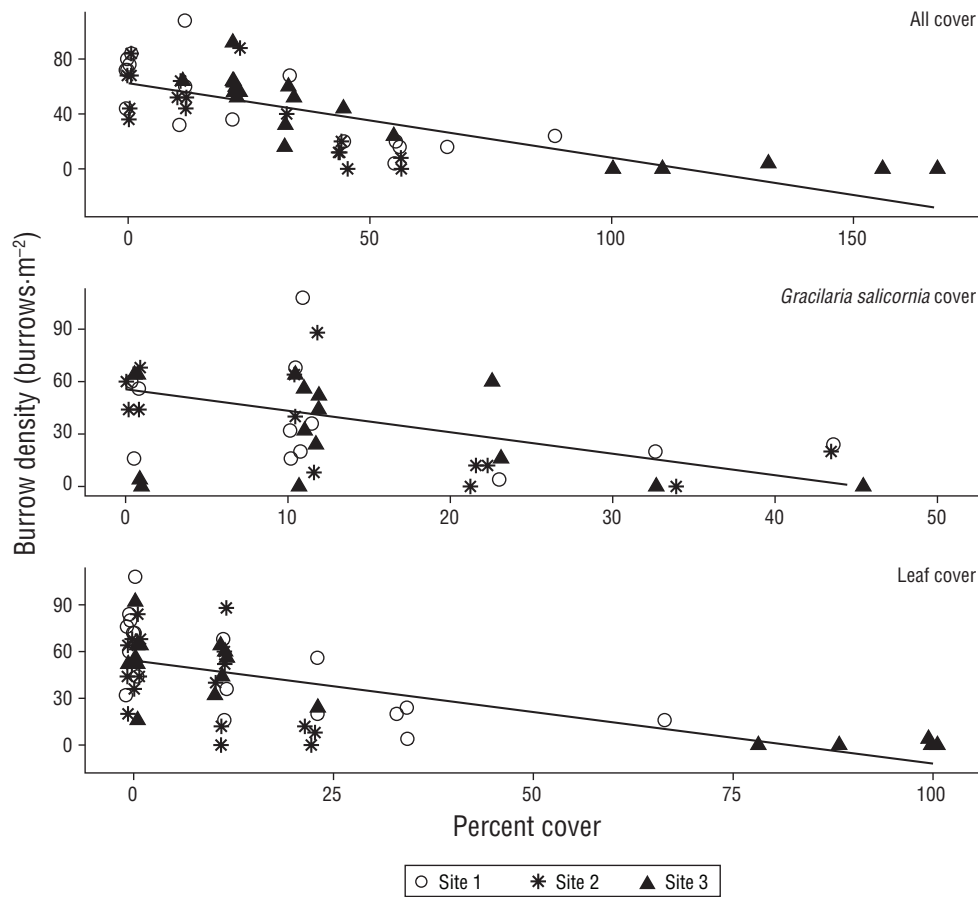


Figure 4. Relationship between the total cover of debris (all debris cover types can lead to >100% due to layering), *Gracilaria salicornia* cover, or leaf cover and burrow density across the 3 sites. Points were jittered at each discrete distance to improve visibility. Lines indicate significant linear regressions.

Figura 4. Relación entre la cobertura total de escombros (todos los tipos de cobertura de escombros pueden dar lugar a >100% debido a la formación de capas), la cobertura de *Gracilaria salicornia* o la cobertura de hojas y la densidad de las madrigueras en los 3 sitios. Los puntos se desplazaron en cada distancia discreta para mejorar la visibilidad. Las líneas indican regresiones lineales significativas.

sandflats has negative effects on shrimp/goby burrowing. Other studies have found these same shrimp/goby pairs to be deterred by cover over the benthos; sandflat invasion of the alga *Halimeda kanaloana* is associated with much lower densities of these mutualist burrow-dwellers (Fukunaga 2008, Langston and Spalding 2017). In our experiment, nearby shrimp were apparently able to quickly perceive and colonize newly available habitat upon debris removal, despite their poor eyesight (Zeng and Jaafar 2012). Beyond that, we can only speculate as to the role that debris plays in shrimp/goby presence; as the goby uses visual cues to detect potential predators and warn the shrimp, surface debris may impede this communication system and reduce the likelihood of the shrimp venturing away from the burrow for foraging (Nelson 2005).

Since we found a small but significant increase in the number of shrimp/goby burrows as we moved from 1.5 m to 5.0 m from the mangrove edge, without a significant decrease in debris covering the sediment over the same distance, there

de solo 2 semanas, lo que indica que estos escombros reducen la idoneidad del hábitat para las parejas nativas de camarones y góbidos.

Los escombros bentónicos a lo largo de los manglares estaban compuestos en gran parte por hojas caídas y atrapadas, las cuales explicaron el 58% de la variación en la densidad de las madrigueras de camarones/góbidos en todos los sitios y las distancias al manglar. Además, como lo sugirieron nuestras observaciones iniciales, las raíces de los manglares atrapan *G. salicornia* a la deriva y también proporcionan superficies a las cuales se adhiere el alga. Si bien se encontró una pequeña cantidad (~5% de cobertura) de esta alga roja invasora en las planicies arenosas a 1.5 y 5.0 m del borde del manglar, se encontró mucha más (un promedio del 20% de cobertura) debajo del borde del manglar. A veces encontramos acumulaciones de hojas y algas juntas, cuya combinación creaba un manto grueso sobre el bentos. Las raíces aéreas de los manglares también pueden haber inhibido el establecimiento de madrigueras,

may be effects of the mangroves that extend beyond their physical presence and associated debris coverage. These mangroves are known to change the chemical properties of sediment, with fallen leaves leaching tannins and leading to organic carbon accumulation and decomposition that reduces dissolved oxygen and increases hydrogen sulfide concentrations (Demopoulos and Smith 2010). It may be that such physicochemical changes somewhat reduce suitability for shrimp/goby pairs near (at least within 1.5 m of) the mangrove edge. Food quality may also be reduced near the mangroves; a previous study found that red mangrove detritus contributes little to the diet of native detritivores in Hawai'i, unlike in the mangrove's native range, where organisms have evolved the ability to digest these materials (Demopoulos et al. 2007).

Our finding that invasive *G. salicornia* is associated with mangroves at our study site is troubling considering that this species can be harmful to coral reefs through overgrowth and drawdown of oxygen, negatively affecting coral reef organisms (Smith et al. 2004, Martinez et al. 2012). Hawai'ian coral reefs support many fishes and other organisms that contribute to the local economy, with a value over \$3.5 billion

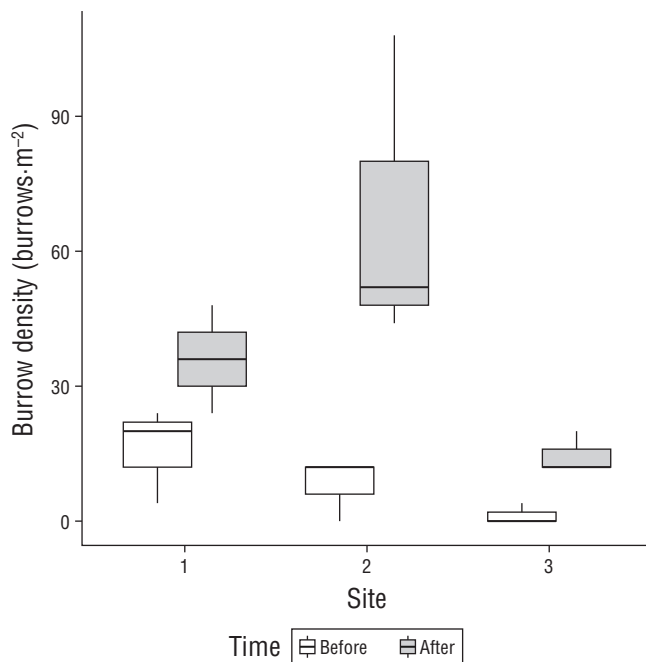


Figure 5. Burrow counts before and after removal of debris (primarily leaves and algae). Dark horizontal line indicates median, while vertical line shows distribution of data. The box indicates the interquartile range between the 25th and 75th percentiles.

Figura 5. Conteo de las madrigueras antes y después de la eliminación de escombros (principalmente hojas y algas). Las líneas horizontales oscuras indican la mediana, mientras que las líneas verticales muestran la distribución de los datos. El cuadro indica el rango intercuartílico entre los percentiles 25 y 75.

ya que se encontraron densidades de madrigueras más bajas en el sitio 3, donde el conteo de raíces de manglar fue el más alto (aunque la variabilidad fue bastante alta). Como la acumulación de hojas también fue significativamente mayor en el sitio 3, suponemos que la cobertura de hojas fue un mayor impedimento para el establecimiento de madrigueras que las raíces aéreas; sin embargo, una mayor cantidad de raíces aéreas puede atrapar una mayor cantidad de hojas, ocasionando que los 2 factores de control potenciales sean difíciles de desasociar.

Nuestro estudio y el rápido aumento de las densidades de madrigueras después de la eliminación experimental de los escombros por debajo de las raíces de los manglares proporcionan una clara evidencia de que el material que cubre las planicies arenosas tiene efectos negativos sobre el establecimiento de las madrigueras de camarones/góbidos. Otros estudios han encontrado que estas mismas parejas de camarón/góbido son obstruidas por las coberturas sobre el bentos; la invasión del alga *Halimeda kanaloana* en las planicies arenosas se asocia con densidades mucho más bajas de estos habitantes de madrigueras mutualistas (Fukunaga 2008, Langston y Spalding 2017). En nuestro experimento, los camarones cercanos aparentemente pudieron percibir y colonizar rápidamente el hábitat nuevo disponible después de la eliminación de los escombros, a pesar de su visión deficiente (Zeng y Jaafar 2012). Más allá de eso, solo podemos especular sobre el papel que juegan los escombros en la presencia de los camarones/góbidos; como el góbido utiliza señales visuales para detectar depredadores potenciales y advertir al camarón, los escombros en la superficie pueden obstaculizar este sistema de comunicación y reducir la probabilidad de que el camarón se aventure lejos de la madriguera para buscar alimento (Nelson 2005).

Debido a que encontramos un aumento pequeño pero significativo en el número de madrigueras de camarones/góbidos conforme nos movimos de 1.5 a 5.0 m desde el borde del manglar, sin una disminución significativa en los escombros que cubren el sedimento en la misma distancia, pueden haber efectos de los manglares que se extienden más allá de su presencia física y la cobertura de escombros asociada. Se sabe que estos manglares cambian las propiedades químicas de los sedimentos, ya que las hojas caídas lixivian taninos y conducen a la acumulación y descomposición del carbono orgánico que reduce el oxígeno disuelto y aumenta las concentraciones de sulfuro de hidrógeno (Demopoulos y Smith 2010). Puede ser que tales cambios físicoquímicos reduzcan en cierta medida la idoneidad para las parejas de camarones/góbidos cerca (por lo menos a una distancia ≤ 1.5 m) del borde del manglar. La calidad de los alimentos también puede verse reducida cerca de los manglares; un estudio anterior encontró que los detritos del mangle rojo contribuyen poco a la dieta de los detritívoros nativos en Hawai'i, a diferencia de lo observado en la distribución nativa del manglar, donde los organismos

US dollars (Bishop et al. 2011). Kāneʻohe Bay corals have been recognized for high resiliency to bleaching and thus are being used as models for other regions to aid in understanding of this phenomenon (Jury and Toonen 2019). This *G. salicornia* does not invade new regions easily; rather, it has been observed to primarily spread very locally through fragmentation after it was intentionally introduced to several locations in the islands for aquaculture studies (Smith et al. 2002). Nonetheless, care should be taken to minimize further spread.

As with most invaders, red mangroves have both positive and negative effects, which must be weighed by managers in the context of ecological, social, and financial perspectives/constraints. Positive effects include protection of coral reefs by trapping land-derived sediments (D'iorio 2003) and provision of habitat to some native (and to non-native) fishes (MacKenzie and Kryss 2013, Goecke and Carstenn 2017), which many experience reduced risk of predation through prop root structural complexity (Nagelkerken 2009). Mangroves in Hawai'i also convert and store substantial amounts of atmospheric carbon in live tissues and detritus and accrete sediments along shores, both of which can serve to mitigate climate change impacts (Soper et al. 2019). In contrast, negative effects include displacing endangered native bird habitat (Allen 1998) and altering nearshore invertebrate community composition and food web structure while facilitating numerous non-native invertebrate species (Demopoulos et al. 2007, Demopoulos and Smith 2010). Invasion of fishponds, which are highly valued cultural resources to native Hawai'ians (Bremer et al. 2018), results in mangroves growing directly into and degrading the containment walls (Chimner et al. 2006). To this list of negative effects, our research adds that invasive red mangroves in Hawai'i displace habitat utilized by 2 native (one endemic) sandflat species through increased benthic debris cover, including cover of an invasive alga.

In conclusion, although this project was limited in spatial scope, we posit that red mangroves are likely to have similar negative effects on this mutualistic shrimp and goby interaction elsewhere within their widespread distribution in the Hawai'ian archipelago. A high degree of detritus accumulation documented in Hawai'ian red mangrove stands relative to other regions (Cox and Allen 1999) reinforces our expectation that similar negative effects could occur in other locations in the islands. Although our study focused only along the edge of mangrove stands, these mangroves can cover hectares of sandflat, presumably displacing shrimp/goby pairs throughout their footprint. Further, where *G. salicornia* has been introduced, it may add to the negative effects of mangroves on shrimp/goby burrowing through prop root trapping and attachment to the roots. While acknowledging potential benefits of invasive mangroves for shoreline protection and habitat for some fishes in Hawai'i, current efforts to remove mangroves to restore natural and cultural values would also help reverse negative impacts to the endemic goby and native shrimp pairs studied here.

han desarrollado la capacidad de digerir estos materiales (Demopoulos et al. 2007).

Nuestro hallazgo de que la especie invasora *G. salicornia* está asociada con los manglares en nuestro sitio de estudio es preocupante considerando que esta especie puede ser dañina para los arrecifes de coral por medio del crecimiento excesivo y la reducción de oxígeno, afectando negativamente a los organismos de los arrecifes de coral (Smith et al. 2004, Martínez et al. 2012). Los arrecifes de coral de Hawai'i sustentan muchos peces y otros organismos que contribuyen a la economía local, con un valor de más de \$3.5 mil millones de dólares estadounidenses (Bishop et al. 2011). Los corales de la bahía de Kāneʻohe son reconocidos por su alta resistencia al blanqueamiento y, por lo tanto, se están utilizando como modelos para otras regiones para ayudar a comprender este fenómeno (Jury y Toonen 2019). Esta *G. salicornia* no invade nuevas regiones fácilmente; más bien, se ha observado que se propaga principalmente de manera muy local por la fragmentación después de su introducción intencional en varios lugares de las islas para realizar estudios de acuicultura (Smith et al. 2002). No obstante, se deben tomar medidas para minimizar la extensión de su propagación en el futuro.

Como ocurre con la mayoría de los invasores, los manglares rojos tienen efectos tanto positivos como negativos, los cuales deben ser ponderados por los gestores en el contexto de las perspectivas/limitaciones ecológicas, sociales y financieras. Los efectos positivos incluyen la protección de los arrecifes de coral al atrapar sedimentos terrestres (D'iorio 2003) y la provisión de hábitat para algunos peces nativos (y no nativos) (MacKenzie y Kryss 2013, Goecke y Carstenn 2017), muchos de los cuales experimentan una reducción en el riesgo de depredación debido a la complejidad estructural de las raíces aéreas (Nagelkerken 2009). Los manglares de Hawai'i también convierten y almacenan cantidades sustanciales de carbono atmosférico en tejidos vivos y detritus y acumulan sedimentos a lo largo de las costas, lo que puede servir para mitigar los impactos del cambio climático (Soper et al. 2019). Por el contrario, los efectos negativos incluyen el desplazamiento del hábitat de aves nativas en peligro de extinción (Allen 1998) y la alteración de la composición de la comunidad de invertebrados cercanos a la costa y la estructura de la red alimentaria mientras que se favorece el establecimiento de numerosas especies de invertebrados no nativos (Demopoulos et al. 2007, Demopoulos y Smith 2010). La invasión de los estanques de peces, que son recursos culturales muy valorados por los nativos de Hawai'i (Bremer et al. 2018), ocasiona que los manglares crezcan directamente en los muros de contención y los degraden (Chimner et al. 2006). A esta lista de efectos negativos, nuestra investigación agrega que los manglares rojos invasores en Hawai'i desplazan el hábitat utilizado por 2 especies nativas (una endémica) de las planicies arenosas por medio de una mayor cobertura de escombros bentónicos, incluida la cobertura de un alga invasora.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Michael Izumiyama, Christian Tettelbach, Tyler Phelps, David Bell, Melissa Patten, Laura Burrus, and Karina Nielsen for their assistance in implementation of the inaugural Diving into Ecology and Evolution Program (DEEP) marine immersion semester at San Francisco State University, and the other DEEP students who assisted and supported MH in the field. We are grateful to Judy Lemus, Jason Jones, Kawika Winter, and Fred Reppun for logistical assistance and for stimulating and supporting our research at the Hawai'i Institute of Marine Biology. Funding for the DEEP semester was provided by the Seagrass Resiliency Project of KEB.

REFERENCES

- Allen JA. 1998. Mangroves as alien species: the case of Hawaii. *Global Ecol Biogeogr Lett.* 7(1):61–71. <https://doi.org/10.2307/2997698>
- Bishop RC, Chapman DJ, Kanninen BJ, Krosnick JA, Leeworthy B, Meade NF. 2011. Total economic value for protecting and restoring Hawaiian coral reef ecosystems: final report. Silver Spring (MD): NOAA Office of National Marine Sanctuaries, Office of Response and Restoration, and Coral Reef Conservation Program. https://www.coris.noaa.gov/activities/hawaii_econeval/welcome.html
- Blackburn TM, Essl F, Evans T, Hulme PE, Jeschke JM, Kühn I, Kumschick S, Marková Z, Mrugała A, Nentwig W, et al. 2014. A unified classification of alien species based on the magnitude of their environmental impacts. *PLOS Biol.* 12(5):e1001850. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001850>
- Bremer L, Falinski K, Ching C, Wada CA, Burnett KM, Kukea-Shultz K, Reppun N, Chun G, Oleson KLL, Ticktin T. 2018. Biocultural restoration of traditional agriculture: cultural, environmental, and economic outcomes of Lo'i Kalo restoration in He'eia, O'ahu. *Sustainability.* 10(12):4502. <https://doi.org/10.3390/su10124502>
- Chimner RA, Fry B, Kaneshiro MY, Cormier N. 2006. Current extent and historical expansion of introduced mangroves on O'ahu, Hawai'i. *Pac Sci.* 60(3):377–384. <https://doi.org/10.1353/psc.2006.0013>
- Cox EF, Allen JA. 1999. Stand structure and productivity of the introduced *Rhizophora mangle* in Hawaii. *Estuaries.* 22(2):276. <https://doi.org/10.2307/1352983>
- Demopoulos AWJ, Fry B, Smith CR. 2007. Food web structure in exotic and native mangroves: a Hawaii–Puerto Rico comparison. *Oecologia.* 153(3):675–686. <https://doi.org/10.1007/s00442-007-0751-x>
- Demopoulos AWJ, Smith CR. 2010. Invasive mangroves alter macrofaunal community structure and facilitate opportunistic exotics. *Mar Ecol Prog Ser.* 404:51–67. <https://doi.org/10.3354/meps08483>
- Devaney DM, Kelly M, Lee PJ, Motteler LS. 1982. Kane'ohe. A History of Change. Honolulu (HI): Bess Press.
- D'iorio MM. 2003. Mangroves and shoreline change on Molokai, Hawaii: assessing the role of introduced *Rhizophora mangle* in sediment dynamics and coastal change using remote sensing and GIS [dissertation]. [Santa Cruz (CA)]: University of California.
- En conclusión, aunque este proyecto tenía un alcance espacial limitado, planteamos que es probable que los manglares rojos tengan efectos negativos similares sobre esta interacción mutualista de camarones y góbidos en otras partes de su amplia distribución en el archipiélago hawaiano. Un alto grado de acumulación de detritos documentado en los rodales de manglar rojo de Hawai'i en relación con otras regiones (Cox y Allen 1999) refuerza nuestra expectativa de que pueden ocurrir efectos negativos similares en otros sitios de las islas. Aunque nuestro estudio se centró solo a lo largo del borde de los rodales de manglares, estos manglares pueden cubrir hectáreas de planicies arenosas, presumiblemente desplazando a las parejas de camarones/góbidos en toda su extensión. Además, en los lugares en los que se ha introducido *G. salicornia*, esta puede aumentar los efectos negativos de los manglares sobre las madrigueras de los camarones/góbidos al ser atrapada por las raíces aéreas y al unirse a las raíces. Aunque se reconocen los beneficios potenciales de los manglares invasores para la protección de la costa y el hábitat de algunos peces en Hawai'i, los esfuerzos actuales para eliminar los manglares para restaurar los valores naturales y culturales también ayudarían a revertir los impactos negativos en las parejas del góbido endémico y el camarón nativo estudiadas aquí.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Michael Izumiyama, Christian Tettelbach, Tyler Phelps, David Bell, Melissa Patten, Laura Burrus y Karina Nielsen su ayuda en la implementación del semestre inaugural de inmersión marina del Diving into Ecology and Evolution Program (DEEP) en la Universidad Estatal de San Francisco, y a los otros estudiantes de DEEP que ayudaron y apoyaron a MH en el campo. Agradecemos a Judy Lemus, Jason Jones, Kawika Winter y Fred Reppun por asistir logística y por estimular y apoyar nuestra investigación en el Instituto de Biología Marina de Hawai'i. El financiamiento para el semestre DEEP fue proporcionado por el Seagrass Resiliency Projec de KEB.

Traducido al español por Claudia Michel-Villalobos.

- Fukunaga A. 2008. Invertebrate community associated with the macroalga *Halimeda kanaloana* meadow in Maui, Hawaii. *Internat Rev Hydrobiol.* 93(3):328–341. <https://doi.org/10.1002/iroh.200711063>
- Goecke SD, Carstenn SM. 2017. Fish communities and juvenile habitat associated with non-native *Rhizophora mangle* L. in Hawai'i. *Hydrobiologia.* 803(1):209–224. <https://doi.org/10.1007/s10750-017-3182-7>
- Hoover JP. 2016. Hawaiian Reef Fishes: Sea Turtles, Dolphins, Whales, and Seals. Honolulu (HI): Mutual Publishing.
- Hothorn T, Bretz F, Westfall P. 2008. Simultaneous inference in general parametric models. *Biometrical J.* 50(3):346–363. <https://doi.org/10.1002/bimj.200810425>

- Jeschke JM, Bacher S, Blackburn TM, Dick JTA, Essl F, Evans T, Gaertner M, Hulme PE, Kühn I, Mrugała A, et al. 2014. Defining the impact of non-native species. *Conserv Biol.* 28(5):1188–1194. <https://doi.org/10.1111/cobi.12299>
- Jury CP, Toonen RJ. 2019. Adaptive responses and local stressor mitigation drive coral resilience in warmer, more acidic oceans. *Proc R Soc B.* 286(1902):20190614. <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.0614>
- Karl JW, Karl MG “Sherm,” McCord SE, Kachergis E. 2016. Critical evaluations of vegetation cover measurement techniques: a response to Thacker et al. (2015). *Rangelands.* 38(5):297–300. <https://doi.org/10.1016/j.rala.2016.08.005>
- Karplus I, Thompson A. 2011. The partnership between gobiid fishes and burrowing alpheid shrimps. In: Kapoor B (ed.). *The Biology of Gobies*. Boca Raton (FL): Science Publishers; [accessed 2020 May 26]. <http://www.crcnetbase.com/> <https://doi.org/10.1201/b11397-29>. p. 559–607.
- Kumschick S, Gaertner M, Vilà M, Essl F, Jeschke JM, Pyšek P, Ricciardi A, Bacher S, Blackburn TM, Dick JTA, et al. 2015. Ecological impacts of alien species: quantification, scope, caveats, and recommendations. *BioScience.* 65(1):55–63. <https://doi.org/10.1093/biosci/biu193>
- Langston RC, Spalding HL. 2017. A survey of fishes associated with Hawaiian deep-water *Halimeda kanaloana* (Bryopsidales: Halimedaceae) and *Avrainvillea* sp. (Bryopsidales: Udoteaceae) meadows. *PeerJ.* 5:e3307. <https://doi.org/10.7717/peerj.3307>
- Larned ST. 1998. Nitrogen- versus phosphorus-limited growth and sources of nutrients for coral reef macroalgae. *Mar Biol.* 132(3):409–421. <https://doi.org/10.1007/s002270050407>
- Lyons PJ. 2013. The benefit of obligate versus facultative strategies in a shrimp–goby mutualism. *Behav Ecol Sociobiol.* 67(5):737–745. <https://doi.org/10.1007/s00265-013-1497-6>
- MacKenzie R, Kryss CL. 2013. Impacts of exotic mangroves and chemical eradication of mangroves on tide pool fish assemblages. *Mar Ecol Prog Ser.* 472:219–237. <https://doi.org/10.3354/meps09961>
- Martinez JA, Smith CM, Richmond RH. 2012. Invasive algal mats degrade coral reef physical habitat quality. *Estuar Coast Shelf S.* 99:42–49. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2011.12.022>
- Molnar JL, Gamboa RL, Revenga C, Spalding MD. 2008. Assessing the global threat of invasive species to marine biodiversity. *Front Ecol Environ.* 6(9):485–492. <https://doi.org/10.1890/070064>
- Nagelkerken I. 2009. Evaluation of nursery function of mangroves and seagrass beds for tropical decapods and reef fishes: Patterns and underlying mechanisms. In: Nagelkerken I (ed.). *Ecological Connectivity among Tropical Coastal Ecosystems*. Dordrecht: Springer Netherlands; [accessed 2020 May 26]. p. 357–399. http://link.springer.com/10.1007/978-90-481-2406-0_10.
- Nakahara BA. 2007. Utilization of mangrove habitat by megafauna along the southern coast of Molokai, Hawaii [dissertation]. Hawaii: University of Hawaii.
- Nelson RP. 2005. A behavioral study of the Hawai‘ian goby-shrimp relationship and the effects predation on the system [MSc thesis]. [Manoa (HI)]: University of Hawaii. <http://hdl.handle.net/10125/10554>.
- Nelson SG, Glenn EP, Moore D, Ambrose B. 2009. Growth and distribution of the macroalgae *Gracilaria salicornia* and *G. parvispora* (Rhodophyta) established from aquaculture introductions at Molokai, Hawai‘i. *Pacific Science.* 63(3):383–396. <https://doi.org/10.2984/049.063.0307>
- Parker IM, Simberloff D, Lonsdale WM, Goodell K, Wonham M, Kareiva PM, Williamson MH, Holle BV, Moyle PB, Byers JE, et al. 1999. Impact: toward a framework for understanding the ecological effects of invaders. *Biological Invasions.* 1(1):3–19.
- R Core Team. 2020. R: A language and environment for statistical computing. Vienna (Austria): R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>.
- Ricciardi A. 2007. Are modern biological invasions an unprecedented form of global change? = ¿Las invasiones biológicas modernas son una forma de cambio global sin precedente? *Conserv Biol.* 21(2):329–336. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2006.00615.x>
- Richardson DM, Pysek P, Rejmanek M, Barbour MG, Panetta FD, West CJ. 2000. Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Divers Distrib.* 6(2):93–107. <https://doi.org/10.1046/j.1472-4642.2000.00083.x>
- Simberloff D. 2011. How common are invasion-induced ecosystem impacts? *Biol Invasions.* 13(5):1255–1268. <https://doi.org/10.1007/s10530-011-9956-3>
- Smith JE, Hunter CL, Conklin EJ, Most R, Sauvage T, Squair C, Smith CM. 2004. Ecology of the invasive red alga *Gracilaria salicornia* (Rhodophyta) on O‘ahu, Hawai‘i. *Pac Sci.* 58(2):325–343. <https://doi.org/10.1353/psc.2004.0023>
- Smith JE, Hunter CL, Smith CM. 2002. Distribution and reproductive characteristics of nonindigenous and invasive marine algae in the Hawaiian islands. *Pac Sci.* 56(3):299–315. <https://doi.org/10.1353/psc.2002.0030>
- Soper FM, MacKenzie RA, Sharma S, Cole TG, Litton CM, Sparks JP. 2019. Non-native mangroves support carbon storage, sediment carbon burial, and accretion of coastal ecosystems. *Glob Change Biol.* 25(12):4315–4326. <https://doi.org/10.1111/gcb.14813>
- Walsh GE. 1967. An ecological study of a Hawaiian mangrove swamp. *Estuaries.* 83:420–431.
- Williams SL, Smith JE. 2007. A global review of the distribution, taxonomy, and impacts of introduced seaweeds. *Annu Rev Ecol Evol Syst.* 38(1):327–359. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095543>
- Zeng Y, Jaafar Z. 2012. Visual acuity of the goby-associated shrimp, *Alpheus rapax* Fabricius, 1798 (Decapoda, Alpheidae). *Crustaceana.* 85(12–13):1487–1497. <https://doi.org/10.1163/15685403-00003128>

Received July 2020,
accepted September 2020.

Urchin Searchin': Red sea urchins and drift kelp found at 284 m depth in the mesophotic zone

En búsqueda de erizos: Erizos de mar rojos y detritos de algas hallados a 284 m de profundidad en la zona mesofótica

Alexander T Lowe^{1*}, Aaron WE Galloway²

¹ Tennenbaum Marine Observatories Network, MarineGEO, Smithsonian Institution, 647 Contees Wharf Road, Edgewater, Maryland, United States 21037.

² Oregon Institute of Marine Biology, University of Oregon, Charleston, Oregon, United States 97420

* Corresponding author. Email: lowea@si.edu

ABSTRACT. Red sea urchins (*Mesocentrotus franciscanus*) are kelp-associated ecosystem engineers found in rocky habitats throughout the North Pacific from Baja California, Mexico, to Japan. Red sea urchins depend on kelp detritus, herein 'drift', for nutrition; in open coast locations (e.g., California) sea urchin abundance declines precipitously with depth outside the kelp forest owing to a lack of drift and habitat. In the Salish Sea, a region of the Northeast Pacific characterized by steep, glacier-carved rocky reefs, red sea urchins have been reported to 125 m depth. Considering the natural history of this species, we predicted red sea urchins could be found deeper than 125 m in areas with hard substrate and abundant drift. We paired submersible and scuba transects to search for deep red sea urchins and quantified availability of drift to sea urchins from the mesophotic (290 m) to macrophyte zones (<20 m). In addition, we quantified the rate of drift capture by sea urchins at the upper boundary of the mesophotic zone to assess patterns of food availability. A red sea urchin was observed at 284 m, more than doubling this species' known depth range. Red sea urchins and drift were observed in all depth zones surveyed and 24% of sea urchins had captured drift. Drift capture across depth varied between sites and contrasts observations from other deep regions, such as Dume Submarine Canyon, on the Southern California coast. Red sea urchins captured abundant drift (15.4 g drift per urchin per day) at the edge of the mesophotic zone, implying that red sea urchins could facilitate a considerable nutritional subsidy to local benthos. These observations open new avenues for research as the sheltered, rugose coastline in the Salish Sea is representative of >90% of rocky shorelines in the Northeast Pacific from Baja California to Alaska, suggesting a major portion of the red sea urchin's habitat, and natural history, remains to be explored.

Keywords: *Mesocentrotus franciscanus*, spatial subsidy, marine food web, kelp forest, ecosystem engineer.

RESUMEN. Los erizos de mar rojos (*Mesocentrotus franciscanus*) son ingenieros de ecosistemas asociados a algas que se encuentran en hábitats rocosos en todo el Pacífico Norte, desde Baja California, México, hasta Japón. Los erizos rojos dependen de los detritos de algas marinas, en adelante 'detritos a la deriva', para la nutrición; en lugares de la costa abierta (e.g., California), la abundancia de erizos disminuye abruptamente con la profundidad fuera del bosque de algas marinas debido a la falta de detritos a la deriva y hábitat. En el mar de Salish, una región del Pacífico nororiental caracterizada por arrecifes rocosos empinados y tallados en glaciares, los erizos rojos han sido reportados a una profundidad de 125 m. Con base en la historia natural de esta especie, predijimos que los erizos rojos podrían encontrarse a más de 125 m de profundidad en áreas con sustrato duro y detritos a la deriva abundante. Emparejamos transectos sumergibles y de buceo para buscar erizos rojos de aguas profundas y cuantificar la disponibilidad de detritos a la deriva para los erizos desde la zona mesofótica (290 m) hasta la macrófita (<20 m). Además, cuantificamos la tasa de captura de los detritos a la deriva por los erizos en el límite superior de la zona mesofótica para evaluar los patrones de disponibilidad de alimento. Se observó un erizo rojo a 284 m, lo cual duplica por más del doble el intervalo de profundidad conocido para esta especie. Se observaron erizos rojos y detritos a la deriva en todas las zonas de profundidad estudiadas y el 24% de los erizos había capturado detritos a la deriva. La captura de los detritos a la deriva con la profundidad varió entre los sitios y contrasta con las observaciones de otras regiones profundas, como Dume Submarine Canyon, en la costa sur de California. Los erizos rojos capturaron detritos a la deriva en abundancia (15.4 g de detritos a la deriva por erizo por día) en el borde de la zona mesofótica, lo que implica que los erizos rojos podrían facilitar un subsidio nutricional considerable al bentos local. Estas observaciones abren nuevas vías para la investigación, ya que la costa rugosa protegida en el mar de Salish es representativa del >90% de las costas rocosas en el Pacífico nororiental, desde Baja California hasta Alaska, lo que sugiere que una gran parte del hábitat y la historia natural del erizo rojo aún queda por ser explorada.

Palabras clave: *Mesocentrotus franciscanus*, subsidio espacial, red alimentaria marina, bosque de algas, ingeniero de ecosistema.

INTRODUCTION

Sea urchins are important ecosystem engineers throughout the world's oceans due to their effects on community structure and food webs as grazers and habitat providers (Harrold

INTRODUCCIÓN

Los erizos de mar son importantes ingenieros de ecosistemas en los océanos del mundo debido a sus efectos en la estructura de la comunidad y las redes alimentarias como

and Reed 1985, Hartney and Grorud 2002, Nishizaki and Ackerman 2007, Ling et al. 2015, Lowe et al. 2015). Many sea urchin species are macrophyte-dependent, living within the depths that support seaweed and seagrass growth, known as the macrophyte zone. However, the export of macrophyte biomass can support sea urchins hundreds of kilometers from the location of macrophyte production and alter their effects on local benthic ecosystems (Vanderklift and Kendrick 2005). Red sea urchins (*Mesocentrotus franciscanus*) are found throughout the rocky reefs of the Northeast Pacific Ocean and are generally associated with the macrophyte zone (Tegner 2001, Rogers-Bennett and Okamoto 2020). Red sea urchins directly consume kelp and, like other sea urchin species, act as shredders that process algae biomass into smaller particles through messy feeding and fecal pellet production (Mamelona and Pelletier 2005). Unlike other species of sea urchins, *M. franciscanus* rarely aggregate on accumulations of detrital kelp, herein 'drift', but instead remain sedentary and catch drift transported by water motion or gravity (Britton-Simmons et al. 2009). The sedentary drift catching behavior and messy feeding may facilitate trophic transfer of kelp carbon to benthic food webs (Dethier et al. 2019, Yorke et al. 2019) and alter transport of carbon to the deep sea (Wernberg and Filbee-Dexter 2018), particularly below the euphotic zone, where algal biomass is limited.

Much of our understanding of red sea urchin natural history has come from studies in shallow, open coastal habitats dominated by *Macrocystis pyrifera* in California or mixed kelp assemblages in Alaska, where they feed on available drift or destructively graze standing algae when drift is limiting (Duggins 1981, Harrold and Reed 1985, Kato and Schroeter 1985, Rogers-Bennett et al. 1995). In these habitats red sea urchin abundance decreases precipitously below the macrophyte zone (Rogers-Bennett et al. 1995). However, vast areas of the rocky reef habitat preferred by red sea urchins exist outside of these well-studied regions. Indeed, more than 90% of the ~84,000 km of intertidal rocky shorelines from Oregon to Alaska lies within the protected coast of the Salish Sea, British Columbia, and Alaska (Starko et al. 2019). Analogous estimates of the rocky shore length from Baja California (Mexico) and California (USA) are not available, but including the ~3,000 km of total shoreline along the Pacific coast of Baja California and California does little to change this percentage. These inland, protected waters differ from open coastal habitats in that tidal currents, rather than ocean swell, generate most water motion. For example, the tidal range in the Salish Sea often exceeds 3 m, generating tidal currents $>2 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ (Moffeld and Larsen 1984). The glacially carved fjords of the Northeast (NE) Pacific are often deep, meaning sea urchin habitat could extend to depths below the photic zone (Syvitski et al. 1987, Britton-Simmons et al. 2012). Furthermore, the steep, fjord-like features common to the Salish Sea, British Columbia, and Alaska allow rapid transportation of drift to outer-shelf upper-slope depths, potentially facilitating a depth range expansion of

pastadores y proveedores de hábitat (Harrold y Reed 1985, Hartney y Grorud 2002, Nishizaki y Ackerman 2007, Ling et al. 2015, Lowe et al. 2015). Muchas especies de erizos de mar dependen de las macrofitas y viven en las profundidades que sustentan el crecimiento de macroalgas y pastos marinos, en lo que se conoce como la zona de macrofitas. Sin embargo, la exportación de la biomasa de macrofitas puede sustentar a erizos de mar que se encuentran a cientos de kilómetros del sitio de producción de macrofitas y alterar sus efectos sobre los ecosistemas bentónicos locales (Vanderklift y Kendrick 2005). Los erizos de mar rojos (*Mesocentrotus franciscanus*) se encuentran a lo largo de los arrecifes rocosos del océano Pacífico Nororiental y generalmente se asocian a la zona de macrofitas (Tegner 2001, Rogers-Bennett y Okamoto 2020). Estos erizos consumen algas marinas (Laminariales) directamente y, al igual que otras especies de erizos de mar, actúan como trituradoras que procesan la biomasa de algas generando partículas más pequeñas a través de una alimentación desordenada y la producción de pelotillas fecales (Mamelona y Pelletier 2005). A diferencia de otras especies de erizos de mar, *M. franciscanus* rara vez se aglomera en acumulaciones de detritos de algas marinas, en adelante 'detritos a la deriva', de modo que permanece sedentaria y captura los detritos a la deriva transportados por el movimiento del agua o la gravedad (Britton-Simmons et al. 2009). El comportamiento sedentario de captura de detritos a la deriva y la alimentación desordenada pueden facilitar la transferencia trófica de carbono de algas marinas a las redes alimentarias bentónicas (Dethier et al. 2019, Yorke et al. 2019) y alterar el transporte de carbono al océano profundo (Wernberg y Filbee-Dexter 2018), particularmente por debajo de la zona eufótica, donde la biomasa de algas es limitada.

Gran parte de nuestro conocimiento de la historia natural del erizo de mar rojo proviene de estudios en hábitats costeros abiertos y poco profundos dominados por *Macrocystis pyrifera* en California o conjuntos de algas mixtos en Alaska, donde se alimentan de los detritos a la deriva disponibles o pastan destructivamente sobre las algas fijas cuando los detritos a la deriva están limitados (Duggins 1981, Harrold y Reed 1985, Kato y Schroeter 1985, Rogers-Bennett et al. 1995). En estos hábitats, la abundancia de erizos de mar rojos disminuye precipitosamente por debajo de la zona de macrofitas (Rogers-Bennett et al. 1995). Sin embargo, existen vastas áreas del hábitat de arrecife rocoso, el cual es preferido por el por los erizos de mar rojos, fuera de estas regiones que han sido estudiadas ampliamente. De hecho, más del 90% de los ~84,000 km de costas rocosas intermareales desde Oregon hasta Alaska se encuentran dentro de la costa protegida del mar de Salish, Columbia Británica, y Alaska (Starko et al. 2019). No se tienen estimaciones análogas de la longitud de la costa rocosa de Baja California (México) y California (EUA), pero el incluir los ~3,000 km del litoral total a lo largo de la costa del Pacífico de Baja California y California hace poco para cambiar este porcentaje. Estas aguas protegidas tierra adentro difieren de los hábitats costeros abiertos

red sea urchins to rocky reefs at depths beyond which the available food supply would support reproductive populations on the outer coast. While the precise area of available subtidal rocky habitat has not been quantified, one thing remains clear: the majority of our understanding of red sea urchins comes from less than 10% of their geographic range and an area that is potentially an outlier in terms of the most common habitat they occupy. The hydrodynamics and topography of these less-studied habitats exist in stark contrast to outer coast kelp beds, potentially eliciting dramatic differences in the ecology of benthic habitats with red sea urchins owing to effects of wave or tidal energy (Dayton 1971).

The transfer of energy across ecosystem boundaries is an important process structuring ecosystems (Polis and Hurd 1996). Seaweed forests are one of the most productive ecosystems on earth, exporting most of the carbon fixed there to adjacent terrestrial (Polis and Hurd 1996), nearshore marine (Britton-Simmons et al. 2012, Krumhansl and Scheibling 2012), and deep-sea ecosystems (>1,000 m; Krause-Jensen and Duarte 2016). Spatial subsidies of seaweed carbon and nutrients from the shallow photic zone influence deep subtidal food webs (Vetter 1994, Britton-Simmons et al. 2012), consumer behavior (Lowe et al. 2015), and carbon sequestration (Krumhansl and Scheibling 2012, Krause-Jensen and Duarte 2016). The drivers of energy subsidies are predicted to vary between open coast, swell-dominated habitats and protected, tidal-dominated habitats directly via physical transport and indirectly by influencing animal-mediated transfer of organic matter (Berglund et al. 2003). This contrast becomes particularly important for drift-feeding sea urchins living in these habitats. Sea urchins in open coast habitats are important shredders of drift that accumulates in depositional habitats in kelp forests (Yorke et al. 2019), whereas sea urchins in tidal-dominated habitats may trap drift in non-depositional habitats and make it available to other consumers (e.g., Duggins 1981). Lowe et al. (2015) hypothesized the strength of red sea urchin trophic facilitation should increase with depth below the macrophyte zone, but understanding of the magnitude and depth to which this relationship occurs has been limited by the difficulty of access to these habitats.

Methodological limitations have led to biases in the intensity of study among habitats and depths: all marine habitats receive less study than terrestrial habitats, scuba observations are generally restricted to nearshore habitats at <30 m depth, and remote operated vehicles (ROV) and ship-based submersible expeditions most often explore offshore shelf and deep-sea ecosystems. The study of benthic marine ecosystem processes often requires specialized gear, including scuba, ROV, submersibles, and a variety of sampling systems deployed from oceanographic research vessels. Furthermore, boat-based activities are temporally restricted by surface conditions, such as storms, wind, or strong tidal currents. These limitations have left the natural history of the nearshore mesophotic zone especially poorly studied (Menza et al. 2008, Gori et al. 2017). This zone is defined by the

en que las corrientes de marea, en lugar del mar de fondo del océano, generan la mayor parte del movimiento del agua. Por ejemplo, la amplitud de las mareas en el mar de Salish a menudo excede los 3 m, generando corrientes de marea $>2 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ (Mofjeld y Larsen 1984). Los fiordos tallados por glaciares del Pacífico noroccidental (NE) suelen ser profundos, lo que significa que el hábitat del erizo de mar podría extenderse a profundidades por debajo de la zona fótica (Syvitski et al. 1987, Britton-Simmons et al. 2012). Además, las características de pendientes pronunciadas tipo fiordo que son comunes en el Mar de Salish, Columbia Británica, y Alaska propician el transporte rápido de detritos a la deriva a las profundidades de la ladera superior de la plataforma exterior; esto potencialmente facilita una expansión de la distribución vertical de los erizos de mar rojos a los arrecifes rocosos en profundidades más allá de donde el suministro de alimentos disponible podría mantener a las poblaciones reproductoras en la costa exterior. Aunque no se ha cuantificado el área exacta de hábitat rocoso submareal disponible, una cosa sigue clara: la mayor parte de nuestro conocimiento de los erizos de mar rojos proviene de menos del 10% de su distribución geográfica y de un área que es potencialmente atípica en términos del hábitat más común que ocupan. La hidrodinámica y la topografía de estos hábitats menos estudiados contrastan fuertemente con los lechos de algas marinas de la costa exterior, lo que puede provocar diferencias drásticas en la ecología de los hábitats bentónicos con erizos de mar rojos debido a los efectos de la energía de las olas o las mareas (Dayton 1971).

La transferencia de energía entre los límites de los ecosistemas es un proceso importante que estructura los ecosistemas (Polis y Hurd 1996). Los bosques de macroalgas son uno de los ecosistemas más productivos de la tierra; exportan la mayor parte del carbono fijado ahí a ecosistemas terrestres adyacentes (Polis y Hurd 1996), marinos cercanos a la costa (Britton-Simmons et al. 2012, Krumhansl y Scheibling 2012) y de aguas profundas (>1,000 m; Krause-Jensen y Duarte 2016). Los subsidios espaciales de carbono y nutrientes de algas marinas de la zona fótica somera afectan las redes alimentarias del submareal profundo (Vetter 1994, Britton-Simmons et al. 2012), el comportamiento del consumidor (Lowe et al. 2015) y el secuestro de carbono (Krumhansl y Scheibling 2012, Krause-Jensen y Duarte 2016). Se predice que los impulsores de los subsidios de energía variarán entre los hábitats de costa abierta dominados por el mar de fondo y los hábitats protegidos dominados por las mareas, directamente por el transporte físico e indirectamente por la influencia de la transferencia de materia orgánica mediada por animales (Berglund et al. 2003). Este contraste es particularmente importante para los erizos de mar que se alimentan de detritos a la deriva y habitan en estos hábitats. Los erizos de mar en los hábitats de costa abierta son trituradores importantes de los detritos a la deriva que se acumulan en hábitats deposicionales en bosques de algas marinas (Yorke et al. 2019), mientras que los erizos de

attenuation of light with depth; for the purpose of this paper, we defined the mesophotic zone to include the depths immediately below the euphotic zone (18–300 m) (Kahng et al. 2017, Baldwin et al. 2018). The depths within the narrow channels of the Salish Sea regularly exceed the euphotic zone (~18 m; Masson and Peña 2009), often reaching 200–300 m within 1 km of shore, but observations in these habitats have been restricted to trawls (Mortensen 1943) and ROV surveys (Britton-Simmons et al. 2012, Pacunski et al. 2013).

In this study, we compiled independent observations from submersible, ROV, and scuba surveys of exceptionally deep red sea urchins and patterns of drift capture. We predicted that red sea urchins could be found deeper than 125 m in the Salish Sea in areas with hard substrate and drift considering the natural history of this species and that drift capture by deep sea urchins would decrease with depth from the macrophyte zone. Using a combination of crewed submersible and scuba observations, we conducted surveys from 290 m to the surface to test these predictions and understand how drift capture by red sea urchins varies with depth. We paired these findings with observations of deep sea urchins (200 m) in Dume Canyon, California, recorded using an ROV and measurements of drift capture rates by sea urchins at the upper limit of the mesophotic zone in the Salish Sea to improve understanding of the role of red sea urchins in benthic food webs from the shallow macrophyte to subphotic zones. From these observations we put forth 3 hypothetical scenarios to contrast patterns of drift availability and red sea urchin distribution based largely on bathymetry and water motion (Fig. 1). These scenarios reflect habitats represented by our study sites, yet broadly apply across the habitat continuum and lead to specific testable hypotheses on sea urchin–drift interactions. We present these observations as the basis for expanded research of red sea urchins across their range.

MATERIALS AND METHODS

Prediction and observation of deep sea urchins

Published accounts have reported red sea urchins to 125 m in the central Salish Sea (Mortensen 1943), yet maximum water column depths within the Salish Sea exceed 300 m depth—depths equal to those found on the continental slope many kilometers from the open ocean coast. The steep topography of the fjord-like shorelines and the strong tidal currents of the NE Pacific facilitate the delivery of drift to great depths (Britton-Simmons et al. 2012). We predicted that red sea urchins would be present at all depths in which drift could be found amongst hard substrate. To test this prediction, we conducted 2 submersible dives near San Juan Island, Washington, in Cyclops I, a crewed submersible operated by Oceangate. The expedition, publicized on social media using the hashtag '#UrchinSearchin', was funded by the SeaDoc Society and took place during the week of September 11, 2018. For our first dive, we targeted one of the deepest points

mar en los hábitats dominados por mareas pueden atrapar los detritos a la deriva en hábitats no deposicionales y ponerlos a disposición de otros consumidores (e.g., Duggins 1981). Lowe et al. (2015) hipotetizaron que la intensidad de la facilitación trófica del erizo de mar rojo debería aumentar con la profundidad por debajo de la zona de macrófitas, pero la comprensión de la magnitud y la profundidad a la que se produce esta relación se ha visto limitada por la dificultad del acceso a estos hábitats.

Las limitaciones metodológicas han generado sesgos en la intensidad de los estudios entre hábitats y profundidades: todos los hábitats marinos reciben menos estudios que los hábitats terrestres, las observaciones mediante buceo autónomo generalmente se restringen a hábitats cercanos a la costa a <30 m de profundidad y los vehículos operados remotamente (VOR) y las expediciones con sumergibles a bordo de barcos casi siempre exploran ecosistemas en la plataforma mar adentro y ecosistemas de aguas profundas. El estudio de los procesos de ecosistemas marinos bentónicos a menudo requiere equipo especializado como equipo de buceo autónomo, VOR, sumergibles y una variedad de sistemas de muestreo lanzados desde buques de investigación oceanográfica. Además, las actividades a bordo de barcos se ven restringidas temporalmente por las condiciones en la superficie, como tormentas, viento o fuertes corrientes de marea. Estas limitaciones han propiciado que la historia natural de la zona mesofótica cercana a la costa sea especialmente poco estudiada (Menza et al. 2008, Gori et al. 2017). Esta zona está definida por la atenuación de la luz con la profundidad; para propósitos de este estudio, se definió la zona mesofótica de manera que incluyera las profundidades inmediatamente debajo de la zona eufótica (18–300 m) (Kahng et al. 2017, Baldwin et al. 2018). Las profundidades dentro de los canales estrechos del mar de Salish regularmente exceden la zona eufótica (~18 m; Masson y Peña 2009), a menudo hasta 200–300 m de profundidad a ≤1 km mar adentro, pero las observaciones en estos hábitats se han restringido a arrastres (Mortensen 1943) y observaciones con VOR (Britton-Simmons et al. 2012, Pacunski et al. 2013).

En este estudio compilamos observaciones independientes de muestreos realizados mediante un sumergible, VOR y buceo autónomo de erizos de mar rojos a profundidades excepcionales y de patrones de captura de detritos a la deriva. Con base en la historia natural de esta especie, predijimos que los erizos de mar rojos podrían encontrarse a más de 125 m de profundidad en el mar de Salish en áreas con sustrato duro y detritos a la deriva y que la captura de detritos a la deriva por erizos de aguas profundas disminuiría con la profundidad a partir de la zona de macrófitas. Mediante una combinación de observaciones de sumergibles tripulados y de buceo autónomo, realizamos muestreos desde 290 m hasta la superficie para probar estas predicciones y comprender cómo la captura de detritos a la deriva por los erizos de mar rojos varía con la profundidad. Emparejamos estos hallazgos con las observaciones de erizos de aguas profundas (200 m)

in the Salish Sea (~300 m) near Limekiln State Park in Haro Strait, Washington (48°30.888' N, 123°09.737' W). We have observed abundant drift algae and sea urchins within diving depths in this area (Lowe et al. 2015). The location also met our depth and habitat requirements, within close proximity to the Friday Harbor Laboratories, where the expedition was based. The second submersible dive took place south of Friday Harbor Laboratories at Glasshouse in the San Juan Channel (48°31.250' N, 122°58.083' W). The submersible expedition complemented studies of drift capture by sea urchins at sites within the San Juan Channel, including Point Caution, Point George, and Neck Point (for map see Fig. 1 in Britton-Simmons et al. 2009).

Submersible, scuba, and ROV surveys

During the submersible dives, 2 observers recorded depth, time, location, and number of sea urchins with and without drift to quantify the proportion of sea urchins with drift across depths. Observers recorded data separately and counts were averaged. We conservatively use the term 'with drift' to indicate sea urchins that are holding, on top of, or actively feeding on visible drift algae (following Lowe et al. 2015). This method provides conservative estimates of access to drift without disturbing sea urchins, but may miss small pieces of drift algae hidden from view on the oral side of the sea urchin. To confirm observations we recorded video and took photographs from inside the submersible (Fig. 1). We paired submersible-based surveys of the mesophotic benthos (290.0–30.0 m) with scuba observations (33.5–5.0 m) at the same locations, providing contiguous observations across methods from the mesophotic zone to the surface. The day after the submersible survey, the scuba team returned to the site, descended to 33.5 m and swam at a constant depth along non-overlapping areas. Each diver counted sea urchins with and without drift for 5 min before ascending ~6.1 m and repeating the survey. Five-minute surveys were conducted at each depth zone until reaching a depth of 4.6 m. The steep bathymetry of this region made our zig-zag dive surveys feasible; the deepest area surveyed during the submersible dives was ~700 m from shore (Fig. 1d) and the scuba dives covered less than 200 m of horizontal distance. The number of sea urchins with drift was divided by the total number of sea urchins per depth to calculate the proportion of sea urchins with drift. To contrast patterns from the Salish Sea with outer coast habitats, we analyzed data from ROV surveys conducted between 200 and 239 m in Dume Submarine Canyon, California, in 1998 (E. Vetter, unpublished data; <https://cordebank.noaa.gov/science/research.html>). The number of sea urchins and presence or absence of drift was quantified in stills from ROV video. We calculated drift capture by dividing the number of frames with drift and sea urchins by the total number of frames with sea urchins. We focused on proportion of sea urchins with drift because it was not possible to reliably measure area surveyed or density with the

en el cañón Dume, California, registradas usando un VOR y las mediciones de las tasas de captura de detritos a la deriva por erizos de mar en el límite superior de la zona mesofótica en el mar de Salish para entender mejor el papel del erizo de mar rojo en las redes alimentarias bentónicas desde las zonas de macrófitas someras hasta las zonas subfóticas. A partir de estas observaciones, presentamos 3 escenarios hipotéticos para contrastar los patrones de disponibilidad de detritos a la deriva y la distribución del erizo de mar rojo basados en gran parte en la batimetría y el movimiento del agua (Fig. 1). Estos escenarios reflejan los hábitats representados por nuestros sitios de estudio, pero aplican ampliamente a todo el hábitat continuo y conducen a hipótesis específicas comprobables sobre las interacciones entre los erizos de mar y los detritos a la deriva. Presentamos estas observaciones como la base para ampliar la investigación del erizo de mar rojo a lo largo de su área de distribución.

MATERIALES Y MÉTODOS

Predicción y observación de erizos de mar de aguas profundas

Los recuentos publicados han reportado erizos de mar rojos a 125 m de profundidad en el centro del mar de Salish (Mortensen 1943), pero las profundidades máximas de la columna de agua dentro del mar de Salish superan los 300 m de profundidad, profundidades iguales a las que se encuentran en el talud continental a muchos kilómetros de la costa del océano abierto. La topografía escarpada de las costas tipo fiordo y las fuertes corrientes de marea del Pacífico NE facilitan el transporte de detritos a la deriva a grandes profundidades (Britton-Simmons et al. 2012). Predijimos que habría erizos de mar rojos presentes en todas las profundidades en las que hubiera detritos a la deriva entre el sustrato duro. Para probar esta predicción, realizamos 2 inmersiones con un sumergible cerca de la isla de San Juan, Washington, en Cyclops I, un sumergible con tripulación operado por OceanGate. La expedición, publicitada en las redes sociales con la etiqueta "#UrchinSearchin", fue financiada por la SeaDoc Society y se realizó durante la semana del 11 de septiembre de 2018. Para nuestra primera inmersión nos dirigimos a uno de los puntos más profundos del mar Salish (~300 m) cerca del parque estatal Limekiln en el estrecho de Haro, Washington (48°30.888' N, 123°09.737' W). Hemos observado abundantes algas a la deriva y erizos de mar dentro de las profundidades de buceo en esta área (Lowe et al. 2015). La ubicación también cumplió con nuestros requisitos de profundidad y hábitat, a poca distancia de los Laboratorios de Friday Harbor, que fueron la base de la expedición. La segunda inmersión del sumergible se llevó a cabo al sur de los Laboratorios de Friday Harbor en Glasshouse en el canal de San Juan (48°31.250' N, 122°58.083' W). La expedición del sumergible complementó los estudios sobre la captura de los detritos a la deriva por erizos de mar en sitios dentro del

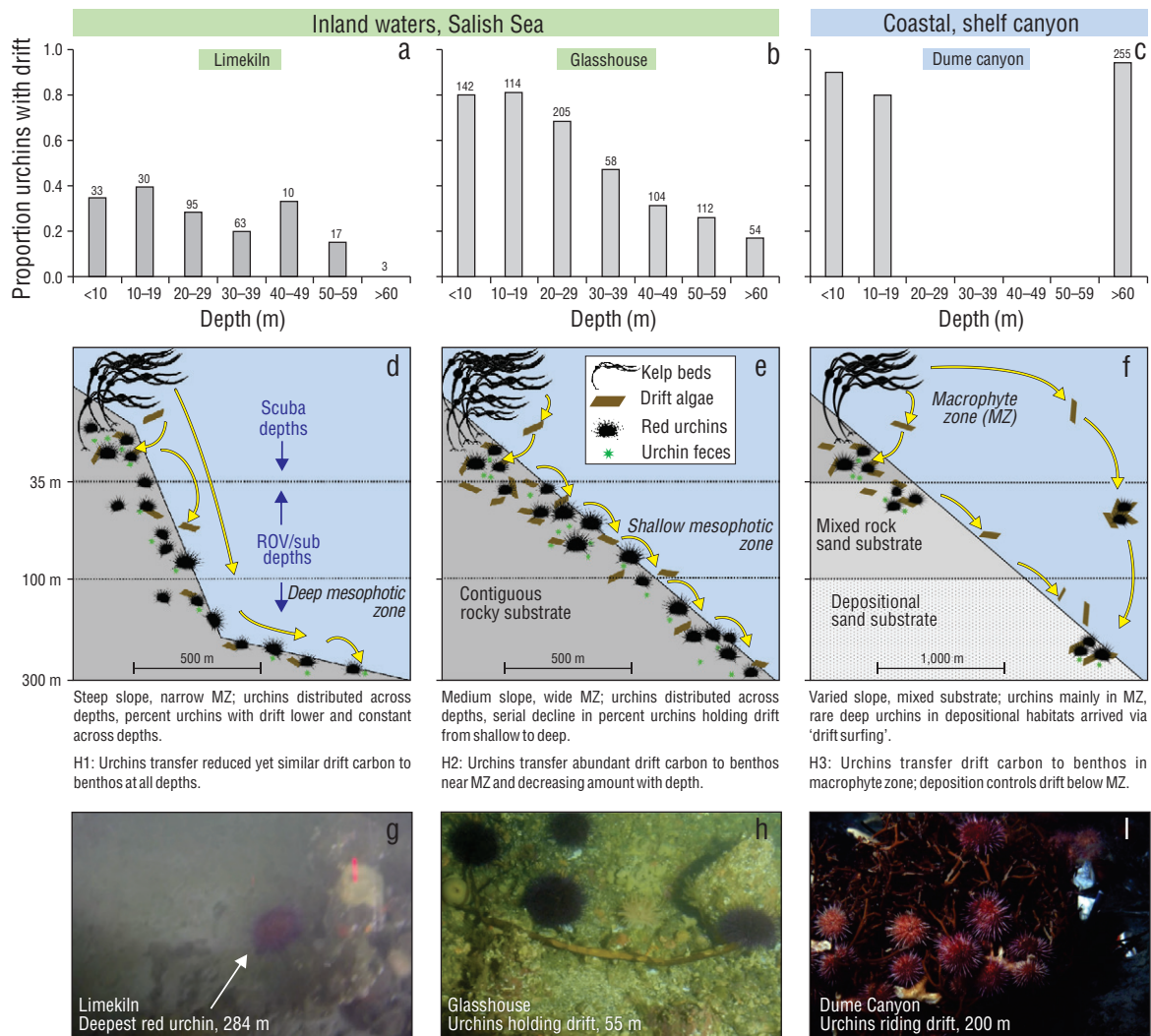


Figure 1. Three hypothesized patterns (H1–H3) of drift algal delivery and capture by red urchins in benthic ecosystems. Observations from macrophyte and mesophotic zones (MZ) suggest different patterns of sea urchin distribution (numbers above bars: total sea urchins observed in depth bin) and drift processing among Salish Sea and open coastal habitats (proportion of sea urchins in each depth with drift; a–c). In the Salish Sea, sea urchins inhabit contiguous rocky reefs to 284 m and actively capture drift algae from the water column, making this resource available to the benthos across depths (d, e, g, h). In contrast, the presence of red sea urchins in mesophotic depths in coastal shelf habitats is likely due to sea urchins ‘surfing’ drift algae from shallow origins to deeper habitats during events like storms, as there is no contiguous rocky habitat to facilitate movement, or suitable settlement substrates, in the deep depositional benthos and nearly all sea urchins are attached to drift (f, i). Shallow bars in Dume Canyon represent expected relationship in kelp forests from literature and therefore do not have sea urchin counts. Scale bar indicates horizontal distance. (g) Snapshot from video of the deepest observed red sea urchin at 284 m with nearby drift kelp at the Limekiln site. (h) Sea urchins and drift from ~50 m depth at Glasshouse (photo: Galloway, Lowe). (i) Sea urchins associated with drift algae in submarine canyon (photo: E. Vetter).

Figura 1. Tres patrones hipotéticos (H1–H3) de la entrega y captura de algas a la deriva por erizos rojos en ecosistemas bentónicos. Las observaciones de las zonas de macrofitas (MZ) y las zonas mesofóticas sugieren diferentes patrones de distribución de los erizos de mar (números arriba de las barras: total de erizos de mar observados en el intervalo de profundidad) y procesamiento de los detritos a la deriva entre el mar Salish y los hábitats costeros abiertos (proporción de erizos de mar en cada profundidad con detritos a la deriva; a–c). En el mar de Salish, los erizos de mar habitan en arrecifes rocosos contiguos hasta 284 m y capturan activamente las algas a la deriva de la columna de agua, lo que hace que este recurso esté disponible para el benthos en todas las profundidades (d, e, g, h). En contraste, la presencia de erizos de mar rojos en las profundidades mesofóticas en los hábitats de la plataforma costera probablemente se deba a que los erizos de mar “surfearon” sobre detritos de algas desde orígenes poco profundos hasta hábitats de mayor profundidad durante eventos como las tormentas, ya que no hay un hábitat rocoso contiguo para facilitar el movimiento, o sustratos de asentamiento adecuados, en el benthos deposicional profundo y casi todos los erizos de mar se encuentran adheridos a los detritos a la deriva (f, i). Las barras poco profundas en el cañón Dume representan la relación esperada en los bosques de algas marinas según la literatura y, por lo tanto, no tienen conteos de erizos de mar. La barra de escala indica la distancia horizontal. (g) Imagen estática del video del erizo de mar rojo observado a la mayor profundidad a 284 m cerca de algas a la deriva en el sitio Limekiln. (h) Erizos de mar y los detritos a la deriva a ~50 m de profundidad en Glasshouse (foto: Galloway, Lowe). (i) Erizos de mar asociados a algas a la deriva en un cañón submarino (foto: E. Vetter).

submersible or from the existing ROV data. Statistical analyses of the proportion of sea urchins with drift across depths was not conducted owing to lack of replication due to the logistical restrictions.

Rate of drift capture

We measured the rate of drift capture by red sea urchins at the upper limit of the mesophotic zone in the San Juan Channel to better understand dynamics of drift transport from the macrophyte zone and capture by sea urchins over time. We conducted repeated daily surveys of sea urchins within a permanent transect to estimate drift capture rates (grams of drift per sea urchin per day) across tide phase, season, and sites within season. We delineated 20 m² (North) and 40 m² (South) of rocky outcrops at 18 m depth with weighted line. The areas were selected to contain approximately the same number of sea urchins (~80). On the first day of the series of collections, all algal biomass was collected from the sea urchins in the area but was not included in the analyses of drift capture rate per day because we could not verify the timeframe over which it had been captured. On each of the next 3 consecutive days, the divers counted sea urchins within the delineated area and carefully collected drift captured by sea urchins. Collecting all algae from all sea urchins in the delineated study areas on a daily basis allowed for a calculation of a minimum daily drift capture rate. The collected drift was brought to the lab, identified to lowest taxonomic unit, blotted and weighed (damp weight) to calculate rate of capture in grams per day. The tide phase study occurred over a 2-week period at 2 locations (North and South Point Caution, San Juan Channel; 48°33.722' N, 123°0.962' W) during spring and neap tidal cycles in June 2012. This location is 6 km from the Glasshouse and 27 km from the Limekiln submersible dive sites. Our previous work at this site had confirmed little to no daily or seasonal movement (displacement) of red sea urchins such that collections likely came from the same individual sea urchins (Lowe et al. 2015). The seasonal investigation took place at South Point Caution (PTCS) in April, June, and September of 2012, and January 2013. The spatial investigation took place at PTCS, Neck Point (NPT; 48°34.791' N, 123°0.992' W) and Point George (PTG; 48°33.393' N, 122°59.105' W) in September 2012. NPT and PTG are within 2.5 km of PTCS on the eastern side of San Juan Channel, Washington.

RESULTS

Submersible and scuba surveys

Minutes into our first submersible dive at Limekiln, we observed a red sea urchin at 284 m, more than doubling the known depth range of this species (Fig. 1g). Visibility was limited, preventing further observations at this depth. We observed sea urchins at intermediate depths on this dive

canal de San Juan, incluidos punta Caution, punta George y punta Neck (para el mapa, ver la Fig. 1 en Britton-Simmons et al. 2009).

Muestreos del sumergible, buceo y VOR

Durante las inmersiones del sumergible, 2 observadores registraron la profundidad, el tiempo, la ubicación y el número de erizos de mar con y sin detritos a la deriva para cuantificar la proporción de erizos de mar con detritos a la deriva en las diferentes profundidades. Los observadores registraron los datos por separado y promediaron los conteos. Usamos de manera conservadora el término “con detritos a la deriva” para indicar que los erizos de mar estaban sosteniendo, estaban encima de, o se estaban alimentando activamente de algas a la deriva visibles (siguiendo a Lowe et al. 2015). Este método proporciona estimaciones conservadoras del acceso a los detritos a la deriva sin perturbar a los erizos de mar, pero puede no identificar pequeños trozos de algas a la deriva ocultos a la vista en el lado oral del erizo de mar. Para confirmar las observaciones, grabamos un video y tomamos fotografías desde el interior del sumergible (Fig. 1). Emparejamos los muestreos de los bentos mesofóticos mediante el sumergible (290.0–30.0 m) con las observaciones de los mismos sitios mediante el buceo autónomo (33.5–5.0 m), lo que dio observaciones contiguas con ambos métodos desde la zona mesofótica hasta la superficie. En el día después del muestreo con el sumergible el equipo de buceo autónomo regresó al sitio, descendió a 33.5 m y nadó a una profundidad constante a lo largo de áreas no superpuestas. Cada buzo contó los erizos de mar con y sin detritos a la deriva durante 5 min antes de ascender ~6.1 m y repetir el muestreo. Se realizaron muestreos de 5 min en cada zona de profundidad hasta alcanzar una profundidad de 4.6 m. La abrupta batimetría de esta región hizo posibles nuestros estudios de buceo en zigzag; el área más profunda estudiada durante las inmersiones del sumergible se localizó a ~700 m de la costa (Fig. 1d) y las inmersiones cubrieron menos de 200 m de distancia horizontal. El número de erizos de mar con detritos a la deriva se dividió entre el número total de erizos de mar por profundidad para calcular la proporción de erizos de mar con detritos a la deriva. Para contrastar los patrones del mar de Salish con los hábitats de costas sobresalientes, analizamos datos de los muestreos con VOR realizados entre 200 y 239 m en el cañón submarino Dume, California, en 1998 (E. Vetter, datos no publicados; <https://cordellbank.noaa.gov/science/research.html>). El número de erizos de mar y la presencia o ausencia de detritos a la deriva se cuantificó a partir de imágenes fijas del video del VOR. Calculamos la captura de detritos a la deriva dividiendo el número de cuadros con detritos a la deriva y erizos de mar por el número total de cuadros con erizos de mar. Nos centramos en la proporción de erizos de mar con detritos a la deriva porque no era posible medir de

(35–70 m), and on a subsequent dive to 63 m at Glasshouse (Fig. 1h). No attached algae were observed below 20 m at either site.

During these 2 surveys, we quantified the proportion of red sea urchins with drift and the depth of each observation (Fig. 1a). In total, 24% of 1,156 sea urchins observed at both sites had drift (Fig. 1a, b). The deepest sea urchin was not holding drift, but a piece of kelp was observed <1 m away. The total number of sea urchins observed in each depth bin did not show a consistent pattern with depth between the surface and 60 m, indicating similar sampling effort across depth bins. These numbers do not reflect quantitative densities given the methods of collection. We observed few sea urchins below 60 m owing to logistical limitations of the submersible dives. These shallow and mesophotic paired surveys showed a serial decline in drift capture with depth below the macroalgal zone at Glasshouse, consistent with our hypothesized pattern, but relatively constant drift capture across depths at Limekiln. These observations contrast data from Dume Submarine Canyon in Southern California, where topography and currents concentrate drift and drift-associated sea urchins. In this habitat, more than 90% of sea urchins were associated with drift (Fig. 1c).

Rate of drift capture

During the repeated dives to collect drift captured by red sea urchins at the upper limit of the mesophotic zone, we collected on average 15.4 g of drift per sea urchin per day across tide phases, sites, and seasons (Fig. 2). There was high variability among collections resulting in no significant differences among contrasts. Average drift captured during the neap tide in June was 23.38 ± 8.4 g of drift per sea urchin per day compared to 21.68 ± 11.0 g of drift per sea urchin per day during the spring tide phase, with no difference between tides (Fig. 2a; ANOVA: $F_{1,8} = 0.15$, $P = 0.70$) or sites (ANOVA: $F_{1,8} = 3.57$, $P = 0.09$), but a significant interaction (ANOVA: $F_{1,8} = 5.45$, $P = 0.05$). Seasonally, drift capture ranged from 2.88 ± 0.79 g of drift per sea urchin per day in April to 22.42 ± 5.44 g of drift per sea urchin per day in June, with no significant effect of season (Fig. 2b; ANOVA: $F_{3,8} = 2.26$, $P = 0.16$). Drift capture did not vary significantly among sites in September (Fig. 2c; ANOVA: $F_{2,6} = 1.08$, $P = 0.40$) and ranged from 4.28 ± 2.00 g of drift per sea urchin per day at PTG to 13.24 ± 10.43 g of drift per sea urchin per day at NPT. The maximum drift capture rate observed was 37.7 g per sea urchin per day during the neap tide series at North Point Caution.

DISCUSSION

The submersible expedition successfully generated evidence to support the prediction that red sea urchins, a kelp-associated species, can be found to 284 m depth within the NE Pacific if preferred substrate and drift are available.

manera confiable el área muestreada o la densidad con el sumergible o con los datos del VOR existentes. No se realizaron análisis estadísticos de la proporción de erizos de mar con detritos a la deriva entre las diferentes profundidades debido a la falta de réplicas por las restricciones logísticas.

Tasa de captura de detritos a la deriva

Medimos la tasa de captura de los detritos a la deriva por erizos de mar rojos en el límite superior de la zona mesofótica en el canal de San Juan para comprender mejor la dinámica del transporte de los detritos a la deriva desde la zona de macrofitas y la captura por erizos de mar a lo largo del tiempo. Realizamos muestreos diarios repetidos de erizos de mar dentro de un transecto permanente para estimar las tasas de captura de detritos a la deriva (gramos de detritos a la deriva por erizo de mar por día) por fase de marea, temporada y sitios dentro de la temporada. Delineamos 20 m² (norte) y 40 m² (sur) de afloramientos rocosos a 18 m de profundidad con cuerdas con pesos. Se seleccionaron las áreas de manera donde hubiera aproximadamente el mismo número de erizos de mar (~80). El primer día de la serie de recolecciones, se recolectaron todas las algas de los erizos de mar en el área, pero no se incluyeron en los análisis de la tasa de captura de detritos a la deriva por día porque no se podía verificar el periodo de tiempo durante el cual se habían capturado. En cada uno de los siguientes 3 d consecutivos, los buzos contaron los erizos de mar dentro del área delineada y recolectaron cuidadosamente los detritos a la deriva capturada por los erizos de mar. La recolección diaria de todas las algas de todos los erizos de mar en las áreas de estudio delineadas permitió calcular una tasa de captura de detritos a la deriva diaria mínima. Los detritos a la deriva recolectados se llevaron al laboratorio, se identificaron a la unidad taxonómica más baja, se secaron y se pesaron (peso húmedo) para calcular la tasa de captura en gramos por día. El estudio de la fase de mareas se llevó a cabo durante un periodo de 2 semanas en 2 ubicaciones (norte y sur de punta Caution, canal de San Juan; 48°33.722' N, 123°0.962' W) durante los ciclos de marea viva y muerta en junio de 2012. Esta locación está a 6 y a 27 km de los sitios de inmersiones del sumergible de Glasshouse y de Limekiln, respectivamente. El trabajo que realizamos anteriormente en este sitio había confirmado que existía de poco a ningún movimiento (desplazamiento) diario o por temporada de los erizos de mar rojos, por lo que las recolecciones probablemente provenían de los mismos individuos de erizos de mar (Lowe et al. 2015). La investigación estacional se llevó a cabo en punta Caution sur (PTCS) en abril, junio y septiembre de 2012, y enero de 2013. La investigación espacial se llevó a cabo en PTCS, punta Neck (PTN; 48°34.791' N, 123°0.992' W) y punta George (PTG; 48°33.393' N, 122°59.105' W) en septiembre de 2012. PTN y PTG se encuentran a 2.5 km de PTCS en el lado este del canal de San Juan, Washington.

Observations below 70 m were limited by conditions and submersible time, but red sea urchins were found at all depths observed, supporting ROV observations that show red sea urchins are common below the macrophyte zone (Britton-Simmons et al. 2012). We observed drift near or captured by sea urchins at all depths from 284 m to the surface. While limited in spatial and temporal breadth, these observations encourage further study of red sea urchins in deep habitats throughout the sheltered waters of the Salish Sea, British Columbia, and SE Alaska that make up ~90% of red sea urchins' range in the NE Pacific.

We observed different patterns of drift capture with depth at the 2 sites in the Salish Sea, contrary to our prediction of a serial decline of drift capture with depth throughout the region. The steep 'wall' site exhibited uniform drift capture across depth, whereas the sloping site was characterized by a decline of drift capture with depth (Fig. 1a, b). We suspect that these patterns are due to bathymetry and kelp communities in the shallows at these 2 sites (Fig. 1, Hypotheses 1 and 2); Limekiln has a steeper slope and narrow shelf dominated by the canopy-forming kelp *Nereocystis luetkeana*, whereas Glasshouse has a gradual slope with a wide shelf dominated by prostrate kelps such as *Saccharina* sp. and *Agarum fimbriatum*. The steep slope at Limekiln likely contributed to the uniform drift capture across depths; drift can rapidly descend across the habitats and strong currents can move drift laterally over long distances across this stretch of coastline (e.g., Berglund et al. 2003, Vanderklift and Wernberg 2008). By comparison, the gradual slope at Glasshouse reduces the sinking rate of drift and may increase the likelihood of drift being captured by shallow sea urchins. These scenarios contrast observations from submarine canyons in which sea urchins are restricted to depositional environments that concentrate drift and are not observed in regions between the kelp forest source and the canyon sink (Fig. 1, Hypothesis 3). The patterns of drift and sea urchin presence in submarine canyons are similar to those observed for green sea urchins, *Strongylocentrotus droebachiensis*, found near aggregations of drift in the mesophotic zone (Filbee-Dexter and Scheibling 2016). Further work is needed to better understand the spatial and compositional variability of drift algal subsidies (Britton-Simmons et al. 2009) and effects on consumers. Despite the limited spatial scope of our submersible surveys, these results highlight the need for further research to investigate the distribution of red sea urchins throughout the NE Pacific, particularly in areas with suitable habitat below the photic zone.

During our repeated sampling of drift captured by sea urchins, we regularly collected more grams of wet weight of algae per sea urchin per day (Fig. 2) than maximum observed consumption rates in the lab. Opportunistic feeding experiments with red sea urchins have shown that they will consume between ~12–22 g wet weight *Nereocystis* (highest rates) and 2–6 g wet weight *Agarum* algae per sea urchin per day (Raymond et al. 2014). Across all of our sampling

RESULTADOS

Muestras del sumergible y buceo

Unos minutos después de iniciar nuestra primera inmersión con el sumergible en Limekiln, observamos un erizo de mar rojo a una profundidad de 284 m, la cual sobrepasa el intervalo de profundidad conocido para esta especie por más del doble (Fig. 1g). La visibilidad era limitada, lo que impidió realizar más observaciones a esta profundidad. Observamos erizos de mar a profundidades intermedias en esta inmersión (35–70 m) y en una inmersión posterior a 63 m en Glasshouse (Fig. 1h). No se observaron algas adheridas por debajo de los 20 m en ambos sitios.

Durante estos 2 muestreos, cuantificamos la proporción de erizos de mar rojos con detritos a la deriva y la profundidad de cada observación (Fig. 1a). En total, el 24% de los 1,156 erizos de mar observados en ambos sitios tenían detritos a la deriva (Fig. 1a, b). El erizo de mar encontrado en lo más profundo no sostenía detritos a la deriva, pero se observó un trozo de alga a <1 m de distancia. El número total de erizos de mar observado en cada intervalo de profundidad no mostró un patrón consistente con la profundidad entre la superficie y 60 m, lo que indica un esfuerzo de muestreo similar en todos los intervalos de profundidad. Estos números no reflejan densidades cuantitativas debido a los métodos de recolección. Observamos pocos erizos de mar por debajo de los 60 m debido a las limitaciones logísticas de las inmersiones del sumergible. Estos muestreos emparejados de la zona somera y la zona mesofótica mostraron una disminución progresiva de la captura de detritos a la deriva con la profundidad por debajo de la zona de macroalgas en Glasshouse, hecho consistente con nuestro patrón hipotético, pero una captura de detritos a la deriva relativamente constante en todas las profundidades en Limekiln. Estas observaciones contrastan con los datos del cañón submarino Dume en el sur de California, donde la topografía y las corrientes concentran los detritos a la deriva y los erizos de mar asociados a estos. En este hábitat, más del 90% de los erizos de mar estaban asociados a los detritos a la deriva (Fig. 1c).

Tasa de captura de detritos a la deriva

Durante las inmersiones repetidas para recolectar los detritos a la deriva capturados por los erizos de mar rojos en el límite superior de la zona mesofótica, recolectamos en promedio 15.4 g de detritos a la deriva por erizo de mar por día en todas las fases de marea, los sitios y las temporadas (Fig. 2). La alta variabilidad que existió entre las recolecciones resultó en diferencias no significativas entre los contrastes. La captura promedio de detritos a la deriva durante la marea muerta en junio fue 23.38 ± 8.4 g de detritos a la deriva por erizo de mar por día comparada con 21.68 ± 11.0 g de detritos a la deriva por erizo de mar por día durante la fase de la marea viva, sin diferencias entre las

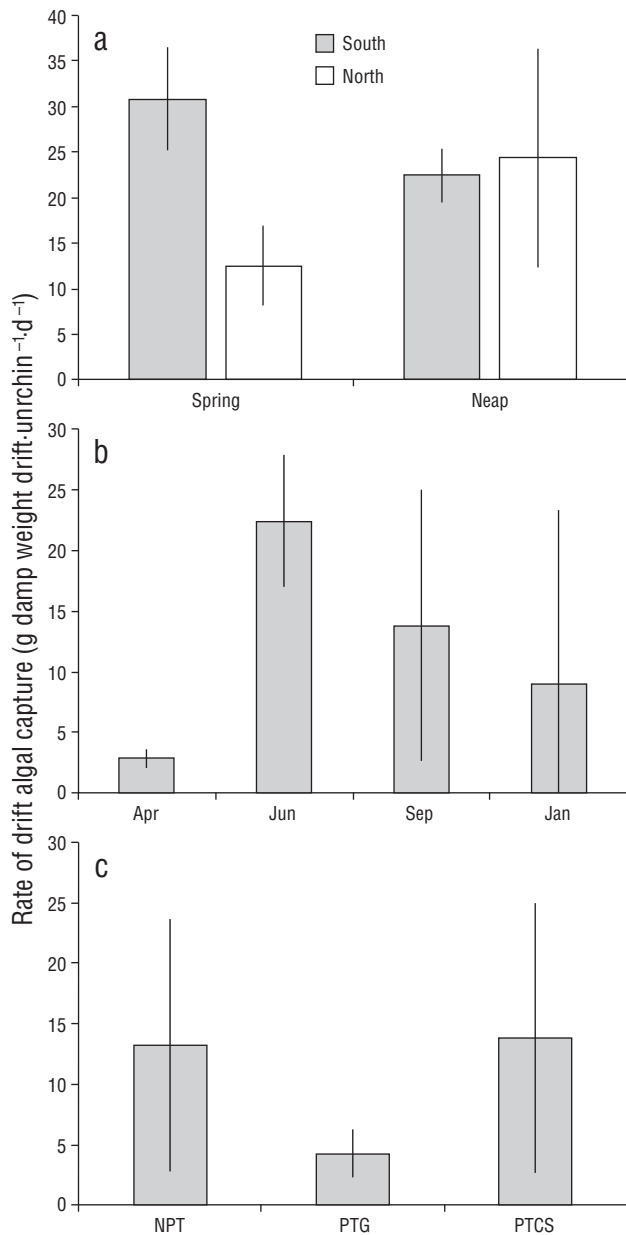


Figure 2. Rates of drift algal capture by red sea urchins at 18 m depth in San Juan Channel, Salish Sea. Means calculated over 3 d (after an initial clearance of all drift from all sea urchins on day zero) in each of the spring and neap tide phases at 2 sites (North and South Point Caution) (a), the 4 seasons at Point Caution South (b), and Neck Point (NPT), Point George (PTG), and Point Caution (PTCS) in September 2012 (c).

Figura 2. Tasas de captura de detritos de algas a la deriva por erizos de mar rojos a 18 m de profundidad en el canal de San Juan, mar de Salish. Las medias calculadas durante 3 d (después de una eliminación inicial de todos los detritos a la deriva de todos los erizos de mar el día cero) en las fases de marea muerta y viva en 2 sitios (norte y sur de punta Caution) (a), las 4 temporadas en el sur de punta Caution (b), y punta Neck (NPT), punta George (PTG) y punta Caution (PTCS) en septiembre de 2012 (c).

mareas (Fig. 2a; ANDEVA: $F_{1,8} = 0.15$, $P = 0.70$) o los sitios (ANDEVA: $F_{1,8} = 3.57$, $P = 0.09$), pero con una interacción significativa (ANDEVA: $F_{1,8} = 5.45$, $P = 0.05$). Estacionalmente, la captura de detritos a la deriva varió de 2.88 ± 0.79 g de detritos a la deriva por erizo de mar por día en abril a 22.42 ± 5.44 g de detritos a la deriva por erizo de mar por día en junio, sin un efecto significativo de la temporada (Fig. 2b; ANDEVA: $F_{3,8} = 2.26$, $P = 0.16$). La captura de detritos a la deriva no varió significativamente entre los sitios en septiembre (Fig. 2c; ANDEVA: $F_{2,6} = 1.08$, $P = 0.40$) y varió de 4.28 ± 2.00 g de detritos a la deriva por erizo de mar por día en PTG a 13.24 ± 10.43 g de detritos a la deriva por erizo de mar por día en PTN. La tasa máxima de captura de detritos a la deriva observada fue de 37.7 g por erizo de mar por día durante la serie de mareas muertas en punta Caution norte.

DISCUSIÓN

La expedición con el sumergible proporcionó evidencia de manera exitosa para respaldar la predicción de que el erizo de mar rojo, una especie asociada a las algas marinas, se puede encontrar a 284 m de profundidad dentro del Pacífico NE si hay el tipo de sustrato preferido por la especie y detritos a la deriva. Las observaciones por debajo de los 70 m estuvieron limitadas por las condiciones y el tiempo con el sumergible, pero se encontraron erizos de mar rojos en todas las profundidades observadas, lo que respalda las observaciones con VOR que muestran que los erizos de mar rojos son comunes debajo de la zona de macrófitas (Britton-Simmons et al. 2012). Observamos detritos a la deriva cerca de o capturados por erizos de mar a todas las profundidades desde 284 m hasta la superficie. Aunque limitadas en amplitud espacial y temporal, estas observaciones incitan a nuevos estudios de los erizos de mar rojos en hábitats profundos a lo largo de las aguas protegidas del mar Salish, Columbia Británica, y el sureste de Alaska que constituyen el ~90% de la distribución del erizo de mar rojo en el Pacífico NE.

Observamos diferentes patrones de captura de detritos a la deriva con la profundidad en los 2 sitios en el mar de Salish, lo cual contradice nuestra predicción de una disminución gradual de la captura de los detritos a la deriva con la profundidad en toda la región. El sitio de “pared” empinado exhibió una captura de detritos a la deriva uniforme en todas las profundidades, mientras que el sitio inclinado se caracterizó por una disminución de la captura de detritos a la deriva con la profundidad (Fig. 1a, b). Sospechamos que estos patrones se deben a la batimetría y a las comunidades de algas marinas en los bajíos en estos 2 sitios (Fig. 1, Hipótesis 1 y 2); Limekiln tiene una pendiente más pronunciada y una plataforma estrecha dominada por las algas *Nereocystis luetkeana* formadoras de dosel, mientras que Glasshouse tiene una pendiente gradual con una plataforma ancha dominada por algas postradas como *Saccharina* sp. y *Agarum fimbriatum*. La pendiente pronunciada en Limekiln probablemente contribuyó a la captura uniforme de los

events, sea urchins captured an average of 15.4 g wet weight of drift per sea urchin per day and as much as 37.7 g wet weight of drift per sea urchin per day. We observed seasonal variation consistent with previous studies of drift abundance (Vadas 1968, Kingsford 1992, Britton-Simmons et al. 2009), although the high variation among consecutive days led to a non-significant effect of season. Using the average sea urchin density within the San Juan Channel of 0.49 sea urchins per square meter (Britton-Simmons et al. 2012), we calculated that sea urchins capture ~7.5 g of algae per square meter per day. When coupled with sea urchin's poor assimilation efficiency (Dethier et al. 2019, Yorke et al. 2019) and their broad spatial distribution, these data suggest sea urchins facilitate delivery of a substantial energy subsidy (2.5 kg of algae per square meter per year) to the benthos both directly by providing access of captured drift to other mesograzers (e.g., Duggins 1981) and indirectly through fecal material consumed by benthic invertebrates, which could not have otherwise accessed this carbon source (e.g., Mamelona and Pelletier 2005).

Sea urchin-mediated spatial subsidies to benthic food webs are a potentially important, yet still largely unexplored, ecological difference between open coast and inland waters—especially below the photic zone (Fig. 1). In coastal shelf and deep-sea habitats, large amounts of drift with aggregations of sea urchins and other grazers have been documented for deep depositional environments (Gage and Tyler 1993, Vetter 1994). The presence of both drift and red sea urchins in deep offshore shelf habitats is largely controlled by physical forces that export this interaction offshore and to depth (Fig. 1, Hypothesis 3:c, f, i). The lack of hard substrate in deep depositional environments or in combination with water motion may lead to unfavorable conditions for red sea urchins (Vetter and Dayton 1999). While red sea urchins from shallow reefs have been observed at 200 m in submarine canyons on the North American west coast, they were almost exclusively found attached to drift (Fig. 1i, Dume Canyon, California; data courtesy of E. Vetter). These sea urchins likely ‘surf’ on the drift to deep depositional habitats (Fig. 1f), as they are not observed in other nearby habitats outside of the kelp forest. In this scenario, red sea urchins are relatively unimportant to mediating the drift subsidy, as other invertebrates (including other sea urchin species) quickly colonize and consume the detritus (Vetter 1994, Harrold et al. 1998, Vetter and Dayton 1999). In contrast, red sea urchins inhabit contiguous rocky reefs from the surface to at least 284 m in the Salish Sea (Fig. 1; Mortensen 1943, Britton-Simmons et al. 2012). Red sea urchins capture drift transported by currents with their long spines (George and Carrington 2014) and make it available to non-depositional habitats that may not otherwise receive drift subsidies. This type of animal-mediated spatial subsidy may be unique, as most popular examples document nutrient transfer across ecosystem boundaries by migrating, rather than stationary ‘filter feeding’, animals such as anadromous fish, whales,

detritos a la deriva en todas las profundidades; los detritos a la deriva pueden descender rápidamente a través de los hábitats y las corrientes fuertes pueden mover los detritos a la deriva lateralmente a largas distancias a lo largo de este tramo de costa (e.g., Berglund et al. 2003, Vanderkluft y Wernberg 2008). Por otro lado, la pendiente gradual en Glasshouse reduce la velocidad de hundimiento de los detritos a la deriva y puede aumentar la probabilidad de que sean capturados por los erizos de mar de aguas poco profundos. Estos escenarios contrastan con las observaciones de los cañones submarinos donde los erizos de mar están restringidos a ambientes de depósito que concentran detritos a la deriva y no se observan en las regiones entre la fuente del bosque de algas y el sumidero del cañón (Fig. 1, Hipótesis 3). Los patrones de la presencia de detritos a la deriva y erizos de mar en los cañones submarinos son similares a los observados para los erizos de mar verdes, *Strongylocentrotus droebachiensis*, que se encuentran cerca de agregaciones de detritos a la deriva en la zona mesofótica (Filbee-Dexter y Scheibling 2016). Se necesitan más investigaciones para comprender mejor la variabilidad espacial y composicional de los subsidios de detritos de algas marinas a la deriva (Britton-Simmons et al. 2009) y sus efectos sobre los consumidores. A pesar del alcance espacial limitado de nuestros muestreos con el sumergible, estos resultados resaltan la necesidad de realizar más investigaciones para investigar la distribución de los erizos de mar rojos en todo el Pacífico NE, particularmente en áreas con hábitat adecuado debajo de la zona fótica.

Durante nuestro muestreo repetido de detritos a la deriva capturados por erizos de mar, regularmente recolectamos más gramos de peso húmedo de algas por erizo de mar por día (Fig. 2) que lo que observamos en las tasas máximas de consumo en el laboratorio. Los experimentos de alimentación oportunista con erizos de mar rojos han demostrado que éstos consumirán entre ~12–22 g de peso húmedo de *Nereocystis* (tasas más altas) y 2–6 g de peso húmedo de algas *Agarum* por erizo de mar por día (Raymond et al. 2014). En todos nuestros eventos de muestreo, los erizos de mar capturaron en promedio 15.4 g de peso húmedo de detritos a la deriva por erizo de mar por día y hasta 37.7 g de peso húmedo de detritos a la deriva por erizo de mar por día. Observamos una variación estacional consistente con los estudios previos de la abundancia de detritos a la deriva (Vadas 1968, Kingsford 1992, Britton-Simmons et al. 2009), aunque la alta variación entre días consecutivos condujo a un efecto no significativo de la temporada. Usando la densidad promedio de los erizos de mar dentro del canal de San Juan de 0.49 erizos de mar por metro cuadrado (Britton-Simmons et al. 2012), calculamos que los erizos de mar capturan ~7.5 g de algas por metro cuadrado por día. Estos datos en conjunto con la baja eficiencia de asimilación del erizo de mar (Dethier et al. 2019, Yorke et al. 2019) y su amplia distribución espacial sugieren que los erizos de mar facilitan un subsidio

hippos, or zooplankton (Bianchi et al. 2013, Doughty et al. 2016, Stears et al. 2018).

Our observation of exceptionally deep red sea urchins expands our understanding of their natural history and creates opportunities for new research in the nearshore mesophotic zone, particularly in the area of animal-mediated ecological subsidies. Growing evidence suggests this is an important vector for kelp-derived nutrients in benthic habitats (Mamelona and Pelletier 2005, Dethier et al. 2019, Yorke et al. 2019), but field observations are still lacking. The source of these deep sea urchins, and whether recruitment occurs at depth, are unknown; many red sea urchins are likely dislodged from the shallows and sink to depth. These centenarians do not make large-scale vertical movements in the Salish Sea and may therefore influence benthic processes over decades to centuries (Ebert 2008, Lowe et al. 2015). Climate change is increasingly manifesting in the oceans in the form of marine warming events (Oliver et al. 2018), which diminish kelp forests (Straub et al. 2019). The resulting changes in coastal carbon cycling will affect mesophotic food webs. Our focus here has been on red sea urchins, but temperate and polar latitudes throughout the world host productive macroalgal communities and sea urchins that feed on them (Ling et al. 2015). Tracking the interaction between urchins and algae from within to outside the macrophyte zone is thus a globally relevant process. These deep habitats exist throughout red sea urchins' range, providing contrast to shallow 'typical' habitats and an exciting research opportunity for this model organism of marine ecology.

ACKNOWLEDGMENTS

Funding for the Cyclops 1 dives was provided by the SeaDoc Society, with critical logistical support from Joe Gaydos (SeaDoc), the OceanGate staff, and Friday Harbor Laboratories staff and Director Billie Swalla. We thank the reviewers of this manuscript for their helpful suggestions and mentorship. Eric Vetter reviewed an earlier version of the manuscript and kindly provided data from Dume Canyon, California. We thank the submersible pilot Stockton Rush, and the co-investigators from other associated research projects: Adam Summers, MacKenzie Geringer, David Duggins, Matt Baker, Gary Greene. We are grateful for our fellow team #UrchinSearchin submersible divers, including Mo Turner, Pema Kitaeff, and Abigail Ames.

REFERENCES

- Baldwin CC, Tornabene L, Robertson DR. 2018. Below the Mesophotic. *Sci Rep.* 8(1):4920. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23067-1>
- Berglund J, Mattila J, Rönnerberg O, Heikkilä J, Bonsdorff E. 2003. Seasonal and inter-annual variation in occurrence and biomass of rooted macrophytes and drift algae in shallow bays. *Estuarine, Coastal Shelf Sci.* 56(5–6):1167–1175. [https://doi.org/10.1016/s0272-7714\(02\)00326-8](https://doi.org/10.1016/s0272-7714(02)00326-8)

energético sustancial (2.5 kg de algas por metro cuadrado por año) al bentos ya sea de manera directa al proporcionar acceso a los detritos a la deriva capturados por ellos a otros mesopastores (e.g., Duggins 1981) o indirecta por medio del material fecal consumido por invertebrados bentónicos, que de otra manera no podrían haber accedido a esta fuente de carbono (e.g., Mamelona y Pelletier 2005).

Los subsidios espaciales a las redes tróficas bentónicas proporcionados por los erizos de mar son una diferencia ecológica potencialmente importante, aunque aún en gran parte inexplorada, entre la costa abierta y las aguas tierra adentro, especialmente por debajo de la zona fótica (Fig. 1). En los hábitats de la plataforma costera y aguas profundas, se han documentado grandes cantidades de detritos a la deriva con agregaciones de erizos de mar y otros pastadores para ambientes de depósito profundos (Gage y Tyler 1993, Vetter 1994). La presencia tanto de erizos de mar rojos como de detritos a la deriva en los hábitats de aguas profundas de la plataforma marítima es controlada en gran medida por las fuerzas físicas que exportan esta interacción fuera de la costa y a la profundidad (Fig. 1, Hipótesis 3:c, f, i). La falta de sustrato duro en ambientes de depósito profundos o su combinación con el movimiento del agua puede conducir a condiciones desfavorables para los erizos de mar rojos (Vetter y Dayton 1999). Aunque se han observado erizos de mar rojos de arrecifes poco profundos a 200 m en cañones submarinos en la costa oeste de América del Norte, se han observado casi exclusivamente adheridos a los detritos a la deriva (Fig. 1i, cañón Dume, California; datos cortesía de E. Vetter). Estos erizos de mar probablemente "surfearon" sobre los detritos a la deriva hacia hábitats de depósito profundos (Fig. 1f), ya que no se observaron en otros hábitats cercanos fuera del bosque de algas. En este escenario, los erizos de mar rojos son relativamente poco importantes en la distribución del subsidio de los detritos a la deriva, ya que otros invertebrados (incluidas otras especies de erizos de mar) colonizan y consumen rápidamente los detritos (Vetter 1994, Harrold et al. 1998, Vetter y Dayton 1999). Por el contrario, los erizos de mar rojos habitan en arrecifes rocosos contiguos desde la superficie hasta al menos 284 m en el mar de Salish (Fig. 1; Mortensen 1943, Britton-Simmons et al. 2012). Los erizos de mar rojos capturan los detritos a la deriva transportados por las corrientes con sus espinas largas (George y Carrington 2014) y los ponen a disposición de hábitats no deposicionales que de otra manera no recibirían subsidios de detritos a la deriva. Este tipo de subsidio espacial mediado por animales puede ser único, ya que los ejemplos más comunes documentan la transferencia de nutrientes a través de los límites de los ecosistemas mediante la migración, en lugar de la "alimentación por filtración" estacionaria, de animales como peces anádromos, ballenas, hipopótamos o zooplankton (Bianchi et al. 2013, Doughty et al. 2016, Stears et al. 2018).

Nuestra observación de erizos de mar rojos en aguas excepcionalmente profundas amplía nuestra comprensión de

- Bianchi D, Stock C, Galbraith ED, Sarmiento JL. 2013. Diel vertical migration: Ecological controls and impacts on the biological pump in a one-dimensional ocean model. *Global Biogeochem Cycles*. 27(2):478–491.
<https://doi.org/10.1002/gbc.20031>
- Britton-Simmons KH, Foley G, Okamoto D. 2009. Spatial subsidy in the subtidal zone: utilization of drift algae by a deep subtidal sea urchin. *Aquat Biol*. 5:233–243.
<https://doi.org/10.3354/ab00154>
- Britton-Simmons KH, Rhoades AL, Pacunski RE, Galloway AWE, Lowe AT, Sosik EA, Dethier MN, Duggins DO. 2012. Habitat and bathymetry influence the landscape-scale distribution and abundance of drift macrophytes and associated invertebrates. *Limnol Oceanogr*. 57(1):176–184.
<https://doi.org/10.4319/lo.2012.57.1.0176>
- Dayton PK. 1971. Competition, disturbance, and community organization: The provision and subsequent utilization of space in a rocky intertidal community. *Ecol Monogr*. 41(4):351–389.
<https://doi.org/10.2307/1948498>
- Dethier MN, Hoins G, Kobelt J, Lowe AT, Galloway AWE, Schram JB, Raymore M, Duggins DO. 2019. Feces as food: the nutritional value of urchin feces and implications for benthic food webs. *J Exp Mar Biol Ecol*. 514–515:95–102.
<https://doi.org/10.1016/j.jembe.2019.03.016>
- Doughty CE, Roman J, Faurby S, Wolf A, Haque A, Bakker ES, Malhi Y, Dunning JB Jr, Svenning JC. 2016. Global nutrient transport in a world of giants. *Proc Natl Acad Sci USA*. 113(4):868–873.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1502549112>
- Duggins DO. 1981. Interspecific facilitation in a guild of benthic marine herbivores. *Oecologia*. 48(2):157–163.
<https://doi.org/10.1007/bf00347958>
- Ebert TA. 2008. Longevity and lack of senescence in the red sea urchin *Strongylocentrotus franciscanus*. *Exp Gerontol*. 43(8):734–738.
<https://doi.org/10.1016/j.exger.2008.04.015>
- Filbee-Dexter K, Scheibling RE. 2016. Spatial patterns and predictors of drift algal subsidy in deep subtidal environments. *Estuaries Coasts*. 39(6):1724–1734.
<https://doi.org/10.1007/s12237-016-0101-5>
- Gage JD, Tyler PA. 1993. Deep-sea biology: a natural history of organisms at the deep-sea floor. Paperback ed. UK: Cambridge University Press. xvi, 504 p.
<https://doi.org/10.1017/s0025315400070156>
- George MN, Carrington E. 2014. Spine reorientation influences drift particle capture efficiency in sea urchins. *J Exp Mar Biol Ecol*. 461:102–106.
<https://doi.org/10.1016/j.jembe.2014.08.001>
- Gori A, Bavestrello G, Grinyó J, Dominguez-Carrió C, Ambroso S, Bo M. 2017. Animal forests in deep coastal bottoms and continental shelf of the Mediterranean Sea. In: Rossi S, Bramanti L, Gori A, Orejas C (eds.), *Marine Animal Forests: The Ecology of Benthic Biodiversity Hotspots*. Cham (Switzerland): Springer International Publishing. p. 1–28.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-17001-5_5-1
- Harrold C, Light K, Lisin K. 1998. Organic enrichment of submarine-canyon and continental-shelf benthic communities by macroalgal drift imported from nearshore kelp forests. *Limnol Oceanogr*. 43(4):669–678.
<https://doi.org/10.4319/lo.1998.43.4.0669>
- Harrold C, Reed DC. 1985. Food availability, sea urchin grazing, and kelp forest community structure. *Ecology*. 66(4):1160–1169.
<https://doi.org/10.2307/1939168>
- Hartney KB, Grorud KA. 2002. The effect of sea urchins as biogenic structures on the local abundance of a temperate reef fish. *Oecologia*. 131(4):506–513.
<https://doi.org/10.1007/s00442-002-0908-6>

su historia natural y crea oportunidades para nuevas investigaciones en la zona mesofótica cercana a la costa, particularmente en el área de subsidios ecológicos mediados por animales. La creciente evidencia sugiere que este es un vector importante para los nutrientes derivados de las algas marinas en hábitats bentónicos (Mamelona y Pelletier 2005, Dethier et al. 2019, Yorke et al. 2019), pero aún faltan observaciones de campo. Se desconoce el origen de estos erizos de aguas profundas y si el reclutamiento ocurre en la profundidad; es probable que muchos erizos de mar rojos sean desplazados de las aguas poco profundas y se hundan a aguas profundas. Estos animales centenarios no realizan movimientos verticales de gran escala en el mar de Salish y pueden, por lo tanto, influir en los procesos bentónicos durante décadas o hasta por siglos (Ebert 2008, Lowe et al. 2015). El cambio climático se está manifestando cada vez más en los océanos en forma de eventos de calentamiento marinos (Oliver et al. 2018), los cuales disminuyen los bosques de algas marinas (Straub et al. 2019). Los cambios resultantes en el ciclo del carbono costero afectarán las redes alimentarias mesofóticas. Aquí nos enfocamos en el erizo de mar rojo, pero las latitudes templadas y polares de todo el mundo albergan comunidades productivas de macroalgas y de erizos de mar que se alimentan de ellas (Ling et al. 2015). El seguimiento de la interacción entre los erizos y las algas desde el interior hasta fuera de la zona de macrófitas es, por lo tanto, un proceso de importancia mundial. Estos hábitats profundos existen en toda la distribución del erizo de mar rojo, lo que proporciona un contraste con los hábitats “típicos” poco profundos y una emocionante oportunidad de investigación para este organismo modelo de la ecología marina.

AGRADECIMIENTOS

Los fondos para las inmersiones del Cyclops 1 fueron proporcionados por la SeaDoc Society, con el crítico apoyo logístico de Joe Gaydos (SeaDoc), el personal de OceanGate y el personal y la directora Billie Swalla de los Laboratorios Friday Harbor. Agradecemos a los revisores de este manuscrito por sus útiles sugerencias y tutoría. Eric Vetter revisó una versión anterior del manuscrito y amablemente proporcionó los datos del cañón Dume, California. Agradecemos al piloto del sumergible Stockton Rush y a los co-investigadores de otros proyectos de investigación asociados: Adam Summers, MacKenzie Geringer, David Duggins, Matt Baker, Gary Greene. Agradecemos a nuestros compañeros del equipo de buzos de sumergibles #Urchin-Searchin, incluidos Mo Turner, Pema Kitaeff y Abigail Ames.

Traducido al español por Claudia Michel-Villalobos.

- Kahng S, Copus JM, Wagner D. 2017. Mesophotic Coral Ecosystems. In: Rossi S, Bramanti L, Gori A, Orejas C (eds.), Marine Animal Forests: The Ecology of Benthic Biodiversity Hotspots. Cham (Switzerland): Springer International Publishing. p. 185–206.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-21012-4_4
- Kato S, Schroeter SC. 1985. Biology of the red sea urchin, *Strongylocentrotus franciscanus*, and its fishery in California. Mar Fish Rev. 47(3):1–20.
- Kingsford MJ. 1992. Drift algae and small fish in coastal waters of northeastern New Zealand. Mar Ecol Prog Ser. 80:41–55.
<https://doi.org/10.3354/meps080041>
- Krause-Jensen D, Duarte CM. 2016. Substantial role of macroalgae in marine carbon sequestration. Nat Geosci. 9(10):737–742.
<https://doi.org/10.1038/ngeo2790>
- Krumhansl KA, Scheibling RE. 2012. Production and fate of kelp detritus. Mar Ecol Prog Ser. 467:281–302.
<https://doi.org/10.3354/meps09940>
- Ling SD, Scheibling RE, Rassweiler A, Johnson CR, Shears N, Connell SD, Salomon AK, Norderhaug KM, Pérez-Matus A, Hernández JC, et al. 2015. Global regime shift dynamics of catastrophic sea urchin overgrazing. Philos Trans R Soc B. 370(1659):20130269.
<https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0269>
- Lowe AT, Whippo R, Galloway AWE, Britton-Simmons KH, Dethier MN. 2015. Sedentary urchins influence benthic community composition below the macroalgal zone. Mar Ecol. 36(2):129–140.
<https://doi.org/10.1111/maec.12124>
- Mamelona J, Pelletier É. 2005. Green urchin as a significant source of fecal particulate organic matter within nearshore benthic ecosystems. J Exp Mar Biol Ecol. 314(2):163–174.
<https://doi.org/10.1016/j.jembe.2004.08.026>
- Masson D, Peña A. 2009. Chlorophyll distribution in a temperate estuary: The Strait of Georgia and Juan de Fuca Strait. Estuarine, Coastal Shelf Sci. 82(1):19–28.
<https://doi.org/10.1016/j.ecss.2008.12.022>
- Menza C, Kendall M, Hile S. 2008. The deeper we go the less we know. Rev Biol Trop- Int J Trop Biol. 56(suppl. 1):11–24.
<https://doi.org/10.15517/rbt.v56i0.5575>
- Mofjeld HO, Larsen LH. 1984. Tides and tidal currents of the inland waters of Western Washington. NOAA Technical Memo. ERL PMEL-56. 64 p.
- Mortensen T. 1943. A monograph of the Echinoidea. Copenhagen, Denmark: CA Reitzel.
- Nishizaki MT, Ackerman JD. 2007. Juvenile–adult associations in sea urchins (*Strongylocentrotus franciscanus* and *S. droebachiensis*): protection from predation and hydrodynamics in *S. franciscanus*. Marine Biology. 151(1):135–145.
<https://doi.org/10.1007/s00227-006-0462-6>
- Oliver ECJ, Donat MG, Burrows MT, Moore PJ, Smale DA, Alexander LV, Benthuyens JA, Feng M, Gupta AS, Hobday AJ, et al. 2018. Longer and more frequent marine heatwaves over the past century. Nat Commun. 9(1):1324.
<https://doi.org/10.1038/s41467-018-03732-9>
- Pacunski RE, Palsson WA, Greene HG. 2013. Estimating fish abundance and community composition on rocky habitats in the San Juan Islands using a small remotely operated vehicle: Washington Department of Fish and Wildlife. 57 p.
- Polis GA, Hurd SD. 1996. Linking marine and terrestrial food webs: Allochthonous input from the ocean supports high secondary productivity on small islands and coastal land communities. The American Naturalist. 147(3):396–423.
<https://doi.org/10.1086/285858>
- Raymond WW, Lowe AT, Galloway AWE. 2014. Degradation state of algal diets affects fatty acid composition but not size of red urchin gonads. Mar Ecol Prog Ser. 509:213–225.
<https://doi.org/10.3354/meps10888>
- Rogers-Bennett L, Bennett WA, Fastenau HC, Dewees CM. 1995. Spatial variation in red sea urchin reproduction and morphology: Implications for harvest refugia. Ecol Appl. 5(4):1171–1180.
<https://doi.org/10.2307/2269364>
- Rogers-Bennett L, Okamoto D. 2020. Chapter 32, *Mesocentrotus franciscanus* and *Strongylocentrotus purpuratus*. In: Lawrence JM (ed.), Sea Urchins: Biology and Ecology. San Diego (CA): Elsevier. (Developments in Aquaculture and Fisheries Science; vol. 43). p. 593–608.
<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819570-3.00032-9>
- Starko S, Bailey LA, Creviston E, James KA, Warren A, Brophy MK, Danasel A, Fass MP, Townsend JA, Neufeld CJ. 2019. Environmental heterogeneity mediates scale-dependent declines in kelp diversity on intertidal rocky shores. PLOS ONE. 14(3):e0213191.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213191>
- Stears K, McCauley DJ, Finlay JC, Mpemba J, Warrington IT, Mutayoba BM, Power ME, Dawson TE, Brashares JS. 2018. Effects of the hippopotamus on the chemistry and ecology of a changing watershed. Proc Natl Acad Sci USA. 115(22):E5028–E5037.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1800407115>
- Straub SC, Wernberg T, Thomsen MS, Moore PJ, Burrows MT, Harvey BP, Smale DA. 2019. Resistance, extinction, and everything in between—the diverse responses of seaweeds to marine heatwaves. Frontiers in Marine Science. 6:763.
<https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00763>
- Syvitski JPM, Burrell DC, Skei JM. 1987. Fjords: Processes and products. New York: Springer-Verlag. 379 p.
<https://doi.org/10.1007/978-1-4612-4632-9>
- Tegner MJ. 2001. Chapter 19, The ecology of *Strongylocentrotus franciscanus* and *Strongylocentrotus purpuratus*. Amsterdam (The Netherlands): Elsevier. (Developments in aquaculture and fisheries science; vol. 32). p. 307–331.
[https://doi.org/10.1016/S0167-9309\(01\)80019-3](https://doi.org/10.1016/S0167-9309(01)80019-3)
- Vadas RL. 1968. The ecology of Agarum and the kelp bed community [dissertation]. Washington: University of Washington.
- Vanderklift MA, Kendrick GA. 2005. Contrasting influence of sea urchins on attached and drift macroalgae. Mar Ecol Prog Ser. 299:101–110.
<https://doi.org/10.3354/meps299101>
- Vanderklift MA, Wernberg T. 2008. Detached kelps from distant sources are a food subsidy for sea urchins. Oecologia. 157(2):327–335.
<https://doi.org/10.1007/s00442-008-1061-7>
- Vetter EW. 1994. Hotspots of benthic production. Nature. 372(6501):47.
<https://doi.org/10.1038/372047a0>
- Vetter EW, Dayton PK. 1999. Organic enrichment by macrophyte detritus, and abundance patterns of megafaunal populations in submarine canyons. Mar Ecol Prog Ser. 186:137–148.
<https://doi.org/10.3354/meps186137>
- Wernberg T, Filbee-Dexter K. 2018. Grazers extend blue carbon transfer by slowing sinking speeds of kelp detritus. Scientific Reports. 8(1):17180.
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-34721-z>
- Yorke CE, Page HM, Miller RJ. 2019. Sea urchins mediate the availability of kelp detritus to benthic consumers. Proc R Soc B: Biol Sci. 286(1906):20190846.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2019.0846>

Received May 2020,
 accepted August 2020.

Impacts of boat mooring disturbance on productivity and respiration in rhodolith beds from Catalina Island, USA

Impactos de las perturbaciones por el atraque de embarcaciones en la productividad y la respiración de los mantos de rodolitos de la isla Catalina, EUA

Dillon Dolinar¹, Diana Steller², Scott Gabara^{1,3}, Billie Beckley¹, Ju-Hyoung Kim⁴, Matthew Edwards^{1*}

¹ Department of Biology, San Diego State University, 5500 Campanile Dr. San Diego, CA 92182, USA.

² Moss Landing Marine Laboratories, 8272 Moss Landing Road, Moss Landing, CA 95039, USA.

³ Department of Environmental Science and Policy, University of California, Davis, USA.

⁴ Faculty of Marine Applied Biosciences, Kunsan National University, Gunsan 54150, South Korea.

* Corresponding author. E-mail: medwards@sdsu.edu

ABSTRACT. Aggregations of rhodoliths, habitat-forming, free-living coralline red algae, form beds throughout the world's oceans. On Santa Catalina Island, California, USA, rhodolith beds occur in protected coves where dense networks of moorings support recreational boating activities. The chains and spreader lines associated with these moorings chronically disturb the benthos, crushing the rhodoliths and reducing biodiversity of rhodolith-associated communities. Here, we examine how mooring disturbance affects rhodolith photosynthesis and respiration and characterize rhodolith-associated invertebrate respiration to better understand how this disturbance affects productivity by the ecosystem. To do this, we used a respiration chamber in the laboratory to measure the amount of oxygen produced and/or consumed by undisturbed (intact) rhodoliths, mooring-disturbed ("crushed") rhodolith fragments, and laboratory-crushed rhodoliths, and the amount of oxygen consumed by the dominant rhodolith-associated invertebrate taxa. Our results indicate that rhodolith maximum net productivity is significantly reduced and rhodolith respiration is significantly increased by mooring disturbance in the field, but that crushing of the rhodolith thalli alone does not result in immediate changes to either of these measures. Rather, it appears that chronic crushing of rhodolith thalli, which results in their mortality and rhodolith habitat degradation, is required to elicit these metabolic changes. In addition, we observed variation in respiration rates among the 5 most commonly observed invertebrate taxa within the Catalina Island rhodolith beds, and scaling these respiration rates by each species' abundance in the rhodolith beds and in adjacent mooring-disturbed (degraded) habitats indicated that mooring disturbance results in a decrease in community respiration by approximately 2.61 mg O₂·m⁻²·d⁻¹, with individual species contributing between 0.05 mg O₂·m⁻²·d⁻¹ and 1.84 mg O₂·m⁻²·d⁻¹ to this decrease. This study provides insight into the consequences of anthropogenic disturbance on productivity and respiration in these ecologically important habitats.

Key words: boat mooring, disturbance, productivity, respiration, rhodolith.

RESUMEN. Las agregaciones de rodolitos, algas rojas coralinas de vida libre formadoras de hábitats, forman mantos en todos los océanos del mundo. En la isla Santa Catalina, California, EUA, los mantos de rodolitos se encuentran en ensenadas protegidas donde hay redes de atraques que apoyan las actividades de navegación recreativa. Las cadenas y líneas esparcidoras asociadas a estos atraques perturban crónicamente el benthos, ya que aplastan los rodolitos y reducen la biodiversidad de las comunidades asociadas a los rodolitos. Aquí, examinamos cómo la perturbación por los atraques afecta la fotosíntesis y la respiración de los rodolitos y caracterizamos la respiración de los invertebrados asociados a los rodolitos para comprender mejor cómo esta perturbación afecta la productividad del ecosistema. Para esto, usamos una cámara de respiración en el laboratorio para medir la cantidad de oxígeno producido y/o consumido por los rodolitos no perturbados (intactos), los fragmentos de rodolitos perturbados por atraques ("triturrados") y los rodolitos triturados en el laboratorio, y la cantidad de oxígeno consumido por los taxones de invertebrados dominantes asociados a los rodolitos. Nuestros resultados indican que la perturbación causada por los atraques en el campo redujo significativamente la productividad neta máxima de los rodolitos y aumentó significativamente la respiración de estos, pero que la trituración de los talos de los rodolitos por sí sola no ocasionó cambios inmediatos en ninguna de estas medidas. Por lo contrario, parece que la trituración crónica de los talos de rodolitos, la cual ocasiona su muerte y la degradación de su hábitat, es necesaria para provocar estos cambios metabólicos. Además, observamos variaciones en las tasas de respiración entre los 5 taxones de invertebrados más comúnmente observados dentro de los mantos de rodolitos de la isla Catalina, y la extrapolación de estas tasas de respiración con la abundancia de cada especie en los mantos de rodolitos y en los hábitats adyacentes perturbados por los atraques (degradados) indicó que la perturbación de los atraques ocasiona una disminución en la respiración de la comunidad de aproximadamente 2.61 mg O₂·m⁻²·d⁻¹, con una contribución por especie de entre 0.05 mg O₂·m⁻²·d⁻¹ y 1.84 mg O₂·m⁻²·d⁻¹ a esta disminución. Este estudio proporciona una perspectiva de las consecuencias de la perturbación antropogénica en la productividad y la respiración en estos hábitats de importancia ecológica.

Palabras clave: atraque de embarcaciones, perturbación, productividad, respiración, rodolito.

INTRODUCTION

Physical disturbances are important in structuring natural ecosystems (Hobbs and Huenneke 1992, Worm et al. 2006, Pickett and White 2013). They can result in increased mortality, changes to the physical environment, altered food web structure, and reduced ecosystem functioning. Although disturbances of moderate strength and/or frequency can result in enhanced biodiversity (Connell 1978), severe and/or frequent disturbances can result in near-complete mortality of some species (e.g., Edwards and Estes 2006) and ultimately lead to lower biodiversity. Disturbances can be especially important if they result in the loss of foundation species, which provide primary habitat and refuge for other species, enhance biodiversity, modify the environment, and regulate energy flow (Jones et al. 1994). The loss of a foundation species can therefore result in altered ecosystem function (Ellison et al. 2005), which includes controlling rates of primary productivity by the autotrophs, and respiration by the autotrophs, heterotrophs and microbes (del Giorgio et al. 1997, Duarte and Agustí 1998, Edwards et al. 2020). In the coastal marine environment, conspicuous foundation species create coral reefs (Luckhurst and Luckhurst 1978), mangrove habitats (Nagelkerken et al. 2008), kelp forests (Graham 2004, Graham et al. 2007), seagrass beds (Orth et al. 1984), and rhodolith beds (Graham et al. 2016, Tompkins and Steller 2016, Gabara et al. 2018, McConnico et al. 2018).

Rhodoliths (also referred to as maerl) are free-living, coralline red algae (Corallinales) that occur in all the world's oceans (Bosence 1983, Foster 2001). They provide habitat for numerous species on their thallus exteriors (i.e., epiflora and epifauna), within and among their calcified branches (i.e., cryptofauna), and within the underlying sediments they cover (i.e., infauna) (Steller et al. 2003, Grall et al. 2006). When they form large aggregations or "beds" over otherwise soft sedimentary seafloor, they sequester carbon (Mao et al. 2020), increase structural complexity of the environment (Foster 2001, Steller et al. 2003, Gabara et al. 2018), increase larval settlement, retention, and metamorphosis (Steller and Cáceres-Martínez 2009), reduce predation stress (Kamenos et al. 2004a, b), and aggregate food resources for associated consumers (Grall et al. 2006, Gabara 2020). Consequently, they act as foundation species that create important habitat that supports highly diverse communities of commercially and ecologically important finfish and invertebrate species (Foster 2001, Steller et al. 2003), and rhodoliths are therefore increasingly recognized for their conservation value (Airoldi et al. 2008). Further, these invertebrate communities can exhibit high rates of respiration (Newell 1973), and reductions in the abundance and/or body sizes of these species due to habitat degradation can therefore potentially alter net ecosystem productivity and respiration (Brey 2010).

Despite being highly calcified, rhodoliths are branched algae that fragment and grow slowly at a rate of less than $1 \text{ mm} \cdot \text{y}^{-1}$ (Foster 2001). Although rhodoliths require low

INTRODUCCIÓN

Las perturbaciones físicas son importantes en la estructuración de los ecosistemas naturales (Hobbs y Huenneke 1992, Worm et al. 2006, Pickett y White 2013). Estos pueden ocasionar un aumento en la mortalidad, cambios en el entorno físico, alteración de la estructura de la red alimentaria y reducción del funcionamiento del ecosistema. Aunque las perturbaciones de intensidad y/o frecuencia moderada pueden ocasionar un aumento en la biodiversidad (Connell 1978), las perturbaciones severas y/o frecuentes pueden ocasionar una mortalidad casi completa de algunas especies (e.g., Edwards y Estes 2006) y, con el tiempo, conducir a una menor biodiversidad. Las perturbaciones pueden ser especialmente importantes si ocasionan la pérdida de especies fundamentales, las cuales proporcionan hábitats primarios y refugio para otras especies, mejoran la biodiversidad, modifican el ambiente y regulan el flujo de energía (Jones et al. 1994). Por lo tanto, la pérdida de una especie fundamental puede alterar el funcionamiento del ecosistema (Ellison et al. 2005), que incluye el control de las tasas de productividad primaria por parte de los autótrofos, y la respiración de los autótrofos, heterótrofos y microbios (del Giorgio et al. 1997, Duarte y Agustí 1998, Edwards et al. 2020). En el ambiente marino-costero, las especies fundamentales conspicuas crean arrecifes de coral (Luckhurst y Luckhurst 1978), hábitats de manglar (Nagelkerken et al. 2008), bosques de algas marinas (Graham 2004, Graham et al. 2007), praderas de pastos marinos (Orth et al. 1984) y mantos de rodolitos (Graham et al. 2016, Tompkins y Steller 2016, Gabara et al. 2018, McConnico et al. 2018).

Los rodolitos (también conocidos como *maerl*) son algas rojas corallinas de vida libre (Corallinales) que se encuentran en todos los océanos del mundo (Bosence 1983, Foster 2001). Estos proporcionan hábitat para numerosas especies en el exterior de sus talos (i.e., epiflora y epifauna), dentro y entre sus ramas calcificadas (i.e., cryptofauna) y dentro de los sedimentos subyacentes que cubren (i.e., infauna) (Steller et al. 2003, Grall et al. 2006). Cuando forman grandes agregaciones o "mantos" sobre fondos marinos que de lo contrario serían fondos blandos sedimentarios, los rodolitos secuestran carbono (Mao et al. 2020), aumentan la complejidad estructural del ambiente (Foster 2001, Steller et al. 2003, Gabara et al. 2018), aumentan el asentamiento, la retención y la metamorfosis de las larvas (Steller y Cáceres-Martínez 2009), reducen el estrés por depredación (Kamenos et al. 2004a, b) y forman agregaciones de recursos alimentarios para los consumidores asociados (Grall et al. 2006, Gabara 2020). En consecuencia, actúan como especies fundamentales que crean un hábitat importante que sustenta a comunidades muy diversas de especies de peces e invertebrados de importancia comercial y ecológica (Foster 2001, Steller et al. 2003), por lo que los rodolitos son cada vez más reconocidos por su valor de conservación (Airoldi et al. 2008). Además, estas comunidades de invertebrados pueden exhibir altas tasas

to moderate physical disturbance for normal development (Steller and Foster 1995), they are susceptible to strong disturbances, from which they are thought to recover slowly. Indeed, anthropogenic impacts from fishing, boat moorings, pollution, anchoring, eutrophication, and sedimentation are all known to have negative effects on rhodolith bed communities (Hall-Spencer and Moore 2000, Tompkins and Steller 2016). In particular, chronic crushing from boat mooring chains has been identified as particularly detrimental to rhodolith beds on Catalina Island, California, USA, in that it reduces live rhodolith cover and habitat structural complexity, increases sedimentation, and reduces biodiversity, all with long-lasting effects on habitat quality (Tompkins and Steller 2016, Gabara et al. 2018). What remains unclear is how this crushing impacts other aspects of ecosystem functioning, such as primary productivity and respiration. To address this, we ask 3 integrated questions: (1) Do productivity and respiration differ between “intact” rhodoliths from undisturbed locations and rhodoliths that have been crushed into fragments by mooring chains, (2) Does crushing of the rhodolith thalli alter their productivity and respiration, and (3) What are the respiration rates of the most common invertebrate epifauna that inhabit the rhodolith beds? We combine our estimates of invertebrate respiration for the 5 most commonly observed epibenthic species with general estimates of their abundances in Catalina rhodolith beds and in adjacent mooring-disturbed (degraded) habitats to model how reductions in their abundance may contribute to changes in ecosystem respiration. Our overarching goal is to better understand how chronic disturbance from boat moorings affects productivity and respiration of rhodoliths and the species that they support.

MATERIALS AND METHODS

Study Site

Catalina Island, USA (33.40° N, 118.40° W), is one of California’s top recreational boating destinations, with about one million visitors each year (<https://www.catalinatours.com/catalina-island-by-the-numbers/>), over 50,000 of whom stay on private boats and use the moorings provided by Catalina’s harbors. The island is roughly 32 km south of the city of Los Angeles and is part of the California Channel Islands. It is oriented Northwest-Southeast and experiences the warm water from the Southern California Countercurrent. While the nearshore habitat around the island is primarily rocky reef dominated by kelp and rockweed forests that are interspersed with sandy habitats, 7 rhodolith beds were recently identified in shallow (5–25 m) soft-bottom, protected bays where high densities of recreational boat mooring systems also occur (Tompkins 2011, Tompkins and Steller 2016). The chains on these moorings have led to crushing of the rhodoliths and severe degradation of the rhodolith beds over large swaths of the benthos (Gabara et

de respiración (Newell 1973), y las reducciones en la abundancia y/o el tamaño corporal de estas especies debido a la degradación del hábitat pueden, por lo tanto, alterar potencialmente la productividad y la respiración netas del ecosistema (Brey 2010).

A pesar de estar altamente calcificados, los rodolitos son algas ramificadas que se fragmentan y crecen lentamente a una velocidad de menos de $1 \text{ mm}\cdot\text{año}^{-1}$ (Foster 2001). Los rodolitos requieren una alteración física de baja a moderada para su desarrollo normal (Steller y Foster 1995); sin embargo, son susceptibles a perturbaciones fuertes, de las cuales se piensa que se recuperan lentamente. De hecho, se sabe que los impactos antropogénicos de la pesca, los ataques de embarcaciones, la contaminación, el anclaje, la eutrofización y la sedimentación tienen un efecto negativo en las comunidades de mantos de rodolitos (Hall-Spencer y Moore 2000, Tompkins y Steller 2016). En particular, el aplastamiento crónico por las cadenas de atraque de embarcaciones se ha identificado como particularmente perjudicial para los mantos de rodolitos en la isla Catalina, California, EUA, ya que reduce la cobertura de rodolitos vivos y la complejidad estructural del hábitat, incrementa la sedimentación y reduce la biodiversidad, todo con efectos duraderos en la calidad del hábitat (Tompkins y Steller 2016, Gabara et al. 2018). Lo que no está claro es cómo este aplastamiento impacta otros aspectos del funcionamiento del ecosistema, como la productividad primaria y la respiración. Para abordar esto, hacemos 3 preguntas integradas: (1) ¿Difieren la productividad y la respiración entre los rodolitos “intactos” de lugares no perturbados y los rodolitos que han sido triturados y convertidos en fragmentos por cadenas de atraque? (2) ¿La trituración de los talos de los rodolitos altera su productividad y respiración? (3) ¿Cuáles son las tasas de respiración de los invertebrados epifaunales más comunes que habitan en los mantos de rodolitos? Combinamos nuestras estimaciones de la respiración de invertebrados para las 5 especies epibentónicas más comúnmente observadas con las estimaciones generales de sus abundancias en los mantos de rodolitos de Catalina y en hábitats adyacentes alterados por los atraques (degradados) para modelar cómo las reducciones en sus abundancias podrían contribuir a cambios en la respiración del ecosistema. Nuestro objetivo general es comprender mejor cómo la perturbación crónica de los atraques de las embarcaciones afecta la productividad y la respiración de los rodolitos y a las especies que sustentan.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

La isla Catalina, EUA (33.40° N, 118.40° W), es uno de los principales destinos de navegación recreativa de California, con aproximadamente un millón de visitantes cada año (<https://www.catalinatours.com/catalina-island-by-the-numbers/>), de los cuales más de 50,000 se alojan en

al. 2018). The result of chronic crushing by these chains is visible areas of white, crushed carbonate rhodolith sand that support lower abundances of invertebrate species (Gabara et al. 2018). Crushed rhodolith fragments (hereafter CRF), which are pigmented and alive but otherwise reduced in size relative to intact rhodoliths (Kim et al. 2020), occur at the edges of these disturbed areas, where they abut the undisturbed rhodolith beds. CRF hereafter consists of both broken rhodolith branches and rhodolith core areas.

Sample collection

Approximately 200 intact rhodoliths (*Lithothamnion australe*) (Foslie) and approximately 100 g wet weight (ww) of CRF were collected from 4–10 m water depth at the Isthmus Reef rhodolith bed in January 2019 (see map in Tompkins and Steller 2016). The intact rhodoliths were collected from within the center of a living bed (i.e., where there was approximately 100% cover of undisturbed rhodoliths) and the CRF were collected at the interface of this bed in an area where boat mooring chains physically contact the benthos and crush the living rhodoliths (Fig. 1). In addition, 10 haphazardly selected individuals of the 5 most common epibenthic invertebrates observed in the rhodolith beds at Catalina Island were collected from within 3 rhodolith beds at Isthmus Reef, Emerald Bay, and Cherry Cove (see map in Tompkins and Steller 2016). These included wavy turban snail (*Megastraea undosa*), cone snail (*Californiconus californicus*), top shell snail (*Lirularia* sp.), white urchin (*Lytechinus pictus*), and the California aglaja (*Navanax inermis*). All organisms were transported to the Wrigley Institute for Environmental Science (WIES) in darkened coolers and immediately placed in flow-through seawater tables in an indoor laboratory, where they were held under ambient temperature conditions until processing (within 24 h).

Effects of crushing on rhodolith productivity and respiration

To examine if productivity and respiration differ between naturally occurring undisturbed rhodoliths and rhodoliths that have been crushed into fragments by boat mooring chains, we compared maximum net productivity and respiration between intact rhodoliths and CRF. Specifically, 9 replicate intact rhodoliths of similar size (1.80 ± 0.91 g ww) (mean \pm SD) and 10 replicate similarly sized (1.71 ± 0.76 g ww) samples of CRF were obtained from the laboratory holding tank, blotted dry with a paper towel, and weighed. Then, working with one replicate at a time, each rhodolith or CRF sample was placed into a 96-mL water-jacketed respiration chamber that was connected to the flow-through seawater system at WIES, which kept the chamber at ambient seawater temperature during the measurements (15.9 ± 0.5 °C). The respiration chamber was connected to a YSI OBOD probe

barcos privados y utilizan los atraques proporcionados por los puertos de Catalina. La isla está, aproximadamente, a 32 km al sur de la ciudad de Los Ángeles y es parte de las islas del Canal de California. La isla tiene una orientación noroeste-sureste y recibe el agua cálida de la contracorriente del sur de California. Aunque el hábitat cerca de la costa que rodea la isla es principalmente arrecife rocoso dominado por bosques de macroalgas y de algas de roca que se intercalan con hábitats arenosos, 7 mantos de rodolitos fueron identificados recientemente en bahías protegidas someras (5–25 m) de fondo blando donde también hay altas densidades de sistemas de atraques para embarcaciones recreativas (Tompkins 2011, Tompkins y Steller 2016). Las cadenas de estos atraques han provocado el aplastamiento de los rodolitos y la grave degradación de los mantos de rodolitos en grandes franjas del bentos (Gabara et al. 2018). El aplastamiento crónico por estas cadenas resulta en áreas visibles de arena blanca de carbonato de rodolito triturado que soportan una menor abundancia de especies de invertebrados (Gabara et al. 2018). Los fragmentos de rodolitos triturados (en lo sucesivo FRT), los cuales están pigmentados y vivos pero reducidos en tamaño comparados con los rodolitos intactos (Kim et al. 2020), se encuentran en los bordes de estas áreas perturbadas, donde colindan con los mantos de rodolitos intactos. En lo sucesivo, FRT consta tanto de ramas rotas de rodolitos como de partes del núcleo de los rodolitos.

Recolección de las muestras

Se recolectaron aproximadamente 200 rodolitos intactos (*Lithothamnion australe*) (Foslie) y aproximadamente 100 g de peso húmedo (ph) de FRT a 4–10 m de profundidad en el manto de rodolitos del arrecife Isthmus en enero de 2019 (ver mapa en Tompkins y Steller 2016). Los rodolitos intactos se recolectaron del centro de un manto vivo (i.e., donde había aproximadamente un 100% de cobertura de rodolitos intactos) y los FRT se recogieron en la interfaz de este manto en un área donde las cadenas de atraque de embarcaciones tienen contacto físico con el bentos y aplastan los rodolitos vivos (Fig. 1). Además, 10 individuos seleccionados aleatoriamente de los 5 invertebrados epibentónicos más comúnmente observados en los mantos de rodolitos en la isla Catalina fueron recolectados del interior de 3 mantos de rodolitos en el arrecife Isthmus, la bahía Emerald y la bahía Cherry (ver mapa en Tompkins y Steller 2016). Estos incluían el caracol panocha (*Megastraea undosa*), el caracol cono (*Californiconus californicus*), el caracol concha superior (*Lirularia* sp.), el erizo blanco (*Lytechinus pictus*) y el aglaja de California (*Navanax inermis*). Todos los organismos fueron transportados al Instituto Wrigley de Ciencias Ambientales (WIES, por sus siglas en inglés) en hieleras oscuras y colocados inmediatamente en mesas de agua de mar de flujo continuo en un laboratorio cerrado, donde se mantuvieron a temperatura ambiente hasta su procesamiento (en las 24 h siguientes).

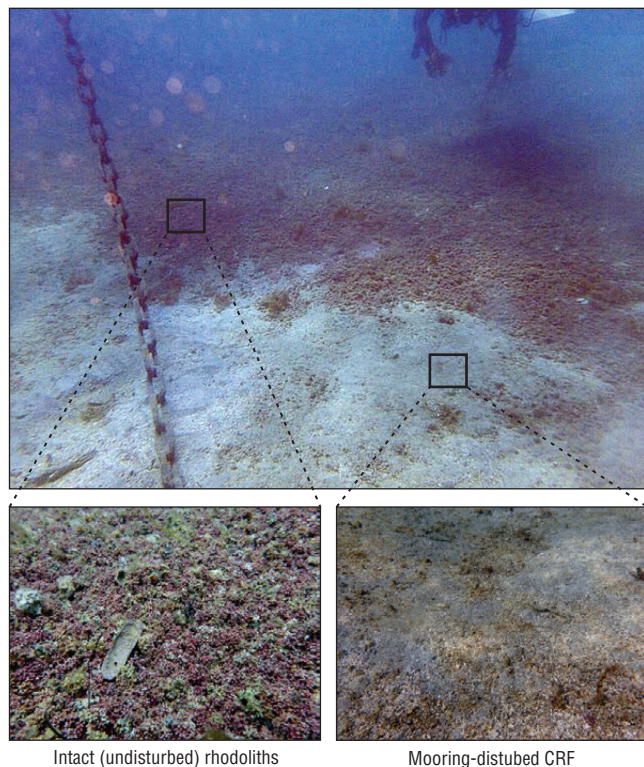


Figure 1. Photo showing undisturbed (intact) rhodolith bed and mooring-disturbed crushed rhodolith fragments (CRF). The undisturbed rhodolith bed is pictured with inset showing intact rhodoliths on the left panel, and the mooring-disturbed CRF habitat is pictured with inset showing CRF on the right panel. The interface between the 2 habitats is clearly delineated.

Figura 1. Fotografía que muestra un manto de rodolito no perturbado (intacto) y fragmentos de rodolitos triturados (CRF) perturbados por atraques. El manto de rodolitos no perturbado se indica con un recuadro que muestra los rodolitos intactos en el panel izquierdo, y el hábitat de los FRT perturbados por atraques se muestra con un recuadro que los resalta en el panel derecho. La interfaz entre los 2 hábitats está claramente delineada.

(self-stirring Optical BOD probe) that measured seawater dissolved oxygen (DO) within the chamber every 5 s using a ProODO optical DO meter (YSI; Yellow Springs, OH, USA). The respiration chamber was placed in front of a halogen light source (PAR38 Wide Flood 60 deg. soft white light bulb) that provided an irradiance of approximately $350 \mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ to the chamber's interior, which exceeded *L. australe's* saturation irradiance and allowed for estimates of maximum photosynthesis without inducing photoinhibition (Kim et al. 2020). To first estimate initial dark respiration, the chamber was covered with an opaque black cloth and decreases in DO within the chamber were recorded for 15 min. The cloth was then removed, exposing the rhodoliths and/or CRF to saturating irradiances, and net productivity was subsequently measured by recording increases in

Efectos de la trituración en la productividad y la respiración del rodolito

Para examinar si la productividad y la respiración difieren entre los rodolitos no perturbados de ambientes naturales y los rodolitos que fueron triturados en fragmentos por las cadenas de atraque de embarcaciones, comparamos la productividad y respiración máxima neta entre los rodolitos intactos y los FRT. Específicamente, se obtuvieron 9 réplicas de rodolitos intactos de tamaños similares ($1.80 \pm 0.91 \text{ g ph}$) (media \pm desviación estándar) y 10 réplicas de muestras de FRT de tamaños similares ($1.71 \pm 0.76 \text{ g ph}$) del tanque de almacenamiento del laboratorio; estas se secaron con una toalla de papel y se pesaron. Posteriormente, trabajando con una réplica a la vez, cada muestra de rodolito o FRT fue colocada en una cámara de respiración con chaqueta de agua de 96 mL conectada al sistema de flujo continuo de agua de mar en WIES, que mantuvo la cámara a la temperatura del ambiente del agua de mar durante las mediciones ($15.9 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$). La cámara de respiración estaba conectada a una sonda óptica BOD (OBOD, por sus siglas en inglés) de YSI (OBOD con agitación automática) que midió el oxígeno disuelto (OD) en el agua de mar dentro de la cámara cada 5 s con un medidor de OD óptico ProODO (YSI; Yellow Springs, OH, EUA). La cámara de respiración se colocó frente a una fuente de luz halógena (RFA38 iluminación amplia 60 grados, bombilla de luz blanca suave) que proporcionó una irradiancia de aproximadamente $350 \mu\text{mol fotones}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ al interior de la cámara, la cual excedió la irradiancia de saturación de *L. australe* y permitió estimar la fotosíntesis máxima sin inducir la fotoinhibición (Kim et al. 2020). Para estimar la respiración oscura inicial primero, se cubrió la cámara con una tela negra opaca y se registró la disminución en el OD dentro de la cámara durante 15 min. Posteriormente, se retiró la tela para exponer los rodolitos y/o FRT a irradiancias de saturación, y subsecuentemente se midió la productividad neta registrando los aumentos de OD durante los siguientes 15 min. Después de tomar las mediciones, los rodolitos y/o FRT fueron extraídos y pesados. La productividad neta y la respiración para cada muestra de rodolito y FRT se determinaron calculando la tasa de cambio del OD ($\Delta \text{mg O}_2\cdot\text{g talo ph}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) dentro de la cámara usando regresiones lineales separadas. Estas estimaciones fueron extrapoladas con la biomasa de cada rodolito y luego expandidas para reflejar las tasas por hora.

Para examinar si la trituración física de los talos de los rodolitos afecta su máxima productividad y/o la respiración neta, trituramos rodolitos intactos en el laboratorio de manera experimental y medimos los cambios en sus metabolismos. Específicamente, se obtuvieron 6 rodolitos de tamaños similares ($1.51 \pm 0.66 \text{ g ph}$) del tanque de retención del laboratorio, se secaron con papel secante y se pesaron. Cada rodolito se colocó en la cámara de respiración y se midió su respiración y la productividad neta como se describió anteriormente. Posteriormente, cada rodolito fue retirado de la cámara de respiración y triturado de manera experimental en

DO over the following 15 min. Following measurement, the rhodoliths and/or CRF were removed and weighed. Respiration and net productivity for each rhodolith and CRF sample were determined by calculating the rate of change in DO ($\Delta \text{mg O}_2 \cdot \text{g thallus ww}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) within the chamber using separate linear regressions. These estimates were scaled by each rhodolith's biomass and then expanded to reflect hourly rates.

To examine if physical crushing of the rhodolith thalli affects their maximum net productivity and/or respiration, we experimentally crushed intact rhodoliths in the laboratory and measured changes in their metabolisms. Specifically, 6 rhodoliths of similar size ($1.51 \pm 0.66 \text{ g ww}$) were obtained from the laboratory holding tank, blotted dry with a paper towel, and weighed. Each rhodolith was placed in the respiration chamber and its respiration and net productivity was measured as described above. Following this, each rhodolith was removed from the respiration chamber and experimentally crushed into small ($<0.25 \text{ cm}$) CRF by dropping a 60-g lead fishing weight on it over approximately 1 min. These CRF, including the core, were returned to the respiration chamber and their respiration and net productivity was re-measured. The differences in productivity (Δ_{Prod}) and respiration (Δ_{Res}) between the pre-crushing (first) measurements and post-crushing (second) measurements were then determined for each intact and crushed rhodolith. To ensure any differences observed between the 2 physiology measurements were indeed due to crushing and not simply due to the rhodoliths and/or CRF being measured a second time (i.e., a handling effect), the 9 intact rhodoliths that were used to compare undisturbed rhodoliths and mooring disturbed CRF (discussed above) were also measured a second time, which served as a procedural (handling) control. To do this, each of those rhodoliths were removed from the respiration chamber immediately after measurement, left out for 1 min (the approximate time it took to crush the rhodoliths with the lead weight), and then returned to the chamber, where its respiration and net productivity were re-measured. This determined there were little-to-no differences between the first and second measurements (see Results), which informed us that any differences observed in the CRF were indeed due to crushing the thalli.

Quantifying rhodolith-associated invertebrate respiration

Respiration rates of *M. undosa*, *C. californicus*, *Lirularia* sp., *L. pictus*, and *N. inermis* were quantified using a respiration chamber in the laboratory. Specifically, 10 individuals of each species were chosen haphazardly from the holding tank and placed individually in a 1-L water-jacketed respiration chamber similar to the one described above. The chamber was connected to the WIES flow-through seawater system, which kept the chamber seawater at ambient temperature ($15.9 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$). Respiration for each organism was estimated by measuring changes in DO within the chamber for 15 min under ambient light ($>100 \mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$).

FRT pequeños ($<0.25 \text{ cm}$) dejando caer un peso de plomo de pesca de 60 g sobre este durante aproximadamente 1 min. Estos FRT, incluido el núcleo, fueron devueltos a la cámara de respiración y se volvió a medir su respiración y productividad neta. A continuación, se determinaron las diferencias en la productividad (Δ_{Prod}) y la respiración (Δ_{Res}) entre las mediciones pre-trituración (primeras) y post-trituración (segundas) para cada rodolito intacto y triturado. Para asegurar que cualquier diferencia observada entre las 2 mediciones fisiológicas se debía realmente al aplastamiento y no simplemente a que los rodolitos y/o el FRT se midieron por segunda vez (i.e., un efecto de la manipulación), los 9 rodolitos intactos que se usaron para comparar rodolitos no perturbados y los FRT perturbados por los atraques (discutidos anteriormente) también fueron medidos una segunda vez, lo que sirvió como un control del procedimiento (manipulación). Para esto, cada uno de estos rodolitos fue retirado de la cámara de respiración inmediatamente después de la medición, dejado afuera durante 1 min (el tiempo aproximado que tomó triturar los rodolitos con el peso de plomo) y posteriormente devuelto a la cámara, donde su respiración y la productividad neta se volvió a medir. Esto determinó que había poca o ninguna diferencia entre la primera y la segunda medición (ver Resultados), lo que nos informó que cualquier diferencia observada en los FRT se debía efectivamente al aplastamiento de los talos.

Cuantificación de la respiración de los invertebrados asociados a rodolitos

Las tasas de respiración de *M. undosa*, *C. californicus*, *Lirularia* sp., *L. pictus* y *N. inermis* se cuantificaron utilizando una cámara de respiración en el laboratorio. Específicamente, se eligieron al azar 10 individuos de cada especie del tanque de retención y se colocaron de manera individual en una cámara de respiración con una chaqueta de agua de 1 L similar a la descrita anteriormente. La cámara se conectó al sistema de flujo continuo de agua de mar de WIES, que mantuvo el agua de mar de la cámara a temperatura ambiente ($15.9 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$). La respiración de cada organismo se estimó midiendo los cambios en el OD dentro de la cámara durante 15 min bajo luz ambiental ($>100 \mu\text{mol fotones} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). A continuación, se sacó al organismo de la cámara, se secó el exceso de agua con papel secante y se pesó como gramos de ph. Para evaluar si los cambios observados en el OD dentro de las cámaras se debieron a factores distintos a la respiración de los invertebrados (i.e., el metabolismo de microalgas y/o microbios), la cámara se llenó con agua de mar como se indicó anteriormente y los cambios en el OD se midieron durante 15 min dentro de la cámara sin los invertebrados. Esto se repitió 5 veces, lo que indicó que el cambio en el OD dentro de la cámara sin los invertebrados fue de poco a nulo. Por lo tanto, para modelar cómo la pérdida de estas 5 especies por la degradación del hábitat de rodolitos afecta la respiración del ecosistema, combinamos nuestras mediciones

The organism was then removed from the chamber, blotted dry of excess water using a paper towel, and weighed as grams ww. To evaluate if any observed changes in DO within the chambers resulted from factors other than invertebrate respiration (i.e., microalgae and/or microbe metabolism), the chamber was filled with seawater as above and changes in DO were measured for 15 min within the chamber in the absence of the invertebrates. This was repeated 5 times, which indicated that little-to-no changes in DO occurred within the chamber in the absence of invertebrates. Therefore, to model how the loss of these 5 species due to rhodolith habitat degradation affects ecosystem respiration, we combined our respiration measurements with estimates of each species' density in rhodolith beds and adjacent mooring-degraded habitats as described by Gabara et al. (2018) (see Table 1).

Statistical analysis

Variation in net productivity and respiration among the undisturbed (intact) rhodoliths, the mooring-disturbed CRF, and laboratory-crushed rhodoliths were evaluated with separate analyses of variance (ANOVA). Following this, *a priori* comparisons between pairs of the 3 treatments were evaluated with Fisher's least significant difference (LSD) *post hoc* tests. Differences in net productivity (Δ_{Prod}) and respiration (Δ_{Res}) between pre- and post-crushing in the laboratory were each evaluated with separate paired *t*-tests. Prior to analyses, all data were checked for normality using probability plots and for equal variances using Bartlett's test (for respiration) and Levine's test (for productivity), with the latter used because data for productivity in the laboratory-crushed rhodoliths exhibited minor departures from normality. All statistical analyses were done using R-Studio v.1.1.463, R v.3.5.2, and SYSTAT v.6.0.

RESULTS

Effects of laboratory crushing on rhodolith productivity and respiration

Net productivity was significantly different among the undisturbed (intact) rhodoliths ($0.032 \pm 0.023 \text{ mg O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), the mooring-disturbed CRF ($-0.002 \pm 0.030 \text{ mg O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), and the laboratory-crushed rhodoliths ($0.026 \pm 0.023 \text{ mg O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) (ANOVA: $F_{2,21} = 8.468$, $P = 0.002$). Specifically, net productivity was significantly lower in the mooring-disturbed CRF than in the undisturbed (intact) rhodoliths (Fisher's LSD: $P = 0.001$) and in the laboratory-crushed rhodoliths ($P = 0.048$), but it did not differ between the undisturbed (intact) rhodoliths and the laboratory-crushed rhodoliths ($P = 0.129$) (Fig. 2). In fact, the mooring-disturbed CRF exhibited net respiration, while the intact rhodoliths and the rhodoliths that were crushed in the lab both exhibited net productivity (Fig. 2). In addition, respiration was also significantly different among the

de respiración con las estimaciones de la densidad de cada especie en los mantos de rodolitos y hábitats adyacentes degradados por atraques como fue descrito por Gabara et al. (2018) (ver Tabla 1).

Análisis estadístico

Se evaluó la variación en la productividad neta y la respiración entre los rodolitos no perturbados (intactos), los FRT perturbados por los atraques y los rodolitos triturados en el laboratorio con análisis de varianza separados (ANDEVA). Posteriormente, se evaluaron las comparaciones *a priori* entre pares de los 3 tratamientos con las pruebas *post hoc* de la diferencia mínima significativa (DMS) de Fisher. Las diferencias en la productividad neta (Δ_{Prod}) y la respiración (Δ_{Res}) entre las muestras pre-trituración y post-trituración en el laboratorio se evaluaron cada una con pruebas *t* pareadas separadas. Antes de los análisis, se verificó la normalidad de todos los datos mediante gráficas de probabilidad, y se verificaron las varianzas iguales mediante la prueba de Bartlett (para respiración) y la prueba de Levine (para productividad), esta última porque los datos de productividad en los rodolitos triturados en el laboratorio exhibieron discrepancias menores de la normalidad. Todos los análisis estadísticos se realizaron con R-Studio v.1.1.463, R v.3.5.2 y SYSTAT v.6.0.

RESULTADOS

Efectos del aplastamiento en el laboratorio en la productividad y la respiración de los rodolitos

La productividad neta fue significativamente diferente entre los rodolitos no perturbados (intactos) ($0.032 \pm 0.023 \text{ mg O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), los FRT perturbados por atraques ($-0.002 \pm 0.030 \text{ mg O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) y los rodolitos triturados en el laboratorio ($0.026 \pm 0.023 \text{ mg O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) (ANDEVA: $F_{2,21} = 8.468$, $P = 0.002$). Específicamente, la productividad neta fue significativamente menor en los FRT perturbados por atraques que en los rodolitos no perturbados (intactos) (DMS de Fisher: $P = 0.001$) y en los rodolitos triturados en el laboratorio ($P = 0.048$), pero no difirió entre los rodolitos no perturbados (intactos) y los rodolitos triturados en el laboratorio ($P = 0.129$) (Fig. 2). De hecho, los FRT perturbados por atraques exhibieron una respiración neta, mientras que los rodolitos intactos y los rodolitos que fueron triturados en el laboratorio exhibieron ambos una productividad neta (Fig. 2). Asimismo, la respiración también difirió significativamente entre los rodolitos no perturbados (intactos) ($0.040 \pm 0.094 \text{ mg O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), los FRT perturbados por atraques ($0.069 \pm 0.019 \text{ mg O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) y los rodolitos triturados en el laboratorio ($0.062 \pm 0.016 \text{ mg O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) (ANDEVA: $F_{2,21} = 4.512$, $P = 0.023$). Específicamente, la respiración fue significativamente mayor en los FRT perturbados por los atraques que en los rodolitos no perturbados (intactos) (DMS de Fisher: $P = 0.007$), pero no difirió entre los rodolitos no

Table 1. Median respiration rates for 5 common Catalina Island rhodolith bed invertebrate taxa, their densities in undisturbed and mooring-disturbed habitats, extrapolated median contribution within undisturbed and mooring-disturbed habitats, and percent respiration difference lost from undisturbed to mooring-disturbed habitat.
Tabla 1. Medias de las tasas de respiración para 5 taxones de invertebrados comunes en los mantos de rodolitos de la isla Catalina, sus densidades en hábitats no perturbados y perturbados por los atraques, contribución media extrapolada dentro de hábitats sin perturbaciones y perturbados por los atraques y porcentaje de las diferencias en la respiración perdida de los hábitats no perturbados a los hábitats perturbados por atraques.

Taxa	Median respiration rate (mg O ₂ · h ⁻¹ · ind ⁻¹)	Density in undisturbed rhodolith beds (ind · m ⁻²) (Gabara et al. 2018)	Density in mooring-disturbed rhodolith beds (ind · m ⁻²) (Gabara et al. 2018)	Median respiratory contribution in undisturbed habitat (mg O ₂ · d ⁻¹ · m ⁻²)	Median respiratory contribution in disturbed habitat (mg O ₂ · d ⁻¹ · m ⁻²)	Difference in respiratory contribution (mg O ₂ · d ⁻¹ · m ⁻²)	Percent of respiratory contribution lost
<i>Californiconus californicus</i>	0.111	0.110 ± 0.03	0.050 ± 0.02	0.292	0.133	0.159 ± 0.133	55.55%
<i>Megastrea undosa</i>	0.656	0.120 ± 0.05	0.003 ± 0.002	1.890	0.050	1.840 ± 0.818	97.50%
<i>Lirularia</i> sp.	0.175	0.070 ± 0.30	0	0.293	0.000	0.293 ± 0.126	100%
<i>Navanax inermis</i>	0.440	0.030 ± 0.01	0.004 ± 0.003	0.317	0.042	0.275 ± 0.137	86.67%
<i>Lytechinus pictus</i>	0.097	0.030 ± 0.01	0.010 ± 0.01	0.069	0.023	0.046 ± 0.046	67.70%

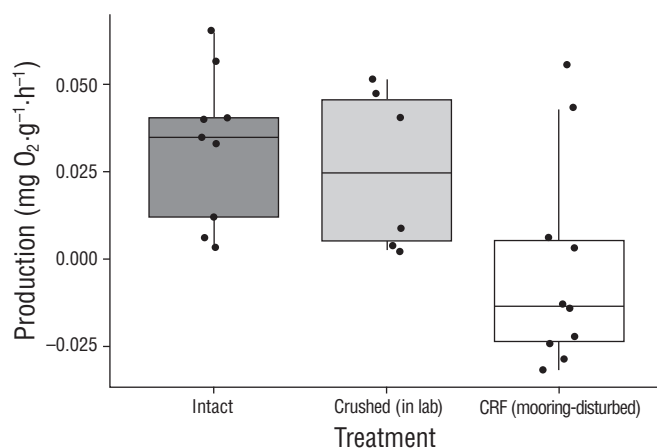


Figure 2. Box plots showing maximum net productivity ($\text{mg O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) for undisturbed (intact) rhodoliths, rhodoliths that were experimentally crushed in the laboratory, and mooring-disturbed crushed rhodolith fragments (CRF). Positive values reflect net productivity (i.e., oxygen production) and negative values reflect net respiration (i.e., oxygen consumption). Horizontal lines represent median values.

Figura 2. Diagramas de caja que muestran la productividad neta máxima ($\text{mg O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) para los rodolitos no perturbados (intactos), los rodolitos que fueron triturados experimentalmente en el laboratorio y los fragmentos de rodolitos triturados (CRF) perturbados por los atraques. Los valores positivos reflejan la productividad neta (i.e., la producción de oxígeno) y los valores negativos reflejan la respiración neta (i.e., el consumo de oxígeno). Las líneas horizontales representan valores de las medianas.

undisturbed (intact) rhodoliths ($0.040 \pm 0.094 \text{ mg O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), the mooring-disturbed CRF ($0.069 \pm 0.019 \text{ mg O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), and the laboratory-crushed rhodoliths ($0.062 \pm 0.016 \text{ mg O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) (ANOVA: $F_{2,21} = 4.512$, $P = 0.023$). Specifically, respiration was significantly greater in the mooring-disturbed CRF than in the undisturbed (intact) rhodoliths (Fisher's LSD: $P = 0.007$), but it did not differ between the undisturbed (intact) rhodoliths and the laboratory-crushed rhodoliths ($P = 0.322$), or between the mooring-disturbed CRF and the laboratory-crushed rhodoliths ($P = 0.112$) (Fig. 3). Further, although a general trend was observed in that crushing of the rhodoliths in the laboratory appeared to lead to slight decreases in net productivity and slight increases in respiration (Fig. 4), no significant differences were observed between pre- and post-crushing for either net productivity (paired t -test: $t_7 = -1.894$, $P = 0.100$) or respiration ($t_7 = 0.265$, $P = 0.799$).

Quantifying rhodolith-associated invertebrate respiration

Respiration rates differed among the 5 epibenthic invertebrate taxa studied (Fig. 5). When considered on an individual basis, respiration rates ranged between $0.097 \text{ mg O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ (*L. pictus*) and $0.656 \text{ mg O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ (*M. undosa*) (Table 1). These respiration values are

perturbados (intactos) y los rodolitos triturados en el laboratorio ($P = 0.322$), o entre los FRT perturbados por los atraques y los rodolitos triturados en el laboratorio ($P = 0.112$) (Fig. 3). Además, aunque se observó una tendencia general de que la trituración de los rodolitos en el laboratorio parecía producir pequeñas disminuciones en la productividad neta y pequeños aumentos en la respiración (Fig. 4), no se observaron diferencias significativas entre la trituración previa y la posterior tanto para la productividad neta (prueba t pareada: $t_7 = -1.894$, $P = 0.100$) como para la respiración ($t_7 = 0.265$, $P = 0.799$).

Cuantificación de la respiración de los invertebrados asociados a los rodolitos

Las tasas de respiración difirieron entre los 5 taxones de invertebrados epibentónicos estudiados (Fig. 5). Cuando se consideraron de manera individual, las tasas de respiración variaron entre $0.097 \text{ mg O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ (*L. pictus*) y $0.656 \text{ mg O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ (*M. undosa*) (Tabla 1). Estos valores de respiración son significativos dado que los rodolitos usados en este estudio tenían un tamaño promedio de entre $1.51 \pm 0.66 \text{ g ph}$ y $1.80 \pm 0.91 \text{ g ph}$ (medias \pm error estándar) y exhibieron valores de respiración de entre $0.040 \pm 0.094 \text{ mg O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ (para no triturados) y $0.069 \pm 0.019 \text{ mg O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ (para FRT) (ver arriba), y por lo tanto deben ser considerados al modelar la respiración del ecosistema.

DISCUSIÓN

Nuestros resultados muestran que el aplastamiento crónico de los talos de los rodolitos por las cadenas de los atraques de embarcaciones altera los patrones del metabolismo de los rodolitos. Los FRT recolectados del hábitat donde las cadenas de atraque perturbaban repetidamente el bentos presentaron una tasa de respiración mayor que los rodolitos intactos que se recolectaron del manto de rodolitos no perturbado adyacente. Aunque la razón de esto permanece incierta, esto puede deberse a alteraciones en su estructura tridimensional, la cual se pierde cuando los rodolitos se trituran y forman fragmentos. Como resultado, los pigmentos fotosintéticos dentro de sus interiores son expuestos a alta luminosidad, y es probable que aumente la fotorrespiración, como fue reportado por Kim et al. (2020). En consecuencia, las tasas de productividad neta máxima fueron menores en los FRT que en los rodolitos intactos. Sin embargo, nuestros experimentos de laboratorio sugieren que los cambios en la productividad y la respiración de los rodolito no fueron detectables inmediatamente después de la trituración. Esto nos lleva a concluir que la trituración de los talos de los rodolitos por sí sola no produce cambios inmediatos en la productividad neta o la respiración. En cambio, la perturbación repetida de los rodolitos por el aplastamiento crónico por las cadenas de los atraques a lo largo del tiempo conduce a su mortalidad y degrada el hábitat. Esto ocasiona una disminución de

significant given that the rhodoliths used in this study averaged in size between 1.51 ± 0.66 g ww and 1.80 ± 0.91 g ww (means \pm SE) and exhibited respiration values between 0.040 ± 0.094 mg $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ (for uncrushed) and 0.069 ± 0.019 mg $O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ (for CRF) (see above), and therefore should be considered when modelling ecosystem respiration.

DISCUSSION

Our results show that the chronic crushing of rhodolith thalli by boat mooring chains alters patterns of rhodolith metabolism. Crushed rhodolith fragments (CRF) collected from the habitat where mooring chains repeatedly disturbed the benthos respired at a higher rate than intact rhodoliths that were collected from the adjacent undisturbed rhodolith bed. While the reason for this remains unclear, this may be due to alterations to their three-dimensional structure, which is lost when the rhodoliths are crushed into fragments. As a result, the photosynthetic pigments within their interiors are exposed to high light, and photorespiration likely increases as reported by Kim et al. (2020). Consequently, maximum net productivity rates were lower in CRF than in intact rhodoliths. However, our laboratory experiments suggest that changes to rhodolith productivity and respiration were not detectable immediately following crushing. This leads us to conclude that crushing of the rhodolith thalli alone does not result in immediate changes to the net productivity or respiration. Instead, repeated disturbance to the rhodoliths by chronic crushing from mooring chains over time leads to their mortality and degrades the habitat. This results in a reduction in net productivity and an increase in respiration by the rhodoliths. Further, our findings also suggest that over time, with frequent mooring disturbance, rhodolith habitats likely shift to becoming increasingly respiration dominated, which may alter DO levels within the ecosystem. This pattern is likely enhanced when the entire benthic communities, including rhodolith-associated microbes (e.g., Cavalcanti et al. 2018), are considered (del Giorgio et al. 1997, Duarte and Agustí 1998). Consequently, similar to what was found in kelp forest ecosystems (e.g., Castorani et al. 2018), disturbance frequency may be more important than disturbance magnitude in determining the physiological response of rhodoliths to mooring chain impacts.

Our study found that the epibenthic invertebrates inhabiting rhodolith beds have respiration rates that differ both on individual and mass-specific levels. This suggests that invertebrate consumers differentially contribute to respiration (oxygen consumption) and overall community metabolism. When individual-based respiration rates of the invertebrate taxa studied were combined with estimates of each species' abundance in the rhodolith beds and the degraded rhodolith habitats (see Gabara et al. 2018), our data suggest that disturbance-related reductions in the abundance of these 5 species resulted in reduced ecosystem respiration by

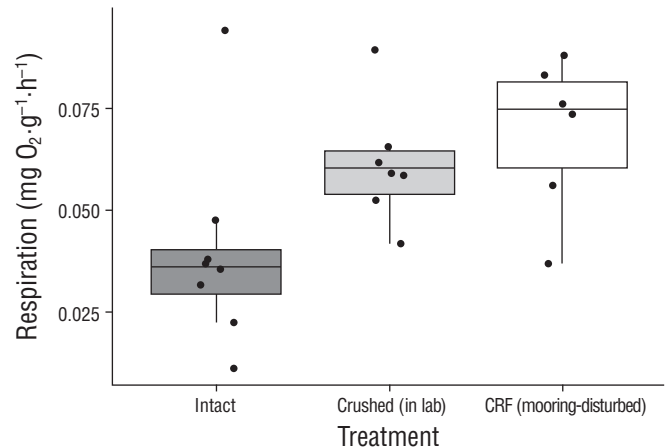


Figure 3. Box plots showing respiration ($O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$) measured for undisturbed (intact) rhodoliths, rhodoliths that were experimentally crushed in the laboratory, and mooring-disturbed crushed rhodolith fragments (CRF). Although respiration is often displayed as negative values (i.e., oxygen consumption), we report positive values here for ease of interpretation; thus, greater respiration is reflected as being elevated along the y-axis. Horizontal lines represent median values ($n = 6$ to 10 each), and vertical whiskers reflect the range where 75% of all values are expected to fall.

Figura 3. Diagramas de caja que muestran la respiración ($mg O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$) medida para los rodolitos no perturbados (intactos), los rodolitos que fueron triturados experimentalmente en el laboratorio y los fragmentos de rodolitos triturados (CRF) perturbados por los atraques. Aunque la respiración a menudo se muestra como valores negativos (i.e., consumo de oxígeno), aquí reportamos valores positivos para facilitar la interpretación; por tanto, una mayor respiración se refleja como elevada a lo largo del eje y. Las líneas horizontales representan los valores de las medianas ($n = 6$ a 10 cada una), y las marcas verticales reflejan el rango donde se espera que se presenten el 75% de todos los valores.

la productividad neta y un aumento de la respiración de los rodolitos. Además, nuestros hallazgos también sugieren que, con el tiempo, las frecuentes perturbaciones por atraques probablemente ocasionan que los hábitats de los rodolitos cambien y sean cada vez más dominados por la respiración, lo que puede alterar los niveles de OD dentro del ecosistema. Es probable que este patrón sea más evidente si se consideran todas las comunidades bentónicas (del Giorgio et al. 1997, Duarte y Agustí 1998), incluidos los microbios asociados a los rodolitos (e.g., Cavalcanti et al. 2018). En consecuencia, de manera similar a lo que se encontró en los ecosistemas de bosques de algas marinas (e.g., Castorani et al. 2018), la frecuencia de las perturbaciones puede ser más importante que la magnitud de las perturbaciones para determinar la respuesta fisiológica de los rodolitos ante los impactos de las cadenas de atraques.

Nuestro estudio encontró que los invertebrados epibentónicos que habitan los mantos de rodolitos tienen tasas de respiración que difieren tanto a nivel individual como a nivel

approximately $-2.613 \text{ mg O}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$, with individual species contributing between $-0.046 \text{ mg O}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ (*L. pictus*) and $-1.84 \text{ mg O}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ (*M. undosa*) (Table 1).

The gastropod *C. californicus* and the echinoderm *L. pictus* had the lowest individual respiration rates, while the gastropod *C. californicus* had the lowest mass-specific respiration rate. However, despite their low respiration values, at high densities these taxa may alter ecosystem respiration within the rhodolith beds. Both of these organisms may be able to tolerate low oxygen levels in rhodolith bed sediments, as they are often found within the infaunal communities. This also suggests that the organisms with the highest respiration rates, namely *N. inermis* and *M. undosa*, are likely constrained to the surface epibenthic habitat where they are commonly found. This is supported by Grall et al. (2006), who found that rhodolith-associated organisms partition themselves with depth, and by Diaz and Rosenberg (1995) and Altieri and Diaz (2019), who observed that in soft sediment systems like the Chesapeake Bay, hypoxia ($<2.8 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$) occurs annually during summer, causing mortality and emigration by many of the organisms that live there. However, it remains unknown if the epibenthic invertebrates in the rhodolith beds on Catalina Island partition

específico de masas. Esto sugiere que los consumidores invertebrados contribuyen de manera diferenciada a la respiración (consumo de oxígeno) y al metabolismo general de la comunidad. Al combinar las tasas de respiración individuales de los taxones de invertebrados estudiados con las estimaciones de abundancia de cada especie en los mantos de rodolitos y los hábitats degradados de rodolitos (ver Gabara et al. 2018), nuestros datos sugieren que la reducción de la abundancia de estas 5 especies relacionada con las perturbaciones ocasionó una reducción de la respiración del ecosistema de aproximadamente $-2.613 \text{ mg O}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$, con contribuciones por especie de entre $-0.046 \text{ mg O}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ (*L. pictus*) y $-1.84 \text{ mg O}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ (*M. undosa*) (Tabla 1).

El gasterópodo *C. californicus* y el equinodermo *L. pictus* presentaron las tasas de respiración individuales más bajas, mientras que el gasterópodo *C. californicus* presentó la tasa de respiración específica de masa más baja. Sin embargo, a pesar de sus bajos valores de respiración, a altas densidades, estos taxones pueden alterar la respiración del ecosistema dentro de los mantos de rodolitos. Ambos organismos podrían ser capaces de tolerar niveles bajos de oxígeno en los sedimentos de los mantos de rodolitos, ya que a menudo se encuentran dentro de las comunidades infaunales. Esto

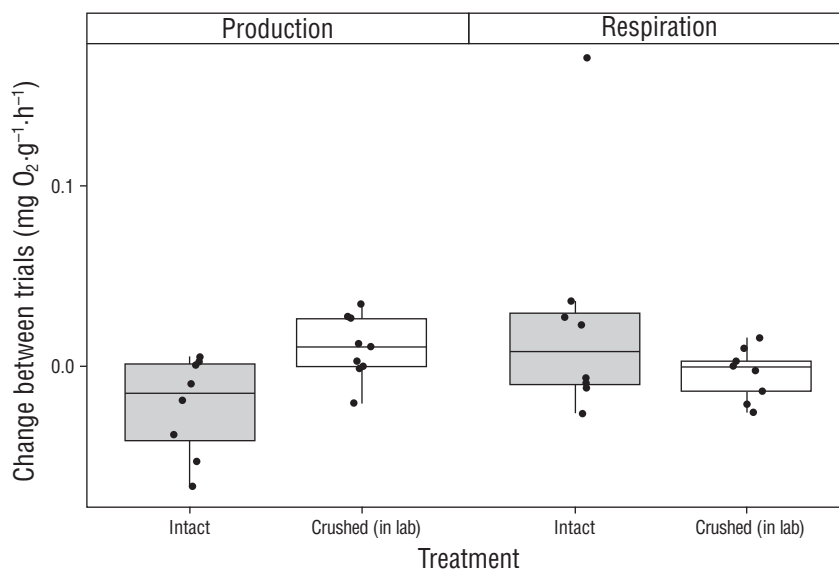


Figure 4. Box plots showing the changes in net productivity and respiration in rhodoliths following experimental crushing in the laboratory (i.e., crushed) and between the first and second measurements for undisturbed (intact) rhodoliths. The intact rhodoliths were measured a second time to serve as a procedural control for the crushing experiment (i.e., to evaluate if any changes in productivity or respiration between pre- and post-crushing were simply due to re-measuring the rhodoliths). Negative values reflect a loss of productivity and/or respiration and positive values reflect an increase in these measures. Black horizontal bars reflect median rates ($n = 6$ to 10 each).

Figura 4. Diagramas de caja que muestran los cambios en la productividad neta y la respiración en los rodolitos después de la trituración experimental en el laboratorio (i.e., triturados) y entre la primera y la segunda medición de los rodolitos no perturbados (intactos). Los rodolitos intactos se midieron por segunda vez para que sirvieran como control de procedimiento para el experimento de trituración (i.e., para evaluar si los cambios en la productividad o la respiración entre la trituración previa y la posterior se debían simplemente a medir los rodolitos otra vez). Los valores negativos reflejan una pérdida de la productividad y/o respiración y los valores positivos reflejan un aumento en estas medidas. Las barras horizontales negras reflejan las medianas de las tasas ($n = 6$ a 10 cada una).

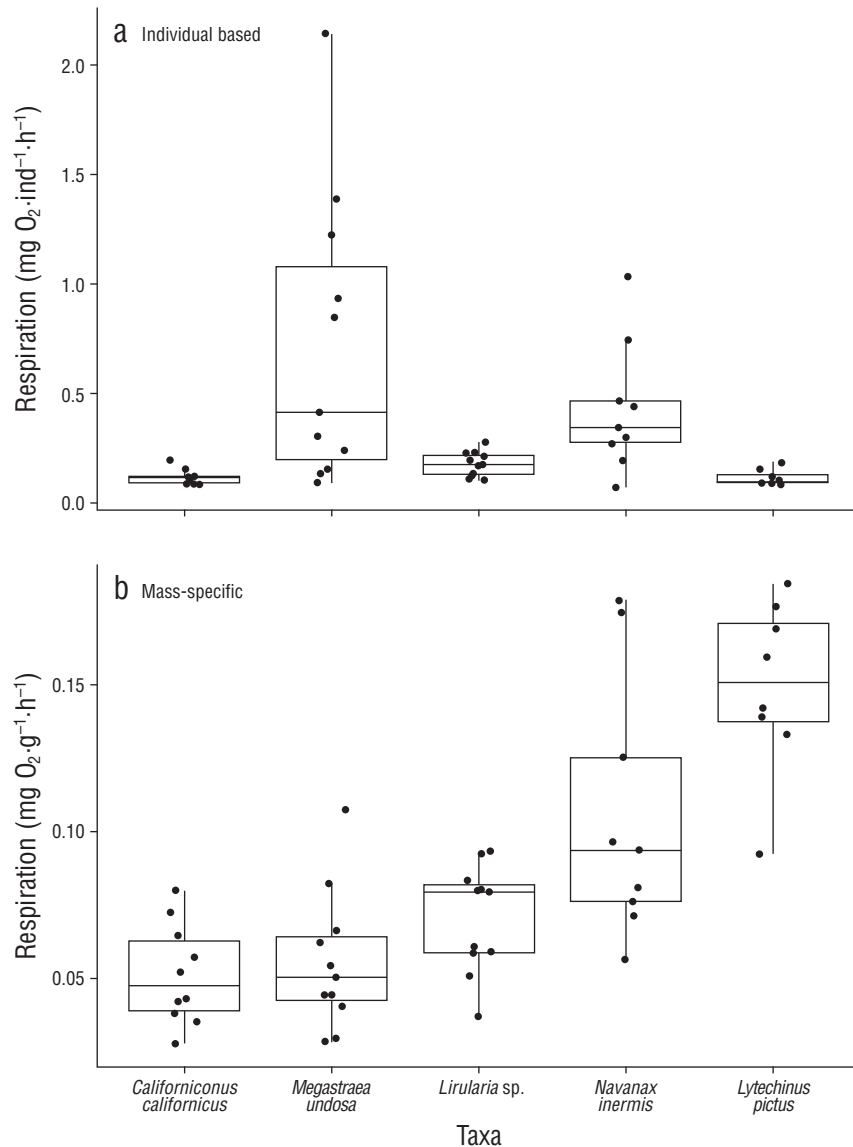


Figure 5. Individual-based respiration rates (a) and mass-specific respiration rates (b) for the 5 most commonly observed epibenthic invertebrate taxa in the rhodolith beds at Catalina Island. Black horizontal bars reflect median rates ($n = 10$ each).

Figura 5. Tasas de respiración basadas en individuos (a) y tasas de respiración específicas de masa (b) para los 5 taxones de invertebrados epibentónicos más comúnmente observados en los mantos de rodolitos en la isla Catalina. Las barras horizontales negras reflejan las medianas de las tasas ($n = 10$ cada una).

themselves within the rhodolith bed matrix based on oxygen availability and/or their oxygen consumption. What is known is that these taxa are not generally replaced by other taxa in the crushed rhodolith habitat who would compensate for this lost respiration, but rather the rhodoliths beds support higher overall organism abundances than the crushed rhodolith habitats (Gabara et al. 2018).

This study takes steps towards creating a more individualized community model for rhodolith primary productivity and respiration in both undisturbed and mooring-disturbed (degraded) rhodolith beds. Thus, our estimates for rhodolith

también sugiere que los organismos con las tasas de respiración más altas, es decir *N. inermis* y *M. undosa*, probablemente estén limitados al hábitat epibentónico superficial donde se encuentran comúnmente. Esto es apoyado por los hallazgos de Grall et al. (2006), quienes encontraron que los organismos asociados a los rodolitos se dividen con la profundidad, y Díaz y Rosenberg (1995) y Altieri y Díaz (2019), quienes observaron que, en sistemas de sedimentos blandos como la bahía de Chesapeake, la hipoxia ($<2.8 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$) ocurre anualmente durante el verano y provoca la mortalidad y la emigración de muchos de los organismos que habitan

production and respiration and invertebrate respiration can give a preliminary context for field-based community estimates. Field-based estimates of production and respiration are needed that incorporate both flora and fauna within communities in undisturbed and mooring-disturbed habitats under natural conditions. Future studies could determine if biomass-specific estimates of productivity and respiration in the lab can be scaled by each species' biomass in the field to match production and respiration rates measured *in situ* (e.g., using benthic chambers), such as described by Middelboe et al. (2006). A better understanding of the individual contributions of production and respiration by the dominant taxa relative to whole-community estimates will also reveal if all contributions are characterized properly. If not, less conspicuous members of the community (e.g., microbes and rarer taxa, or smaller but numerically abundant taxa) may have greater contributions to community metabolism than previously thought. For example, the microbiome associated with live rhodoliths from Catalina Island differs from that of dead rhodoliths (e.g., crushed rhodoliths sands), with live rhodoliths supporting a diverse array of taxa that includes Cyanobacteria, Actinobacteria, Betaproteobacteria, Clostridia, and Gammaproteobacteria, and dead rhodoliths being dominated by Gammaproteobacteria (Cavalcanti et al. 2018).

Future studies can build off our methods for measuring temporal effects of mooring crushing by monitoring these effects in the lab and/or the field over greater frequencies and over longer time scales. In addition, future studies can quantify respiration rates for additional taxa that inhabit the rhodolith beds, specifically macro- and microscopic infaunal invertebrates such as tanaids, ostracods, caprellids, and gammarids. These organisms can occur in the densities of over 10,000 per square meter and therefore may make significant respiratory contributions despite their small size and biomass (Gabara et al. 2018). Given that rhodolith physiology varies seasonally (Martin et al. 2007) and over wide temperature ranges (Steller et al. 2007), expanding these experiments over wider temporal scales will broaden the application of these results.

ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful for the funding provided by a grant from California Sea Grant to DS and ME (RHCE-04BTR). Permission to collect rhodoliths and invertebrates was provided by CA Fish & Wildlife Entity Permit #SC-751. We would like to thank Trevor Oudin, Lauren Czarnecki Oudin, Eric Castillo, Kellie Spafford, and the staff at USC WIES for facilitating field and lab-based science. We are especially grateful to Darrin Ambat, who assisted with all aspects of this study, and to Natalie Goetz and Joseph Matthews, who assisted with field collection of rhodoliths and invertebrates and the laboratory measurements of their productivity and respiration, and for laboratory and diving support from SDSU and MLML Beer Pigs.

ahí. Sin embargo, aún se desconoce si los invertebrados epibentónicos en los mantos de rodolitos en la isla Catalina se dividen dentro de la matriz de mantos de rodolitos en función de la disponibilidad de oxígeno y/o su consumo de oxígeno. Lo que se sabe es que estos taxones generalmente no son reemplazados por otros taxones del hábitat de rodolitos triturados que compensarían esta respiración perdida, sino que los mantos de rodolitos sustentan una mayor abundancia general de organismos que los hábitats de rodolitos triturados (Gabara et al. 2018).

Este estudio es un avance hacia la creación de un modelo comunitario más individualizado para la productividad primaria y la respiración de rodolitos tanto en los mantos de rodolitos no perturbados como en los mantos perturbados por atraques (degradados). Por lo tanto, nuestras estimaciones de la producción y respiración de los rodolitos y la respiración de los invertebrados pueden dar un contexto preliminar para las estimaciones de comunidades basadas en observaciones de campo. Se necesitan estimaciones de la producción y la respiración basadas en observaciones de campo que incorporen tanto la flora como la fauna dentro de las comunidades en hábitats no perturbados y perturbados por atraques en condiciones naturales. Estudios en el futuro podrían determinar si las estimaciones de la productividad y la respiración de una biomasa específica en el laboratorio se pueden extrapolar con la biomasa de cada especie en el campo para que correspondan con las tasas de producción y respiración medidas *in situ* (e.g., usando cámaras bentónicas), como lo describieron Middelboe et al. (2006). Un mejor entendimiento sobre las contribuciones individuales de los taxones dominantes a la producción y la respiración con relación a las estimaciones para toda la comunidad también revelará si todas las contribuciones están caracterizadas de manera adecuada. Si no, los miembros menos conspicuos de la comunidad (e.g., microbios y taxones menos comunes, o taxones más pequeños pero numéricamente abundantes) pueden estar contribuyendo más de lo que se pensaba al metabolismo de la comunidad. Por ejemplo, el microbioma asociado a los rodolitos vivos de la isla Catalina difiere del de los rodolitos muertos (e.g., arenas de rodolitos triturados); los rodolitos vivos sustentan una amplia gama de taxones que incluye cianobacterias, actinobacterias, betaproteobacterias, clostridios y gammaproteobacterias, mientras que los rodolitos muertos están dominados por gammaproteobacterias (Cavalcanti et al. 2018).

Los estudios futuros pueden aunar a nuestros métodos para medir los efectos temporales del aplastamiento por atraques monitoreando estos efectos en el laboratorio y/o en el campo con mayores frecuencias y en escalas de tiempo más largas. Además, los estudios futuros pueden cuantificar las tasas de respiración de más taxones que habitan los mantos de rodolitos, específicamente invertebrados infaunales macroscópicos y microscópicos como tanaidáceos, ostrácodos, caprelidos y gammáridos. Estos organismos pueden presentar densidades de más de 10,000 individuos

REFERENCES

- Airoidi L, Balata D, Beck MW. 2008. The gray zone: relationships between habitat loss and marine diversity and their applications in conservation. *J Exp Mar Biol Ecol.* 366(1–2):8–15. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2008.07.034>
- Altieri AH, Diaz RJ. 2019. Dead Zones: Oxygen depletion in coastal ecosystems. In: Sheppard C (ed.), *World Seas: An Environmental Evaluation*. 2nd Ed. London (UK): Academic Press. (Volume 3: Ecological issues and environmental impacts). 666 p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805052-1.00021-8>
- Bosence DWJ. 1983. The occurrence and ecology of recent rhodoliths—A review. In: Peryt TM (ed.), *Coated Grains*. Berlin, Heidelberg: Springer. p. 225–242. https://doi.org/10.1007/978-3-642-68869-0_20
- Brey T. 2010. An empirical model for estimating aquatic invertebrate respiration. *Methods Ecol Evol.* 1(1):92–101. <https://doi.org/10.1111/j.2041-210x.2009.00008.x>
- Castorani MCN, Reed DC, Miller RJ. 2018. Loss of foundation species: disturbance frequency outweighs severity in structuring kelp forest communities. *Ecology.* 99(11):2442–2454. <https://doi.org/10.1002/ecy.2485>
- Cavalcanti GS, Shukla P, Morris M, Ribeiro B, Foley M, Doane MP, Thompson CC, Edwards MS, Dinsdale EA, Thompson FL. 2018. Rhodoliths holobionts in a changing ocean: Host-microbes interactions mediate coralline algae resilience under ocean acidification. *BMC Genomics.* 19(1):701. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5064-4>
- Connell JH. 1978. Diversity in tropical rain forests and coral reefs. *Science.* 199(4335):1302–1310. <https://doi.org/10.1126/science.199.4335.1302>
- Del Giorgio PA, Cole JJ, Cimleris A. 1997. Respiration rates in bacteria exceed phytoplankton production in unproductive aquatic systems. *Nature.* 385(6612):148–151. <https://doi.org/10.1038/385148a0>
- Diaz RJ, Rosenberg R. 1995. Marine benthic hypoxia: a review of its ecological effects and the behavioural responses of benthic macrofauna. *Oceanog Mar Biol Ann Rev.* 33:245–303.
- Duarte CM, Agustí S. 1998. The CO₂ balance of unproductive aquatic ecosystems. *Science.* 281(5374):234–236. <https://doi.org/10.1126/science.281.5374.234>
- Edwards M, Konar B, Kim J-H, Gabara S, Sullaway G, McHugh T, Spector M, Small S. 2020. Marine deforestation leads to widespread loss of ecosystem function. *PLOS ONE.* 15(3):e0226173. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226173>
- Edwards MS, Estes JA. 2006. Catastrophe, recovery and range limitation in NE Pacific kelp forests: a large-scale perspective. *Mar Ecol Progr Ser.* 320:79–87. <https://doi.org/10.3354/meps320079>
- Ellison AM, Bank MS, Clinton BD, Colburn EA, Elliott K, Ford CR, Foster DR, Kloepfel BD, Knoepp JD, Lovett GM, et al. 2005. Loss of foundation species: consequences for the structure and dynamics of forested ecosystems. *Front Ecol Environ.* 3(9):479–486. [https://doi.org/10.1890/1540-9295\(2005\)003\[0479:lofscf\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1890/1540-9295(2005)003[0479:lofscf]2.0.co;2)
- Foster MS. 2001. Rhodoliths: between rocks and soft places. *J Phycol.* 37(5):659–667. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2001.00195.x>
- Gabara SS. 2020. Trophic structure and potential carbon and nitrogen flow of a rhodolith bed at Santa Catalina Island inferred from stable isotopes. *Mar Biol.* 167(3):30. <https://doi.org/10.1007/s00227-019-3635-9>
- Gabara SS, Hamilton SL, Edwards MS, Steller DL. 2018. Rhodolith structural loss decreases abundance, diversity, and stability of benthic communities at Santa Catalina Island, CA. *Mar Ecol Progr Ser.* 595:71–88. <https://doi.org/10.3354/meps12528>
- Graham MH. 2004. Effects of local deforestation on the diversity and structure of southern California giant kelp forest food webs. *Ecosystems.* 7(4):341–357. <https://doi.org/10.1007/s10021-003-0245-6>
- Graham MH, Fox MD, Hamilton SL. 2016. Macrophyte productivity and the provisioning of energy and habitat to nearshore systems. In: Ólafsson (ed.), *Marine Macrophytes as Foundation Species*. Boca Raton (FL): CRC Press. p. 131–160. <https://doi.org/10.4324/9781315370781-7>
- Graham MH, Vásquez JA, Buschmann AH. 2007. Global ecology of the giant kelp *Macrocystis*: from ecotypes to ecosystems. *Oceanog Mar Biol.* 45:39–88. <https://doi.org/10.1201/9781420050943.ch2>
- Grall J, Le Loc'h F, Guyonnet B, Riera P. 2006. Community structure and food web based on stable isotopes ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$) analysis of a North Eastern Atlantic maerl bed. *J Exp Mar Biol Ecol.* 338(1):1–15. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2006.06.013>
- Hall-Spencer JM, Moore PG. 2000. Scallop dredging has profound, long-term impacts on maerl habitats. *ICES J Mar Sci.* 57(5):1407–1415. <https://doi.org/10.1006/jmsc.2000.0918>
- Hobbs RJ, Huenneke LF. 1992. Disturbance, diversity, and invasion: implications for conservation. *Cons Biol.* 6(3):324–337. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1992.06030324.x>
- Jones CG, Lawton JH, Shachak M. 1994. Organisms as ecosystem engineers. *Oikos.* 69(3):373–386. <https://doi.org/10.2307/3545850>

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el financiamiento proporcionado a través de una beca de California Sea Grant a DS y ME (RHCE-04BTR). El permiso para recolectar rodolitos e invertebrados fue otorgado por el Fish & Wildlife Entity Permit de CA #SC-751. Nos gustaría agradecer la facilitación de la ciencia de campo y de laboratorio proporcionada por Trevor Oudin, Lauren Czarnecki Oudin, Eric Castillo, Kellie Spafford y el personal de USC WIES. Estamos especialmente agradecidos con Darrin Ambat, quien asistió con todos los aspectos de este estudio, y con Natalie Goetz y Joseph Matthews por su ayuda con la recolección de los rodolitos e invertebrados en el campo y la medición de la productividad y la respiración en el laboratorio, y con SDSU y MLML Beer Pigs por el apoyo de laboratorio y buceo.

Traducido al español por Claudia Michel-Villalobos.

- Kamenos NA, Moore PG, Hall-Spencer JM. 2004a. Nursery-area function of maerl grounds for juvenile queen scallops *Aequipecten opercularis* and other invertebrates. *Mar Ecol Prog Ser.* 274:183–189.
<https://doi.org/10.3354/meps274183>
- Kamenos NA, Moore PG, Hall-Spencer JM. 2004b. Maerl grounds provide both refuge and high growth potential for juvenile queen scallops (*Aequipecten opercularis* L.). *J Exp Mar Biol Ecol.* 313(2):241–254.
<https://doi.org/10.1016/j.jembe.2004.08.007>
- Kim JH, Steller DL, Edwards MS. 2020. Variation in photosynthetic performance relative to thallus microhabitat heterogeneity in *Lithothamnion australe* (rhodophyta, corallinales) rhodoliths. *J Phycol.*
<https://doi.org/10.1111/jpy.13080>
- Luckhurst BE, Luckhurst K. 1978. Analysis of the influence of substrate variables on coral reef fish communities. *Mar Biol.* 49(4):317–323.
<https://doi.org/10.1007/bf00455026>
- Mao J, Burdett HL, McGill RAR, Newton J, Gulliver P, Kamenos NA. 2020. Carbon burial over the last four millennia is regulated by both climatic and land use change. *Glob Change Biol.* 26(4):2496–2504.
<https://doi.org/10.1111/gcb.15021>
- Martin S, Clavier J, Chauvaud L, Thouzeau G. 2007. Community metabolism in temperate maerl beds. I. Carbon and carbonate fluxes. *Mar Ecol Prog Ser.* 335:19–29.
<https://doi.org/10.3354/meps335019>
- McConnico LA, Hernández-Carmona G, Riosmena-Rodríguez R. 2018. Nutrient production in rhodolith beds: impact of a foundation species and its associates. *Mar Ecol Prog Ser.* 590:53–66.
<https://doi.org/10.3354/meps12513>
- Middelboe AL, Sand-Jensen K, Binzer T. 2006. Highly predictable photosynthetic production in natural macroalgal communities from incoming and absorbed light. *Oecologia.* 150(3):464–476.
<https://doi.org/10.1007/s00442-006-0526-9>
- Nagelkerken I, Blaber SJM, Bouillon S, Green P, Haywood M, Kirton LG, Meynecke JO, Pawlik J, Penrose HM, Sasekumar A, Somerfield PJ. 2008. The habitat function of mangroves for terrestrial and marine fauna: A review. *Aqu Bot.* 89(2):155–185.
<https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2007.12.007>
- Newell RC. 1973. Factors affecting the respiration of intertidal invertebrates. *Am Zool.* 13(2):513–528.
<https://doi.org/10.1093/icb/13.2.513>
- Orth RJ, Heck KL, van Montfrans J. 1984. Faunal communities in seagrass beds: a review of the influence of plant structure and prey characteristics on predator–prey relationships. *Estuaries.* 7(4):339–350.
<https://doi.org/10.2307/1351618>
- Pickett ST, White PS. 2013. The ecology of natural disturbance and patch dynamics. 1st ed. New Brunswick (NJ):Elsevier. 472 p.
- Steller DL, Cáceres-Martínez C. 2009. Coralline algal rhodoliths enhance larval settlement and early growth of the Pacific calico scallop *Argopecten ventricosus*. *Mar Ecol Prog Ser.* 396:49–60.
<https://doi.org/10.3354/meps08261>
- Steller DL, Foster MS. 1995. Environmental factors influencing distribution and morphology of rhodoliths in Bahía Concepción, B.C.S., México. *J Exp Mar Biol Ecol.* 194(2): 201–212.
[https://doi.org/10.1016/0022-0981\(95\)00086-0](https://doi.org/10.1016/0022-0981(95)00086-0)
- Steller DL, Hernández-Ayón JM, Riosmena-Rodríguez R, Cabello-Pasini A. 2007. Effect of temperature on photosynthesis, growth and calcification rates of the free-living coralline alga *Lithophyllum margaritae* = Efecto de la temperatura sobre las tasas de fotosíntesis, crecimiento y calcificación del alga coralina de vida libre *Lithophyllum margaritaei*. *Cienc Mar.* 33(4):441–456.
<https://doi.org/10.7773/cm.v33i4.1255>
- Steller DL, Riosmena-Rodríguez R, Foster MS, Roberts CA. 2003. Rhodolith bed diversity in the Gulf of California: the importance of rhodolith structure and consequences of disturbance. *Aquatic Conservation: Mar Fresh Ecosyst.* 13(S1):S5–S20.
<https://doi.org/10.1002/aqc.564>
- Tompkins PA. 2011. Distribution, growth, and disturbance of Catalina Island rhodoliths [MSc thesis]. Moss Landing (CA): San Jose State University. 28 p.
<https://doi.org/10.31979/etd.vpw7-rnrn>
- Tompkins PA, Steller DL. 2016. Living carbonate habitats in temperate California (USA) waters: distribution, growth, and disturbance of Santa Catalina Island rhodoliths. *Mar Ecol Prog Ser.* 560:135–145.
<https://doi.org/10.3354/meps11919>
- Worm B, Barbier EB, Beaumont N, Duffy JE, Folke C, Halpern BS, Jackson JBC, Lotze HK, Micheli F, Palumbi SR, et al. 2006. Impacts of biodiversity loss on ocean ecosystem services. *Science.* 314(5800):787–790.
<https://doi.org/10.1126/science.1132294>

Received March 2020,
 accepted August 2020.

Complete mitochondrial genome of the California halibut, *Paralichthys californicus*

Genoma mitocondrial completo del lenguado de California, *Paralichthys californicus*

Carmen E Vargas-Peralta, Claudia Farfán, Fabiola Lafarga-De La Cruz, Benjamín Barón-Sevilla, Miguel A Del Río-Portilla*

Departamento de Acuicultura, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Carretera Ensenada-Tijuana, No. 3918, Zona Playitas, CP 22860, Ensenada, Baja California, Mexico.

* Corresponding author. Email: mdelrio@cicese.mx

ABSTRACT. The California halibut, *Paralichthys californicus*, is a highly priced flatfish because of its size and meat quality. This work presents the complete mitochondrial genome of *P. californicus*. Total DNA from muscle tissue was extracted and sequenced using the Illumina platform. Reads were cleaned, trimmed, assembled *de novo*, and annotated. The California halibut mitogenome is 16,858 bp in length (GenBank accession number: MT859134), containing 13 protein-coding genes, 22 tRNAs, 2 rRNAs, and the control region. *P. californicus* mitogenome was most similar to *Paralichthys olivaceus* than to other flatfish mitogenomes, in agreement with their geographic distribution. This information deepens the knowledge of the California halibut, which is not only ecologically important, but also a socioeconomically relevant resource for fishery and aquaculture in California, USA, and Baja California, Mexico.

Key words: mitogenome, next-generation sequencing (NGS), mass sequencing, California halibut, *Paralichthys californicus*.

RESUMEN. El lenguado de California, *Paralichthys californicus*, es una especie de pez plano con un alto valor económico debido a su tamaño y a la calidad de su carne. En este trabajo se presenta el genoma mitocondrial completo de *P. californicus*. Se extrajo ADN total de tejido muscular y se secuenció utilizando la plataforma Illumina. Las lecturas obtenidas se limpiaron, se recortaron, se ensamblaron *de novo* y se anotaron. El mitogenoma del lenguado de California tiene una longitud de 16,858 pb (número de acceso del GenBank: MT859134) y contiene 13 genes codificadores de proteínas, 22 ARNt, 2 ARNr y la región control. El mitogenoma de *P. californicus* fue más similar al de *Paralichthys olivaceus* que a mitogenomas de otros peces planos, en concordancia con su distribución geográfica. La información aquí presentada incrementa el conocimiento del lenguado de California, el cual no solo es una especie de importancia económica, sino también un recurso socioeconómico relevante para la pesquería y la acuicultura de California, EUA, y de Baja California, México.

Palabras clave: mitogenoma, secuenciación de siguiente generación (NGS), secuenciación masiva, lenguado de California, *Paralichthys californicus*.

INTRODUCTION

The California halibut, *Paralichthys californicus* Ayres, 1859, is an important benthic aquatic resource of shallow nearshore areas and bays of California, USA, and Baja California, Mexico (Gracian-Negrete et al. 2015). The distribution of *P. californicus* ranges from northern Washington State, USA, to southern Baja California, Mexico, along the Pacific coast and into the Gulf of California. This flatfish is highly priced for domestic and export markets, mainly in Asia. It reaches over 1.5 m in total length and can weigh more than 30 kg (Gracian-Negrete et al. 2015). *Paralichthys californicus* stands out in the domestic and export markets for its high-quality meat for human consumption. In Mexico, official catch numbers comprise 11 different species, all of them considered to be part of a single flatfish fishery (Gracian-Negrete et al. 2015, SEPESCABC 2017). In the state of Baja California, the flatfish fishery is considered within the finfish category, which ranks sixth

INTRODUCCIÓN

El lenguado de California, *Paralichthys californicus* Ayres, 1859, es un importante recurso acuático bentónico de áreas poco profundas cercanas a la costa y bahías de California, EUA, y Baja California, México (Gracian-Negrete et al. 2015). La distribución de *P. californicus* va desde el norte del estado de Washington, EUA, hasta el sur de Baja California, México, a lo largo de la costa del Pacífico y en el golfo de California. Este pez plano es altamente cotizado en los mercados nacionales y de exportación, principalmente en Asia. Alcanza más de 1.5 m de longitud total y puede pesar más de 30 kg (Gracian-Negrete et al. 2015). *Paralichthys californicus* destaca en el mercado nacional y de exportación por su carne de alta calidad para consumo humano. En México, las cifras de captura oficiales abarcan 11 especies diferentes, todas consideradas como parte de una sola pesquería de peces planos (Gracian-Negrete et al. 2015, SEPESCABC 2017). En el estado de Baja California, la

in terms of average annual production value (SEPESABC 2017), and the production of this multispecies fishery increased in Mexico from 325 t in 2011 to 577 t in 2018. In 2018, the value of this commercial and recreational fishery was 1.4 million USD, reaching the highest average price of 2.5 USD per kilogram. Compared to 2017, its average price per kilogram increased up to 159%. There is only one Mexican fishery report for *P. californicus* (Gracian-Negrete et al. 2015), which states that 2,400 t were captured in Bahía de los Ángeles in 1990. However, this place has been listed as a biosphere reserve since 2007 (DOF 2007, 2010), and the fishery has declined. Additionally, an 80% reduction in the flatfish fishery in subsequent years has been reported (Gracian-Negrete et al. 2015), which is consistent with reports for recent years.

On the other hand, there is a high market demand for halibut in Asia. The United Nations Food and Agriculture Organization (FAO) reported a catch of 10,665 t of Japanese halibut, *Paralichthys olivaceus* (a species that attains a standard length of 80 cm), in 2016, mainly by Japan and the Republic of Korea (FAO 2020). Fishing of this species has dropped; by contrast, aquaculture production is on the rise, as shown by official aquaculture statistics, from 1,572 t in 1985 to 43,929 t in 2016 (FAO 2020). This indicates that flatfish aquaculture is very important worldwide, and *P. californicus* farming might be lucrative for the Mexican economy. It is therefore essential to describe the ecological and genetic aspects of Mexican populations of the California halibut, *P. californicus*, to inform its culture and provide genetic tools to develop fishery and aquaculture management strategies. Furthermore, genetic data on flatfish species are also important elements in studies on the evolution of novel body plans.

Nuclear and mitochondrial genetic markers have been used to characterize species of economic importance. About 2 decades ago, the genetic characterization of a species of interest frequently required knowing its DNA sequences. Nowadays, next-generation sequencing (NGS) has allowed the development of novel genetic analyses with no previous knowledge of the DNA sequences for a particular species, and its impact has been recognized for more than a decade (Schuster 2008, Metzker 2010, Chinmayee et al. 2018). Mitochondrial genomes have been obtained by NGS using Illumina platforms for marine (Del Río-Portilla et al. 2016c, Galván-Tirado et al. 2016, León-Pech et al. 2016) and freshwater fishes (Barriga-Sosa et al. 2016; Camarena-Rosales et al. 2016; Del Río-Portilla et al. 2016a, b), elasmobranchs (Castillo-Páez et al. 2016a, b), corals (Del Río-Portilla et al. 2016d), and mollusks (Bisbal-Pardo et al. 2016a, b; Magallón-Gayón et al. 2020).

This work presents the complete mitochondrial genome of *P. californicus* as new genetic information to build baseline molecular data for this species.

pesquería de peces planos se considera dentro de la categoría de peces de aleta, que ocupa el sexto lugar en términos de valor de producción anual promedio (SEPESABC 2017), y la producción de esta pesquería multiespecífica aumentó en México de 325 t en 2011 a 577 t en 2018. En 2018, el valor de esta pesquería comercial y recreativa fue de 1.4 millones de dólares, con lo que alcanzó el precio promedio más alto de 2.5 dólares por kilogramo. En comparación con 2017, el precio promedio por kilogramo aumentó hasta en un 159%. Solo hay un informe pesquero mexicano de *P. californicus* (Gracian-Negrete et al. 2015), el cual indica que en 1990 se capturaron 2,400 t en bahía de los Ángeles. Sin embargo, este lugar ha estado catalogado como reserva de la biosfera desde 2007 (DOF 2007, 2010), y la pesquería ha disminuido. Además, se ha informado de una reducción del 80% en la pesquería de peces planos en los años posteriores (Gracian-Negrete et al. 2015), lo que es congruente con los informes de los últimos años.

Por otro lado, la demanda de lenguado en Asia es alta. La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, por sus siglas en inglés) reportó una captura de 10,665 t de lenguado japonés, *Paralichthys olivaceus* (una especie que alcanza una longitud estándar de 80 cm), en 2016, principalmente por Japón y la República de Corea (FAO 2020). La pesca de esta especie ha disminuido; por el contrario, la producción acuícola va en aumento, como lo muestran las estadísticas oficiales de acuicultura, de 1,572 t en 1985 a 43,929 t en 2016 (FAO 2020). Ello indica que la acuicultura de peces planos es muy importante a nivel mundial, y el cultivo de *P. californicus* podría ser lucrativo para la economía mexicana. Por lo tanto, es esencial describir los aspectos ecológicos y genéticos de las poblaciones mexicanas del lenguado de California, *P. californicus*, para informar sobre su cultivo y proporcionar herramientas genéticas para desarrollar estrategias de manejo pesqueras y de cultivo. Además, los datos genéticos sobre especies de peces planos también son elementos importantes en los estudios sobre la evolución de nuevos planes corporales.

Se han utilizado marcadores genéticos nucleares y mitocondriales para caracterizar especies de importancia económica. Hace aproximadamente 2 décadas, la caracterización genética de una especie de interés frecuentemente requería conocer sus secuencias de ADN. Hoy en día, la secuenciación de nueva generación (NGS, por sus siglas en inglés) ha permitido el desarrollo de nuevos análisis genéticos sin necesidad de conocimiento previo de las secuencias de ADN para una especie en particular, y su impacto ha sido reconocido durante más de una década (Schuster 2008, Metzker 2010, Chinmayee et al. 2018). Se han obtenido genomas mitocondriales mediante la NGS utilizando plataformas Illumina para peces marinos (Del Río-Portilla et al. 2016c, Galván-Tirado et al. 2016, León-Pech et al. 2016) y peces de agua dulce (Barriga-Sosa et al. 2016; Camarena-Rosales et al. 2016; Del Río-Portilla et al. 2016a, b), elasmobranchios (Castillo-Páez

MATERIALS AND METHODS

A muscle sample from a California halibut was collected for the analysis. One fish was caught in Ejido Eréndira, Baja California, Mexico (31°15'41" N, 116°22'52" W), as broodstock and kept in captivity at CICESE (Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California) prior to sampling. The specimen analyzed was handled in accordance with the ethical standards for the use of fish in research of the American Fisheries Society; all applicable institutional guidelines for animal care were followed. Total DNA was extracted using the QIAGEN DNeasy Blood & Tissue kit. A high-quality DNA sample was sent to the Georgia Genomics Facility (University of Georgia; Athens, GA) for NGS. DNA was sheared by sonication with Bioruptor using 2 rounds, each consisting of 5 cycles of 30-s sonicating (high setting) plus 30 s with no sonication. The library prep protocol was followed using the Kapa Biosystems Hyper Prep Kit (KR0961–v4.15), ligating custom adapter stubs and amplification through 12 PCR cycles with custom nucleotide indexed primers (Glenn et al. 2019). Dual-size selection with magnetic beads (Speed Beads, Rohland and Reich 2012) was performed to recover fragment sizes of ~250–450 bp. Libraries were sequenced in Illumina MiSeq to produce 300 bp paired-end reads.

Reads from fastq files were cleaned by trimming low-quality regions (quality limit = 0.05) followed by *de-novo* assembling with the CLC Genomics Workbench 6.5 software, using the following settings: bubble size (248) and word size (22), minimum contig length (200 bp), perform scaffolding (yes), and auto-detect paired distances.

Contigs were filtered to provide a coverage ≥ 1.5 and more than 3 reads per contig after mapping reads to contigs. The longest contig identity was blasted to the nucleotide NCBI (National Center for Biotechnology Information, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) database using the Basic Local Alignment Search Tool (Blast) (Camacho et al. 2009). Once identified, the mitochondrial genome was annotated with the Dual Organellar GenoMe Annotator, DOGMA (Wyman et al. 2004), MITOS (Bernt et al. 2013), and MitoFish (Iwasaki et al. 2013) web programs using the respective default settings. Protein translation was verified with Expasy (<http://www.expasy.org>) (Artimo et al. 2012) and tRNA was confirmed with tRNAscan (Lowe and Eddy 1997) and by comparison with other tRNA. The phylogenetic analysis was performed by comparison against complete mitogenomes of other flatfish from the NCBI GenBank site (Table 1). The MEGA software (Kumar et al. 2016) was used for mitogenome alignment using the ClustalW (Thompson et al. 1994) procedure with default settings. jModelTest 2 software (Guindon and Gascuel 2003, Darriba et al. 2012) was used to select the best-fit nucleotide substitution model using Akaike (AIC) and Bayesian (BIC) information criteria with default settings. MrBayes 3.2 (Ronquist and Huelsenbeck 2003) was used to estimate the phylogenetic relationships with the

et al. 2016a, b), corales (Del Río-Portilla et al. 2016d) y moluscos (Bisbal-Pardo et al. 2016a, b; Magallón-Gayón et al. 2020).

Este trabajo presenta el genoma mitocondrial completo de *P. californicus* como nueva información genética para construir datos moleculares de referencia para esta especie.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvo una muestra de músculo de un lenguado de California para el análisis. Un pez fue capturado en Ejido Eréndira, Baja California, México (31°15'41" N, 116°22'52" W), como reproductor y se mantuvo en cautiverio en el CICESE (Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California) antes del muestreo. El espécimen analizado se manipuló de acuerdo con las normas éticas de la American Fisheries Society para el uso de peces en la investigación. Se siguieron todas las pautas institucionales aplicables para el cuidado de los animales. El ADN total se extrajo utilizando el kit QIAGEN DNeasy Blood & Tissue. Se envió una muestra de ADN de alta calidad a Georgia Genomics Facility (Universidad de Georgia; Athens, Georgia) para la NGS. El ADN se cortó mediante sonicación con Bioruptor utilizando 2 rondas, cada una de las cuales constó de 5 ciclos de sonicación de 30 s (modo alto) más 30 s sin sonicación. El protocolo de preparación de la biblioteca se siguió utilizando el kit Kapa Biosystems Hyper Prep (KR0961–v4.15), y se ligaron los adaptadores personalizados y la amplificación a través de 12 ciclos de PCR con cebadores indexados de nucleótidos personalizados (Glenn et al. 2019). Se realizó una selección de tamaño dual con perlas magnéticas (Speed Beads, Rohland y Reich 2012) para recuperar tamaños de fragmentos de ~250–450 pb. Las bibliotecas se secuenciaron en Illumina MiSeq para producir lecturas pareadas de 300 pb.

Las lecturas de los archivos fastq se limpiaron recortando las regiones de baja calidad (límite de calidad = 0.05), seguido de un ensamblaje *de novo* con el programa CLC Genomics Workbench 6.5. Se utilizaron las siguientes configuraciones: tamaño de burbuja (248) y tamaño de palabra (22), longitud mínima de cóntigos (200 pb), ensamblaje en andamios (sí) y detección automática de distancias emparejadas.

Los cóntigos se filtraron para proporcionar una cobertura ≥ 1.5 y más de 3 lecturas por cóntigo después de la asignación de lecturas a cóntigos. La identidad de cóntigo más larga se envió a la base de datos de nucleótidos del NCBI (Centro Nacional de Información Biotecnológica, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) utilizando la Herramienta Básica de Búsqueda de Alineación Local (Blast, por sus siglas en inglés) (Camacho et al. 2009). Una vez identificado, el genoma mitocondrial se anotó con los programas web Dual Organellar GenoMe Annotator, DOGMA (Wyman et al. 2004), MITOS (Bernt et al. 2013) y MitoFish (Iwasaki et al. 2013) mediante la configuración predeterminada respectiva. La traducción a proteínas se verificó con Expasy

best-fit model: the General Time Reversible (GTR) model of evolution with a gamma-distribution substitution model and a gamma-distributed rate variation across sites (GTR+G+I), running the Markov chain Monte Carlo simulation with 20,000 generations, 100 sample frequencies, and default settings. The phylogenetic tree was built using FigTree V1.4.4 (Rambaut 2018). FishBase (Froese and Pauly 2019) and WoRMS (WoRMS Editorial Board 2020) databases were reviewed to obtain the number of *Paralichthys* species and their geographic distribution.

RESULTS AND DISCUSSION

After trimming the low-quality regions and eliminating failed reads, the remaining total number of reads was 3,243,808. A total of 284,243 contigs were assembled with a maximum of 16,858 bp and a minimum of 200 bp. The largest contig (16,858 bp, 35.82x coverage; GenBank accession number: MT859134) matched the mitogenome of the California halibut, which contains 13 protein-coding genes, 22 tRNAs, and 2 rRNAs (Table 2). Also found was a putative control region (D-loop) of 1,168 bp as suggested by the MitoFish server and it was also present in other flatfishes (Fig. 1, Table 2). The mitogenome nucleotide frequencies observed in *P. californicus* were 27.5% adenine (A), 29.5% cytosine (C), 17.0% guanine (G), and 26.0% thymine (T), with A+T% slightly larger than G+C%. These figures are similar to those reported for other flatfish mitogenomes, as well as the distribution and orientation of protein-coding genes, tRNAs, rRNAs, and the control region (Table 2) (Saitoh et al. 2000, Xu et al. 2016). However, the sequence similarity of the control regions was low (1.5%), with a length ranging from 1,120 to 2,312 bp (Table 1). In all mitogenomes, the translation initiation codon for protein-coding genes was ATG; the exception was *COX1*, for which the translation initiation codon was GTG, in agreement with the other sequences analyzed in this study and those of other 250 fish species (Satoh et al. 2016). Sequence overlaps were also present in the coding genes for ATP8-ATP6, ND4L-ND4, and ND5-ND6, similar to *Paralichthys olivaceus* and most fish species (Satoh et al. 2016). *Paralichthys californicus* has complete stop codons (TAA, TAG) in genes *ND1*, *COX1*, *ATP8*, *ND4L*, *ND5*, and *ND6*, and partial stop codons (TA or T) in genes *ND2*, *COX2*, *ATP6*, *COX3*, *ND3*, *ND4*, and *CYTb*, similar to *P. olivaceus* (Saitoh et al. 2000) (Table 2).

The phylogenetic tree built with the mitogenomes of different species of the order Pleuronectiformes (including flatfish) was rooted to *Beryx mollis* and contains representatives of 2 suborders: Psettidoidei and Pleuronectoidei (Fig. 2). The former includes primitive flatfish in a single family, 1 genus (*Psettodes*), and 3 living species (according to WoRMS Editorial Board 2020). Currently, Pleuronectoidei comprises 14 families with 134 genera and over 7,000 species (Campbell et al. 2014); however, the number of complete mitochondrial genomes for flatfish species available for

(<http://www.expasy.org>) (Artimo et al. 2012) y el ARNt se confirmó con tRNAscan (Lowe y Eddy 1997) y por comparación con otros ARNt. El análisis filogenético se realizó mediante comparaciones con mitogenomas completos de otros peces planos del centro GenBank del NCBI (Tabla 1). El programa MEGA (Kumar et al. 2016) se utilizó para la alineación del mitogenoma utilizando el procedimiento ClustalW (Thompson et al. 1994) con ajustes predeterminados. Se utilizó el programa jModelTest 2 (Guindon y Gascuel 2003, Darriba et al. 2012) para seleccionar el modelo de sustitución de nucleótidos de mejor ajuste mediante el criterio de información de Akaike (AIC) y criterio de información bayesiano (BIC) con la configuración predeterminada. MrBayes 3.2 (Ronquist y Huelsenbeck 2003) se utilizó para estimar las relaciones filogenéticas con el modelo de mejor ajuste: el modelo de evolución General Time Reversible (GTR) con un modelo de sustitución de distribución gamma y una variación de la tasa distribuida gamma entre sitios (GTR+G+I), con la simulación Monte Carlo de la cadena de Markov con 20,000 generaciones, 100 frecuencias de muestra y configuraciones predeterminadas. El árbol filogenético se construyó con FigTree V1.4.4 (Rambaut 2018). Se revisaron las bases de datos de FishBase (Froese y Pauly 2019) y WoRMS (WoRMS Editorial Board 2020) para obtener el número de especies de *Paralichthys* y su distribución geográfica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después de recortar las regiones de baja calidad y eliminar las lecturas fallidas, el número total restante de lecturas fue 3,243,808. Se ensamblaron un total de 284,243 contigs con un máximo de 16,858 pb y un mínimo de 200 pb. El contig más grande (16,858 pb, cobertura 35.82x; número de acceso de GenBank: MT859134) coincidió con el mitogenoma del lenguado de California, que contiene 13 genes codificadores proteínas, 22 ARNt y 2 ARNr (Tabla 2). También se encontró una región de control putativa (bucle D) de 1,168 pb, según lo sugerido por el servidor MitoFish, que también estuvo presente en otros peces planos (Fig. 1, Tabla 2). Las frecuencias de nucleótidos del mitogenoma observadas en *P. californicus* fueron del 27.5% de adenina (A), el 29.5% de citosina (C), el 17.0% de guanina (G) y el 26.0% de timina (T), con un A+T% ligeramente mayor que el G+C%. Estas cifras son similares a las registradas para otros mitogenomas de peces planos, al igual que la distribución y la orientación de genes codificadores de proteínas, ARNt, ARNr y la región de control (Tabla 2) (Saitoh et al. 2000, Xu et al. 2016). Sin embargo, la similitud de la secuencia de las regiones de control fue baja (1.5%), con una longitud que varió de 1,120 a 2,312 pb (Tabla 1). En todos los mitogenomas, el codón de inicio de la traducción para los genes codificadores de proteínas fue ATG; la excepción fue *COX1*, cuyo codón de inicio de traducción fue GTG, de acuerdo con las otras secuencias analizadas en este estudio y las de otras 250 especies de peces (Satoh et al. 2016). También

Table 1. Flatfish families and species used in this study, mitochondrial-genome accession number in GenBank, geographic distribution, and length of the control region.
Tabla 1. Familias y especies de peces planos utilizadas en este estudio, número de acceso para el genoma mitocondrial en GenBank, distribución geográfica y longitud de la región de control.

Species	Accession number	Geographic distribution*	Nucleotide position		Size (pb)
			Start	End	
Berycidae					
<i>Beryx mollis</i> (Abe, 1959)	NC_013845	Northwest Pacific and Western Indian Ocean	15,668	16,537	870
Paralichthyidae					
<i>Cyclopsetta fimbriata</i> (Goode & Bean, 1885)	NC_024950	Western Atlantic	15,706	16,506	801
<i>Paralichthys californicus</i> (Ayres, 1859)	MT859134 (this study)	Eastern Pacific and northern Gulf of California	15,696	16,858	1,163
<i>Paralichthys dentatus</i> (Linnaeus, 1766)	KU053334	Northwest Atlantic	15,695	17,033	1,339
<i>Paralichthys lethostigma</i> (Jordan & Gilbert, 1884)	KT896534	Western Atlantic	15,724	16,843	1,120
<i>Paralichthys olivaceus</i> (Temminck & Schlegel, 1846)	NC_002386	Western Pacific	15,691	17,090	1,400
<i>Pseudorhombus cinnamomeus</i> (Temminck & Schlegel, 1846)	NC_022447	Western Pacific	15,709	16,599	891
<i>Pseudorhombus duplisciocellatus</i> (Regan, 1905)	NC_029323	Indo-West Pacific	15,701	16,621	921
Pleuronectidae					
<i>Hippoglossus hippoglossus</i> (Linnaeus, 1758)	NC_009709	Eastern Atlantic and Western Atlantic	15,706	17,546	1,841
<i>Hippoglossus stenolepis</i> (Schmidt, 1904)	NC_009710	North Pacific	15,707	17,841	2,135
<i>Platichthys stellatus</i> (Pallas, 1787)	NC_010966	North Pacific	15,704	17,103	1,400
<i>Reinhardtius hippoglossoides</i> (Walbaum, 1792)	NC_009711	Circumglobal in Arctic and temperate waters; northern hemisphere	15,706	18,017	2,312
<i>Verasper moseri</i> (Jordan & Gilbert, 1898)	NC_008461	Northwest Pacific	15,700	17,588	1,889
<i>Verasper variegatus</i> (Temminck & Schlegel, 1846)	NC_007939	Northwest Pacific	15,702	17,273	1,572
Psettodidae					
<i>Psettodes erumei</i> (Bloch & Schneider, 1801)	NC_020032	Indo-West Pacific	15,715	17,315	1,601

*Froese and Pauly (2019).

Table 2. Gene order of the mitochondrial genome of the California halibut, *Paralichthys californicus*, compared to the Japanese halibut, *Paralichthys olivaceus*.
Table 2. Orden de genes del genoma mitocondrial del lenguaje de California, *Paralichthys californicus*, comparado con el lenguaje japonés, *Paralichthys olivaceus*.

Name	<i>Paralichthys californicus</i>						<i>Paralichthys olivaceus</i>							
	Start	End	Size	Intergene nucleotides ^a	Starting codon	Ending codon	Strand	Start	End	Size	Intergene nucleotides ^a	Size difference ^b	Starting codon	Ending codon
tRNA-Phe	1	68	68	0			+	1	68	68	0	0		
12S rRNA	69	1,016	948	0			+	69	1,017	949	0	-1		
tRNA-Val	1,017	1,090	74	0			+	1,018	1,091	74	0	0		
16S rRNA	1,091	2,804	1714	0			+	1,092	2,804	1,713	0	1		
tRNA-Leu	2,805	2,878	74	0			+	2,805	2,878	74	0	0		
ND1	2,879	3,853	975	3	ATG	TAA	+	2,879	3,853	975	3	0	ATG	TAA
tRNA-Ile	3,857	3,927	71	-1			+	3,857	3,927	71	-1	0		
tRNA-Gln	3,927	3,997	71	-1			-	3,927	3,997	71	-1	0		
tRNA-Met	3,997	4,065	69	0			+	3,997	4,065	69	0	0		
ND2	4,066	5,111	1,046	0	ATG	TA	+	4,066	5,111	1,046	0	0	ATG	TA
tRNA-Trp	5,112	5,183	72	1			+	5,112	5,183	72	1	0		
tRNA-Ala	5,185	5,253	69	1			-	5,185	5,253	69	1	0		
tRNA-Asn	5,255	5,327	73	38			-	5,255	5,327	73	38	0		
tRNA-Cys	5,366	5,431	66	0			-	5,366	5,430	65	0	1		
tRNA-Tyr	5,432	5,499	68	1			+	5,431	5,498	68	1	0		
COX1	5,501	7,051	1,551	0	GTG	TAG	+	5,500	7,050	1,551	0	0	GTG	TAG
tRNA-Ser	7,052	7,122	71	12			-	7,051	7,121	71	12	0		
tRNA-Asp	7,135	7,205	71	8			+	7,134	7,204	71	7	0		
COX2	7,214	7,904	691	0	ATG	T	+	7,212	7,902	691	0	0	ATG	T
tRNA-Lys	7,905	7,977	73	1			+	7,903	7,975	73	1	0		
ATP8	7,979	8,146	168	-10	ATG	TAA	+	7,977	8,144	168	-10	0	ATG	TAA
ATP6	8,137	8,819	683	0	ATG	TA	+	8,135	8,817	683	0	0	ATG	TA
COX3	8,820	9,604	785	0	ATG	TA	+	8,818	9,602	785	0	0	ATG	TA
tRNA-Gly	9,605	9,676	72	0			+	9,603	9,674	72	0	0		
ND3	9,677	10,025	349	0	ATG	T	+	9,675	10,023	349	0	0	ATG	T

^a Intergene nucleotides^a corresponds to the number of nucleotides separating adjacent genes. Negative numbers indicate overlapping nucleotides.

^b Size difference between genes of the Californian halibut, *P. californicus*, and the Japanese halibut, *P. olivaceus*.

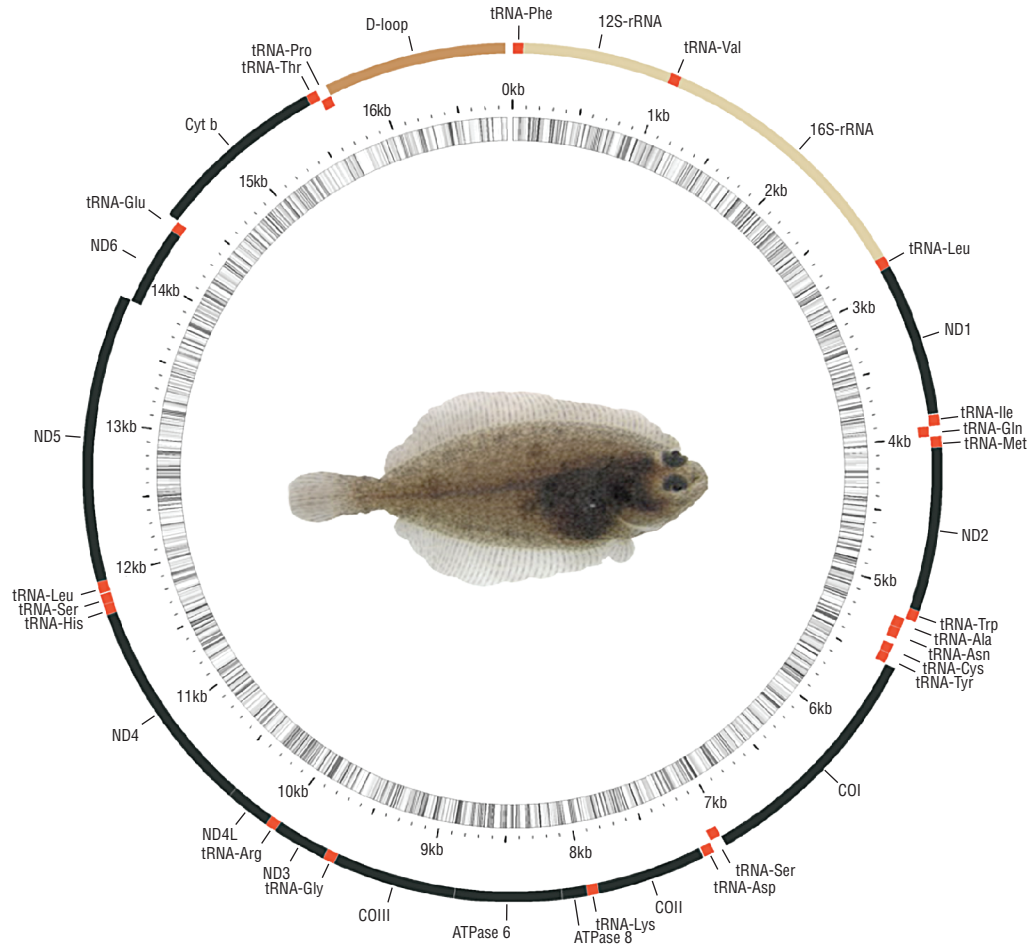


Figure 1. Complete mitochondrial genome of the California halibut, *Paralichthys californicus*, accession number MT859134.

Figura 1. Genoma mitocondrial completo del lenguado de California, *Paralichthys californicus*, número de acceso MT859134.

comparison is limited. In the present analysis, we included 11 mitogenomes of Pleuronectoidei species belonging to 2 families: Pleuronectidae and Paralichthyidae. Despite their high sequence similarity in the coding regions, all families were well resolved, as expected (Fig. 2). The mitogenome of the Californian halibut, *P. californicus*, was most similar to that of the Japanese halibut, *P. olivaceus*, as would be expected given their respective geographic distribution (Table 1).

Considering our findings, it can be concluded that the mitogenome of the California halibut, *P. californicus*, is 16,858 bp in length and contains 13 protein-coding genes, 22 tRNAs, 2 rRNAs, and the control region. The distribution and orientation of protein-coding genes, tRNAs, rRNAs, and the control region of *P. californicus* were very similar to those in mitogenomes of other flatfish species. The phylogenetic-tree analysis of the families in the order Pleuronectiformes (flatfish) was well resolved. The mitogenome of the California halibut, *P. californicus*, was most similar to that of the Japanese halibut, *P. olivaceus*. Further genetic work on this genus is needed, particularly for *P. californicus*.

hubo superposiciones de secuencia en los genes codificadores de ATP8-ATP6, ND4L-ND4 y ND5-ND6, similar a *Paralichthys olivaceus* y la mayoría de las especies de peces (Satoh et al. 2016). *Paralichthys californicus* tiene codones finalizadores completos (TAA, TAG) en los genes *ND1*, *COX1*, *ATP8*, *ND4L*, *ND5* y *ND6*, y codones finalizadores parciales (TA o T) en los genes *ND2*, *COX2*, *ATP6*, *COX3*, *ND3*, *ND4* y *CYTb*, similar a *P. olivaceus* (Saitoh et al. 2000) (Table 2).

El árbol filogenético construido con los mitogenomas de diferentes especies del orden Pleuronectiformes (incluido el pez plano) se originó de *Beryx mollis* y contiene representantes de 2 subórdenes: Psettodoidei y Pleuronectoidei (Fig. 2). El primero incluye peces planos primitivos en una sola familia, 1 género (*Psettodes*) y 3 especies vivas (según WoRMS Editorial Board 2020). Actualmente, Pleuronectoidei comprende 14 familias con 134 géneros y más de 7,000 especies (Campbell et al. 2014); sin embargo, el número de genomas mitocondriales completos para especies de peces planos disponibles para comparación es limitado. En el presente análisis, incluimos 11 mitogenomas de especies de

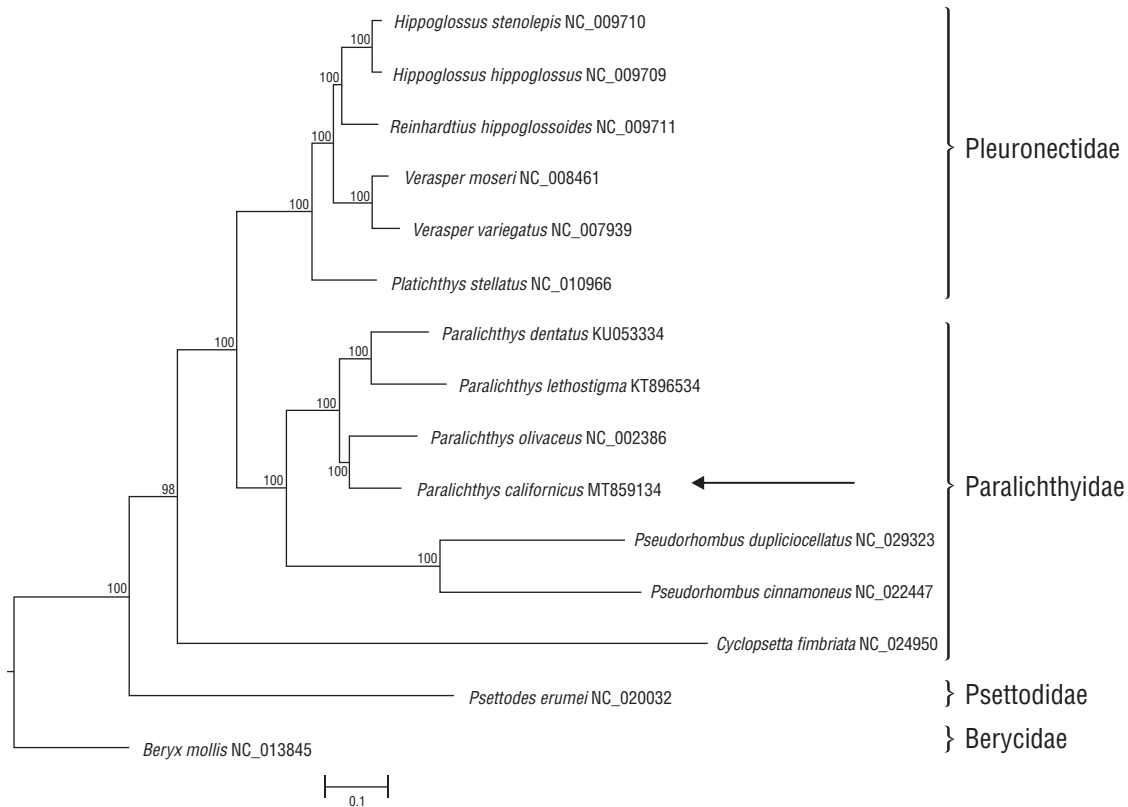


Figure 2. Phylogenetic relationship derived from the best-fit model (GTR+G+I) analysis based on complete mitochondrial genomes for three families of Pleuronectiformes (flatfish). Bayesian inference using *Beryx mollis* as outgroup and root. Arrows points to *P. californicus* from this study. Node support given as percentage.

Figura 2. Relación filogenética derivada del análisis del modelo de mejor ajuste (GTR+G+I) basado en genomas mitocondriales completos para 3 familias de Pleuronectiformes (peces planos). Inferencia bayesiana con *Beryx mollis* como grupo externo y raíz. Las flechas apuntan al *P. californicus* de este estudio. Soporte de nodo expresado como porcentaje.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by CICESE (project No. 623115, O0C079). María Elena Sánchez-Salazar edited the English version of the manuscript.

REFERENCES

- Artimo P, Jonnalagedda M, Arnold K, Baratin D, Csardi G, de Castro E, Duvaud S, Flegel V, Fortier A, Gasteiger E, et al. 2012. ExpASy: SIB bioinformatics resource portal. *Nucleic Acids Res.* 40(W1):W597–W603. <https://doi.org/10.1093/nar/gks400>
- Barriga-Sosa I de LA, García De León FJ, Del Río-Portilla MA. 2016. The complete mitochondrial DNA of the endemic shortfin silverside, *Chirostoma humboldtianum* (Valenciennes, 1835). *Mitochondrial DNA Part A.* 27(2):1545–1546. <https://doi.org/10.3109/19401736.2014.953130>
- Bernt M, Donath A, Jühling F, Externbrink F, Florentz C, Fritzsche G, Pütz J, Middendorf M, Stadler PF. 2013. MITOS: improved *de novo* metazoan mitochondrial genome annotation. *Mol Phylogenet Evol.* 69(2):313–319. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.08.023>

Pleuronectoidei pertenecientes a 2 familias, Pleuronectidae y Paralichthyidae. A pesar de su alta similitud de secuencia en las regiones codificantes, todas las familias tuvieron buena resolución, como se esperaba (Fig. 2). El mitogenoma del lenguado de California, *P. californicus*, fue muy similar al del lenguado japonés, *P. olivaceus*, como era de esperar dada su respectiva distribución geográfica (Tabla 1).

Tomando en cuenta nuestros hallazgos, se puede concluir que el mitogenoma del lenguado de California, *P. californicus*, tiene 16,858 pb de longitud y contiene 13 genes codificadores de proteínas, 22 ARNt, 2 ARNr y la región de control. La distribución y orientación de genes codificadores de proteínas, ARNt, ARNr y la región de control de *P. californicus* fueron muy similares a las de los mitogenomas de otras especies de peces planos. El análisis de árboles filogenéticos de las familias del orden Pleuronectiformes (peces planos) tuvo buena resolución. El mitogenoma del lenguado de California, *P. californicus*, fue muy similar al del lenguado japonés, *P. olivaceus*. Se necesitan más estudios genéticos sobre este género, particularmente para *P. californicus*.

- Bisbal-Pardo CI, del Río-Portilla MA, Rocha-Olivares A. 2016a. The complete mitochondrial DNA of the Pacific Geoduck clam (*Panopea generosa*). Mitochondrial DNA Part A. 27(3):1955–1956. <https://doi.org/10.3109/19401736.2014.971304>
- Bisbal-Pardo CI, del Río-Portilla MA, Rocha-Olivares A. 2016b. Novel gene arrangement in the mitochondrial genome of the Cortés geoduck clam (*Panopea globosa*). Mitochondrial DNA Part A. 27(3):1957–1958. <https://doi.org/10.3109/19401736.2014.971305>
- Camacho C, Coulouris G, Avagyan V, Ma N, Papadopoulos J, Bealer K, Madden TL. 2009. BLAST+: architecture and applications. BMC Bioinformatics. 10:421. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-10-421>
- Camarena-Rosales F, Del Río-Portilla MA, Ruiz-Campos G, García-De-León FJ. 2016. Entire mitochondrion genome sequence of the desert pupfish, *Cyprinodon macularius* Baird & Girard, 1853. Mitochondrial DNA Part A. 27:3893–3894. <https://doi.org/10.3109/19401736.2014.987251>
- Campbell MA, López JA, Satoh TP, Chen WJ, Miya M. 2014. Mitochondrial genomic investigation of flatfish monophyly. Gene. 551(2):176–182. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2014.08.053>
- Castillo-Páez A, del Río-Portilla MA, Oñate-González E, Rocha-Olivares A. 2016a. The mitochondrial genome of the banded guitarfish, *Zapteryx exasperata* (Jordan and Gilbert, 1880), possesses a non-coding duplication remnant region. Mitochondrial DNA Part A. 27(3):1668–1670. <https://doi.org/10.3109/19401736.2014.958721>
- Castillo-Páez A, del Río-Portilla MA, Rocha-Olivares A. 2016b. The complete mitochondrial genome of the giant electric ray, *Narcine entemedor* (Elasmobranchii: Torpediniformes). Mitochondrial DNA Part A. 27(3):1760–1762. <https://doi.org/10.3109/19401736.2014.963800>
- Chinmayee C, Nischal A, Manjunath CR, Soumya KN. 2018. Next Generation Sequencing in Big Data. Int J Trend Sci Res Dev. 2(4):379–389. <https://doi.org/10.31142/ijtsrd12975>
- Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. Nat Methods. 9:772–772. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2109>
- Del Río-Portilla MA, Vargas-Peralta CE, Farfán C, Barriga-Sosa IA, García-de León FJ. 2016a. The complete mitochondrial DNA of the bay snook, *Petenia splendida*, a native Mexican cichlid. Mitochondrial DNA. 27:1381–1382. <https://doi.org/10.3109/19401736.2014.947590>
- Del Río-Portilla MA, Vargas-Peralta CE, Lafarga-De La Cruz F, Arias-Rodríguez L, Delgado-Vega R, Galván-Tirado C, García-de León FJ. 2016b. The complete mitochondrial DNA of the tropical gar (*Atractosteus tropicus*). Mitochondrial DNA Part A. 27(1):557–558. <https://doi.org/10.3109/19401736.2014.905856>
- Del Río-Portilla MA, Vargas-Peralta CE, Machkour-M'Rabet S, Hénaut Y, García-De León FJ. 2016c. Lionfish, *Pterois volitans* Linnaeus 1758, the complete mitochondrial DNA of an invasive species. Mitochondrial DNA. 27(2):1423–1424. <https://doi.org/10.3109/19401736.2014.953075>
- Del Río-Portilla MA, Vargas-Peralta CE, Paz-García DA, Lafarga-De La Cruz F, Balart EF, García-de León FJ. 2016d. The complete mitochondrial DNA of endemic Eastern Pacific coral (*Porites panamensis*). Mitochondrial DNA. 27(1):738–739. <https://doi.org/10.3109/19401736.2014.913166>
- [DOF] Diario Oficial de la Federación. 2007 Jun 5. Área natural protegida, con la categoría de reserva de la biosfera, la zona marina conocida como Bahía de los Angeles, canales de Ballenas y de Salsipuedes. Mexico City: DOF.
- [DOF] Diario Oficial de la Federación. 2010 Jul 1. Aviso mediante el cual se informa al público en general que el Consejo Nacional de Áreas Naturales Protegidas, ha emitido opinión favorable para incorporar al Sistema Nacional de Áreas Naturales Protegidas (SINAP), las Áreas Naturales Protegidas de compet. Mexico City: DOF.
- [FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2020. FAO FishFinder: *Paralichthys olivaceus* (Temminck & Schlegel, 1846). Rome (Italy): FAO Fisheries and Aquaculture Department; accessed 2020 Feb 25. <http://www.fao.org/fishery/species/3350/en>
- Froese R, Pauly D (eds.). 2019. FishBase. World Wide Web Electronic Publication. [Place unknown]: FishBase; [accessed 2020 Feb 25]. www.fishbase.org.
- Galván-Tirado C, del Río-Portilla MA, Delgado-Vega R, García-De León FJ. 2016. Genetic variability between complete mitochondrion genomes of the sablefish, *Anoplopoma fimbria* (Pallas, 1814). Mitochondrial DNA Part A. 27(4):2429–2430. <https://doi.org/10.3109/19401736.2015.1030628>
- Glenn TC, Nilsen RA, Kieran TJ, Sanders JG, Bayona-Vásquez NJ, Finger JW, Pierson TW, Bentley KE, Hoffberg SL, Louha S et al. 2019. Adapterama I: universal stubs and primers for 384 unique dual-indexed or 147,456 combinatorially-indexed Illumina libraries (iTru & iNext). PeerJ. 7:e7755. <https://doi.org/10.7717/peerj.7755>
- Gracian-Negrete J, del Moral-Flores L, Pérez-Ponce De León G. 2015. Diversidad de peces planos en México. Biodiversitas. 121:12–16.
- Guindon S, Gascuel O. 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. Syst Biol 52(5):696–704. <https://doi.org/10.1080/10635150390235520>
- Iwasaki W, Fukunaga T, Isagozawa R, Yamada K, Maeda Y, Satoh TP, Sado T, Mabuchi K, Takeshima H, Miya M et al. 2013. MitoFish and MitoAnnotator: A mitochondrial genome database of fish with an accurate and automatic annotation pipeline. Mol Biol Evol. 30(11):2531–2540. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst141>
- Kumar S, Stecher G, Tamura K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. Mol Biol Evol. 33(7):1870–1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
- León-Pech MG, Castillo-Páez AY, Bisbal-Pardo CI, Rocha-Olivares A, del Río-Portilla MA. 2016. Complete mitochondrial genome of the beaubrummel Damsel fish, *Stegastes flavilatus* (Pisces: Perciformes, Pomacentridae). Mitochondrial DNA Part A. 27(6):4136–4138. <https://doi.org/10.3109/19401736.2014.1003880>
- Lowe TM, Eddy SR. 1997. tRNAscan-SE: a program for improved detection of transfer RNA genes in genomic sequence. Nucleic Acids Res. 25(5):955–964. <https://doi.org/10.1093/nar/25.5.955>

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue apoyado por el CICESE (proyecto No. 623115, O0C079). María Elena Sánchez-Salazar editó la versión en inglés del manuscrito.

Traducción al español por Editage.

- Magallón-Gayón E, del Río-Portilla MÁ, Barriga-Sosa IA. 2020. The complete mitochondrial genomes of two octopods of the eastern Pacific Ocean: *Octopus mimus* and '*Octopus*' *fitchi* (Cephalopoda: Octopodidae) and their phylogenetic position within *Octopoda*. *Mol Biol Rep.* 47:943–952. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-05186-8>
- Metzker ML. 2010. Sequencing technologies—the next generation. *Nat Rev Genet.* 11(11):31–46. <https://doi.org/10.1038/nrg2626>
- Rambaut A. 2018. FigTree v1.4.4. [Place unknown]: [Publisher unknown]; accessed 2020 Feb 25. <https://github.com/rambaut/figtree/releases/tag/v1.4.4>
- Rohland N, Reich D. 2012. Cost-effective, high-throughput DNA sequencing libraries for multiplexed target capture. *Genome Res.* 22(5):939–946. <https://doi.org/10.1101/gr.128124.111>
- Ronquist F, Huelsenbeck JP. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics.* 19(12):1572–1574. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>
- Saitoh K, Hayashizaki K, Yokoyama Y, et al. 2000. Complete nucleotide sequence of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) mitochondrial genome: structural properties and cue for resolving teleostean relationships. *J Hered.* 91(4):271–278. <https://doi.org/10.1093/jhered/91.4.271>
- Satoh TP, Miya M, Mabuchi K, Nishida M. 2016. Structure and variation of the mitochondrial genome of fishes. *BMC Genomics.* 17:719. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-3054-y>
- Schuster SC. 2008. Next-generation sequencing transforms today's biology. *Nat Methods* 5:16–18. <https://doi.org/10.1038/nmeth1156>
- [SEPESCABC] Secretaría de Pesca y Acuicultura de Baja California. 2017. Carta Estatal Pesquera de Baja California. [Place unknown]: Secretaría de Pesca y Acuicultura del Gobierno de Baja California; accessed 2020 Feb 25. 233 p. <https://vdocuments.mx/carta-estatal-pesquera-sepescabc.html>
- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22(22):4673–4680. <https://doi.org/10.1093/nar/22.22.4673>
- WoRMS Editorial Board. 2020. World Register of Marine Species. World Wide Web Electronic Publication. [Place unknown]: [Publisher unknown]; accessed 2020 Aug 10. <http://www.marinespecies.org>
- Wyman SK, Jansen RK, Boore JL. 2004. Automatic annotation of organellar genomes with DOGMA. *Bioinformatics.* 20(17):3252–3255. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bth352>
- Xu Y, Liu X, Shi B, Wang B. 2016. Complete mitochondrial genome of summer flounder *Paralichthys dentatus* (Pleuronectiformes, Paralichthyidae). *Mitochondrial DNA Part B Resour.* 1(1):889–890. <https://doi.org/10.1080/23802359.2016.1258340>

*Received February 2020,
accepted September 2020.*

A sticky thicket of glue cells: A comparative morphometric analysis of colloblasts in 20 species of comb jelly (phylum Ctenophora)

Una maraña pegajosa de células adhesivas: Análisis comparativo de la morfometría de coloblastos en 20 especies de nuez de mar (filo Ctenophora)

Nicholas D Leonardi¹, Erik V Thuesen^{1*}, Steven HD Haddock²

¹ The Evergreen State College, 2700 Evergreen Pkwy NW, Olympia, Washington, 98505, United States

² Monterey Bay Aquarium Research Institute, 7700 Sandholdt Road, Moss Landing, California, 95039, United States

* Corresponding author. E-mail: thuesene@evergreen.edu

ABSTRACT. Ctenophores in the class Tentaculata are distinct from Cnidarians in that they use sticky, not stinging, tentacles to capture and subdue their prey. The structures that make these tentacles sticky are colloblasts, specialized multicellular adhesive structures for predation. Located on the tentacles, tentacle side-branches (tentilla), or oral tentilla, colloblasts are only found in comb jellies (phylum Ctenophora). To perform comparative anatomy of the diversity of ctenophore colloblasts, specimens were collected from the epi- to bathypelagic zones near the coasts of central California and the Hawaiian Islands using blue-water divers and remotely operated vehicles. Tentacle samples were immediately fixed in a 4% formalin solution at sea, and then prepared in the lab via secondary fixation in 2% OsO₄ for scanning electron microscopy (SEM). Diversity of ultrastructural characteristics was observed using SEM, and the morphometrics of the collosphere, external secretion granules, and spiral filament were recorded for 20 species, within 9 families and 9 genera, including 13 undescribed species. Morphometry of colloblasts reveals that the shape of the collosphere (the organizational unit of sticky granules) falls into 3 classifications: spherical, ellipsoidal, or non-uniform. External secretion granule deposition falls into 2 categories: clustered or patterned; the cap cell membrane was either present or absent. This morphological variation is summarized graphically and will be useful to describe the functional diversity and feeding ecology of the interesting and controversial phylum Ctenophora.

Key words: colloblast, ctenophore, predation, scanning electron microscopy, Tentaculata.

RESUMEN. Los ctenóforos de la clase Tentaculata difieren de los cnidarios en que usan tentáculos pegajosos y no punzantes para capturar y dominar a su presa. Las estructuras que vuelven a los tentáculos pegajosos son los coloblastos, estructuras pluricelulares adhesivas especializadas para la depredación. Localizados en los tentáculos, en las ramificaciones de los tentáculos (tentillas) o en las tentillas orales, los coloblastos solo se encuentran en las nueces del mar (filo Ctenophora). Con el fin de realizar una comparación anatómica de los distintos coloblastos en ctenóforos, se recolectaron especímenes desde la zona epipelágica hasta la batipelágica cerca de la costa central de California y de las islas hawaianas utilizando buceo científico (*blue-water diving*) y vehículos sumergidos operados remotamente. Las muestras de tentáculos fueron inmediatamente fijados en el mar en una solución de formalina al 4%, y luego fueron preparados en el laboratorio vía una solución secundaria de OsO₄ al 2% para microscopía electrónica de barrido (MEB). La diversidad de características ultraestructurales fueron observadas utilizando el MEB, y la morfometría de la coloesfera, los gránulos externos de secreción y los filamentos espiralados de 20 especies fueron registrados, dentro de 9 familias y 9 géneros, incluidas 13 especies no descritas. La morfometría de los coloblastos revela que la forma de la coloesfera (la unidad organizacional de gránulos pegajosos) presenta 3 clasificaciones: esférica, elipsoide o no uniforme. La disposición de los gránulos externos de secreción presenta 2 categorías: en cúmulo o en patrón; la membrana de células externas estaba presente o ausente. Esta variación morfológica está resumida en gráficos y será de utilidad para describir la diversidad funcional de este interesante y controversial filo Ctenophora.

Palabras clave: coloblastos, ctenóforos, depredación, microscopio electrónico de barrido, Tentaculata.

INTRODUCTION

Ctenophora is a diverse phylum of gelata consisting of about 190 described species, with estimates for the number of additional undescribed species being roughly equivalent (Appeltans et al. 2012). Molecular and phylogenomic analyses of ctenophores have indicated that they may be the sister group to all other animals (Dunn et al. 2008, Whelan et al. 2017, but see Simion et al. 2017). Dunn et al. (2015)

INTRODUCCIÓN

Ctenophora es un filo variado de zooplancton gelatinoso que consiste de casi 190 especies descritas, y se estima un número adicional de especies no descritas casi equivalente (Appeltans et al. 2012). Los análisis moleculares y filogenómicos de los ctenóforos han indicado que podrían llegar a ser un grupo hermano de todos los animales (Dunn et al. 2008, Whelan et al. 2017, pero ver Simion et al. 2017). Dunn

highlighted that nonbilaterian phyla do not only possess simple traits but also complex and unique traits, as do bilaterians, making it important to describe traits across all animal phyla in order to properly compare evolutionary relationships and diversification.

Ctenophores are the only organisms that possess colloblasts, specialized adhesive structures for predation. The diversification of feeding behaviors in ctenophores is in part due to the presence or absence of tentacles containing colloblasts, and the manner in which they are arranged (Komai 1922, Mackie et al. 1988, Emson and Whitfield 1991, Matsumoto and Harbison 1993, Haddock 2007). Through the use of electron microscopy, morphometrics of colloblasts have been recorded for some species (Bargmann et al. 1972; Benwitz 1978; Franc 1978; Mackie et al. 1988; Emson and Whitfield 1991; Carré and Carré 1993a, b; Eeckhaut et al. 1997), but only one study has compared variation in colloblasts across a small portion (4 species from 4 families) of the phylum (Franc 1978). Colloblast polymorphisms within a species have only been observed in *Minictena luteola* (Carré and Carré 1993b). The vocabulary associated with colloblasts has long been confused, but von Byern et al. (2010) have recently clarified a standard terminology, which is used herein (Fig. 1). The goal of the present study is to survey the diversity of colloblast characteristics across the phylum through the use of scanning electron microscopy (SEM) and morphometric analyses.

MATERIALS AND METHODS

Twenty species of ctenophores were collected from the epi- to bathypelagic zones off the coasts of central California and the Hawaiian Islands. These locations are advantageous because of their relatively near-shore access to very deep environments (Haddock et al. 2017). Shallow species were hand-collected in glass jars by blue-water divers (Haddock and Heine 2005). Meso- and bathypelagic species were collected using suction samplers and detritus samplers on remotely operated vehicles from the Monterey Bay Aquarium Research Institute (Robison 1993). When found extended in the feeding position, tentacles were sucked into a Pasteur pipette and separated from the animal. Tentacles retracted into the tentacular bulb were dissected from intact animals using fine metal forceps and surgical scissors. Tentacles were then prepared by primary fixation at sea using 4% borax-buffered formalin in filtered seawater. In the lab, tentacles were washed with 2.5% NaHCO₃ for 30–45 min, and secondary fixation was carried out using 2% OsO₄ in 1.25% NaHCO₃ for 2–3 h depending on the size of the sample. After secondary fixation, tentacles were rinsed with deionized water until the solution ran clear. Tentacles were dehydrated through an ethanol gradient using Reichert capsules, critical-point dried in acetone-carbon dioxide using a SAMDRI-PVT-3D, and then sputter coated with gold-palladium using a HUMMER 6.2.

et al. (2015) han subrayado que los filos no bilaterales no solamente poseen rasgos simples, sino también rasgos únicos y complejos como los bilaterales, lo cual resalta la importancia de describir los rasgos en todos los filos animales para poder comparar adecuadamente las relaciones evolutivas y la diversificación.

Los ctenóforos son los únicos organismos que poseen colloblastos, estructuras adhesivas especializadas para la depredación. La diversificación en el comportamiento alimentario en los ctenóforos se da, en parte, gracias a la presencia o ausencia de tentáculos que contienen colloblastos y la manera en la cual éstos se encuentran ordenados (Komai 1922, Mackie et al. 1988, Emson y Whitfield 1991, Matsumoto y Harbison 1993, Haddock 2007). Mediante el uso de microscopía electrónica, la morfometría del colloblasto ha sido registrada para algunas especies (Bargmann et al. 1972; Benwitz 1978; Franc 1978; Mackie et al. 1988; Emson y Whitfield 1991; Carré y Carré 1993a, b; Eeckhaut et al. 1997), pero solo un estudio ha comparado la variación de colloblastos en una pequeña porción (4 especies de 4 familias) del filo (Franc 1978). El polimorfismo de colloblastos dentro de una especie ha sido observado únicamente en *Minictena luteola* (Carré y Carré 1993b). El vocabulario asociado con los colloblastos ha sido confuso por mucho tiempo, pero von Byern et al. (2010) recientemente aclararon una terminología estándar, que es la que se utiliza en este documento (Fig. 1). El objetivo del presente estudio es examinar la diversidad de las características de los colloblastos en el filo mediante el uso de microscopía electrónica de barrido (MEB) y análisis morfométricos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Veinte especies de ctenóforos fueron recolectados desde la zona epipelágica hasta la batipelágica, cerca de la costa central de California y de las islas hawaianas. Estos sitios son ventajosos por presentar ambientes muy profundos a una relativa cercanía de la costa (Haddock et al. 2017). Especies de aguas someras fueron recolectadas a mano en frascos de vidrio por buzos científicos (Haddock y Heine 2005). Especies de las zonas meso y batipelágicas fueron recolectadas utilizando muestreadores de succión y muestreadores de detritus, en vehículos operados remotamente del Instituto de Investigación del Acuario de la Bahía de Monterey (Robison 1993). Al encontrarlos extendidos en la postura de alimentación, los tentáculos fueron succionados con una pipeta Pasteur y así separados del animal. Los tentáculos retraídos en el bulbo tentacular fueron diseccionados de animales intactos utilizando pinzas de metal fino y tijeras quirúrgicas. Luego, los tentáculos fueron preparados mediante fijación primaria en el mar utilizando formalina tamponada con bórax al 4% en agua de mar filtrada. En el laboratorio, los tentáculos fueron lavados con NaHCO₃ al 2.5% durante 30–45 min, y la fijación secundaria se llevó a cabo utilizando OsO₄ al 2% en NaHCO₃ al 1.25% por 2–3 h dependiendo del tamaño de la muestra. Después de la fijación secundaria, los tentáculos fueron enjuagados con agua

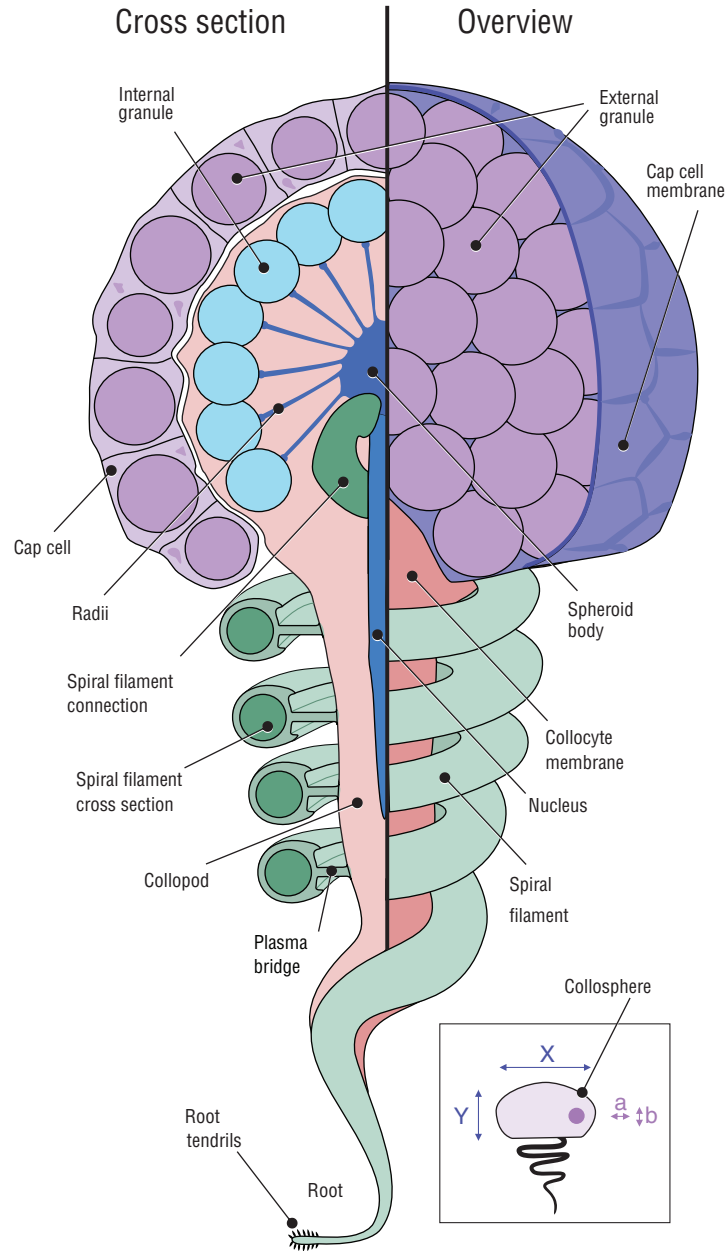


Figure 1. Colloblast morphology and schematic of how morphometrics were recorded (inset). The colloblast is made up of 2 different cell types that merge in the latter stages of development. The collocyte is the primary cell that comprises the colloblast and contains a majority of the organelles that are key to the function of colloblasts during predation. Cap cells produce external secretion granules and form the cap cell membrane that covers the surface of the developing colloblast. Internal secretion granules are produced by the collocyte and are anchored to the spheroid body via the radii. The elongated nucleus is located beneath the spheroid body and extends downwards into the collopod. The spiral filament coils downwards from the spheroid body and is connected to the collopod by a thin plasma bridge that breaks away upon colloblast ejection. The root and root tendrils anchor the colloblast to the denser, inner-layer of the tentacle or tentillum.

Figura 1. Morfología del coloblasto y esquema de cómo se registró la morfometría (recuadro). El coloblasto está formado por 2 tipos de células diferentes que se fusionan en las últimas etapas del desarrollo. El colócito es la célula primaria que contiene al coloblasto y posee la mayoría de los organelos que son clave para el funcionamiento de los coloblastos durante la depredación. Las células externas producen los gránulos externos de secreción y forman una membrana que recubre la superficie del coloblasto en desarrollo. Los gránulos internos de secreción son producto del colócito y están anclados al cuerpo esferoidal a través de los radios. El núcleo alargado se encuentra por debajo del cuerpo esferoidal y se extiende hacia abajo metiéndose en el colópodo. El filamento espiralado se enrolla hacia abajo del cuerpo esferoidal y está conectado al colópodo por un puente delgado de plasma que se rompe al expulsar el coloblasto. La raíz y los zarcillos de la raíz anclan el coloblasto a la capa más densa e interna de los tentáculos o tentilla.

Micrographs were taken on a JEOL JSM-6480LV scanning electron microscope and morphometrics of the 3 main ultrastructural components were analyzed using ImageJ (Schneider et al. 2012). If needed, the micrograph's contrast and brightness were adjusted using linear transformations in Adobe Photoshop.

Colloisphere diameter was measured at 2 perpendicular lengths (inset in Fig. 1), one from a superior view (X) and one from a profile view (Y); all colloisphere area measurements were two-dimensional and included the external secretion granules. Colloisphere classification was determined by the colloisphere diameter ratio. The numerator of this ratio was the superior view measurement (Fig. 1 inset a), and the denominator was the profile view measurement (Fig. 1 inset b). Colloispheres with a diameter ratio of ~ 1.0 were considered spheroid; a ratio of ~ 1.3 , ellipsoid; and ratios of ~ 0.5 or between ~ 1.1 and 1.2 , non-uniform. External secretion granule diameter was measured at 2 perpendicular lengths, and the two-dimensional area was measured only on granules that did not appear "deflated" or "popped". The spiral filament cross section was measured at multiple points perpendicular to the central axis of the filament. Cross sections of tentacles, tentilla, and colloblasts were observed on specimens that were prepared using the dry-fracturing technique (Toda et al. 1989).

RESULTS

Colloisphere and external secretion granule measurements were successfully made on all 20 species; however, spiral filament morphometrics were only recorded for 13 species due to no visible extended colloblasts, or unsuccessful dry-fracturing (Table 1). Three variations of colloisphere form, spherical (Fig. 2), ellipsoidal (Fig. 3), and non-uniform (Fig. 4), were found. Colloblasts were observed to either have or not have a thin cap cell membrane covering the colloispheres, including the external secretion granules. External secretion granules were deposited by the cap cell in either a single cluster covering the surface of the colloisphere or in 1 of 3 patterned granule deposition forms.

Colloisphere morphologies and spiral filaments

Of the 20 species examined, 13 had spherical colloispheres, 2 had ellipsoidal colloispheres, and 5 had colloispheres that took other non-uniform shapes (Table 1, Figs. 2–4). Spiral filaments were observed in ctenophores with spherical (Fig. 2) and ellipsoidal (Fig. 3) colloispheres. For spherical colloispheres, the spiral filament was covered by the collocyte membrane and coiled around the collopod, connected via the plasma bridge (Figs. 1, 2). For ellipsoidal colloispheres, the spiral filament was attached to the narrow end of the ellipsoid, and no distinct collopod was observed protruding from the colloisphere as was present in spherical colloispheres (Fig. 3).

desionizada hasta que la solución resultó límpida. Los tentáculos fueron deshidratados mediante un gradiente de etanol utilizando cápsulas de Reichert, secados por punto-crítico en dióxido de carbono/acetona utilizando SAMDRI-PVT-3D, y luego sometidos a pulverización catódica con oro blanco utilizando un HUMMER 6.2. Las micrografías fueron tomadas en un JEOL JSM-6480LV (microscopio electrónico de barrido), y la morfometría de los 3 componentes ultraestructurales principales fueron analizados utilizando ImageJ (Schneider et al. 2012). Cuando hubo necesidad, el contraste y el brillo de las micrografías fueron ajustados mediante transformaciones lineales en Adobe Photoshop.

El diámetro de la coloesfera se midió en 2 longitudes perpendiculares (ver inserto en Fig. 1), uno desde una vista superior (X) y uno desde una vista de perfil (Y); todas las mediciones del área de la coloesfera fueron bidimensionales e incluyeron los gránulos externos de secreción. La clasificación de las coloesferas fue determinada por la relación entre el diámetro de las mismas. El numerador de esta relación fue la medición de la vista superior (inserto a en Fig. 1), y el denominador fue la medición de la vista de perfil (inserto b en Fig. 1). Las coloesferas con una relación de diámetro de ~ 1.0 fueron consideradas esféricas; las de una relación de ~ 1.3 , elipsoides; y las de relaciones de ~ 0.5 o entre ~ 1.1 y 1.2 , no uniformes. El diámetro de los gránulos externos de secreción se midió en 2 longitudes perpendiculares, y el área bidimensional se midió solamente en los gránulos que no parecían estar "desinflados" o "reventados". La sección transversal del filamento espiral se midió en múltiples puntos perpendiculares al eje central del filamento. Se observaron secciones transversales de tentáculos, tentillas y coloblastos en muestras que fueron preparadas utilizando la técnica de fractura en seco (Toda et al. 1989).

RESULTADOS

Se tomaron de manera exitosa las medidas de las coloesferas y de los gránulos externos de secreción en las 20 especies. Sin embargo, la morfometría del filamento espiralado solo fue registrado en 13 especies debido a la ausencia de coloblastos visiblemente extendidos o a una fractura en seco ineficaz (Tabla 1). Se encontraron 3 variaciones en la forma de la coloesfera, esférica (Fig. 2), elipsoide (Fig. 3) y no uniforme (Fig. 4). Algunos de los coloblastos observados presentaban una delgada membrana de células externas que cubría la coloesfera (incluso los gránulos externos de secreción), mientras que otros no. Los gránulos externos de secreción fueron depositados por las células externas en un solo cúmulo que cubría la superficie de la coloesfera o en 1 de los 3 patrones de formas de deposición.

Morfología de la coloesfera y de los filamentos espiralados

De las 20 especies examinadas, 13 tenían coloesferas esféricas, 2 tenían coloesferas elipsoides y 5 tenían coloesferas

Table 1. Morphometrics of colloblasts in ctenophores.
Tabla 1. Morfometría de los coloblastos en ctenóforos.

Species	Collection location	Collection ID	Spiral filament cross section (μm)	External granule area (μm^2)	External granule diameter ^d (μm)	External granule diameter ^b (μm)	Secretion granule deposition form	Collosphere area (μm^2)	Collosphere diameter ^x (μm)	Collosphere diameter ^y (μm)	Collosphere classification
Aulacoctenidae											
<i>Aulacoctena</i> sp. 1 (Fig. 3a, b; 7c)	California	D1046-D4	2.2 \pm 0.2	1.0 \pm 0.1	1.0 \pm 0.1	1.1 \pm 0.1	Patterned	116.0 \pm 15.0	11.0 \pm 1.7	8.6 \pm 1.6	Ellipsoid
Aulacoctenidae											
<i>Aulacoctena</i> sp. 2 (Fig. 3c, 7d)	California	D1168-D3	1.8 \pm 0.1	0.8 \pm 0.1	0.9 \pm 0.1	0.9 \pm 0.1	Patterned	80.0 \pm 8.1	11.0 \pm 0.8	8.5 \pm 0.5	Ellipsoid
Bathycytenidae											
<i>Bathycytena chuni</i> (Fig. 2a)	Hawaii	KM18-T08-3	0.4 \pm 0.03	1.0 \pm 0.2	1.1 \pm 0.1	1.1 \pm 0.1	Clustered	44.0 \pm 5.5	7.1 \pm 0.4	7.5 \pm 0.2	Spheroid
Mertensiidae											
<i>Callianira</i> sp. (Fig. 2b)	Hawaii	KM-M123-MS3	Not visible	0.6 \pm 0.1	0.8 \pm 0.1	0.8 \pm 0.1	Clustered	13.0 \pm 2.2	4.1 \pm 0.5	4.0 \pm 0.4	Spheroid
Undescribed Family											
<i>Cydippid</i> sp. C (Fig. 4e, 5, 6a)	California	D1162-D2	0.9 \pm 0.1	0.6 \pm 0.1	0.8 \pm 0.1	0.8 \pm 0.1	Clustered	16.0 \pm 5.8	3.0 \pm 0.5	5.8 \pm 1.4	Non-uniform
Pleurobrachiidae											
<i>Hormiphora palmata</i> (Fig. 2c, 6b)	Hawaii	KM18-BW2-5	Not visible	0.4 \pm 0.1	0.7 \pm 0.1	0.7 \pm 0.1	Clustered	10.0 \pm 1.4	3.5 \pm 0.3	3.4 \pm 0.3	Spheroid
Pleurobrachiidae											
<i>Pleurobrachia bachei</i> (Fig. 2d, e; 7a)	California	24Mar19-BW2-36, 37, 38	0.5 \pm 0.06	0.6 \pm 0.1	0.8 \pm 0.1	0.8 \pm 0.1	Patterned	28.0 \pm 2.5	6.1 \pm 0.2	5.7 \pm 0.3	Spheroid
Undescribed Family											
<i>Cydippid</i> sp. RLL (Fig. 5f)	California	D1022-D4	Not visible	0.9 \pm 0.2	1.0 \pm 0.1	1.0 \pm 0.1	Clustered	20.0 \pm 3.4	3.3 \pm 0.1	6.4 \pm 0.7	Non-uniform
Undescribed Family											
<i>Cydippid</i> sp. RC (Fig. 2f)	California	D1168-D7	Not visible	0.9 \pm 0.1	1.0 \pm 0.1	1.0 \pm 0.1	Clustered	87.0 \pm 14	11.0 \pm 0.7	10.0 \pm 1.6	Spheroid
Undescribed Family											
<i>Cydippid</i> sp. RH (Fig. 2g)	Hawaii	KM18-M120-MS4	0.9 \pm 0.1	0.5 \pm 0.1	0.8 \pm 0.1	0.8 \pm 0.1	Clustered	83.0 \pm 10	9.8 \pm 0.9	9.6 \pm 1.2	Spheroid
Undescribed Family											
<i>Cydippid</i> sp. M (Fig. 2h)	Hawaii	KM18-M121-MS4	1.3 \pm 0.2	2.1 \pm 0.3	1.5 \pm 0.2	1.5 \pm 0.2	Clustered	90.0 \pm 9.9	10.2 \pm 0.8	10.0 \pm 0.7	Spheroid

Table 1 (Cont.)

Species	Collection location	Collection ID	Spiral filament cross section (μm)	External granule area (μm^2)	External granule diameter ^a (μm)	External granule diameter ^b (μm)	Secretion granule deposition form	Collosphere area (μm^2)	Collosphere diameter ^x (μm)	Collosphere diameter ^y (μm)	Collosphere classification
Tjalfeiliidae Platyctene sp. P (Fig. 2f)	California	D1165-D10	1.0 \pm 0.1	1.3 \pm 0.2	1.2 \pm 0.1	1.2 \pm 0.1	Clustered	52.0 \pm 5.7	9.1 \pm 0.4	8.4 \pm 0.1	Spheroid
Tjalfeiliidae Platyctene sp. W (Fig. 2j)	California	D1165-BT1	0.4 \pm 0.1	0.8 \pm 0.2	1.0 \pm 0.1	0.9 \pm 0.1	Clustered	16.0 \pm 2.7	4.4 \pm 0.3	4.5 \pm 0.4	Spheroid
Lampoctenidae Lobate sp. V (Fig. 4c, 6c, 7f)	California	D1045-D4	Not visible	0.8 \pm 0.1	0.9 \pm 0.1	0.9 \pm 0.1	Patterned	50.0 \pm 9.0	5.1 \pm 0.7	11.0 \pm 1.5	Non-uniform
Undescribed Family Cydippid sp. B (Fig. 2k)	California	D1019-D1, D6	0.9 \pm 0.1	1.1 \pm 0.3	1.1 \pm 0.1	1.1 \pm 0.2	Clustered	63.0 \pm 6.5	8.6 \pm 0.6	8.4 \pm 0.6	Spheroid
Euplokamididae Euplokamis sp. (Fig. 2l, 7b)	California	D1169-D4	0.5 \pm 0.04	1.5 \pm 0.2	1.3 \pm 0.1	13.0 \pm 0.1	Patterned	65.0 \pm 4.1	8.9 \pm 0.5	9.2 \pm 0.6	Spheroid
Cestidae Cestum veneris (Fig. 4a)	Hawaii	KM18-BW8-21	Not visible	0.7 \pm 0.1	0.9 \pm 0.1	0.9 \pm 0.1	Clustered	38.0 \pm 5.1	7.0 \pm 1.3	6.2 \pm 0.9	Non-uniform
Leucotheidae Leucothea pulchra (Fig. 4b)	Monterey Bay Aquarium	28Apr19-TT1, 2	Not visible	1.5 \pm 0.2	1.3 \pm 0.1	1.3 \pm 0.1	Clustered	22.0 \pm 2.8	5.3 \pm 0.5	4.4 \pm 0.6	Non-uniform
Mertensiidae Mertensid sp. Y (Fig. 2m)	California	D1137-D3	0.7 \pm 0.1	0.7 \pm 0.1	0.9 \pm 0.1	0.9 \pm 0.1	Clustered	45.0 \pm 5.0	7.4 \pm 0.3	7.2 \pm 0.4	Spheroid
Undescribed Family Cydippid sp. RG (Fig. 2n, 6e)	California	D1165-D7, D9	1.7 \pm 0.2	0.9 \pm 0.2	1.1 \pm 0.1	1.0 \pm 0.1	Patterned	92.0 \pm 9.0	10.0 \pm 1.0	10.0 \pm 0.3	Spheroid

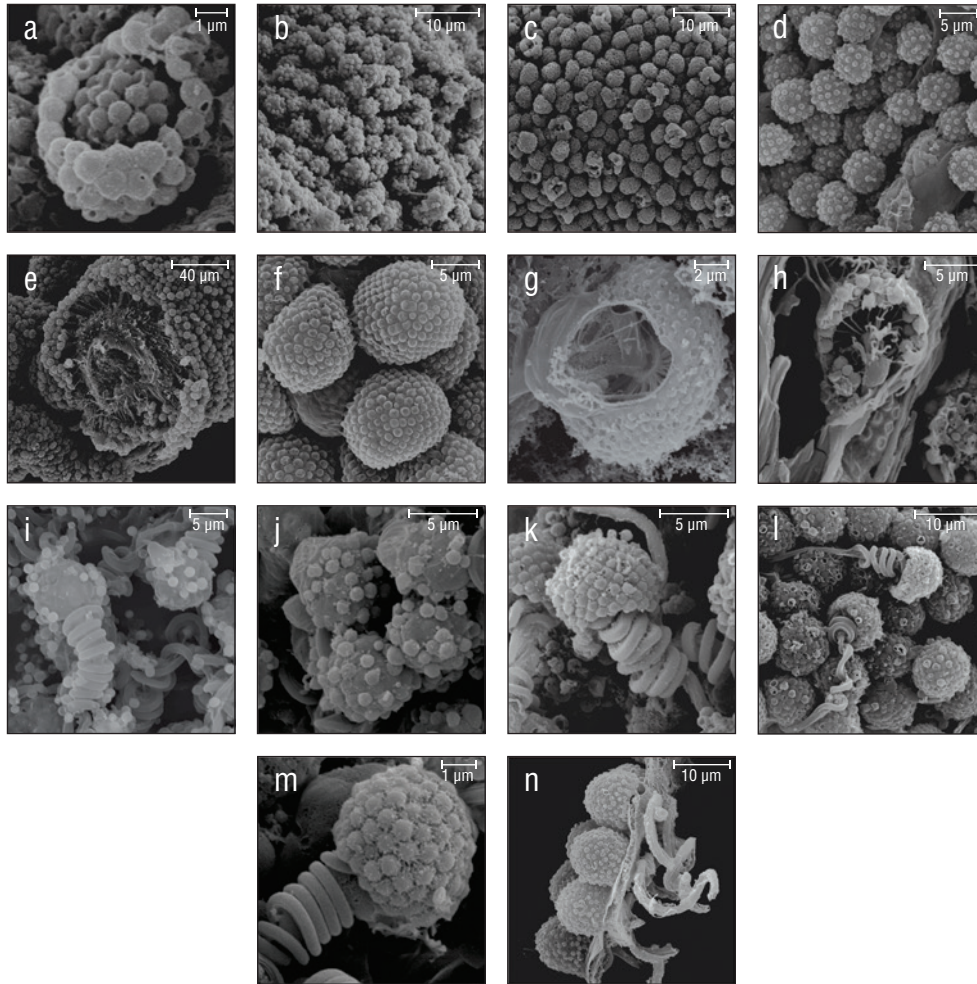


Figure 2. Species with spherical collospheres. (a) *Bathytectena chuni*. (b) *Callianira* sp. (c) *Hormiphora palmata*. (d) *Pleurobrachia bachei*. (e) Cross section of *P. bachei* tentillum showing the double-layered tentacle morphology. (f) *Cydippid* sp. RC. (g) Cross section of *Cydippid* sp. RH colloblast with nucleus, spheroid body, and radii visible. (h) Cross section of *Cydippid* sp. M colloblast with a majority of organelles visible. (i) *Platytectene* sp. P. (j) *Platytectene* sp. W. (k) *Cydippid* sp. B. (l) *Euplokamis* sp. (m) Mertensiid sp. Y. (n) *Cydippid* sp. RG.

Figura 2. Especies con coloesferas esféricas. (a) *Bathytectena chuni*. (b) *Callianira* sp. (c) *Hormiphora palmata*. (d) *Pleurobrachia bachei*. (e) Sección transversal de las tentillas de *P. bachei*, que muestra la morfología del tentáculo de doble capa. (f) *Cydippid* sp. RC (cidípido). (g) Sección transversal del coloblasto de *Cydippid* sp. RH, que muestra el núcleo, el cuerpo esférico y los radios. (h) Sección transversal del coloblasto de *Cydippid* sp. M, que muestra la mayoría de los organelos. (i) *Platytectene* sp. P (platicténido). (j) *Platytectene* sp. W. (k) *Cydippid* sp. B. (l) *Euplokamis* sp. (m) Mertensiid sp. Y. (n) *Cydippid* sp. RG.

For non-uniform collospheres, spiral filaments were only observed in cydippid species C (henceforth *Cydippid* sp. C as in Table 1) when the tentacles were draped across the swimming legs of a copepod (Fig. 5). Spiral filaments were seen stretching more than 200 μm from one entangled swimming leg to another (Fig. 5b), compared to the external secretion granule diameter of roughly 0.8 μm (Table 1). Non-uniform collosphere morphometrics were only recorded from a superior view due to the lack of the traditional colloblast form observed from a profile view. Collospheres of lobate species V (henceforth *Lobate* sp. V as in Table 1) were elongated and anchored to the oral tentilla along the collosphere's longer axis (Fig. 4c, d). No spiral filaments were observed in *Lobate* sp. V.

no uniformes (Tabla 1, Figs. 2–4). Los filamentos espiralados fueron observados en ctenóforos con coloesferas esféricas (Fig. 2) y elipsoides (Fig. 3). En las coloesferas esféricas, el filamento espiralado estaba cubierto por la membrana del colócito y enrollado sobre el colópodo, conectados por el puente plasmático (Figs. 1, 2). En las coloesferas elipsoides, el filamento espiralado se conectaba con la punta estrecha del elipsoide, sin poder distinguir un colópodo saliéndose de la coloesfera como se presentaba en la coloesfera esférica (Fig. 3). En las coloesferas no uniformes, los filamentos espiralados sólo fueron observados en la especie de cidípido C (en adelante *Cydippid* sp. C como en la Tabla 1), cuando los tentáculos envolvían los apéndices torácicos (Fig. 5). Los filamentos espiralados se observaron estirándose más

Cap cell membrane

The cap cell membrane, a thin membrane of cells that contain the external secretion granules awaiting deposition onto the collosphere, was observed in *Hormiphora palmata*, *Cydippid* sp. C, and *Lobate* sp. V (Fig. 6). In *Cydippid* sp. C, the cap cell membrane was very smooth and tightly enveloped the surface of the collosphere (Fig. 6a). The areas that lacked the cap cell membrane had indistinct collospheres with external granule deposition similar to those seen in *H. palmata*. In *H. palmata*, the cap cell membrane had folds throughout its surface (Fig. 6b). On areas of the tentacles of *H. palmata* where this membrane was absent, granules were deflated and less prominent than those found in other species lacking the cap cell membrane (Fig. 2c), suggesting it may have been torn free and the colloblast had adhered. In *Lobate* sp. V the cap cell membrane does not completely

de 200 μm , desde un apéndice torácico enredado hasta otro (Fig. 5b), comparado con el diámetro de la glándula de secreción externa de aproximadamente 0.8 μm (Tabla 1). La morfometría de las coloesferas no uniformes fue registrada únicamente desde una vista superior debido a la falta del formato tradicional del coloblasto observable desde una vista de perfil. Las coloesferas de la especie de lobato V (en adelante *Lobate* sp. V como en la Tabla 1) estaban elongadas y ancladas a las tentilas orales sobre el eje más largo de la coloesfera (Fig. 4c, d). No se observaron filamentos espiralados en *Lobate* sp. V.

Membrana de células externas

La membrana de células externas, una delgada membrana de células que contiene los gránulos externos de secreción en espera de ser depositados sobre la coloesfera, fue

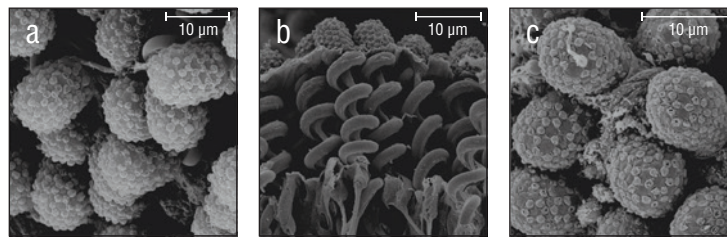


Figure 3. Species with ellipsoidal collospheres. (a) *Aulacoctena* sp. 1. (b) Profile view of *Aulacoctena* sp. 1 colloblasts showing the spiral filament and root, but lacking the collopod in the middle of the spiral. (c) *Aulacoctena* sp. 2.

Figura 3. Especies con coloesferas elipsoides. (a) *Aulacoctena* sp. 1. (b) Vista de perfil de coloblastos de *Aulacoctena* sp. 1, que muestra el filamento espiralado y la raíz, pero carece del colópodo en el medio del espiral. (c) *Aulacoctena* sp. 2.

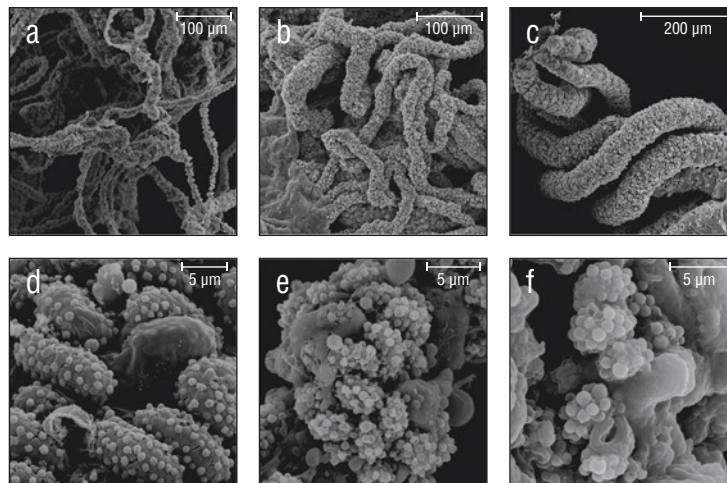


Figure 4. Species with non-uniform collospheres. (a) Wispy oral tentilla of *Cestum veneris*. (b) Clump of 4 trailing tentacles from *Leucothea pulchra*. (c) Oral tentilla from a mature *Lobate* sp. V. (d) Oblong colloblasts from *Lobate* sp. V. (e) Indistinct colloblasts of *Cydippid* sp. C. (f) Indistinct, loop-like collospheres found in *Cydippid* sp. RLL.

Figura 4. Especies con coloesferas no uniformes. (a) Tentilas orales ligeras de *Cestum veneris*. (b) Un grupo de 4 tentáculos colgantes de *Leucothea pulchra*. (c) Tentilas orales de un *Lobate* sp. V. (lobato) maduro. (d) Coloblastos apaisados de *Lobate* sp. V. (e) Coloblastos indistintos de *Cydippid* sp. C (cidípido). (f) Coloesferas indistintas y con forma de bucle encontradas en *Cydippid* sp. RLL.

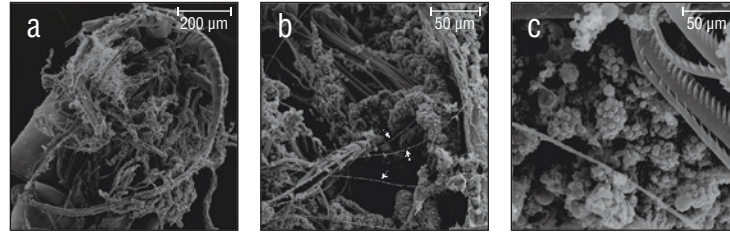


Figure 5. Tentacles of *Cydippid* sp. C entangled in the swimming legs of a copepod. (a) Underside of copepod with swimming legs visible. (b) Zoomed view of the tentilla. Spiral filaments (arrows) visible stretching roughly 200 μm across the swimming legs of the copepod. (c) Colloblasts near the point of contact between the tentilla and the swimming legs of the copepod.

Figura 5. Tentáculos de *Cydippid* sp. C enredados en los apéndices torácicos de un copépodo. (a) Parte inferior del copépodo con apéndices torácicos visibles. (b) Vista ampliada de tentillas. Filamentos espiralados (flechas) estirándose aproximadamente 200 μm por sobre los apéndices torácicos del copépodo. (c) Coloblastos cercanos al punto de contacto entre las tentillas y los apéndices torácicos del copépodo.

cover areas of the oral tentilla, and collospheres and external secretion granules can be seen protruding through the cap cell membrane (Fig. 6c).

External secretion granule deposition forms

Of the 20 species examined, 14 species had a continuous cluster of external secretion granules covering the collosphere, and 6 species had 1 of 3 patterned deposition forms (Table 1, Fig. 7). Those with clustered granule deposition forms had little to no space separating the external secretion granules. Those with patterned deposition forms had external secretion granules that were deposited in separated, sometimes geometric, patterns. *Aulacoctena* sp. 1 (Figs. 3a, b; 7c), *Aulacoctena* sp. 2 (Figs. 3c, 7d), and *Cydippid* sp. RG (Fig. 2n) all have external secretion granule deposition patterns resembling a truncated icosahedron, that is, a three-dimensional shape consisting of 12 regular pentagons set edge to edge with 20 regular hexagons to complete the solid. *Pleurobrachia bachei* and an undescribed *Euplokamis* sp. have external secretion granules that were deposited in a harlequin pattern, with the external secretion granules located at the vertices of the diamond shapes comprising the pattern (Fig. 7a, b). *Lobate* sp. V has patterned granule deposition, but the pattern is not as apparent as it is in other species (Fig. 7f). External secretion granules were separated and creases were observed leading from one granule to another across the collocyte membrane (Fig. 7f). Both species of undescribed Tjalffiellidae (benthic platyctenes) have external secretion granules that are clustered and were observed to detach from the collosphere, with the internal secretion granules seen protruding from beneath (Fig. 2i, j). The detachment of external secretion granules was not observed in any of the other species in this study.

DISCUSSION

The term colloblast is somewhat of a misnomer, because it implies that the structure is composed of only one cell.

observada en *Hormiphora palmata*, *Cydippid* sp. C, y *Lobate* sp. V (Fig. 6). En los *Cydippid* sp. C, la membrana de células externas era lisa y envolvía de manera firme la superficie de la coloesfera (Fig. 6a). Las áreas que carecían de la membrana tenían coloesferas indistintas con una disposición de gránulos externos similares a los observados en *H. palmata*. En *H. palmata*, la membrana de células externas tenía pliegues a lo largo de su superficie (Fig. 6b). En algunas partes de los tentáculos de *H. palmata* donde esta membrana estaba ausente, los gránulos estaban desinflados y eran menos prominentes que aquellos encontrados en especies que carecen de la membrana de células externas (Fig. 2c), lo cual puede sugerir que se haya desgarrado y el coloblasto se haya adherido. En *Lobate* sp. V la membrana de células externas no cubre completamente las áreas de las tentillas orales, y pueden observarse las coloesferas y los gránulos externos de secreción sobresaliendo a través de dicha membrana (Fig. 6c).

Formas de deposición de los gránulos externos de secreción

De las 20 especies examinadas, 14 especies presentaban un cúmulo continuo de gránulos externos de secreción que cubría la coloesfera, y 6 especies tenían 1 de los 3 patrones de deposición (Tabla 1, Fig. 7). Aquellas que presentaban una forma de deposición de los gránulos externos de secreción en cúmulo tenían poco o nada de espacio entre los gránulos. Aquellas que presentaban la forma de deposición en patrón tenían gránulos externos de secreción que estaban depositados en patrones separados, a veces geométricos. *Aulacoctena* sp. 1 (Figs. 3a, b; 7c), *Aulacoctena* sp. 2 (Figs. 3c, 7d), and *Cydippid* sp. RG (Fig. 2n) tienen patrones de deposición que se asemejan a un icosaedro truncado, una figura tridimensional que consta de 12 pentágonos regulares colocados lado a lado, con 20 hexágonos regulares completando el sólido. Tanto *Pleurobrachia bachei* como una especie no descrita de *Euplokamis* tienen gránulos externos de secreción que fueron depositados en un patrón de arlequín, con gránulos externos

However, the colloblast is actually formed from multiple cells: the collocyte, which forms the main body of the colloblast, along with numerous cap cells that produce external secretion granules (reviewed by von Byern et al. 2010). Cap cells form a membrane that covers the developing colloblasts on the tentacles. This unique structure separates ctenophores from all other known organisms (see Dunn et al. 2015). Interestingly, at least 2 genera of tentaculate ctenophores have apparently lost the ability to produce colloblasts. These are *Haeckelia* (Carré and Carré 1980, Mills and Miller 1984) and the curious monotypic genus *Ctenella* (Carré and Carré 1993a).

General collosphere morphology

Prior to this study, collospheres had been described as hemispherical across the phylum. Observed herein, a majority of collosphere shapes are closer to resembling a sphere rather than a hemisphere. Two other collosphere forms, ellipsoid and non-uniform, were also observed to exist in a few families. In families with these 2 forms of collospheres, colloblasts lack a traditional collopod. Since the collopod is the location of the elongated nucleus and serves as an anchor point for the resting spiral filament, this finding piques interest surrounding the formation and function of such variations during collosphere morphogenesis.

Spiral filaments

The majority of spiral filament observations in this study agree with those reported in previous studies, which have shown that spiral filaments in resting colloblasts are arranged in a helical coil and maintain this helical form in ejected colloblasts, albeit as a looser coil. It has also been observed that the diameter of the spiral filament cross section does not vary from its resting state and ejected state. A previous study using transmission electron microscopy (TEM) found spiral filaments to be present and coiled once

de secreción en las puntas de los diamantes que comprometerían la figura (Fig. 7a, b). Lobate sp. V presenta una deposición de gránulos en patrón, pero el patrón no es tan evidente como en las otras especies (Fig. 7f). Los gránulos externos de secreción se encontraban separados, y se observaban pliegues desde un gránulo a otro a lo largo de la membrana del colócito (Fig. 7f). Ambas especies no descritas de Tjalfiellidae (platicténidos béntonicos) tienen gránulos externos de secreción en cúmulo y se observó que se desprendían de la coloesfera, con gránulos internos de secreción que sobresalían por debajo (Fig. 2i, j). El desprendimiento de los gránulos externos de secreción no se observó en ninguna otra especie en este estudio.

DISCUSIÓN

El término coloblasto es un nombre poco apropiado, ya que implica que la estructura se compone de una sola célula. Sin embargo, el coloblasto se forma a partir de múltiples células: el colócito, que conforma el cuerpo principal del coloblasto, además de las numerosas células externas que producen los gránulos externos de secreción (revisado por von Byern et al. 2010). Las células externas forman una membrana que recubre los coloblastos que se encuentran desarrollándose sobre los tentáculos. Esta estructura única separa los ctenóforos de todos los demás organismos hasta ahora conocidos (ver Dunn et al. 2015). Curiosamente, al menos 2 géneros de ctenóforos tentaculados aparentemente han perdido la capacidad de producir coloblastos. Estos son *Haeckelia* (Carré y Carré 1980, Mills y Miller 1984) y el curioso género monotípico *Ctenella* (Carré and Carré 1993a).

Morfología general de la coloesfera

Previo a este estudio, las coloesferas habían sido descritas como hemisféricas en todo el filo. Se observa aquí que la mayoría de las formas de la coloesfera se asemejan más a una esfera que a una semiesfera. También se observó la

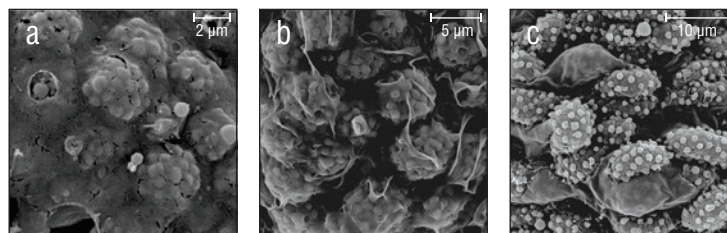


Figure 6. Cap cell membranes in the senescent stage. (a) Smooth cap cell membrane with external secretion granules visible beneath the surface found in *Cydippid* sp. C. (b) *Hormiphora palmata* cap cell membrane visible as folds atop the collospheres. (c) Oblong colloblasts of *Lobate* sp. V can be seen protruding from the degenerating cap cell membrane.

Figura 6. Membrana de células externas en el estadio senescente. (a) Membrana de células externas lisa y con gránulos externos de secreción visibles bajo la superficie, encontrada en *Cydippid* sp. C (cidípido). (b) Membrana de células externas de *Hormiphora palmata* visiblemente plegada sobre las coloesferas. (c) Pueden verse coloblastos apaisados de *Lobate* sp. V (lobato) sobresaliendo de la membrana de células externas en proceso de degeneración.

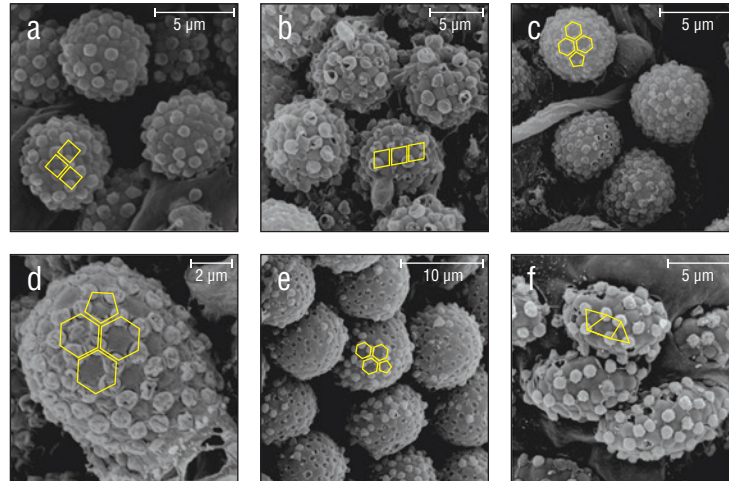


Figure 7. Geometric external secretion granule deposition patterns found in 3 families and an undescribed cydippid. Patterns are overlaid in yellow. (a) Harlequin deposition pattern found in *Pleurobrachia bachei*. The same deposition pattern is found in (b) *Euplokamis* sp. (c) Truncated icosahedron-like deposition pattern found in *Aulacoctena* sp. 1. Popped and deflated external secretion granules can be seen throughout the surface of the collosphere. The same deposition pattern and popping or deflation of granules is present in (d) *Aulacoctena* sp. 2 and (e) *Cydippid* sp. RG. (f) The granule deposition pattern of Lobate sp. V is separated, but not as geometrically uniform. Creases are visible on the surface of the colloblast membrane.

Figura 7. Patrones geométricos de deposición de los gránulos externos de secreción encontrados en 3 familias y un cidípido no descrito. Los patrones están superpuestos en amarillo. (a) Patrón arlequín de deposición encontrado en *Pleurobrachia bachei*. El mismo patrón de deposición se encuentra en (b) *Euplokamis* sp. (c) Patrón icosaedro truncado de deposición encontrado en *Aulacoctena* sp. 1. Pueden verse gránulos externos de secreción reventados y desinflados por sobre la superficie de la coloesfera. El mismo patrón de deposición, como también gránulos externos de secreción reventados y desinflados, se encuentra en (d) *Aulacoctena* sp. 2 y (e) *Cydippid* sp. RG (cidípido). (f) El patrón de deposición de Lobate sp. V (lobato) está separado, pero no es tan geoméricamente uniforme. Pueden verse pliegues en la superficie de la membrana del colóbico.

or twice in *Cestum veneris* and 6 to 7 times in *Leucothea multicornis* (Franc 1978). This is not consistent with spiral filament observations of *C. veneris* and *Leucothea pulchra* in the current study. The lack of spiral filaments for these 2 species could hint at potential variation in spiral filament form due to other factors, such as feeding behaviors. More research into the presence and function of spiral filaments is necessary to understand colloblast morphology as a whole.

Cap cell membrane

Collosphere morphogenesis has 3 stages (Storch and Lehnert-Moritz 1974, Mackie et al. 1988, von Byern et al. 2010). The electron-dense external secretion granules covering the collospheres are not derived from the collospheres themselves but instead are deposited by separate cells referred to synonymously as cap cells, accessory cells, covering cells, or support cells (Benwitz 1978, Mackie et al. 1988, Eeckhaut et al. 1997, Babonis et al. 2018). These cap cells form a membrane that covers the outside of the tentacles. During stage three of colloblast development, the cap cell membrane senesces and degenerates, revealing the external secretion granules on the active collospheres beneath. The micrographs herein taken of *H. palmata*, *Cydippid* sp. C, and Lobate sp. V show this membrane imaged via SEM. In this study, the absence of the cap cell membrane in almost

existencia, en algunas familias, de otras 2 formas de coloesferas, elipsoides y no uniformes. En las familias con estas 2 formas de coloesferas, los coloblastos carecen de un colópodo tradicional. Dado que el colópodo es donde se localiza el núcleo alargado y sirve como punto de anclaje para el filamento espiralado en reposo, este hallazgo despierta el interés en torno a la formación y la función de tales variaciones durante la morfogénesis de las coloesferas.

Filamentos espiralados

La mayoría de las observaciones de los filamentos espiralados de este estudio concuerdan con aquellas reportadas en estudios previos, las cuales indican que los filamentos espiralados de coloblastos en reposo están dispuestos en una espiral helicoidal y mantienen esta forma helicoidal en coloblastos expulsados, aunque como una espiral más suelta. También se ha observado que el diámetro de la sección transversal del filamento espiralado no varía desde su estado de reposo a su estado expulsado. Un estudio previo que usó microscopía electrónica de transmisión (MET) halló filamentos espiralados presentes y enrollados 1 o 2 veces en *Cestum veneris* y 6 o 7 veces en *Leucothea multicornis* (Franc 1978). Esto no es consistente con las observaciones de filamentos espiralados de *C. veneris* y *Leucothea pulchra* en el presente estudio. La falta de filamentos espiralados

all micrographs is likely due to the mature stage of tentacle development at the time of collection and not a characteristic of that species throughout development.

External secretion granules

Benwitz (1978) was the first scientist to deduce that external secretion granules are produced by cap cells instead of the collocyte. This observation was later confirmed by Mackie et al. (1988). Patterns of external secretion granule deposition are not possible to visualize clearly using TEM. In the present SEM study, several patterns were observed. The external secretion granule deposition form resembling a harlequin pattern found in *P. bachei* and an undescribed *Euplokamis* sp. shows that similar granule patterns can exist across families. This stands true even when referring to the truncated icosahedron-like external secretion granule deposition pattern that is found in the genus *Aulacoctena* and the undescribed family containing *Cydippid* sp. RG.

The patterned granule deposition forms of *P. bachei*, *Euplokamis* sp., both *Aulacoctena* species, *Cydippid* sp. RG, and *Lobate* sp. V demonstrate that external secretion granules are anchored to the collosphere in the areas between the bulges of the internal secretion granules. Mechanisms of external granule attachment by the cap cells are unknown but are likely a factor of the geometric patterns present during metazoan epithelial morphogenesis (Gibson et al. 2006).

The contents of the external secretion granules are unknown. Most authors contend that an adhesive is contained within these granules; however, in the present study no material was observed when these granules were broken open. The copepod that we observed was clearly entangled with spiral filaments, indicating they play an important role in prey capture. No sign of adhesive material was observed on the copepod itself, the filaments, or on the surface of the collosphere. Research into ctenophore tentacles has suggested that the colloblast adhesive contains a DOPA-like catecholic compound (Townsend and Sweeney 2019), and molecular studies indicate the colloblast adhesive is unique to the phylum Ctenophora (Babonis et al. 2018).

Colloblasts in mature Lobata

Ctenophores in the order Lobata have tentacles in the larval stage, and these tentacles possess colloblasts (Borisenko and Ereskovsky 2013). Little is known about the senescence of colloblasts on the feeding tentacles during the transition from larval stage to maturity, when elongated feeding tentacles are succeeded by a fringe of oral tentacles. Micrographs (Figs. 4c, d; 6c; 7f) of the oral tentacles found on mature *Lobate* sp. V revealed that colloblasts are present despite the loss of traditional prey-capturing tentacles. The absence of spiral filaments in the colloblasts on the oral tentilla in this species implies that spiral filaments are not

para estas 2 especies podría indicar una posible variación en el estado del filamento espiralado debido a factores como los comportamientos alimentarios. Es necesario seguir investigando sobre la presencia y el funcionamiento de los filamentos espiralados para comprender la morfología del coloblasto en su conjunto.

Membrana de células externas

La morfogénesis de la coloesfera tiene 3 etapas (Storch y Lehnert-Moritz 1974, Mackie et al. 1988, von Byern et al. 2010). Los gránulos externos de secreción densos a los electrones que recubren la coloesfera no son derivados de la coloesfera en sí, sino que son depositados por células separadas denominadas células externas, células accesorias, células de la tapa o células de soporte (Benwitz 1978, Mackie et al. 1988, Eeckhaut et al. 1997, Babonis et al. 2018). Estas células externas forman una membrana que recubre el exterior de los tentáculos. Durante la tercera etapa de desarrollo de los coloblastos, esta membrana envejece y se degenera, dejando al descubierto los gránulos externos de secreción que se encontraban debajo. Las micrografías aquí capturadas de *H. palmata*, *Cydippid* sp. C y *Lobate* sp. V, muestran imágenes de esta membrana obtenidas mediante MEB. En este estudio, la ausencia de la membrana de células externas en casi todas las micrografías probablemente se deba a la etapa madura del desarrollo en la cual el tentáculo fue recogido y no a una característica de esa especie durante todo su desarrollo.

Gránulos externos de secreción

Benwitz (1978) fue el primer científico en deducir que los gránulos externos de secreción son producidos por las células externas y no por el colócito. Esta observación luego fue confirmada por Mackie et al. (1988). Los patrones de deposición de los gránulos externos de secreción no pueden visualizarse claramente usando MET. En el presente estudio con MEB pudieron observarse varios patrones. La forma de deposición de los gránulos externos de secreción que se asemeja al patrón de arlequín encontrado en *P. bachei* y una especie no descrita de *Euplokamis* demuestra el hecho de que pueden existir patrones de deposición de gránulos similares en una misma familia. Esto mantiene su veracidad para el patrón de deposición de gránulos externos de secreción de tipo icosaedro truncado que se encuentra en el género *Aulacoctena* y la familia no descrita que contiene al *Cydippid* sp. RG.

Los patrones de la forma de deposición de *P. bachei*, *Euplokamis* sp., ambas especies de *Aulacoctena*, *Cydippid* sp. RG y *Lobate* sp. V demuestran que los gránulos externos de secreción están anclados a la coloesfera en las áreas entre las protuberancias de los gránulos internos de secreción. Se desconocen los mecanismos de unión de los gránulos externos por las células externas, pero es probable que sean

needed to secure prey during the short transition time from capture by oral tentilla to ingestion.

Conclusions

Although a majority of the species in our study possess spheroid colloblasts with a singular cluster of external secretion granules covering the collosphere, differences in colloblast ultrastructure can be used to examine functional diversity in the phylum Ctenophora. Ctenophores have specialized and diversified to consume a wide variety of prey, and there are both generalists and specialists (Haddock 2007, Choy et al. 2017). Our current understanding of adaptations to capture specific prey, however, is based mainly on organism-scale morphology and behavior. The potential to add ultrastructural information could greatly enhance our ability to detect co-evolution of predation strategies and prey characteristics. This is particularly promising in the species that do not adhere to the simple paradigm of casting a sticky net to catch crustaceans. The diets of species without side branches on their tentacles appear to be either specialized (narcomedusae for *Haekelia*, larvaceans for *Dryodora*) or unknown (*Aulacoctena* and some deep benthic species). Colloblasts possessed by the genus *Aulacoctena* stand out due to their ellipsoidal collosphere and truncated icosahedron-like external secretion granule pattern. Despite lacking tentilla, the tentacles of *Aulacoctena* species are particularly sticky (personal observations). Although we surveyed a broad swath of ctenophore diversity, it would still be of interest to examine *Dryodora* and other *Euplokamis*. Future work could involve searching genomes and transcriptomes for more colloblast-associated genes (e.g., Babonis et al. 2018), potentially unlocking a novel class of adhesive proteins. Many species of ctenophores are still undescribed, and it is important to document these differences among species to better understand the “hidden biology” (Dunn et al. 2015) of nonbilaterians as a whole. Observations of ctenophore colloblasts will be useful characteristics when describing new species of ctenophores. These morphometric analyses are being analyzed alongside genetic analyses to provide a more thorough understanding of the functional diversity of ctenophores.

ACKNOWLEDGMENTS

This research was supported by the Dimensions of Biodiversity program at the US National Science Foundation (DEB-1542679 [Haddock], DEB-1542673 [Thuesen]), the David and Lucile Packard Foundation, and the M.J. Murdock Charitable Trust. Many thanks to the blue-water divers, ROV pilots, and scientists on the R/V *Western Flyer* and the R/V *Kilo Moana* who collected ctenophores. We thank Lynne Christianson, Shannon Johnson, Darrin Schultz, Jacob Winnikoff, Tiffany Bachtel, Telissa Wilson, and Trisha Towanda for their help to make this research possible. We

un factor de los patrones geométricos presentes durante la morfogénesis epitelial de los metazoos (Gibson et al. 2006).

El contenido de los gránulos externos de secreción se desconoce. La mayoría de los autores sostienen que estos gránulos contienen un adhesivo; sin embargo, en el presente estudio no se observó material alguno cuando estos gránulos se abrieron. El copépodo observado se encontraba claramente enredado con los filamentos espiralados, lo que indica que desempeñan un papel importante en la captura de presas. No se encontraron indicios de material adhesivo en el copépodo en sí, ni en los filamentos, ni en la superficie de la coloesfera. Los estudios sobre los tentáculos de ctenóforos han sugerido que el adhesivo del coloblasto contiene un compuesto catecólico similar a DOPA (Townsend y Sweeney 2019), y los estudios moleculares indican que el adhesivo del coloblasto se encuentra exclusivamente en el filo Ctenophora (Babonis et al. 2018).

Coloblastos de Lobata en etapa madura

Los ctenóforos del orden Lobata tienen tentáculos en la etapa larvaria, y estos tentáculos poseen coloblastos (Borisenko y Ereskovsky 2013). Poco se sabe acerca de la senescencia de los coloblastos en los tentáculos de alimentación durante la transición del estado larvario a la madurez, cuando los tentáculos de alimentación alargados son sucedidos por una franja de tentáculos orales. Las micrografías (Figs. 4c, d; 6c; 7f) de los tentáculos orales encontrados en individuos maduros de *Lobate* sp. V revelaron que los coloblastos están presentes a pesar de la pérdida de los tradicionales tentáculos para la captura de presas. La ausencia de filamentos espiralados en los coloblastos de las tentillas orales en esta especie implica que los filamentos espiralados no son necesarios para fijar la presa durante el corto tiempo de transición desde la captura por las tentillas orales hasta la ingestión.

Conclusiones

Si bien la mayoría de las especies de nuestro estudio poseen coloblastos esféricos con un cúmulo singular de gránulos externos de secreción que recubren la coloesfera, las diferencias en la ultraestructura de los coloblastos pueden utilizarse para examinar la diversidad funcional en el filo Ctenophora. Los ctenóforos se han especializado y diversificado para consumir una amplia variedad de presas, y existen tanto generalistas como especialistas (Haddock 2007, Choy et al. 2017). Sin embargo, nuestro conocimiento actual de las adaptaciones para capturar presas específicas se basa principalmente en la morfología y el comportamiento del organismo. El potencial de agregar información ultraestructural podría mejorar en gran medida nuestra habilidad para detectar la coevolución de las estrategias de depredación y las características de las presas. Esto es particularmente prometedor en el caso de especies que no se adhieren

thank 2 anonymous reviewers for their helpful suggestions, and Iris Thuesen, University of Buenos Aires, kindly provided the Spanish translation.

REFERENCES

- Appeltans W, Ah Yong ST, Anderson G, Angel MV, Artois T, Bailly N, Bamber R, Barber A, Bartsch I, Berta A, et al. 2012. The magnitude of global marine species diversity. *Curr Biol*. 22(23):2189–2202.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.09.036>
- Babonis LS, DeBiasse MB, Francis WR, Christianson LM, Moss AG, Haddock SHD, Martindale MQ, Ryan JF. 2018. Integrating embryonic development and evolutionary history to characterize tentacle-specific cell types in a ctenophore. *Mol Biol Evol*. 35(12):2940–2956.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msy171>
- Bargmann W, Jacob K, Rast A. 1972. Über tentakel und colloblasten der ctenophore *Pleurobrachia pileus*. *Z Zellforsch Mik Ana*. 123(1):121–152.
<https://doi.org/10.1007/bf00337678>
- Benwitz G. 1978. Elektronenmikroskopische untersuchung der colloblasten-entwicklung bei der ctenophore *Pleurobrachia pileus* (Tentaculifera, Cydippea). *Zoomorphologie*. 89(3):257–278.
<https://doi.org/10.1007/bf00993952>
- Borisenko I, Ereskovsky AV. 2013. Tentacular apparatus ultrastructure in the larva of *Bolinopsis infundibulum* (Lobata: Ctenophora). *Acta Zool*. 94(2):193–202.
<https://doi.org/10.1111/j.1463-6395.2011.00542.x>
- Carré C, Carré D. 1980. Les cnidocysts du ctenophore *Euchlora rubra* (Kölliker 1853). *Cah Biol Mar*. 21:221–226.
- Carré C, Carré D. 1993a. *Ctenella aurantia*, genre et espèce nouveaux de cténophore tentaculé (Ctenellidae fam. nov.) méditerranéen sans colloblastes et avec ventouses labiales. *Can J Zool*. 71: 1804–1810.
- Carré D, Carré C. 1993b. Five types of colloblast in a cydippid ctenophore, *Minictena luteola*: an ultrastructural study and cytological interpretation. *Philos T Roy Soc B: Bio. Sci*. 341(1298):437–448.
<https://doi.org/10.1098/rstb.1993.0126>
- Choy CA, Haddock SHD, Robison BH. 2017. Deep pelagic food web structure as revealed by *in situ* feeding observations. *Proc R Soc B*. 284: 20172116.
<http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2017.2116>
- Dunn CW, Hejnol A, Matus DQ, Peng K, Browne WE, Smith SA, Seaver E, Rouse GW, Obst M, Edgecombe GD, et al. 2008. Broad phylogenomic sampling improves resolution of the animal tree of life. *Nature*. 452(7188):745–749.
<https://doi.org/10.1038/nature06614>
- Dunn CW, Leys SP, Haddock SHD. 2015. The hidden biology of sponges and ctenophores. *Trends Ecol Evol*. 30(5):282–291.
<https://doi.org/10.1016/j.tree.2015.03.003>
- Eeckhaut I, Flammang P, Bue CL, Jangoux M. 1997. Functional morphology of the tentacles and tentilla of *Coeloplana bannworthi* (Ctenophora, Platyctenida), an ectosymbiont of *Diadema setosum* (Echinodermata, Echinoida). *Zoomorphologie*. 117(3):165–174.
<https://doi.org/10.1007/s004350050041>
- Emson RH, Whitfield PJ. 1991. Behavioural and ultrastructural studies on the sedentary platyctenean ctenophore *Vallicula multiformis*. *Hydrobiologia*. 216:27–33.
https://doi.org/10.1007/978-94-011-3240-4_4
- Franc JM. 1978. Organization and function of ctenophore colloblasts: an ultrastructural study. *Biol Bull*. 155(3):527–541.
<https://doi.org/10.2307/1540788>
- al paradigma simple de lanzar una red pegajosa para atrapar crustáceos. Las dietas de las especies sin ramificaciones laterales en sus tentáculos parecen ser ya sea especializadas (narcomedusas para *Haeckelia*, larváceas para *Dryodora*) o desconocidas (*Aulacoctena* y algunas especies de las profundidades de la zona béntica). El género *Aulacoctena* posee coloblastos que se destacan por su coloesfera elipsoide y su patrón de gránulos externos de secreción en forma de icosaedro truncado. A pesar de carecer de tentillas, los tentáculos de las especies dentro del género *Aulacoctena* son particularmente pegajosos (observaciones personales). Aunque se haya analizado una gran diversidad de ctenóforos, aún sería de gran interés examinar *Dryodora* y otros *Euplokamis*. Un futuro estudio podría involucrar la búsqueda de genomas y transcriptomas de más genes asociados a coloblastos (e.g., Babonis et al. 2018), lo que podría llevar a encontrar una nueva clase de proteínas adhesivas. Hay muchas especies de ctenóforos aún no descritas, por lo que resulta importante documentar las diferencias entre especies para comprender mejor la “biología oculta” (Dunn et al. 2015) de los no bilaterales como un todo. Las observaciones de los coloblastos en ctenóforos serán útiles al describir nuevas especies de ctenóforos. Estos análisis morfométricos se están analizando junto a los análisis genéticos para facilitar una comprensión más profunda de la diversidad funcional de los ctenóforos.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue apoyada por el programa Dimensions of Biodiversity (Las Dimensiones de la Biodiversidad) de la Fundación Nacional de Ciencias de Estados Unidos (DEB-1542679 [Haddock], DEB-1542673 [Thuesen]), la David and Lucile Packard Foundation (Fundación de David y Lucile Packard) y la M.J. Murdock Charitable Trust (Fundación Benéfica de M.J. Murdock). Muchas gracias a los buzos científicos, los pilotos de vehículos operados remotamente, y los científicos a bordo del B/I *Western Flyer* y el B/I *Kilo Moana* que recolectaron ctenóforos. Damos las gracias a Lynne Christianson, Shannon Johnson, Darrin Schultz, Jacob Winnikoff, Tiffany Bachtel, Telissa Wilson y Trisha Towanda por su ayuda para hacer posible esta investigación. Agradecemos a 2 lectores anónimos por sus útiles sugerencias y a Iris Thuesen, de la Universidad de Buenos Aires, quien realizó la traducción al español.

Gibson MC, Patel AB, Nagpal R, Perrimon N. 2006. The emergence of geometric order in proliferating metazoan epithelia. *Nature*. 442:1038–1041.

Haddock SHD. 2007. Comparative feeding behavior of planktonic ctenophores. *Integr Comp Biol*. 47(6):847–853.
<https://doi.org/10.1093/icb/pcm088>

Haddock SHD, Christianson LM, Francis WR, Martini S, Dunn CW, Pugh PR, Mills CE, Osborn KJ, Seibel BA, Choy CA, et al. 2017. Insights into the biodiversity, behavior, and bioluminescence of deep-sea organisms using molecular and maritime technology. *Oceanography*. 30(4):38–47.
<https://doi.org/10.5670/oceanog.2017.422>

- Haddock SHD, Heine JN. 2005. Scientific Blue-Water Diving. La Jolla (CA): California Sea Grant College Program. 49 p.
- Komai T. 1922. Studies on two aberrant ctenophores, *Cæloplana* and *Gastrodes*. Kyoto (Japan): Kyoto Imperial University. 102 p. + 9 plates.
<https://doi.org/10.5962/bhl.title.7006>
- Mackie GO, Mills CE, Singla CL. 1988. Structure and function of the prehensile tentilla of *Euplokamis* (Ctenophora, Cydippida). *Zoomorphology*. 107(6):319–337.
<https://doi.org/10.1007/bf00312216>
- Matsumoto GI, Harbison GR. 1993. *In situ* observations of foraging, feeding, and escape behavior in three orders of oceanic ctenophores: Lobata, Cestida, and Beroida. *Mar Biol*. 117(2):279–287.
<https://doi.org/10.1007/bf00345673>
- Mills CE, Miller RL. 1984. Ingestion of a medusa (*Aegina citrea*) by the nematocyst-containing ctenophore *Haeckelia rubra* (formerly *Euchlora rubra*): phylogenetic implications. *Mar Biol*. 78:215–221.
<https://doi.org/10.1007/bf00394704>
- Robison BH. 1993. Midwater research methods with MBARI's ROV. *Mar Technol Soc J*. 26:32–39.
- Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods*. 9(7):671–675, PMID 22930834
<https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
- Simion P, Philippe H, Baurain D, Jager M, Richter DJ, Di Franco A, Roure B, Satoh N, Quéinnec E, Ereskovsky A, et al. 2017. A large and consistent phylogenomic dataset supports sponges as the sister group to all other animals. *Curr Biol*. 27(7):958–967.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.02.031>
- Storch V, Lehnert-Moritz K. 1974. Zur entwicklung der kolloblasten von *Pleurobrachia pileus* (Ctenophora). *Mar Biol*. 28(3):215–219.
<https://doi.org/10.1007/bf00387300>
- Toda T, Suh H-L, Nemoto T. 1989. Dry fracturing: a simple technique for scanning electron microscopy of small crustaceans and its application to internal observations of copepods. *J Crustacean Biol*. 9(3):409–413.
- Townsend JP, Sweeney AM. 2019. Catecholic compounds in ctenophore colloblast and nerve net proteins suggest a structural role for DOPA-like molecules in an early-diverging animal lineage. *Biol Bull*. 236(1):55–65.
<https://doi.org/10.1086/700695>
- von Byern J, Mills CE, Flammang P. 2010. Bonding tactics in ctenophores—morphology and function of the colloblast system. In: von Byern J, Grunwald I (eds.), *Biological Adhesive Systems*. Vienna: Springer. p. 29–40.
https://doi.org/10.1007/978-3-7091-0286-2_3
- Whelan NV, Kocot KM, Moroz TP, Mukherjee K, Williams P, Paulay G, Moroz LL, Halanych KM. 2017. Ctenophore relationships and their placement as the sister group to all other animals. *Nature Ecol Evol*. 1(11):1737–1746.
<https://doi.org/10.1038/s41559-017-0331-3>

*Received February 2020,
accepted September 2020.*

The effects of depth and diet on red abalone growth and survival in cage mariculture at San Jeronimo Island, Baja California, Mexico

Efectos de la profundidad y la dieta en el crecimiento y la supervivencia del abulón rojo en jaulas de maricultura en la isla San Jerónimo, Baja California, México

Jeremie Bauer¹, Julio Lorda^{2,3*}, Rodrigo Beas-Luna^{1*}, Luis Malpica-Cruz^{4,5}, Fabiola Lafarga-De la Cruz⁶, Fiorenza Micheli⁷, Ricardo Searcy-Bernal⁴, Laura Rogers-Bennett⁸, Miguel Bracamontes-Peralta⁹

¹ Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California, Carretera Ensenada-Tijuana, No. 3917, Fraccionamiento Playitas, CP 22860, Ensenada, Baja California, Mexico.

² Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Baja California, Carretera Ensenada-Tijuana, No. 3917, Fraccionamiento Playitas, CP 22860, Ensenada, Baja California, Mexico.

³ Tijuana River National Estuarine Research Reserve, 301 Caspian Way, Imperial Beach, California 91932, USA.

⁴ Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Universidad Autónoma de Baja California, Carretera Ensenada-Tijuana, No. 3917, Fraccionamiento Playitas, CP 22860, Ensenada, Baja California, Mexico.

⁵ ECOCIMATI, Av. del Puerto 2270, Colonia Hidalgo, CP 22880, Ensenada, Baja California, Mexico.

⁶ Departamento de Acuicultura, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Carretera Ensenada-Tijuana, No. 3918, Zona Playitas, CP 22860, Ensenada, Baja California, Mexico.

⁷ Hopkins Marine Station and Stanford Center for Ocean Solutions, Stanford University, Pacific Grove, California 93950, USA.

⁸ Karen C. Drayer Wildlife Health Center and Bodega Marine Laboratory, University of California, Davis, PO Box 247, Bodega Bay, California 94923, USA.

⁹ Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera Ensenada, El Rosario, Baja California, Mexico.

* Corresponding authors. E-mails: JL, jlorda@uabc.edu.mx; RBL, rbeas@uabc.edu.mx

ABSTRACT. In recent decades, global abalone aquaculture has significantly increased, while wild abalone fishery landings have decreased drastically, shifting production from fishing to farming. In California (USA) and Baja California (Mexico), overfishing and climate change-linked diseases are thought to be responsible for mass mortalities and significant declines in abalone fisheries landings. Conservation aquaculture is an option for enhancing abalone populations through captive propagation and cage mariculture with subsequent restockings into the wild. To test, inform, and promote innovative sustainable seafood production strategies in the Northeastern Pacific, we designed an experimental mariculture system at San Jeronimo Island, Baja California. We explored the feasibility of rearing juvenile red abalone, *Haliotis rufescens*, in a near-shore mariculture cage-based production system to supply individuals for local restoration programs. We tested the effects of 2 different depths, surface and bottom (5 m), and 3 macroalgal diets (*Macrocystis pyrifera*, *Eisenia arborea*, and a mixed diet of *Pelagophycus porra* with *M. pyrifera*) on the survival and growth of juvenile red abalone (32 ± 3.33 mm in shell length) inside cages attached to a long-line system. Over the 90-d experiment, survival was 99% for the surface treatment and 95% for the bottom treatment. Mean daily increment in shell length was $93 \pm 12 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ in surface cages and $82 \pm 13 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ in bottom cages. Depth did not affect growth or survival. Growth was highest using the *E. arborea* diet ($99 \pm 7 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$) but not significantly different from the *M. pyrifera* and mixed diets (88 ± 10 and $74 \pm 13 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$, respectively). High survivorship and growth indicate that San Jeronimo Island can support cage-based mariculture of red abalone and that this strategy may be a useful tool in developing climate-resilient abalone restoration solutions aimed at bolstering seafood production.

Key words: conservation aquaculture, *Haliotis rufescens*, climate change, restoration, macroalgae.

RESUMEN. En décadas recientes, el aumento significativo de la acuicultura global del abulón y la disminución drástica de desembarques de abulón silvestre han ido cambiando la producción de la pesca al cultivo. En California (EUA) y Baja California (México) se cree que enfermedades asociadas al cambio climático y la sobrepesca son la causa de eventos de mortalidad masiva y el declive significativo en los desembarques de abulón silvestre. La acuicultura de conservación es una opción para mejorar las poblaciones de abulón mediante la propagación de organismos de criadero y la maricultura en jaulas, con el subsecuente repoblamiento en la naturaleza. Para experimentar, informar y promover estrategias innovadoras en la producción sostenible de recursos marinos en el Pacífico Nororiental, hemos diseñado un sistema experimental de maricultura en isla San Jerónimo, Baja California. Exploramos la factibilidad de cultivar abulón rojo juvenil, *Haliotis rufescens*, en un sistema de producción de maricultura costera basado en jaulas, para suplir individuos para programas locales de repoblamiento. Analizamos el efecto de 2 profundidades diferentes, superficie y fondo (5 m), y de 3 dietas de macroalgas (*Macrocystis pyrifera*, *Eisenia arborea*, y dieta mixta de *Pelagophycus porra* y *M. pyrifera*) en la supervivencia y el crecimiento de juveniles de abulón rojo (32 ± 3.33 mm en longitud de concha) dentro de jaulas aseguradas a un sistema de línea madre. Durante el experimento de 90 d, la supervivencia fue del 99% para el tratamiento de superficie y del 95% para el tratamiento de fondo. El incremento diario en longitud de concha fue $93 \pm 12 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ en las jaulas de superficie y $82 \pm 13 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ en las jaulas de fondo. La profundidad no afectó el crecimiento o la supervivencia. El crecimiento fue mayor con la dieta de *E. arborea* ($99 \pm 7 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$), pero no fue significativamente diferente del crecimiento con la dieta de *M. pyrifera* y la dieta mixta (88 ± 10 y $74 \pm 13 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$, respectivamente). La alta supervivencia y crecimiento indican que isla San Jerónimo puede sostener la maricultura de abulón rojo en jaulas y que esta estrategia puede ser una herramienta útil para desarrollar soluciones climático-resilientes de restauración de abulón destinadas a impulsar la producción de mariscos.

Palabras clave: acuicultura de conservación, *Haliotis rufescens*, cambio climático, restauración, macroalgas.

INTRODUCTION

Given the multiple environmental and anthropogenic stressors, the current worldwide abalone production has dramatically changed from fishing to farming. Wild abalone fisheries landings have decreased significantly in the past decades, from 20,000 metric tons (mt) in the 1970s to about 6,500 mt in 2016/2017 (Cook 2019), whereas production of farmed abalone has increased from 50 mt in the 1970s to 160,987 mt in 2016/2017 (Cook 2016, 2019). Aquaculture has served as a promising tool to reduce the impact of fisheries and has been highlighted as a potential solution to food availability and security in the United Nations 2030 Agenda (UN-DESA 2018). However, there is a paucity of scientific information on ensuring a robust and sustainable aquaculture regime in the face of a changing climate. Rising sea surface temperatures and the increased frequency and severity of storms are stressors to mariculture worldwide (Barange and Perry 2009) and particularly detrimental to developing abalone aquaculture industries in countries like Mexico.

Wild abalone populations have declined in Mexico and recovery is now uncertain owing to climate change impacts. Although the worldwide trend is an increase in abalone aquaculture, in Mexico the wild abalone fisheries still produce 10 times more than the abalone aquaculture industry (300 vs. 23.5 mt·y⁻¹, respectively; Cook 2019). The abalone fishery in Mexico takes place on the Pacific coast of the Baja California Peninsula, where it continues to be economically important despite the fact that landings in recent years are only at 5% of the historical maximum (Morales-Bojórquez et al. 2008; Guzmán-Del Prío et al. 2013, 2017). Fishing in the north-eastern Pacific, including Baja California, has deteriorated because of a combination of multiple stressors, such as overfishing, diseases, extreme warming events, and hypoxia (Lafferty and Kuris 1993, Karpov et al. 2000, Micheli et al. 2012, Ben-Horin et al. 2016, Boch et al. 2018, Lonhart et al. 2019). For example, in northern California, wild abalone populations have been affected by extreme warming events combined with other stressors, which caused mass mortalities of red abalone leading to the closure of the fishery in 2018 (Rogers-Bennett and Catton 2019). It is crucial to increase aquaculture production, as it has been shown around the world to support the local fishery both ecologically and economically.

Additional conservation and management actions are needed for the recovery of natural populations and sustainable fisheries in the northern portion of the Baja California Peninsula. Shifts in oceanic conditions have resulted in landings of less than 100 mt from 2012 up until 2017 (DOF 2018). The Mexican government highlights that aquaculture is a potential strategy to increase abalone production (DOF 2018). Therefore, an opportunity exists to develop abalone aquaculture programs in Mexico that might help support conservation programs.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, debido a múltiples fuentes de estrés ambiental y antropogénicas, la producción mundial de abulón ha migrado drásticamente de la pesca al cultivo. Los desembarques de abulón silvestre han disminuido significativamente en las últimas décadas, de 20,000 toneladas métricas (tm) en la década de 1970 a aproximadamente 6,500 tm en 2016/2017 (Cook 2019), mientras que la producción de abulón cultivado ha incrementado de 50 tm en la década de 1970 a 160,987 tm en 2016/2017 (Cook 2016, 2019). La acuicultura es una herramienta prometedora para reducir el impacto de la pesca y ha sido resaltada en la Agenda 2030 de las Naciones Unidas como una solución potencial para problemas de disponibilidad de comida y seguridad alimentaria (UN-DESA 2018). Sin embargo, existe una escasez de información científica sobre el aseguramiento de regímenes de acuicultura robustos y sostenibles en presencia del cambio climático. El incremento de la temperatura superficial del mar y el aumento en la frecuencia y severidad de las tormentas son estresores que afectan mundialmente a la maricultura (Barange y Perry 2009), y son particularmente perjudiciales para las industrias de acuicultura de abulón en desarrollo en países como México.

Las poblaciones de abulón silvestre en México han declinado, y es incierta su recuperación debido a los impactos del cambio climático. Aunque la tendencia mundial es un incremento en la acuicultura de abulón, en México las pesquerías de abulón silvestre todavía producen 10 veces más que su industria acuícola (300 vs. 23.5 tm al año, respectivamente; Cook 2019). En México, la pesquería de abulón se lleva a cabo en la costa del Pacífico de la península de Baja California, donde continúa siendo económicamente importante a pesar de que los desembarques en años recientes son tan sólo un 5% del máximo histórico (Morales-Bojórquez et al. 2008; Guzmán-Del Prío et al. 2013, 2017). Este deterioro en la pesca en Baja California, y en el resto del Pacífico Nororiental, se debe a la combinación de múltiples estresores, tales como la sobrepesca, enfermedades, eventos de calentamiento e hipoxia (Lafferty y Kuris 1993, Karpov et al. 2000, Micheli et al. 2012, Ben-Horin et al. 2016, Boch et al. 2018, Lonhart et al. 2019). En el Norte de California, EUA, por ejemplo, las poblaciones de abulón silvestre han sido afectadas por ondas extremas de calor combinadas con otros estresores, lo cual causó mortalidades masivas de abulón rojo que llevaron al cierre de la pesquería en 2018 (Rogers-Bennett y Catton 2019). Es crucial el incremento de la producción acuícola, ya que se ha demostrado alrededor del mundo que esto apoya a las pesquerías locales tanto ecológica como económicamente.

Acciones adicionales de manejo y conservación son necesarias para la pesquería sostenible y la recuperación de las poblaciones silvestres en el norte de la península de Baja California. Cambios en condiciones oceánicas han resultado en capturas de menos de 100 tm desde el año 2012 a 2017

In Ensenada, Baja California, red abalone mariculture (ocean-based efforts) has been carried out in the past with different techniques and macroalgae diets. In 1990, Searcy-Bernal and Salas-Garza (1990) conducted the first experimental mariculture project to grow red abalone, *Haliotis rufescens*, with a diet of giant kelp, *Macrocystis pyrifera*, and feather boa kelp, *Egregia menziesii*, in floating cages in Todos Santos Bay. At about the same time, a commercial red abalone mariculture company called “Abulones Cultivados” was established near Todos Santos Island, using cages and *M. pyrifera* as the main feed. However, the company moved to land-based facilities (Searcy-Bernal et al. 2010) and as of 2020 is still operating in the area of Ejido Erendira. More recently, Zertuche-González et al. (2014) evaluated the growth performance of red abalone in an integrated multi-trophic aquaculture farm for one year in San Quintin Bay. Their study demonstrated the feasibility of growing red abalone juveniles at sea with a diet of *Eisenia arborea*. These studies have laid the basis for the development of abalone mariculture in the region, but it is important to continue experiments to cope with environmental changes associated with climate change.

Since the early mariculture efforts in Baja California, the understanding of local oceanographic and circulation patterns, along with mariculture technology, has improved. Furthermore, the ongoing declines of wild abalone have altered the attitudes and perceptions of local fishing cooperatives towards aquaculture as a potential solution. Efforts to enhance the wild populations are now supported by those economically linked to abalone fisheries. Mariculture could promote production of abalone for outplanting in local reefs and promote conservation aquaculture to restore natural populations (Froehlich et al. 2017, 2018). Nevertheless, the changing climate generates new challenges that are particularly affecting the availability of macroalgae, a fundamental resource for the abalone aquaculture industry.

The availability of macroalgae, the main food for abalone, is crucial for the development of the aquaculture industry. In the northeastern Pacific, abalone farms in Mexico and the USA typically use giant kelp, *M. pyrifera*, harvested from the wild as feed (Evans and Langdon 2000, Garcia-Esquivel and Felbeck 2009). However, in the last 2 decades extreme events such as ENSO and marine heatwaves have substantially affected giant kelp populations in Baja California (Ladah et al. 1999; Arafah-Dalmau et al. 2019, 2020; Cavanaugh et al. 2019; Beas-Luna et al. 2020). Because of the recent variability in giant kelp biomass availability, it is important to assess other macroalgae as alternative food sources for abalone mariculture. For example, the southern sea palm kelp, *E. arborea*, is capable of surviving in relatively warmer waters (>20 °C) with low nutrients, where other kelps cannot survive (Hernández-Carmona et al. 2000, 2001; Zertuche-González et al. 2014). Therefore, *E. arborea* or other kelp species, such as *Pelagophycus porra*, may potentially provide a food supply to aquaculture operations

(DOF 2018). El gobierno mexicano destaca a la acuicultura como una estrategia potencial para incrementar la producción de abulón (DOF 2018), lo que genera una oportunidad para desarrollar programas de acuicultura de abulón en México que puedan apoyar a programas de conservación.

En Ensenada, Baja California, se han empleado diversas técnicas y dietas a base de macroalgas para llevar a cabo la maricultura (cultivos en el océano) de abulón rojo. En 1990, Searcy-Bernal y Salas-Garza (1990) condujeron el primer proyecto experimental de maricultura para criar abulón rojo, *Haliotis rufescens*, basado en una dieta de sargazo gigante, *Macrocystis pyrifera*, y cola de zorro, *Egregia menziesii*, en jaulas flotantes en la bahía de Todos Santos. Aproximadamente al mismo tiempo, una compañía de maricultura comercial de abulón rojo llamada “Abulones Cultivados” se estableció cerca de isla Todos Santos, la cual utilizó jaulas y *M. pyrifera* como alimento principal. Sin embargo, la compañía fue trasladada a instalaciones terrestres (Searcy-Bernal et al. 2010) y, hasta la fecha, 2020, opera en el área de ejido Erendira. Más recientemente, Zertuche-González et al. (2014) evaluaron el crecimiento del abulón rojo en una granja de acuicultura multitrófica integrada por un año en la bahía de San Quintín. Este estudio demostró la factibilidad de criar juveniles de abulón rojo en campo con una dieta a base de la macroalga coliflor, *Eisenia arborea*. Estos estudios han sentado las bases para el desarrollo de la maricultura de abulón en la región, pero es importante continuar con experimentos para encontrar formas de lidiar con cambios ambientales asociados al cambio climático.

Desde estos primeros esfuerzos de maricultura en Baja California, la comprensión de patrones locales oceanográficos y de circulación y la tecnología de maricultura han mejorado. Adicionalmente, el declive continuo de las poblaciones de abulón silvestre ha modificado las actitudes y percepciones de las cooperativas pesqueras locales hacia la acuicultura como una potencial solución. Los actores económicamente ligados a la pesquería de abulón ahora apoyan los esfuerzos para mejorar las poblaciones silvestres. La maricultura podría promover la producción de abulón para el trasplante en arrecifes locales y promover la acuicultura de conservación para restaurar poblaciones silvestres (Froehlich et al. 2017, 2018). Sin embargo, el cambio climático genera nuevos desafíos que, en particular, están afectando la disponibilidad de macroalgas, un recurso fundamental para la industria acuícola del abulón.

La disponibilidad de macroalgas, el alimento principal del abulón, es crucial para el desarrollo de la industria acuícola. En el Pacífico Nororiental, las granjas de abulón en México y Estados Unidos suelen utilizar el sargazo gigante, *M. pyrifera*, extraído del medio natural, como alimento (Evans y Langdon 2000, Garcia-Esquivel y Felbeck 2009). Sin embargo, en las últimas 2 décadas, eventos extremos, tales como El Niño y ondas de calor marinas, han afectado negativamente a las poblaciones de sargazo gigante en Baja California (Ladah et al. 1999; Arafah-Dalmau et al. 2019,

during times of low giant kelp biomass. Extreme events not only affect macroalgae availability but also present challenges to abalone physiology and mariculture structures.

Increased frequency and intensity of storms and heat-wave events can negatively affect shallow mariculture systems. An option to potentially ameliorate the detrimental effects of these issues is to move the cages deeper in the water column to avoid warm surficial waters and to minimize storm-induced damage via intense wave action and surge. As the frequency, duration, and intensity of marine heat waves increases in the coming decades (Oliver et al. 2018), finding depth refuges from warm water and alternatives to giant kelp resources is of utmost importance for the future of abalone production. To test the potential for abalone mariculture in San Jeronimo Island, Baja California, Mexico, under current conditions we explored the feasibility of growing red abalone in cages attached to a vertical long-line system. Specifically, we tested for the effects of depth (surface and bottom at 5 m) and 3 different brown macroalgal diets on the growth and survival of red abalone juveniles.

MATERIALS AND METHODS

Experimental study area

This study was carried out at San Jeronimo Island (1.3 km long and 500 m wide), located in the Ensenada Municipality in the state of Baja California, Mexico (Fig. 1; 29°47'34.9" N, 115°47'31.9" W). The marine resources of this area are under the jurisdiction of the fishing cooperative "Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera Ensenada, S.C.L.", which participated in this study. Juvenile red abalone were provided by the commercial aquaculture farm "Abulones Cultivados", which is 250 km north of the study area. Juvenile abalone (ca. 30 ± 1 mm) were transported from the aquaculture farm to San Jeronimo Island in coolers with a wet sponge base. After arriving, 2,100 juvenile abalone were immediately transferred to the experimental cages and fed *ad libitum* fresh *M. pyrifera* for a month prior to initiating the experiment. Average sea surface temperature during this period was 14.98 ± 0.74 °C.

Experimental design

An experimental mariculture system was designed to assess the effect of different rearing conditions (depth and diet) on the growth and survival of abalone. The outplanting site was a maximum of 5 m deep, had a sandy bottom, and was located on the protected southeast region of the island. The experimental mariculture system consisted of cages attached to a line at 2 depths (Fig. 2). Two anchors (iron pipes 7.5 cm in diameter and 1.5 m long) were buried in the seabed at an angle of approximately 45°. Buoys (200-L drums with pressurized air) were attached to the anchors and distributed along the 100-m long float line (polypropylene

2020; Cavanaugh et al. 2019; Beas-Luna et al. 2020). Debido a la reciente variabilidad en la disponibilidad de biomasa de sargazo gigante, es de suma importancia evaluar otras macroalgas como fuentes alternativas de comida para la maricultura de abulón. Por ejemplo, la coliflor, *E. arborea*, es capaz de sobrevivir en aguas relativamente más cálidas (>20 °C) y de bajos nutrientes, donde otras macroalgas no logran sobrevivir (Hernández-Carmona et al. 2000, 2001; Zertuche-González et al. 2014). Por tanto, *E. arborea* u otras especies de macroalgas, tales como *Pelagophycus porra*, podrían tener el potencial de proveer un suministro de alimentos para las operaciones acuícolas durante épocas de baja disponibilidad de biomasa de sargazo gigante. Los eventos extremos no sólo afectan la disponibilidad de macroalgas, sino que presentan desafíos a la fisiología de los abulones y a las estructuras de maricultura.

El incremento en la frecuencia y la intensidad de tormentas y eventos de ondas de calor puede afectar negativamente a sistemas de maricultura someros. Una opción para reducir estos efectos es mover las jaulas a mayor profundidad en la columna de agua, con el fin de evitar las aguas cálidas superficiales y minimizar los daños inducidos por la intensa acción del oleaje durante tormentas. Mientras la frecuencia, duración e intensidad de las ondas de calor sigan incrementando en las próximas décadas (Oliver et al. 2018), será de suma importancia para el futuro de la producción de abulón hallar refugios de las aguas cálidas en aguas profundas y alternativas al sargazo gigante como alimento. Para examinar el potencial de la maricultura en isla San Jerónimo, Baja California, México, bajo las condiciones actuales, exploramos la factibilidad de cultivar abulón rojo en jaulas aseguradas a un sistema de línea madre vertical. Específicamente, examinamos el efecto de la profundidad (en superficie y en el fondo a 5m) y el efecto de dietas a base de 3 macroalgas diferentes en el crecimiento y la supervivencia de juveniles de abulón rojo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Este estudio fue llevado a cabo en isla San Jerónimo (1.3 km de largo y 500 m de ancho), la cual se encuentra en la municipalidad de Ensenada, en el estado de Baja California, México (Fig. 1; 29°47'34.9" N, 115°47'31.9" W). Los recursos marinos de esta área están bajo la jurisdicción de la cooperativa pesquera "Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera Ensenada, S.C.L.", la cual participó en este estudio. Los abulones rojos juveniles utilizados fueron provistos por la granja acuícola "Abulones Cultivados", la cual se encuentra a 250 km al norte del área de estudio. Los abulones juveniles (ca. 30 ± 1 mm) fueron transportados de las instalaciones acuícolas a isla San Jerónimo en hieleras con un fondo de esponja húmeda. Al llegar, 2,100 juveniles de abulón rojo fueron inmediatamente transferidos a las jaulas

rope). Cages consisted of plastic-coated metal mesh ($0.80 \times 0.80 \times 0.36$ m), which was then wrapped with 0.5-cm plastic “Vexar” mesh. Eight cages were attached to the float line, 4 suspended near the surface and 4 on the sandy seafloor (5 m depth) weighted with rocks in each corner of the cage. Each cage contained 3 Australian baskets ($0.75 \times 0.25 \times 0.20$ m) stacked on one another (Fig. 2). Additionally, to increase the available surface for the abalone, Australian baskets were each modified at the center with a plastic plate with holes, allowing abalone to move throughout the basket. One HOBO U22 Temp Pro V2 temperature sensor was installed in each cage, and temperature ($^{\circ}\text{C}$) was recorded every half hour throughout the experiment.

The 2,100 juvenile red abalone were randomly placed into the 24 modified Australian baskets. Each basket had between 87 and 104 abalone, with a density of 102–122 abalone per square meter, as recommended by Viera et al. (2014). Fifteen abalone per Australian basket (360 individuals, $\sim 17\%$ of the 2,100 animals) were tagged with shellfish tags (Floy Tag and Mfg.) and measured at the start of the experiment. It was not possible to tag more animals because of logistic and economic constraints. The mean initial shell length of these tagged abalone was 32 ± 3.33 mm (mean \pm SD).

In addition to the effect of depth (surface vs. 5 m), the effect of macroalgal diet on abalone growth parameters was evaluated. Considering the most abundant brown macroalgae around the mariculture area, red abalone were fed 1 of 3 different diets. The first diet tested was 100% giant kelp, *M. pyrifera*, the second diet was 100% southern palm kelp, *E. arborea*, and the third diet was a mix of 50% elk kelp, *P. porra*, and 50% *M. pyrifera*. All diets consisted of kelp

experimentales y alimentados con *M. pyrifera ad libitum* por un mes previo a iniciar el experimento. La temperatura superficial del mar promedio durante este periodo fue de 14.98 ± 0.74 $^{\circ}\text{C}$.

Diseño experimental

Se diseñó un sistema experimental de maricultura con el fin de evaluar el efecto de diferentes condiciones de crianza (profundidad y dieta) en el crecimiento y la supervivencia de los abulones. El sitio de cultivo elegido presentó una profundidad máxima de 5 m, con suelo arenoso, y se ubicó en la región protegida al sureste de la isla. El sistema experimental consistió en una línea madre con jaulas aseguradas a 2 profundidades distintas (Fig. 2). Dos anclas (tubos de hierro con un diámetro de 7.5 cm y de 1.5 m de largo) fueron enterradas en el lecho marino con un ángulo aproximado de 45° , y a estas se aseguraron boyas superficiales (tambos de 200 L con aire presurizado) sujetas a líneas de flotación (cuerdas de polipropileno) de 100 m de largo, distribuidas con boyas adicionales. Las jaulas fueron elaboradas con malla de metal recubierta de plástico ($0.80 \times 0.80 \times 0.36$ m) y envueltas con una malla de plástico “Vexar” de 0.5 cm. Ocho jaulas fueron aseguradas a la línea de flotación, 4 a nivel superficial, y otras 4 en el fondo a 5 m, con rocas como pesos en cada esquina de las jaulas. Cada jaula contuvo en su interior 3 canastas australianas ($0.75 \times 0.25 \times 0.20$ m) apiladas (Fig. 2). Adicionalmente, para incrementar la superficie de contacto disponible para los abulones, se modificaron las canastas australianas añadiéndoles una lámina de plástico con agujeros en el medio, lo cual permitió el movimiento de los abulones dentro de la canasta. En cada jaula se instaló un sensor térmico HOBO U22 Temp Pro V2, que registró la temperatura ($^{\circ}\text{C}$) cada media hora durante todo el experimento.

Los 2,100 juveniles de abulón rojo fueron colocados al azar en las 24 canastas australianas modificadas. Cada canasta contuvo entre 87 y 104 abulones, con una densidad de 102–122 abulones por metro cuadrado, siguiendo las recomendaciones de Viera et al. (2014). Quince abulones por canasta australiana fueron marcados con marcas *shellfish* (Floy Tag y Mfg.) y medidos al inicio del experimento. Debido a limitaciones logísticas y económicas, no fue posible marcar a más individuos. El largo de concha promedio de los organismos marcados fue de 32 ± 3.33 mm (promedio \pm desviación estándar) al inicio.

Además del efecto de la profundidad (superficie vs. 5 m), se evaluó el efecto de la dieta de macroalgas en los parámetros de crecimiento de los abulones. Con base en las macroalgas más abundantes alrededor del área de maricultura, se alimentó a los abulones con 3 dietas diferentes. La primera dieta experimental consistió de 100% sargazo gigante, *M. pyrifera*, la segunda consistió de 100% coliflor, *E. arborea*, y la tercera consistió de una mezcla de 50% cuerno de alce, *P. porra*, y 50% *M. pyrifera*. Todas

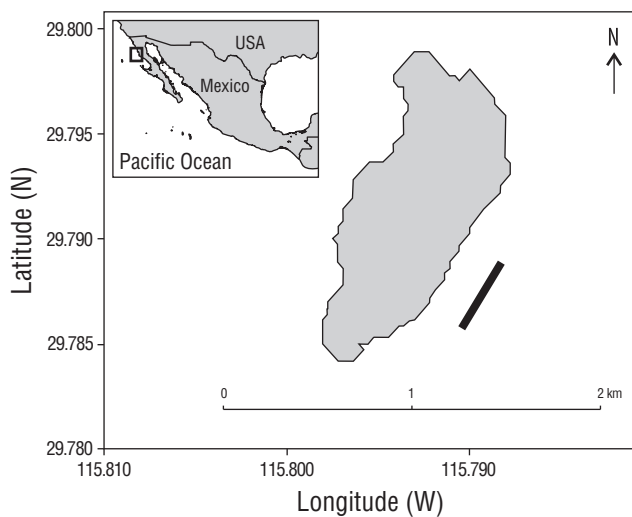


Figure 1. Experimental study area, San Jerónimo Island, Ensenada, Baja California, Mexico. The black bar indicates the mariculture zone.

Figura 1. Área del estudio, isla San Jerónimo, Ensenada, Baja California, México. La barra negra indica el área de maricultura.

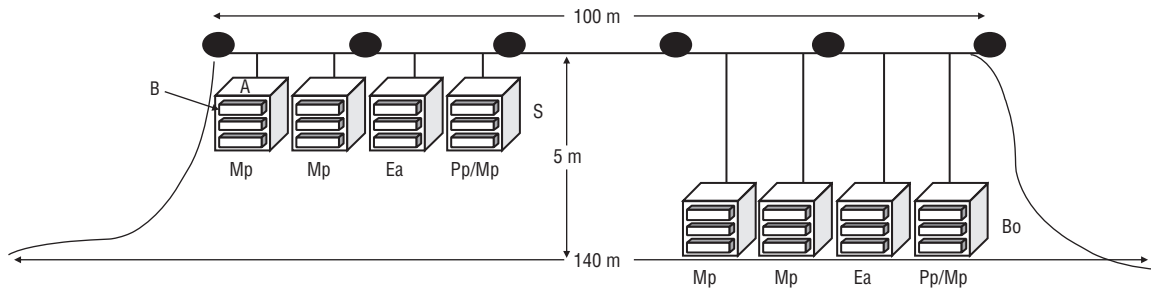


Figure 2. Design of the experimental long-line system. Depth = 5 m; A, metal cage; B, Australian baskets; S, surface treatment; Bo, bottom treatment. Diets: Mp, *Macrocystis pyrifera*; Ea, *Eisenia arborea*; Pp/Mp, 50% *Pelagophycus porra*/50% *Macrocystis pyrifera*. Filled ovals represent buoys along the float line.

Figura 2. Diseño del sistema experimental de línea madre. Profundidad = 5 m; A, jaula metálica; B, canastas australianas; S, tratamiento de superficie; Bo, tratamiento profundo. Dietas: Mp, *Macrocystis pyrifera*; Ea, *Eisenia arborea*; Mp/Pp, 50% *Pelagophycus porra*/50% *Macrocystis pyrifera*. Los óvalos rellenos representan boyas a lo largo de la línea de flotación.

blades. Of the 4 surface cages, 2 cages housed *M. pyrifera* diets, 1 cage the *E. arborea* diet, and 1 cage the mixed 50% *P. porra*/50% *M. pyrifera* diet. We repeated this design with the 4 bottom cages. Given the logistic constraints, only 8 cages could be used; therefore, only 1 diet per depth could be replicated, and we decided to do this for the 100% *M. pyrifera* diet, which is the most abundant and the standard feed in culture systems in northern Baja California Peninsula. The *E. arborea* blades were harvested by scuba diving; the canopy blades (upper 3 m) of *M. pyrifera*, by hand from a boat; and the *P. porra* blades, from algae that had drifted into the mariculture area. Abalone were fed *ad libitum* once per week, and the excess of macroalgae was removed weekly. The experiment ran for 3 months (90 d), from March to June 2019.

Growth of red abalone

Shell length of the 360 tagged red abalone was measured at time zero and at days 47 and 90 using a digital caliper (Mitutoyo Absolute AOS CD 6"AX) with ± 0.01 mm accuracy. Means for each cage were calculated from all the animals measured in the 3 baskets inside the cage (experimental unit). The mean for the *M. pyrifera* treatment was calculated from the 2 replicate cages. Data for the 3 baskets per cage were pooled, since it was not an objective of this study to assess the variability among baskets. These baskets were used to provide protection, larger culture surface, and even distribution of abalone and algae.

Mean shell length of tagged abalone was used to calculate the daily increment in shell length (DISL), monthly growth rate (MGR), and total growth (TG) as reported by Hopkins (1992). Survivorship was assessed weekly during feeding, and dead abalone were removed from the cages.

Statistical analysis

All statistical analyses were performed with STATISTICA v.12 software. To test for differences in abalone growth

las dietas consistieron de láminas de macroalga. Entre las 4 jaulas superficiales, 2 jaulas fueron asignadas una dieta de *M. pyrifera* y cada una de las 2 jaulas restantes fueron asignadas la dieta de *E. arborea* y la dieta mixta de 50% *P. porra*/50% *M. pyrifera*, respectivamente. Repetimos este diseño experimental con las 4 jaulas de fondo. Debido a las restricciones logísticas, sólo se pudieron utilizar estas 8 jaulas, por lo que solamente se pudo replicar una dieta por profundidad. Se decidió replicar la dieta de 100% *M. pyrifera*, por ser el alimento estándar y el más abundante en sistemas de cultivo en el norte de la península de Baja California. La cosecha de láminas de *E. arborea* fue llevada a cabo por medio de buceo autónomo; la de las láminas del dosel (3 m superiores) de *M. pyrifera*, a mano desde embarcaciones; y la de las láminas de *P. porra*, de individuos flotantes que habían derivado hacia el área de maricultura. Los abalones fueron alimentados *ad libitum* una vez a la semana, y de igual forma, las macroalgas restantes fueron removidas semanalmente. El experimento duró 3 meses (90 d), de marzo a junio de 2019.

Crecimiento del abulón rojo

El largo de la concha de los 360 abalones marcados fue medido antes de iniciar el experimento y en el día 47 y el día 90 utilizando un vernier digital (Mitutoyo Absolute AOS CD 6"AX) con una precisión de ± 0.01 mm. El promedio por jaula fue calculado utilizando las medidas de todos los organismos en las 3 canastas dentro de la jaula (unidad experimental). El promedio del tratamiento de *M. pyrifera* fue calculado considerando las 2 réplicas o jaulas. Los datos obtenidos por canasta dentro de las jaulas fueron agrupados, ya que no era un objetivo de este estudio el estimar la variabilidad entre canastas. Estas solo fueron utilizadas para proveer protección, incrementar la superficie para los abalones, y tener una distribución uniforme de abalones y algas.

El promedio de la longitud de concha de los abalones marcados fue utilizada para calcular el incremento diario en

among treatments, we conducted a two-way analysis of variance (ANOVA) with water depth and diet as fixed factors. This design can be considered as an unbalanced factorial with replication ($n = 2$) for only the *M. pyrifera* diet in both depth treatments since, given the logistic constraints, it was not possible to include replicates for the 2 other diets. Statistical analysis of the main effects is possible, but the interaction term cannot be adequately evaluated. Results must therefore be used cautiously given the lack of replication (Aitkin 1978, Langsrud 2003). We did *a posteriori* power analysis to find the smallest sample size for the differences to be statistically different between treatments with JMP V.14 software. Levene's *F*-test was used to assess the homogeneity of variances (Brown and Forsythe 1974). Only the analysis for total abalone growth (mm) at the end of the trial is reported, since the analysis for the daily and monthly rates were similar.

RESULTS

Depth effect on red abalone growth and survival

When pooling diet means for each depth, abalone had a mean DISL of $93 \pm 12 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ in the surface cages and $82 \pm 13 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ in the bottom cages. On average, during the experimental period, the abalone from the surface cages grew more than the abalone from the bottom cages, 8.33 ± 1.06 vs. 7.38 ± 1.13 mm TG, respectively, and 2.8 ± 0.4 vs. 2.5 ± 0.4 mm·month⁻¹ MGR, respectively. These differences were not statistically significant (Fig. 3, Table 1; two-way ANOVA,

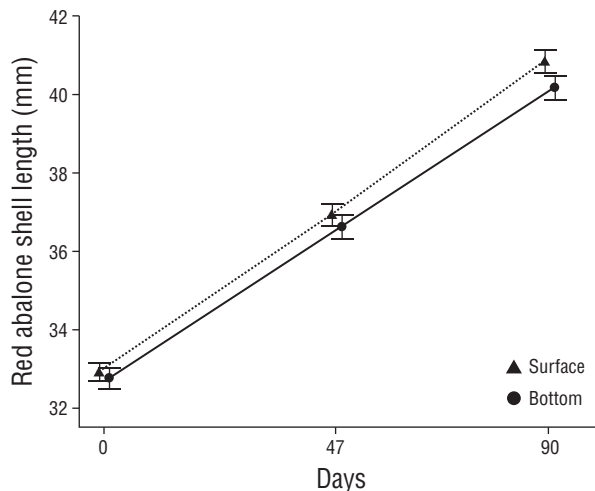


Figure 3. Red abalone, *Haliotis rufescens*, mean growth in shell length during 90 d of experiments in 2 depth treatments (two-way analysis of variance, $F_{1,4} = 3.066$, $P = 0.155$): surface and bottom. Vertical bars denote standard error.

Figura 3. Crecimiento promedio en longitud de concha del abulón rojo, *Haliotis rufescens*, durante 90 d de experimento en 2 tratamientos de profundidad (análisis de varianza de 2 vías, $F_{1,4} = 3.066$, $P = 0.155$): en superficie y en el fondo. Las barras verticales denotan el error estándar.

longitud de concha (IDLC), la tasa de crecimiento mensual (TCM) y el crecimiento total (CT), como en Hopkins (1992). La supervivencia fue estimada semanalmente durante la alimentación, y los abulones muertos fueron removidos de las jaulas.

Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el software STATISTICA v.12. Para examinar las diferencias en el crecimiento de los abulones entre tratamientos, condujimos un análisis de varianza (ANDEVA) de 2 vías con la profundidad y la dieta como variables fijas. Este diseño se puede considerar como factorial no balanceado con replicación ($n = 2$) solamente para la dieta de *M. pyrifera* en ambas profundidades ya que, debido a las limitaciones logísticas, no fue posible incluir replicación para las otras 2 dietas. El análisis estadístico de los efectos principales es posible, pero la interacción no puede ser evaluada, por lo que los resultados se deben tomar con precaución dada la falta de replicación (Aitkin 1978, Langsrud 2003). Realizamos un análisis de poder *a posteriori* para hallar el tamaño de muestra menor para encontrar diferencias significativas entre los tratamientos con el software JMP V.14. La prueba *F* de Levene fue utilizada para evaluar la homogeneidad de varianza (Brown y Forsythe 1974). Solo el análisis para la tasa de crecimiento total de los abulones (mm) al final del experimento fue reportado, ya que el análisis para las tasas diarias y mensuales resultaron muy similares.

RESULTADOS

Efecto de la profundidad en la supervivencia y el crecimiento del abulón rojo

Al agrupar los promedios de las dietas por profundidad, los abulones tuvieron IDLC de $93 \pm 12 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ en las jaulas superficiales y de $82 \pm 13 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ en las jaulas de fondo. En promedio, durante el periodo experimental, los abulones en las jaulas superficiales crecieron más que los abulones en las jaulas profundas, con un CT de 8.33 ± 1.06 vs. 7.38 ± 1.13 mm, respectivamente, y una TCM de 2.8 ± 0.4 vs. 2.5 ± 0.4 mm·mes⁻¹, respectivamente. Estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (Fig. 3, Tabla 1, ANDEVA de 2 vías, $F_{1,4} = 3.066$, $P = 0.155$), por lo que hicimos un análisis de poder *a posteriori* para hallar el tamaño de muestra más pequeño que hubiese sido capaz de hallar una diferencia estadística entre los 2 tratamientos de fondo. Hallamos que, si nuestro diseño experimental hubiese tenido 3 o 4 réplicas por tratamiento, la diferencia entre profundidades en el crecimiento de los organismos podría haber sido estadísticamente significativa ($\alpha = 0.05$, $\sigma = 0.77$, $\delta = 0.47$): $N = 18$, poder = 0.69; y $N = 24$, poder = 0.82, respectivamente. El crecimiento promedio fue de $84 \pm 2 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ durante el primer periodo de muestreo (del día 0 al 46) y de $91 \pm 12 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ en el segundo

Table 1. Statistical information of the two-way analysis of variance performed with the data of total growth in shell length of red abalone under diet and depth treatments during the 90-d experiment. SS, sum of squares; MS, mean square.

Tabla 1. Información estadística del análisis de varianza de 2 vías aplicado a los datos del crecimiento total en el largo de concha del abulón rojo bajo tratamientos de dieta y profundidad durante 90 d de experimento. SS, suma de cuadrados; MS, media de cuadrados.

	SS	d.f.	MS	F	P
Diet	4.832	2	2.412	4.120	0.107
Depth	1.798	1	1.798	3.066	0.155
Error	2.345	4	0.586		

$F_{1,4} = 3.066$, $P = 0.155$), so we performed *a posteriori* power analysis to find the smallest sample size for the differences between the 2 depth treatments to be statistically significant. If our experimental design would have had 3 or 4 replicates per treatment, the difference in growth between depths might have been statistically significant ($\alpha = 0.05$, $\sigma = 0.77$, $\delta = 0.47$): $N = 18$, power = 0.69; and $N = 24$, power = 0.82, respectively. Growth was $84 \pm 2 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ during the first sampling period (days 0–46) and $91 \pm 12 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ during the second period (days 47–90) (Fig. 3). Average abalone survival was 99% in surface cages and 95% in bottom cages.

Diet effect on red abalone growth and survival

Red abalone fed a 100% *M. pyrifera* diet had a DISL of $88 \pm 10 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$, a TG of 7.94 ± 0.88 mm, a mean MGR of 2.6 ± 0.3 mm·month⁻¹, and 99% survival. With the 100% *E. arborea* diet, DISL was $99 \pm 7 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$, TG was 8.86 ± 0.62 mm, mean MGR was 3.0 ± 0.2 mm·month⁻¹, and survival was 98%. Abalone fed a mixed diet of 50% *M. pyrifera*/50% *P. porra* had a DISL of $74 \pm 13 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$, TG of 6.68 ± 1.19 mm, mean MGR of 2.2 ± 0.4 mm·month⁻¹, and 94% survival. Mean DISL and MGR rates for each cage are presented in Table 2. We did not find statistically significant differences in the growth parameters among diet treatments (Fig. 4, Table 1; two-way ANOVA, $F_{2,4} = 4.120$, $P = 0.107$). We also carried out a power analysis to find the least significant sample size for the difference between the 3 diet treatments to be statistically significant. If our experimental design had had 2 or 3 replicates per treatment, the difference in growth between diets might have been statistically significant ($\alpha = 0.05$, $\sigma = 0.77$, $\delta = 0.78$): $N = 12$, power = 0.74; and $N = 18$, power = 0.94, respectively. Mean growth across all treatments was $84 \pm 15 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ during the first sampling period (days 0–46) and $90 \pm 9 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ during the second period (days 47–90) (Fig. 4).

Temperature

For the surface treatment, mean temperature was 13.69 ± 0.92 °C (max = 18.62, min = 12.01) and for the bottom

periodo (del día 47 al 90) (Fig. 3). La tasa de supervivencia promedio de los abalones fue de 99% en superficie y 95% en las jaulas de fondo.

Efecto de la dieta en la supervivencia y el crecimiento del abulón rojo

Los abalones alimentados con una dieta de 100% *M. pyrifera* tuvieron un IDLC de $88 \pm 10 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$, un CT de 7.94 ± 0.88 mm, una TCM promedio de 2.6 ± 0.3 mm·mes⁻¹ y una supervivencia del 99%. Con la dieta de 100% *E. arborea*, se registró un IDLC de $99 \pm 7 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$, un CT de 8.86 ± 0.62 mm, una TCM promedio de 3.0 ± 0.2 mm·mes⁻¹ y una supervivencia del 98%. Los abalones alimentados con una dieta mixta de 50% *P. porra*/50% *M. pyrifera* presentaron un IDLC de $74 \pm 13 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$, un CT de 6.68 ± 1.19 mm, una TCM promedio de 2.2 ± 0.4 mm·mes⁻¹ y una supervivencia del 94%. Los promedios de IDLC y TCM por jaula se encuentran en la Tabla 2. Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los parámetros de crecimiento entre diferentes dietas (Fig. 4, Tabla 1, ANDEVA de 2 vías, $F_{2,4} = 4.120$, $P = 0.107$). De nuevo, llevamos a cabo un análisis de poder para hallar el menor tamaño de muestra que permitiría detectar diferencias estadísticas entre las 3 dietas. Si nuestro diseño experimental hubiese tenido 2 o 3 réplicas por tratamiento, la diferencia en crecimiento entre las dietas podría haber sido estadísticamente significativa ($\alpha = 0.05$, $\sigma = 0.77$, $\delta = 0.78$): $N = 12$, poder = 0.74; y $N = 18$, poder = 0.94, respectivamente. El crecimiento promedio fue de $84 \pm 15 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ durante el primer periodo de muestreo (del día 0 al 46) y de $90 \pm 9 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ durante el segundo periodo (del día 47 al 90) (Fig. 4).

Temperatura

La temperatura promedio fue de 13.69 ± 0.92 °C (máx = 18.62, min = 12.01) en el tratamiento de superficie y de 14.01 ± 0.94 °C (máx = 17.85, min = 12.01) en el tratamiento de fondo (Fig. 5). No encontramos diferencias estadísticas significativas entre las temperaturas promedio diarias entre

treatment, mean temperature was 14.01 ± 0.94 °C (max = 17.85, min = 12.01) (Fig. 5). Using daily means, there were no statistically significant differences in temperature between the surface and the bottom (ANOVA, $F_{1,270} = 0.88, P = 0.41$).

DISCUSSION

To test the potential for red abalone, *H. rufescens*, mariculture at San Jeronimo Island, Baja California, Mexico, we explored the feasibility of growing red abalone in cages attached to a long-line system and assessed the effects of depth and diet on their growth. The present study describes the broad importance of developing experiments and analyses to provide alternative ways to enhance production and inform management of complex systems responding to complex climate change effects such as extreme marine heatwaves. Our results indicate that red abalone mariculture is feasible at San Jeronimo Island and that the use of varying culture depths and the use of diets with alternative algal species may be effective strategies to cope with the effects of marine heatwaves and storm surges. The power analyses showed that appropriate replication would have found slight differences between diets and depths and would have also allowed us to test for interactions between the variables. Therefore, given the lack of balanced treatment replication, due to logistic constraints, the results from this small-scale local experiment should be taken cautiously.

el tratamiento de superficie y el de fondo (ANDEVA, $F_{1,270} = 0.88, P = 0.41$).

DISCUSIÓN

Para investigar el potencial para la maricultura de abulón rojo, *H. rufescens*, en isla San Jerónimo, Baja California, México, exploramos la factibilidad de su cultivo en jaulas aseguradas a un sistema de línea madre e investigamos los efectos de la dieta y la profundidad en su crecimiento. El presente estudio describe la importancia de desarrollar experimentos y análisis con el fin de proponer maneras alternativas de optimizar la producción e informar el manejo de sistemas complejos ante múltiples efectos del cambio climático, tales como ondas de calor extremas. Nuestros resultados indican que la maricultura de abulón rojo es factible en isla San Jerónimo y que tanto el uso de diferentes profundidades de cultivo como el de dietas con especies alternativas de algas pueden ser estrategias efectivas para lidiar con los efectos de las ondas de calor y las tormentas. Los análisis de poder demostraron que una replicación adecuada podría haber encontrado diferencias sutiles entre dietas y profundidades y podría haber permitido, además, examinar la interacción entre estas variables. Por tanto, dada la falta de replicación balanceada de los tratamientos debido a limitaciones logísticas, los resultados de este experimento a pequeña escala deben interpretarse con precaución.

Table 2. Total mean growth in shell length of red abalone fed 3 different macroalgal diets in the surface and bottom treatments. DISL, daily increase in shell length; MGR, monthly growth rate.

Tabla 2. Crecimiento promedio total en longitud de concha del abulón rojo alimentado con 3 dietas de macroalgas diferentes en los tratamientos en superficie y en el fondo. DISL, incremento diario en longitud de la concha; MGR, tasa de crecimiento mensual.

Cage	Diet	Depth	DISL ($\mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$)	MGR ($\text{mm}\cdot\text{month}^{-1}$)	Total growth (mm)
1	100% <i>Macrocystis pyrifera</i>	Surface	81	2.4	7.31
2	100% <i>Eisenia arborea</i>	Surface	103	3.1	9.30
3	50% <i>Macrocystis pyrifera</i> , 50% <i>Pelagophycus porra</i>	Surface	84	2.5	7.52
4	100% <i>Macrocystis pyrifera</i>	Surface	102	3.1	9.19
5	100% <i>Macrocystis pyrifera</i>	Bottom	81	2.4	7.31
6	100% <i>Eisenia arborea</i>	Bottom	94	2.8	8.43
7	50% <i>Macrocystis pyrifera</i> , 50% <i>Pelagophycus porra</i>	Bottom	65	1.9	5.84
8	100% <i>Macrocystis pyrifera</i>	Bottom	88	2.7	7.95
		Average	87	2.6	7.90
		SD	13	0.4	1.10
		Min	65	1.9	5.80
		Max	103	3.1	9.30

Depth effect on red abalone growth and survival

We tested the effect of depth on the growth and survival of juvenile red abalone, as climatic changes such as sea surface warming and storms will likely affect growth and survivorship for future mariculture projects. There were no statistically significant differences in growth between depth treatments (Fig. 3, Table 1). However, as the power analysis showed, if we had had 3 or 4 replicates per treatment, we might have found statistically significant differences on growth with depth, with slightly higher growth in the surface cages, although probably not important from the aquaculture perspective, since cages would be lowered to the bottom only for short-term periods during storms. Temperature was similar between the surface water and at 5 m depth (Fig. 5), so the trend of slightly greater growth at the surface may have been related to other variables such as dissolved oxygen, pH, light availability, currents, or turbidity (Morash and Alter 2016). We also noticed more sediment in the bottom cages, and this may have contributed to the trend of slightly lower growth rate and survival observed at this depth. However, we did not measure sedimentation rates, and their effects on abalone growth and survival in cage culture systems have not yet been studied to our knowledge. Our results indicate that during a severe storm in the area, it would be possible to lower the cages to protect the caging system from damage due to storm-generated waves and surge without negatively affecting abalone growth rates.

Diet effect on red abalone growth and survival

In our experiment, we found that red abalone tended to grow better with the *E. arborea* diet ($99 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$, $3 \text{ mm}\cdot\text{month}^{-1}$) than with the *M. pyrifera* diet ($88 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$, $2.6 \text{ mm}\cdot\text{month}^{-1}$) or the 50% *P. porra*/50% *M. pyrifera* mixed diet ($75 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$, $2.2 \text{ mm}\cdot\text{month}^{-1}$), although these differences were not significant (Fig. 4). However, as the power analysis showed, if we had been able to have 2 or 3 replicates per treatment, we would have found statistical differences on growth between diets, with slightly better growth with the *E. arborea* diet. Our results support the study by Zertuche-Gonzalez et al. (2014), who found similar growth rates in red abalone (similar size, 20 mm) fed *M. pyrifera* ($2.5 \text{ mm}\cdot\text{month}^{-1}$) and *E. arborea* ($2.2 \text{ mm}\cdot\text{month}^{-1}$) in the same region. These slight differences in MGRs could be related to seed quality, temperature regime during culture, and the species-specific thermal preferences and optimum for growth. Díaz et al. (2000) found that juvenile red abalone (46–59 mm) acclimated to 17 °C preferred temperatures of 18.8 °C and that optimum temperature for growth was 18.4 °C. Steinarsson and Imsland (2003) examined the growth of abalone acclimated to 15 °C when exposed to temperatures ranging from 11 to 22 °C and reported optimal temperature to be 16.5 °C for 21 mm red abalone and 17.2 °C for 25–66 mm red abalone. Moreover, macroalgae morphotypes

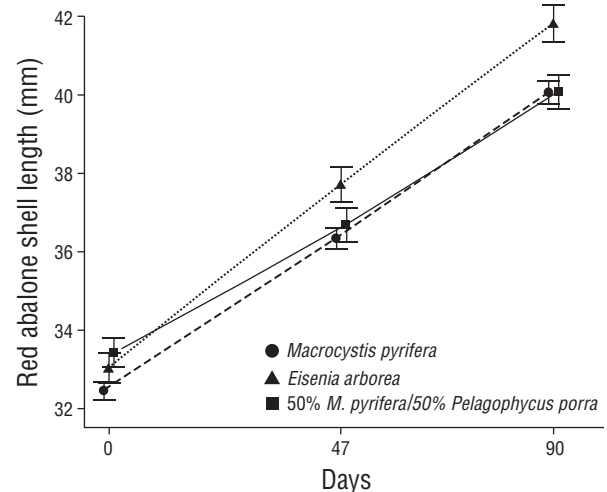


Figure 4. Red abalone, *Haliotis rufescens*, mean growth in shell length during 90 d of experiments fed with 3 different macroalgal diets (two-way analysis of variance, $F_{2,4} = 4.120$, $P = 0.107$): *Macrocyctis pyrifera* diet, *Eisenia arborea* diet, 50% *M. pyrifera*/50% *Pelagophycus porra* mixed diet. Vertical bars denote standard error.

Figura 4. Crecimiento promedio en longitud de concha de abulón rojo, *Haliotis rufescens*, durante 90 d de experimento con 3 dietas de macroalgas diferentes (análisis de varianza de 2 vías, $F_{2,4} = 4.120$, $P = 0.107$): *Macrocyctis pyrifera*, *Eisenia arborea* y dieta mixta 50% *Pelagophycus porra*/50% *M. pyrifera*. Las barras verticales denotan el error estándar.

Efecto de la profundidad en la supervivencia y el crecimiento del abulón rojo

Examinamos el efecto de la profundidad en el crecimiento y la supervivencia de abulón rojo juvenil, dado que cambios en el clima, tales como el calentamiento de las aguas superficiales y tormentas más frecuentes e intensas, probablemente afecten el crecimiento y la supervivencia de organismos en proyectos futuros de maricultura. En este experimento no encontramos diferencias estadísticamente significativas en el crecimiento de los organismos entre profundidades (Fig. 3, Tabla 1). Sin embargo, y como demostró el análisis de poder, si hubiésemos tenido 3 o 4 réplicas por tratamiento, podríamos haber encontrado diferencias, con un crecimiento ligeramente mayor en las jaulas superficiales, aunque probablemente no suficientemente importante desde la perspectiva acuícola, ya que las jaulas sólo serían colocadas cerca del fondo por periodos cortos durante tormentas. La temperatura fue similar entre la superficie y el fondo a 5 m (Fig. 5), por lo que la tendencia a crecer ligeramente mejor en superficie debe estar relacionada con otras variables, tales como oxígeno disuelto, pH, disponibilidad de luz, corrientes o turbidez (Morash y Alter 2016). También, notamos una mayor cantidad de sedimento en las jaulas profundas, lo cual puede haber contribuido a la tendencia de un crecimiento y

and proximal composition can vary between sites in relation to oceanographic conditions such as currents, water motion, temperature, light, and nutrients (Roberson and Coyer 2004, Demes et al. 2009, Landa-Cansigno et al. 2017).

It is much easier and cheaper for fishers to obtain *M. pyrifera* than *E. arborea*. The latter does not create a floating canopy and requires scuba to harvest, whereas the canopy of *M. pyrifera* is easily harvested from the surface by hand from a boat. With future predictions of reduced wild populations of *M. pyrifera* in Baja California due to warmer temperatures or other environmental disturbances (Beas-Luna et al. 2020), our results suggest, as previous studies, that *E. arborea* is a suitable alternative food source for red abalone aquaculture.

Growth rates in red abalone fed *M. pyrifera* have shown to range from $34 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ in organisms 8 mm shell length (Trevelyan et al. 1998) to $73 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ in organisms 20–60 mm shell length (Zertuche-González et al. 2014). The $88\text{-}\mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ growth rate observed in red abalone (32 mm shell length) fed with the *M. pyrifera* diet in this study is promising. Our findings suggest that San Jeronimo Island has high potential for red abalone mariculture based on an *M. pyrifera* diet alone, since currently it is the most abundant macroalgae in the region. We examined alternatives to *M. pyrifera* algal diets that could be used for abalone in Baja California during extreme temperature events (Ladah y Zertuche 1999, Cavanaugh et al. 2019). Some authors recommend using red algae to boost red abalone growth; for example, Evans and Langdon (2000) obtained $124 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ in juvenile *H. rufescens* fed dulce *Palmaria mollis*. In contrast, Leighton (1966) demonstrated that *H. rufescens* had a distinct preference for brown algae, particularly *M. pyrifera* and *E. menziesii*. Other studies have used mixtures of brown algae; for example,

una tasa de supervivencia ligeramente menor asociadas con la profundidad. Sin embargo, no medimos la tasa de sedimentación, y su posible efecto en el crecimiento y la supervivencia de abulones en jaulas no ha sido estudiado hasta la fecha, a nuestro conocimiento. Nuestros resultados indicaron que, durante tormentas severas en el área, sería posible descender las jaulas para proteger el sistema de daños debidos a las olas, sin afectar la tasa de crecimiento de los abulones.

Efecto de la dieta en la supervivencia y el crecimiento del abulón rojo

En nuestro experimento, hallamos que el abulón rojo tiene una tendencia a crecer mejor alimentándose de *E. arborea* ($99 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$, $3 \text{ mm}\cdot\text{mes}^{-1}$) que de *M. pyrifera* ($88 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$, $2.6 \text{ mm}\cdot\text{mes}^{-1}$) o de *P. porra* mezclada con *M. pyrifera* ($75 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$, $2.2 \text{ mm}\cdot\text{mes}^{-1}$), aunque estas diferencias no fueron significativas (Fig. 4). Sin embargo, como demostró el análisis de poder, de haber tenido 2 o 3 réplicas por tratamiento, podríamos haber hallado diferencias en el crecimiento de los organismos según su dieta, con un crecimiento ligeramente mejor alimentándose de *E. arborea*. Nuestros resultados respaldan el estudio de Zertuche-Gonzalez et al. (2014), quienes hallaron tasas de crecimiento similares en abulones rojos (con tamaños similares de 20 mm) alimentados de *M. pyrifera* ($2.5 \text{ mm}\cdot\text{mes}^{-1}$) y *E. arborea* ($2.2 \text{ mm}\cdot\text{mes}^{-1}$) en la misma región. Las ligeras diferencias en TCM pueden estar relacionadas a la calidad de la semilla, la temperatura durante el cultivo, y las preferencias termales específicas de crecimiento óptimo de la especie. Díaz et al. (2000) hallaron que los abulones rojos aclimatizados a $17 \text{ }^\circ\text{C}$ tienen una temperatura preferencial de $18.8 \text{ }^\circ\text{C}$ y una temperatura óptima de crecimiento de $18.4 \text{ }^\circ\text{C}$. Por otro lado,

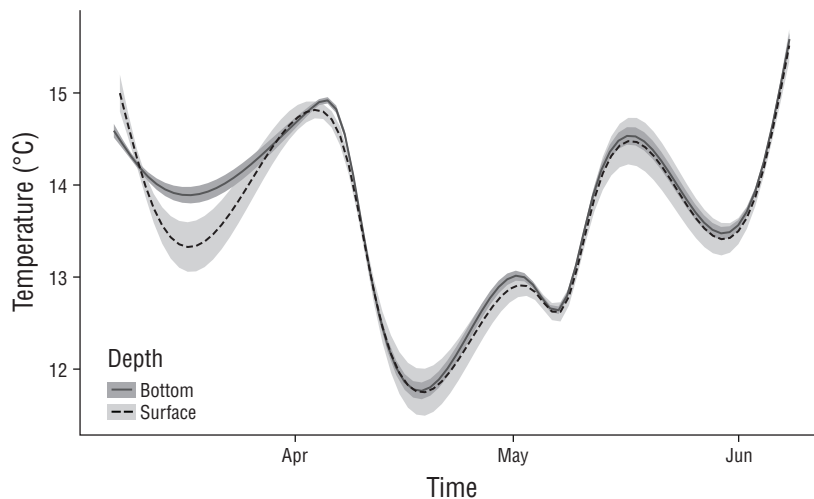


Figure 5. Recorded temperature ($^\circ\text{C}$) in the depth treatments during the experimental period. Grey shades indicate 0.95 confidence intervals.
Figura 5. Temperatura registrada ($^\circ\text{C}$) en los tratamientos de profundidad durante el experimento. La sombras grises denotan el intervalo de confianza de 0.95.

Searcy-Bernal and Salas-Garza (1990) obtained a growth rate of $74 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ in *H. rufescens* fed both *M. pyrifera* and *E. menziesii*. Abalone growth rates on natural diets are reported to range from $0.8 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ for *Haliotis iris* (20 mm shell length) fed *Ulva lactuca* (Stuart and Brown 1994) to $139 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ for *Haliotis discus hannai* (24–34 mm shell length) fed *Eisenia bicyclis* (Uki et al. 1986). More studies are needed to understand the effect of mixed algae diets and their economic viability in mariculture systems. Also, in order to develop an optimum mariculture system in a particular region, future research should consider that feeding rates of abalone depend on body size, type of food, density, and temperature (Capinpin et al. 1999, Nelson et al. 2002).

Temperature

Temperature is the main variable that controls the rates of most metabolic processes in abalone (Rogers-Bennett et al. 2010, Morash and Alter 2016). Outside their optimum range, individuals adjust basic physiological functions to maintain basal metabolic demands (Medina-Romo et al. 2010). In red abalone, preferential temperature increases during development until 30 mm shell length and then declines as the individual grows (Steinarsson and Imsland 2003). The preferential temperature of *H. rufescens* is 18°C (Leighton 1974, Díaz et al. 2000). At 25°C *H. rufescens* begins to present detachment symptoms, and the maximum critical temperature is 27.5°C (Díaz et al. 2006). In this study, the mean temperature of the surface treatment was $13.69 \pm 0.92^\circ\text{C}$ (max = 18.62, min = 12.01) and for the bottom treatment it was $14.01 \pm 0.94^\circ\text{C}$ (max = 17.85, min = 12.01). Temperature and *H. rufescens* growth and survival data indicate that San Jeronimo Island has high potential for red abalone mariculture, at least during the months over which this experiment was conducted. It is critical to have a robust understanding of the effect of temperature on abalone metabolism and growth (Morash and Alter 2016) to predict the future effects of rising ocean temperature on abalone farming.

Future directions

It is of utmost importance to develop sustainable mariculture in Mexico, as it will diversify the activities of fishing communities, produce valuable products, and help restore and conserve marine species. For example, abalone aquaculture and mariculture projects have been very successful in several Asian countries. Currently, 155,939 mt of abalone are produced in China, South Korea, and Japan, equivalent to 95% of the world abalone production (Cook 2019). Valuable insights from these cases can be applied to future efforts within Mexico. For example, in these countries, aquaculture is co-managed between academia, private initiatives, local communities, and government agencies (Lee 2019). Conservation aquaculture projects in Baja California have the

Steinarsson e Imsland (2003) examinaron el crecimiento de abulones aclimatizados a 15°C , y expuestos a temperaturas con un intervalo de 11 a 22°C , y reportaron una temperatura óptima de 16.5°C para abulones rojos de 21 mm y de 17.2°C para abulones rojos de 25–66 mm. Además, también hay que considerar que los morfotipos y la composición proximal de las macroalgas pueden variar entre sitios, relacionándose con condiciones oceanográficas como corrientes, movimiento del agua, temperatura, luz y nutrientes (Roberson y Coyer 2004, Demes et al. 2009, Landa-Cansigno et al. 2017).

Es mucho más sencillo y barato obtener *M. pyrifera* que *E. arborea*, ya que esta última no crea un dosel flotante. Se requiere de buceo autónomo para recolectar *E. arborea*, mientras que *M. pyrifera* puede ser recolectada fácilmente a mano desde un bote. Simultáneamente, y tomando en consideración las predicciones futuras de una reducción de las poblaciones silvestres de *M. pyrifera* en Baja California debido a temperaturas más altas y otros estresores (Beas-Luna et al. 2020), nuestros resultados sugieren que el uso de *E. arborea* es una alternativa adecuada como fuente de alimento en el cultivo de abulón rojo.

Las tasas de crecimiento del abulón rojo alimentado con *M. pyrifera* varían de $34 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ en organismos de longitud de concha de 8 mm (Trevelyan et al. 1998) a $73 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ en organismos de longitud de concha de 20–60 mm (Zertuche-González et al. 2014). La tasa de crecimiento de $88 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ observada en abulón rojo (32 mm de longitud de concha) alimentado con *M. pyrifera* en este estudio es prometedor. Nuestros resultados sugieren que isla San Jerónimo tiene un potencial alto para la maricultura del abulón rojo basado simplemente en una dieta de *M. pyrifera*, ya que actualmente es la macroalga más abundante en la región. Examinamos dietas alternativas a *M. pyrifera* para abulón que pudiesen ser utilizadas en Baja California durante eventos de temperaturas extremas (Ladah y Zertuche 1999, Cavanaugh et al. 2019). Algunos autores recomiendan el uso de algas rojas para aumentar el crecimiento de abulón rojo; por ejemplo, Evan y Langdon (2000) obtuvieron un crecimiento de $124 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ en juveniles de *H. rufescens* alimentados con *Palmaria mollis*. En contraste, Leighton (1966) demostró que *H. rufescens* tiene una clara preferencia por las algas pardas, *M. pyrifera* y *E. menziesii* en particular. Otros estudios han utilizado mezclas de algas pardas; por ejemplo, Searcy-Bernal y Salas-Garza (1990) obtuvieron una tasa de crecimiento de $74 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ en *H. rufescens* alimentados con *M. pyrifera* y *E. menziesii*. Las tasas de crecimiento de abulón con una dieta natural se reportan con un intervalo de $0.8 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ para *Haliotis iris* (20 mm de longitud de concha) alimentado con *Ulva lactuca* (Stuart y Brown 1994) hasta $139 \mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$ para *Haliotis discus hannai* (24–34 mm de longitud de concha) alimentado con *Eisenia bicyclis* (Uki et al. 1986). Más estudios son necesarios para entender el efecto de una dieta de algas mixta y su viabilidad económica en sistemas de maricultura. Es vital que investigaciones futuras consideren que las tasas de alimentación dependen del tamaño del abulón,

potential to enhance the resiliency of coastal communities to the impacts of climate change. Although the small-scale mariculture system used in this experiment was successful at San Jeronimo Island, more research should be conducted to determine its upscaling potential and feasibility at other locations.

ACKNOWLEDGMENTS

This paper was prepared with funds provided by the Mexican Secretary of Public Education (UABC-PTC-669), Universidad Autónoma de Baja California (240-21a. CONV INT), and the National Council for Science and Technology (Mexico, #CVU: 860611). We thank the fishing cooperative “Ensenada,” the NGO “Comunidad y Biodiversidad”, and the group “Monitoreo y Conservación de Especies” for their hard work in developing the mariculture system and feeding the abalone, and Mex-Cal (www.mex-cal.org) for their time and effort providing feedback and assistance in the field. We thank COBI-UC Davis Phase II-01112018-28022020. We also thank Sarah J Teck and 2 anonymous reviewers for their helpful suggestions to improve the manuscript and Lucia M Rodriguez for her help with the translation.

REFERENCES

- Aitkin M. 1978. The analysis of unbalanced cross-classifications. *Royal Statistical Society*. 141(2):195–223. <https://doi.org/10.2307/2344453>
- Arafeh-Dalmau N, Montaña-Moctezuma G, Martínez JA, Beas-Luna R, Schoeman DS, Torres-Moye G. 2019. Extreme Marine Heatwaves alter kelp forest community near its equatorward distribution limit. *Frontiers in Marine Science*. 6:499. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00499>
- Arafeh-Dalmau N, Schoeman DS, Montaña-Moctezuma G, Micheli F, Rogers-Bennett L, Olguin-Jacobson C, Possingham HP. 2020. Marine heatwaves threaten kelp forests. *Science Letters*. 367(6478):635. <https://doi.org/10.1126/science.aba5244>
- Barange M, Perry RI. 2009. Physical and ecological impacts of climate change relevant to marine and inland capture fisheries and aquaculture. In: Cochrane K, De Young C, Soto D, Bahri T. (eds.), *Climate Change Implications for Fisheries and Aquaculture. Overview of Current Scientific Knowledge*. Rome (Italy): FAO. p. 7–106.
- Beas-Luna R, Micheli F, Woodson CB, Carr M, Malone D, Torre J, Boch CA, Caselle JE, Edwards M, Freiwald J, et al. 2020. Geographic variation in responses of kelp forest communities of the California Current to recent climatic changes. *Glob Change Biol*. 26(11):6457–6473. <https://doi.org/10.1111/gcb.15273>
- Ben-Horin T, Lafferty KD, Bidegain G, Lenihan HS. 2016. Fishing diseased abalone to promote yield and conservation. *Phil Trans Soc B*. 371:(1689):20150211. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0211>
- Boch CA, Micheli F, AlNajjar M, Monismith SG, Beers JM, Bonilla JC, Espinoza AM, Vazquez-Vera L, Woodson CB. 2018. Local oceanographic variability influences the performance of juvenile abalone under climate change. *Sci Rep*. 8(1):5501. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23746-z>
- tipo de alimento, densidad de organismos y temperatura del medio (Capinpin et al. 1999, Nelson et al. 2002) si se busca desarrollar un sistema de maricultura optimizado para cada región.

Temperatura

La temperatura es la variable principal que controla la tasa de la mayoría de los procesos metabólicos en el abulón (Rogers-Bennett et al. 2010, Morash y Alter 2016). Fuera de su intervalo óptimo, los individuos ajustan funciones fisiológicas para mantener sus demandas metabólicas basales (Medina-Romo et al. 2010). En el abulón rojo, la temperatura preferencial aumenta durante el desarrollo hasta la talla de 30 mm de longitud de concha, y empieza a decrecer conforme crece el organismo (Steinarsson e Imsland 2003). La temperatura preferencial para *H. rufescens* es de 18 °C (Leighton 1974, Díaz et al. 2000). A los 25 °C, *H. rufescens* empieza a presentar síntomas de desprendimiento, y la temperatura máxima crítica es 27.5 °C (Díaz et al. 2006). En este estudio, la temperatura promedio del tratamiento de superficie fue de 13.69 ± 0.92 °C (max = 18.62, min = 12.01) y la del tratamiento de fondo fue de 14.01 ± 0.94 °C (max = 17.85, min = 12.01). La temperatura y los datos de crecimiento y supervivencia indican que isla San Jerónimo tiene un alto potencial para la maricultura de abulón rojo, al menos durante los meses en los cuales se condujo este experimento. Es crítico obtener una comprensión robusta del efecto de la temperatura en el metabolismo y el crecimiento del abulón (Morash y Alter 2016) para predecir los efectos futuros de las temperaturas oceánicas en el cultivo del mismo.

Direcciones futuras

El desarrollo de la maricultura sostenible en México es de extrema importancia, ya que diversificará las actividades de las comunidades pesqueras, proporcionará productos valiosos y ayudará a la restauración y conservación de especies marinas. Por ejemplo, la acuicultura de abulón y los proyectos de maricultura han sido muy exitosos en varios países asiáticos. Actualmente, 155,939 tm de abulón son producidas en China, Corea del Sur y Japón, equivalente al 95% de la producción mundial de abulón (Cook 2019). De estos casos, se pueden aplicar lecciones valiosas para futuros esfuerzos en México. Por ejemplo, en estos países, la acuicultura es co-manejada entre la academia, las iniciativas privadas, las comunidades locales y las agencias gubernamentales (Lee 2019). Los proyectos de acuicultura de la conservación en Baja California tienen el potencial de fortalecer la resiliencia de comunidades costeras a los impactos del cambio climático. Aunque el sistema de maricultura de pequeña escala utilizado en este experimento fue exitoso en isla San Jerónimo, se necesita investigación adicional para determinar su potencial de expansión y factibilidad en otras localidades.

- Brown MB, Forsythe AB. 1974. Robust tests for the equality of variances. *J American Statistical Association*. 69(346):364–367.
- Capinpin EC, Toledo JD, Encena VC, Doi M. 1999. Density dependent growth of the tropical abalone *Haliotis asinina* in cage culture. *Aquaculture*. 171(3–4):227–235. [https://doi.org/10.1016/s0044-8486\(98\)00490-6](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(98)00490-6)
- Cavanaugh KC, Reed DC, Bell TW, Castorani MCN, Beas-Luna R. 2019. Spatial variability in the resistance and resilience of giant kelp in southern and Baja California to a multiyear heatwave. *Frontiers in Marine Science*. 6:1–14. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00413>
- Cook PA. 2016. Recent trends in worldwide abalone production. *J Shellfish Res*. 35(3):581–583. <https://doi.org/10.2983/035.035.0302>
- Cook PA. 2019. Worldwide abalone production statistics. *J Shellfish Res*. 38(2):401–404. <https://doi.org/10.2983/035.038.0222>
- Demes KW, Graham MH, Suskiewicz TS. 2009. Phenotypic plasticity reconciles incongruous molecular and morphological taxonomies: the giant kelp, *Macrocystis* (Laminariales, Phaeophyceae), is a monospecific genus. *Phycological Society of America*. 45:1266–1269. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2009.00752.x>
- Díaz F, del Río-Portilla MA, Sierra E, Aguilar M, Re-Araujo AD. 2000. Preferred temperature and critical thermal maxima of red abalone *Haliotis rufescens*. *J Therm Biol*. 25(3):257–261. [https://doi.org/10.1016/s0306-4565\(99\)00032-7](https://doi.org/10.1016/s0306-4565(99)00032-7)
- Díaz F, Re AD, 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. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2006.01506.x>
- [DOF] Diario Oficial de la Federación. 2018. Carta Nacional Pesquera. Mexico: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
- Evans F, Langdon CJ. 2000. Co-culture of dulse *Palmaria mollis* and red abalone *Haliotis rufescens* under limited flow conditions. *Aquaculture*. 185(1–2):137–158. [https://doi.org/10.1016/s0044-8486\(99\)00342-7](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(99)00342-7)
- Froehlich HE, Gentry RR, Halpern BS. 2017. Conservation aquaculture: shifting the narrative and paradigm of aquaculture's role in resource management. *Biol Conserv*. 215:162–168. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2017.09.012>
- Froehlich HE, Gentry RR, Halpern BS. 2018. Global change in marine aquaculture production potential under climate change. *Nat Ecol Evol*. 2(11):1745–1750. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0669-1>
- García-Esquivel Z, Felbeck H. 2009. Comparative performance of juvenile red abalone, *Haliotis rufescens*, reared in laboratory with fresh kelp and balanced diets. *Aquaculture Nutrition*. 15(2):209–217. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2008.00585.x>
- Guzmán-del Prío SA, Carrillo-Laguna J, Belmar-Pérez J, Muciño-Díaz M, Sierra-Rodríguez P. 2013. Time series of juvenile and adult green abalone (*Haliotis fulgens*) in Bahía Tortugas, Mexico: its potential application as a forecast of future stock abundance. *J Shellfish Res*. 32(1):217–221. <https://doi.org/10.2983/035.032.0128>
- Guzmán-del Prío SA, del Monte-Luna P. 2017. Abalone reef productivity and the problem of scale in the management of the Mexican abalone fishery. *Ocean and Coastal Management*. 144:1–6. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2017.04.005>
- ## AGRADECIMIENTOS
- Este artículo fue preparado con fondos provistos por la Secretaría de Educación Pública (México, UABC-PTC-669), la Universidad Autónoma de Baja California (240-21a. CONV INT) y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (México, #CVU: 860611). Agradecemos a la cooperativa pesquera “Ensenada”, a la asociación civil “Comunidad y Biodiversidad” (COBI) y al grupo “Monitoreo y Conservación de Especies” su arduo trabajo para desarrollar el sistema de maricultura y alimentar a los abalones, y a Mex-Cal (www.mex-cal.org) su tiempo y esfuerzo con la retroalimentación y en el campo. Agradecemos a COBI-UC Davis Fase II-01112018-28022020. También agradecemos a Sarah J Teck y a 2 revisores anónimos por sus útiles sugerencias para mejorar el presente manuscrito y a Lucía M Rodríguez por su ayuda con la traducción del mismo.
-
- Hernández-Carmona G, García O, Robledo D, Foster M. 2000. Restoration techniques for *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyceae) populations at the southern limit of their distribution in México. *Botánica Marina*. 43(3):274–284. <https://doi.org/10.1515/bot.2000.029>
- Hernández-Carmona G, Robledo D, Serviere-Zaragoza E. 2001. Effect of nutrient availability on *Macrocystis pyrifera* recruitment and survival near its southern limit off Baja California. *Botánica Marina*. 44(3):221–229. <https://doi.org/10.1515/BOT.2001.029>
- Hopkins KD. 1992. Reporting fish growth: a review of the basics. *J World Aquacult Soc*. 23(3):173–179.
- Karpov KA, Haaker PL, Taniguchi IK, Rogers-Bennett L. 2000. Serial depletion and the collapse of the California abalone (*Haliotis* spp.) fishery. *Can Spec Publ Fishe Aquat Sci*. 11–24.
- Ladah LB, Zertuche-González JA, Hernández-Carmona G. 1999. Giant kelp (*Macrocystis pyrifera*, Phaeophyceae) recruitment near its southern limit in Baja California after mass disappearance during ENSO 1997-1998. *J Phycol*. 35(6):1106–1112. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.1999.3561106.x>
- Lafferty KD, Kuris AM. 1993. Mass mortality of abalone *Haliotis cracherodii* on the California Channel Islands: tests of epidemiological hypotheses. *Mar Ecol Prog Ser*. 96(3):239–248. <https://doi.org/10.3354/meps096239>
- Landa-Cansigno C, Hernández-Carmona G, Arvizu-Higuera DL, Muñoz-Ochoa M, Hernández-Guerrero CJ. 2017. Bimonthly variation in the chemical composition and biological activity of the brown seaweed *Eisenia arborea* (Laminariales: Ochrophyta) from Bahía Magdalena, Baja California Sur, Mexico. *J App Phycol*. 29(5):2605–2615. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1195-2>
- Langsrud Ø. 2003. ANOVA for unbalanced data: use Type II instead of Type III sums of squares. *Statistics and Computing*. 13:163–167.
- Lee SG. 2019. Marine stock enhancement, restocking, and sea ranching in Korea. In: Kideghesho J, Rija A (eds.), *Wildlife Management - Failures, Successes and Prospects*: IntechOpen. p. 125–139. <https://doi.org/10.5772/intechopen.78373>

- Leighton DL. 1966. Studies of food preferences in algivorous invertebrates of southern California kelp beds. *Pac Sci.* 20(1):104–113.
- Leighton DL. 1974. The influence of temperature on larval and juvenile growth in three species of southern California abalones. *Fish Bull.* 72(4):1137–1145.
- Lonhart SI, Jeppesen R, Beas-Luna R, Crooks JA, Lorda J. 2019. Shifts in the distribution and abundance of coastal marine species along the eastern Pacific Ocean during marine heatwaves from 2013 to 2018. *Mar Biodivers Rec.* 12(1):13. <https://doi.org/10.1186/s41200-019-0171-8>
- Medina-Romo Z, Re AD, Díaz F, Mena A. 2010. Physiological responses of pink abalone *Haliotis corrugata* (Gray, 1828) exposed to different combinations of temperature and salinity. *Aquac Res.* 41(7):953–960. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02377.x>
- Micheli F, Saenz-Arroyo A, Greenley A, Vazquez L, Espinoza-Montes JA, Rossetto M, de Leo GA. 2012. Evidence that marine reserves enhance resilience to climatic impacts. *PLoS ONE.* 7(7): e40832. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040832>
- Morales-Bojórquez E, Muciño-Díaz MO, Vélez-Barajas JA. 2008. Analysis of the decline of the abalone fishery (*Haliotis fulgens* and *H. corrugata*) along the Westcentral coast of the Baja California Peninsula, Mexico. *J Shellfish Res.* 27(4):865–870. [https://doi.org/10.2983/0730-8000\(2008\)27\[865:aotdot\]2.0.co;2](https://doi.org/10.2983/0730-8000(2008)27[865:aotdot]2.0.co;2)
- Morash AJ, 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. <https://doi.org/10.1111/raq.12097>
- Nelson MM, Leighton DL, Phleger CF, Nichols PD. 2002. Comparison of growth and lipid composition in the green abalone, *Haliotis fulgens*, provided specific macroalgal diets. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology.* 131(4):695–712. [https://doi.org/10.1016/s1096-4959\(02\)00042-8](https://doi.org/10.1016/s1096-4959(02)00042-8)
- Oliver ECJ, Donat MG, Burrows MT, Moore PJ, Smale DA, Alexander LV, Benthuisen JA, Feng M, Gupta AS, Hobday AJ, et al. 2018. Longer and more frequent marine heatwaves over the past century. *Nat Commun.* 9:1324. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03732-9>
- Roberson LM, Coyer JA. 2004. Variation in blade morphology of the kelp *Eisenia arborea*: incipient speciation due to local water motion? *Mar Ecol Prog Ser.* 282:115–128. <https://doi.org/10.3354/meps282115>
- Rogers-Bennett L, Catton CA. 2019. Marine heat wave and multiple stressors tip bull kelp forest to sea urchin barrens. *Sci Rep.* 9(1):15050. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51114-y>
- Rogers-Bennett L, Dondanville RF, Moore JD, Vilchis LI. 2010. Response of red abalone reproduction to warm water, starvation, and disease stressors: implications of ocean warming. *J Shellfish Res.* 29(3):599–611. <https://doi.org/10.2983/035.029.0308>
- Searcy-Bernal R, Ramade-Villanueva MR, Altamira B. 2010. Current status of abalone fisheries and culture in Mexico. *J Shellfish Res.* 29(3):573–576. <https://doi.org/10.2983/035.029.0304>
- Searcy-Bernal R, Salas-Garza AE. 1990. Investigaciones sobre el cultivo de Abulón en la Universidad Autónoma de Baja California, México. *Serie Científica. UABC.* 44–50.
- Steinarsson A, Imslund AK. 2003. Size dependent variation in optimum growth temperature of red abalone (*Haliotis rufescens*). *Aquaculture.* 224(1–4):353–362. [https://doi.org/10.1016/s0044-8486\(03\)00241-2](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(03)00241-2)
- Stuart MD, Brown MT. 1994. Growth and diet of cultivated black-footed abalone, *Haliotis iris* (Martyn). *Aquaculture.* 127(4):329–337. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90235-6](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90235-6)
- Trevelyan GA, Mendoza JL, Buckley B. 1998. Increasing the yield of red abalone with the alga, *Microcladia coulteri*. *J Shellfish Res.* 17:631–633.
- [UN-DESA] United Nations-Department of Economics and Social Affairs. 2018. The Sustainable Development Goals Report 2018. New York: UN.
- Uki N, Sugiura M, Watanabe T. 1986. Dietary value of seaweeds occurring on the Pacific coast of Tohoku for growth of the abalone *Haliotis discus hannai*. *Bull Jpn Soc Sci Fish.* 52:257–266. <https://doi.org/10.2331/suisan.52.257>
- Viera MP, Viçose GC, Fernández-Palacios H, Izquierdo M. 2014. Grow-out culture of abalone *Haliotis tuberculata* coccinea Reeve, fed land-based IMTA produced macroalgae, in a combined fish/abalone offshore mariculture system: effect of stocking density. *Aquacult Res.* 47(1):71–81. <https://doi.org/10.1111/are.12467>
- Zertuche-González JA, Sánchez-Barredo M, Guzmán-Calderón JM, Altamirano-Gómez Z. 2014. *Eisenia arborea* J.E. Areschoug as abalone diet on an IMTA farm in Baja California, México. *J Appl Phycol.* 26(2):957–960. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0138-9>

Received February 2020,
accepted November 2020.

Fish assemblages at mesophotic depths in the Pacific: A comparison between continental and oceanic islands of Mexico

Ensamblajes de peces en la zona mesofótica del Pacífico: Una comparación entre islas continentales y oceánicas de México

Manuel F Velasco-Lozano¹, Georgina Ramírez-Ortiz^{2*}, Héctor Reyes-Bonilla¹, Jordan A Hollarsmith^{3*}

¹ Departamento Académico de Ciencias Marinas y Costeras, Universidad Autónoma de Baja California Sur, Carretera al Sur, km 5.5, CP 23080, La Paz, Baja California Sur, Mexico.

² Programa de Ecología Pesquera, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, Av. Instituto Politécnico Nacional 195, CP 23096, La Paz, Baja California Sur, Mexico.

³ Department of Biological Sciences, Simon Fraser University, 8888 University Drive, Burnaby, British Columbia, V5A 1S6, Canada.

* Corresponding authors. E-mail: GRO, gramirez@pg.cibnor.mx; JAH, jordan_ann_hollarsmith@sfu.ca

ABSTRACT. Mesophotic ecosystems are found at depths of the ocean defined by the amount of incident light (1%–10% of light found at the surface). These ecosystems remain unexplored in many regions, including the Pacific region along the coast of Mexico, given the difficulty of accessing them using traditional methods, such as scuba. Using a remotely operated vehicle, we characterized fish assemblages across rock and sand habitat at mesophotic depths around continental islands in the Gulf of California and oceanic islands in the Revillagigedo Archipelago in Mexico. We conducted 78 video-transect surveys and identified observed fish to the lowest taxonomic level possible. Using species' presence per video-transect, we calculated traditional diversity indices (species richness, taxonomic distinctness, and trophic level) and functional indices (number of functional entities, functional richness, and functional volume) for each island group and habitat type. The model results indicated that habitat type was the most important factor for predicting mesophotic fish diversity. The functional indices showed higher values for the rocky reefs of oceanic islands than for the sandy habitats, driven primarily by the presence of elasmobranchs and commercially important transpacific species. While the values of taxonomic distinctness and functional diversity could indicate that the mesophotic reefs in the oceanic island group are more ecologically intact than those around the continental islands, it will require more exploration to determine if this condition persists over time and if these ecosystems could serve as refuges for commercial fish species against the increasing number of disturbances impacting shallow reefs.

Key words: remotely operated vehicles, species richness, functional volume, trophic level, biogeographic provinces.

RESUMEN. Los ecosistemas mesofóticos se encuentran en una capa del océano definida por la cantidad de luz incidente (1%–10% con respecto a la superficie). Estos ecosistemas permanecen inexplorados en algunas regiones, como el Pacífico a lo largo de la costa mexicana, debido al difícil acceso mediante métodos tradicionales como el buceo autónomo. Se utilizó un vehículo operado remotamente para caracterizar los ensamblajes de peces de arrecifes rocosos y zonas arenosas en profundidades mesofóticas alrededor de islas continentales del golfo de California e islas oceánicas del archipiélago de Revillagigedo (México). Se realizaron 78 video-transectos y se identificaron los peces observados al mínimo taxón posible. Con base en la presencia de especies por video-transecto, se calcularon índices de diversidad tradicionales (riqueza de especies, diferenciación taxonómica y nivel trófico) e índices funcionales (número de entidades funcionales, riqueza funcional y volumen funcional) para cada conjunto insular y tipo de hábitat. Los modelos aplicados señalaron que el tipo de hábitat es el factor con mayor efecto en la diversidad de peces mesofóticos. Los índices funcionales presentaron mayores valores para los arrecifes rocosos de islas oceánicas que para los hábitats arenosos, lo que se asocia con la presencia de elasmobranchios y especies transpacificas de importancia comercial. Aunque los valores de diferenciación taxonómica y diversidad funcional podrían indicar que los arrecifes mesofóticos del conjunto oceánico se encuentran en mejor estado de conservación que los del conjunto continental, se requiere mayor exploración para determinar si esta condición perdura en el tiempo y si estos ecosistemas pueden ser un refugio para especies comerciales ante el creciente impacto de disturbios en arrecifes someros.

Palabras clave: vehículos operados remotamente, riqueza de especies, volumen funcional, nivel trófico, provincias biogeográficas.

INTRODUCTION

Marine biodiversity is threatened by numerous human impacts, such as overfishing, which often results in the removal or drastic decline of high-trophic-level organisms (Pauly and Palomares 2005); activities accelerating climate

INTRODUCCIÓN

La biodiversidad marina se encuentra amenazada por numerosos impactos humanos, como la sobrepesca, la cual a menudo resulta en la remoción o la drástica disminución de organismos de alto nivel trófico (Pauly y Palomares

change, which can impact species' ranges and result in local extinctions due to unfavorable conditions; and other forms of pollution and resource extraction that can modify entire communities (Sydeman et al. 2015). Both biodiversity and its threats are not equitably distributed, as some regions have high species richness, unique evolutionary lineages, and a wide variety of covered ecological niches (Costello et al. 2017). Likewise, many areas are subject to greater anthropogenic pressure due to their proximity to highly populated areas, such as islands near the coast (hereafter referred to as continental islands), which are more accessible than remote oceanic islands (Halpern et al. 2019).

Shallow reefs (<30 m) around islands have been extensively studied (Glynn et al. 2017), while ecosystems at greater depths have received little attention. In particular, the mesophotic zone, which is the layer of the ocean that is between 30 and 150 m deep in tropical and subtropical waters (Kahng et al. 2019), constitutes one of the least explored zones due to the historically high cost and expertise required to operate tools that can access those depths (Turner et al. 2017). However, although the amount of incident light in this area is low (1%–10% with respect to the surface) and this limits primary production (Kahng et al. 2019), it is hypothesized that mesophotic reefs could host high biodiversity due to more stable conditions associated with reduced impact of natural (storm damage) and anthropogenic (habitat fragmentation, pollution, overfishing) threats (Loya et al. 2016).

Despite the hypothetical and demonstrated diversity of mesophotic reefs around the world, habitats below 30 m depth remain severely under-documented in Mexican Pacific waters (Turner et al. 2017). Additionally, the continental islands of this region have been the subject of a greater number of studies compared to the oceanic islands, given the isolation and difficulty in accessing these sites (Quimbayo et al. 2016, Fourrière et al. 2019). For this reason, the present study aimed to characterize the fish assemblages of 2 island groups: continental islands in La Paz Bay, near a large urban center (>300,000 inhabitants), and oceanic islands of the Revillagigedo Archipelago, inhabited only by the population of small naval bases. Using multiple diversity indices, we compared the fish assemblages between different types of habitats in both regions to try to determine whether biogeography, oceanography, and differential exposure to anthropogenic disturbances affects the diversity of ichthyofauna in the mesophotic zone.

Considering the shallow-reef literature for both regions, we developed 5 hypotheses. (1) Species richness would be higher in waters near the islands of La Paz Bay, since it is recognized as a biodiversity hotspot (Olivier et al. 2018). (2) Taxonomic distinctness, which indicates the presence of unique evolutionary lineages, would be greater in continental islands, since older and less isolated island territories are more likely to experience colonization events (Pinheiro et al. 2017). (3) The average trophic level of the oceanic island fish assemblages would be higher due to a lower fishing

2005); actividades que aceleran el cambio climático, que pueden tener efecto en el intervalo de distribución de las especies y dar como resultado extinciones locales por condiciones desfavorables; y otras formas de contaminación y extracción de recursos que pueden modificar comunidades completas (Sydeman et al. 2015). Tanto la biodiversidad como sus amenazas no están distribuidas equitativamente, ya que algunas regiones presentan gran riqueza de especies, linajes evolutivos únicos y amplia variedad de nichos ecológicos cubiertos (Costello et al. 2017). Así mismo, muchas zonas están sometidas a mayor presión antropogénica por su cercanía a zonas altamente pobladas, como las islas cercanas a la costa (continentales), las cuales son más accesibles que las islas remotas (oceánicas) (Halpern et al. 2019).

En territorios insulares, los arrecifes someros (<30 m) han sido ampliamente estudiados (Glynn et al. 2017), mientras que los ecosistemas arrecifales a mayores profundidades han recibido poca atención. En particular la zona mesofótica, que es la capa del océano que se encuentra entre 30 y 150 m de profundidad en aguas tropicales y subtropicales (Kahng et al. 2019), constituye uno de los estratos menos explorados del océano debido al costo elevado de operación de las herramientas que permiten su estudio (Turner et al. 2017). Sin embargo, aunque la cantidad de luz incidente en esta zona es reducida (1%–10% con respecto a la superficie) y esto limita la producción primaria (Kahng et al. 2019), se considera que los arrecifes mesofóticos podrían albergar gran biodiversidad debido a condiciones más estables asociadas a un menor impacto de disturbios naturales (daño por tormentas) y antropogénicos (fragmentación de hábitat, contaminación y sobrepesca) (Loya et al. 2016).

A pesar de la importancia hipotética y demostrada de los arrecifes mesofóticos alrededor del mundo, en aguas mexicanas del Pacífico los hábitats a profundidades mayores que 30 m aún carecen de descripción alguna (Turner et al. 2017). Adicionalmente, las islas continentales de esta región han sido objeto de un mayor número de estudios en comparación con las islas oceánicas debido a su aislamiento y difícil acceso (Quimbayo et al. 2016, Fourrière et al. 2019). Por ello, el presente estudio tuvo como objetivo caracterizar los ensamblajes de peces de 2 conjuntos insulares: islas continentales en la bahía de La Paz, cercanas a un gran centro urbano (>300,000 habitantes), así como islas oceánicas del archipiélago de Revillagigedo, habitadas únicamente por la población de pequeñas bases navales. Por medio de índices de diversidad, comparamos los ensamblajes de peces entre diferentes tipos de hábitats de ambas regiones para tratar de determinar si la biogeografía, la oceanografía y la exposición diferencial a disturbios antropogénicos tienen un efecto en la diversidad de la ictiofauna mesofótica.

Con base en la literatura de arrecifes someros de ambas regiones, planteamos 5 hipótesis. (1) La riqueza de especies será mayor en aguas cerca de las islas de la bahía de La Paz, ya que es reconocida como una zona de alta biodiversidad (Olivier et al. 2018). (2) La diferenciación taxonómica

pressure, since fisheries tend to concentrate on species at higher trophic levels (Pauly and Palomares 2005, Fourrière et al. 2019). (4) The functional diversity observed in oceanic islands would be greater due to the higher occurrence of pelagic species, which present more diverse functions and encompass a greater variety of ecological niches (Robertson and Cramer 2009). (5) All the indices will present higher values in rocky reefs compared to sand habitats, since greater structural complexity can host more diverse fish assemblages (Aburto-Oropeza and Balart 2001).

MATERIALS AND METHODS

Study area

The study area included 2 island groups (Fig. 1): the continental islands of Espíritu Santo and Cerralvo, located <70 km from the city of La Paz (>300,000 inhabitants) in the southern portion of the Gulf of California (CONANP 2015, León-de la Luz and Rebman 2002); and the oceanic islands of San Benedicto, Socorro, and Clarión, located in the Revillagigedo Archipelago (>700 km of the Mexican continental shelf).

The southern Gulf of California, where Espíritu Santo and Cerralvo are located, is a mixing zone of 2 major bodies of surface water (Tropical Surface Water and Gulf of California Water) and the Subtropical Subsurface Water located between 150 and 500 m deep (Castro et al. 2006). The Revillagigedo Archipelago is influenced by 2 major bodies of water that vary seasonally: in summer there is greater influence of Tropical Surface Water and in winter, the California Current dominates (Portela et al. 2016). Both regions are considered oceanographic transition zones because of the confluences of different water masses (Portela et al. 2016). In addition to the differences in oceanographic conditions between both groups of islands, the classification by Robertson and Cramer (2009) indicates that, considering the resident fish fauna, the continental islands (Espíritu Santo and Cerralvo) belong to the biogeographic province of Cortés, while the Revillagigedo Archipelago is part of the Oceanic Islands province.

The waters surrounding all islands studied are under federal protection in Mexico, with the exception of Cerralvo, where only the land has been federally protected since 1978 (CONANP 2015). The Espíritu Santo marine zone was declared as National Park in 2007 and encompasses a 48,654.83-ha polygon, within which there are 3 no-fishing zones corresponding to 1.4% of the protected area (CONANP 2015). San Benedicto, Socorro, and Clarión islands are part of the Revillagigedo Archipelago Biosphere Reserve since 1994, which changed to the category of National Park in 2017, covers a polygon of 14,808,780.12 ha with absolute restriction on fishing activities, and is considered one of the largest protected areas in North America (CONANP 2018).

(indicador de presencia de linajes evolutivos únicos) será mayor en islas continentales, ya que territorios insulares más antiguos y menos aislados son más propensos a eventos de colonización (Pinheiro et al. 2017). (3) El nivel trófico promedio de los ensamblajes de peces de las islas oceánicas será mayor por efecto de una menor presión pesquera, la cual generalmente va dirigida a especies de alto nivel trófico (Pauly y Palomares 2005, Fourrière et al. 2019). (4) La diversidad funcional en islas oceánicas será mayor debido a la alta ocurrencia de especies pelágicas, que presentan funciones más diversas y abarcan una mayor variedad de nichos ecológicos (Robertson y Cramer 2009). (5) Los valores de todos los índices serán más altos en el hábitat coralino rocoso en comparación con el arenoso, debido a que una mayor complejidad estructural permite albergar ensamblajes de peces más diversos (Aburto-Oropeza y Balart 2001).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El área de estudio incluyó 2 conjuntos insulares de acuerdo a su localización (Fig. 1): las islas continentales Espíritu Santo y Cerralvo, ubicadas en la porción sur del golfo de California, a una distancia de <70 km de la ciudad de La Paz (>300,000 habitantes) (CONANP 2015, León-de la Luz y Rebman 2002); y las islas oceánicas San Benedicto, Socorro y Clarión, ubicadas en el archipiélago de Revillagigedo, a una distancia de >700 km del macizo continental mexicano.

El sur del golfo de California, en donde se ubican Espíritu Santo y Cerralvo, está sometido a 2 masas de agua superficiales (Agua Tropical Superficial y Agua del Golfo de California) y otra ubicada entre 150 y 500 m de profundidad (Agua Subtropical Subsuperficial) (Castro et al. 2006). Por su parte, el archipiélago de Revillagigedo está influenciado por 2 masas de agua con variaciones estacionales: en verano hay mayor influencia del Agua Tropical Superficial y en invierno, de la corriente de California (Portela et al. 2016). Ambas regiones se consideran zonas de transición debido a la confluencia de 2 o más masas de agua (Portela et al. 2016). Aunado a las diferencias en condiciones oceanográficas entre ambos conjuntos de islas, la clasificación de Robertson y Cramer (2009) indica que con base en la fauna residente de peces, el conjunto de islas continentales (Espíritu Santo y Cerralvo) pertenece a la provincia biogeográfica de Cortés, mientras que el archipiélago de Revillagigedo es parte de la provincia de Islas Oceánicas.

La porción marina de todas las islas citadas está bajo protección federal en México, excepto Cerralvo, que sólo presenta protección en su porción terrestre desde 1978 (CONANP 2015). La zona marina de Espíritu Santo fue decretada Parque Nacional en 2007 y abarca un polígono de 48,654.83 ha, dentro del que se encuentran 3 zonas de no pesca correspondientes al 1.4% del área protegida

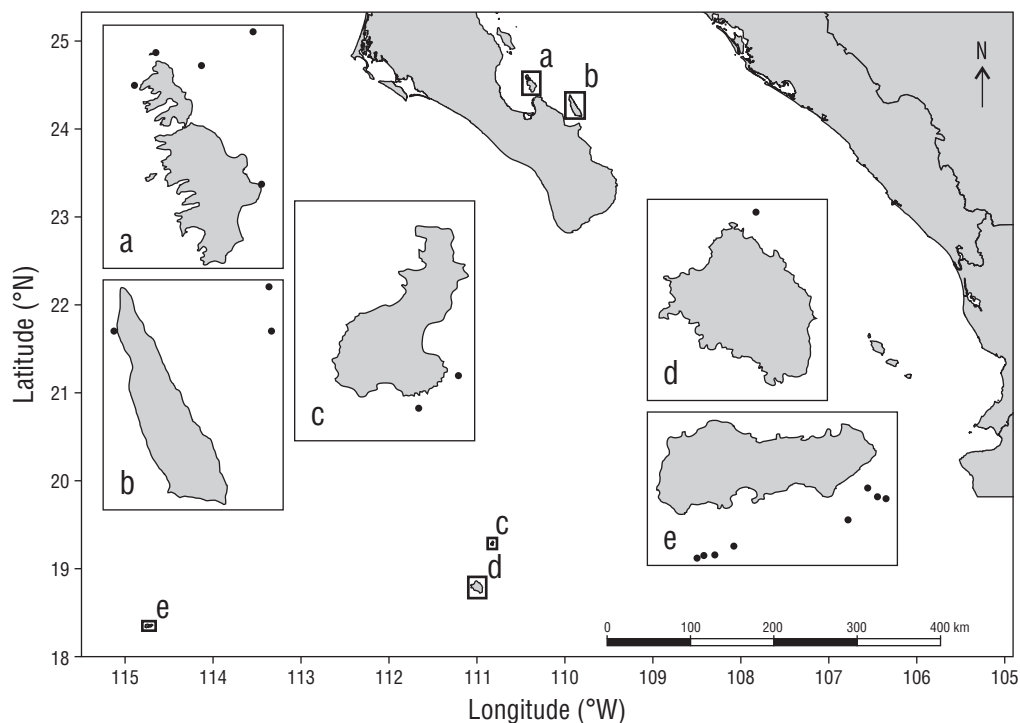


Figure 1. Study area. Continental group: Espíritu Santo (a), Cerralvo (b); oceanic group: San Benedicto (c), Socorro (d), Clarión (e). Black dots indicate survey sites.

Figura 1. Área de estudio. Conjunto continental: Espíritu Santo (a), Cerralvo (b); conjunto oceánico: San Benedicto (c), Socorro (d), Clarión (e). Los marcadores negros indican los sitios de muestreo.

Survey methods

The study was carried out with a remotely operated vehicle (BlueRobotics, BlueRov2) capable of diving to 100 m. The vehicle was equipped with four 1,500-lm LED lights, an integrated forward facing camera (8 MP, Raspberry Pi v2) with an 80° angle of view, an external downward-facing camera (GoPro HERO 3 and HERO 4), and a depth (m) and temperature (°C) sensor (Measurements Specialties MS5837-30BA). Although the average speed was not measured, this vehicle could reach a maximum speed of 1.5 m·s⁻¹. To the best of our abilities, we attempted to hold the vehicle between 1 and 3 m above the ground for the surveys. In total, we surveyed 20 sites (continental group $N = 9$, oceanic group $N = 11$; Fig. 1), one dive per survey. The duration of each dive varied between 7 and 65 min depending on the environmental conditions, with a range between 30 and 90 m depth. The bathymetric range for the mesophotic zone was determined using the literature for subtropical zones (Kahng et al. 2019), because it was not possible to measure the percentage of incident light *in situ*.

The recordings of both cameras in each dive were synchronized and cut into 5-min segments, starting when the vehicle reached the bottom. Each segment was taken as a sampling unit, which gave a total of 78 video-transects for the 5 islands: 41 video-transects in the continental group (Espíritu Santo $N = 31$, Cerralvo $N = 10$) in October 2018;

(CONANP 2015). Por su parte, las islas San Benedicto, Socorro y Clarión forman parte de la Reserva de la Biosfera Archipiélago de Revillagigedo desde 1994, que cambió a la categoría de Parque Nacional en 2017 y abarca un polígono de 14,808,780.12 ha con restricción absoluta de actividades extractivas, por lo que es considerada una de las áreas protegidas más grandes de Norteamérica (CONANP 2018).

Trabajo de campo

El estudio se realizó con un vehículo operado remotamente (BlueRobotics, BlueRov2) capaz de sumergirse hasta 100 m de profundidad. El vehículo estaba equipado con 4 luces LED de 1,500 lm, una cámara integrada en dirección al frente (Raspberry Pi v2 de 8 MP) con un ángulo de visión de 80°, otra cámara instalada en dirección hacia el fondo (GoPro HERO 3 y HERO 4) y un sensor (Measurements Specialties MS5837-30BA) que midió la profundidad (m) y la temperatura (°C). Aunque no se midió la velocidad promedio, este vehículo alcanza una velocidad máxima de 1.5 m·s⁻¹. Dentro de nuestras posibilidades, intentamos mantener al vehículo entre 1 y 3 m sobre el fondo. En total se visitaron 20 sitios (conjunto continental $N = 9$, conjunto oceánico $N = 11$; Fig. 1) y en cada uno se realizó una inmersión. El tiempo de cada inmersión varió entre 7 y 65 min dependiendo de las condiciones ambientales, con un rango entre 30 y 90 m de profundidad. El intervalo batimétrico para la zona mesofótica se

37 video-transects in the oceanic group (Clarión $N = 25$, San Benedicto $N = 9$, Socorro $N = 3$) in December 2018. In each video-transect, all fish within the visual field were identified to the minimum possible taxonomic level using the Robertson and Allen (2015) guide. We estimated the frequency of occurrence of each species (and each class) across each island group, defined as the percentage of video-transects in which each species appeared.

Taxonomic and functional indices

We constructed species accumulation curves using the number of species observed in each video-transect (S ; species richness data) to determine if the sample size per island group was sufficient to adequately characterize the fish assemblage. We also constructed rarefaction curves to compare fish diversity between island groups using species richness and occurrence (Gotelli and Colwell 2001). These curves were made using the *exact* method (also called Mao Tau) and *rarefaction* in the *vegan* package in R (Oksanen et al. 2019, R Core Team 2019).

We calculated the average taxonomic distinctness (Δ^+) per video-transect using the taxonomic level of each species observed. This index assesses the degree of taxonomic relatedness among the species of an assemblage according to the Linnaean classification tree, including 6 hierarchical levels (genus, family, order, subclass, class, and superclass; Clarke and Warwick 1998; Table S1). Based on analysis by Clarke and Warwick (1998), this metric is capable of detecting the effect of anthropogenic disturbances that tend to remove the most taxonomically different species first, due to their low frequency of occurrence. The species that remain tend to be more common and are usually more taxonomically similar, so low values are associated with more homogeneous communities. This index has advantages for ecological studies, such as independence from the sampling effort and not requiring normality in the data (Clarke and Warwick 1998). To complement this analysis, we created a funnel plot based on random simulations of the data to calculate the expected value of Δ^+ and its interval using the number of species observed in each sample. This allowed us to compare observed vs. expected taxonomic distinctness. Calculations were made using the *vegan* package in R (Oksanen et al. 2019).

Average trophic level (NT) per video-transect was calculated using the trophic level value for each observed species, as taken from FishBase (Froese and Pauly 2019), and divided by the number of species per video-transect (Pauly and Palomares 2005; Table S1). Trophic level values refer to the position of species in the food web, including herbivores and detritivores (2.00–2.19), planctivores and secondary consumers (2.20–2.79), benthic carnivores (2.80–3.90), and piscivores or predators (4–5; Pauly and Palomares 2005, Fourrière et al. 2019). NT can illustrate the effect of fisheries on the assemblage, given that catches often target high trophic level species.

determinó con base en literatura de zonas subtropicales (Kahng et al. 2019), debido a que no fue posible medir *in situ* el porcentaje de luz incidente.

Las grabaciones de ambas cámaras en cada inmersión se sincronizaron y se cortaron cada 5 min, a partir de que el vehículo alcanzó el fondo. Cada segmento de 5 min fue tomado como unidad de muestreo, lo que dio un total de 78 video-transectos para las 5 islas: 41 video-transectos para el conjunto continental (Espíritu Santo $N = 31$, Cerralvo $N = 10$) en octubre de 2018; 37 video-transectos para el conjunto oceánico (Clarión $N = 25$, San Benedicto $N = 9$, Socorro $N = 3$) en diciembre de 2018. En cada video-transecto se identificaron los peces dentro del campo visual al mínimo taxón posible usando la guía de Robertson y Allen (2015). Con base en la presencia de las especies, se estimó su frecuencia de ocurrencia en cada conjunto insular, el cual fue definido como el número de video-transectos en el que apareció cada especie (y cada clase) con respecto al total (expresado en porcentaje).

Índices taxonómicos y funcionales

A partir de los datos de riqueza de especies (S ; número de especies observadas en cada video-transecto), se realizaron curvas de acumulación para determinar si el tamaño de muestra por conjunto insular fue significativo para caracterizar adecuadamente el ensamblaje de peces. Además, se realizaron curvas de rarefacción para comparar la diversidad de peces entre conjuntos insulares a partir de la riqueza y ocurrencia de especies (Gotelli y Colwell 2001). Estas curvas se realizaron con el método *exact* (también llamado Mao Tau) y *rarefaction* del paquete *vegan* (Oksanen et al. 2019) en lenguaje de programación R (R Core Team 2019).

Adicionalmente, se calculó la diferenciación taxonómica promedio (Δ^+) por video-transecto utilizando la jerarquía taxonómica de cada especie observada. Este índice evalúa el grado de relación taxonómica entre las especies de un ensamblaje de acuerdo con un árbol de clasificación linneana, para el que se tomaron 6 niveles jerárquicos (género, familia, orden, subclase, clase y superclase; Clarke y Warwick 1998; Tabla S1); este índice es capaz de detectar el efecto de disturbios antropogénicos que tienden a remover primero las especies más diferentes taxonómicamente, debido a que presentan baja frecuencia de ocurrencia. Por su parte, las especies que permanecen presentan alta frecuencia de ocurrencia y suelen ser más similares en términos taxonómicos, por lo que bajos valores se asocian con comunidades más homogéneas. Este índice presenta ventajas para los estudios ecológicos, como la independencia al esfuerzo de muestreo y el no requerir normalidad en los datos (Clarke y Warwick 1998). Para complementar este análisis, se realizó una gráfica de embudo a partir de simulaciones aleatorias de los datos para calcular el valor esperado de Δ^+ y su intervalo con base en el número de especies observadas en cada muestra. Esto permite comparar la diversidad observada con

Functional indices were calculated from 6 traits that reflect key aspects of fish ecology (Olivier et al. 2018): (1) maximum length (ordinal: 0–7, 7–15, 15–30, 30–50, 50–80, >80 cm), (2) mobility (ordinal: highly attached to the site, mobile with a small home range, mobile with a large home range, highly mobile with a very large home range), (3) period of activity (nominal: day, night), (4) gregariousness (ordinal: solitary, in pairs, small and large schools), (5) position in the water column (ordinal: benthic, benthopelagic, pelagic), and (6) diet (nominal: herbivore-detritivore, invertivore of sessile organisms, invertivore of mobile organisms, planktivore, piscivore, omnivore). For the species that were not listed by Olivier et al. (2018), we obtained the functional information from FishBase (Froese and Pauly 2019) and Shorefishes of the Tropical Eastern Pacific (Robertson and Allen 2015) databases. With the functional traits, we generated an alphanumeric code to define the group or functional entity (FE; Table S2) of each species. In addition, with these codes, we calculated the richness of FEs per island group, which corresponds to the number of unique combinations of traits present in a given assemblage (Mouillot et al. 2014).

To calculate the functional volume per island group in each habitat, the matrix of functional traits per species (nominal and ordinal) was transformed into a quantitative similarity matrix using the Gower distance coefficient, which allows to compare different types of variables and give them equal weight (Gower 1971). Subsequently, a principal coordinate analysis (PCoA) was performed to transform these distances into coordinates. The coordinates by species were used to estimate the functional volume according to the model of Cornwell et al. (2006) (*convex hull volume*), in which the outermost vertices (represented by the FEs with more atypical traits) define the convex hull (Villéger et al. 2008). The number of coordinates used to represent the functional space per island group in each habitat (first four) was selected based on the criteria of Maire et al. (2015).

Finally, the values of these 4 coordinates per species in each video-transect were used to calculate the average functional richness (FRic), which corresponds to the amount of functional space that an assemblage encompasses in each video-transect, in proportion to the regional volume (Villéger et al. 2008; Table S1). Low FRic values indicate that there are niches (i.e., resources) in the community that are not occupied or exploited (Mason et al. 2005). This index, as well as the functional volume (i.e., the space covered by the assemblage in each island group) and the number of FEs, was calculated using the packages *FD* (Laliberté et al. 2014), *tripack* (Renka et al. 2020), and *geometry* (Roussel et al. 2019). It is necessary to highlight that functional diversity studies complement analyses that rely on traditional indices, since incorporating information on biological traits makes it possible to identify the role of each species in ecosystem processes (Petchey et al. 2007, Francisco and de la Cueva 2017). Thus, assemblages belonging to disturbed or degraded habitats will present a lower variety of processes (and therefore lower

la esperada. Los cálculos se realizaron con el paquete *vegan* de R (Oksanen et al. 2019)

Se determinó el nivel trófico promedio (NT) utilizando los valores de nivel trófico por especie obtenidos de FishBase (Froese y Pauly 2019) y divididos entre el número de especies por video-transecto (Pauly y Palomares 2005; Tabla S1). Los valores del nivel trófico indican la posición de las especies en la cadena trófica, la cual incluye herbívoros y detritívoros (2.00–2.19), planctívoros y consumidores secundarios (2.20–2.79), carnívoros bentónicos (2.80–3.90) y piscívoros o depredadores (4–5; Pauly y Palomares 2005, Fourrière et al. 2019). El NT puede ilustrar el efecto de las pesquerías en el ensamblaje, ya que las capturas regularmente se dirigen a las especies de alto nivel trófico.

Los índices funcionales se calcularon a partir de 6 atributos que describen papeles clave en la ecología de peces (Olivier et al. 2018): (1) talla máxima (ordinal: 0–7, 7–15, 15–30, 30–50, 50–80, >80 cm), (2) movilidad (ordinal: altamente unida al sitio, móviles con una distribución de hogar pequeña, móviles con una distribución de hogar amplia, altamente móviles con una distribución de hogar muy amplia), (3) periodo de actividad (nominal: diurno, nocturno), (4) grado de agregación (ordinal: solitario, en pares, pequeños y grandes cardúmenes), (5) posición en la columna de agua (ordinal: bentónico, bentopelágico, pelágico) y (6) dieta (nominal: herbívoro-detritívoro, invertívoro de organismos sésiles, invertívoro de organismos móviles, planctívoro, piscívoro, omnívoro). Para las especies que no fueron registradas en el estudio de Olivier et al. (2018), se obtuvo la información funcional de las bases de datos FishBase (Froese y Pauly 2019) y Shorefishes of the Tropical Eastern Pacific (Robertson y Allen 2015). Con los atributos, se generó una clave alfanumérica que define el grupo o entidad funcional (FE; Tabla S2) al que pertenece cada especie, y con ella, se calculó la riqueza de FE por conjunto insular, que corresponde al número de combinaciones únicas de atributos presentes en un ensamblaje dado (Mouillot et al. 2014).

Para el cálculo del volumen funcional por conjunto insular en cada hábitat, se transformó la matriz de atributos funcionales por especie (nominal y ordinal) en una matriz de similitud cuantitativa, por medio del coeficiente de distancia de Gower, el cual permite comparar variables de diferentes tipos y les da igual peso (Gower 1971). Posteriormente, se realizó un análisis de coordenadas principales (PCoA, por sus siglas en inglés) para transformar estas distancias en coordenadas. Las coordenadas por especie se utilizaron para estimar el volumen funcional de acuerdo al modelo de Cornwell et al. (2006) (*convex hull volume*), en el cual los vértices más externos (representados por las FE con atributos más atípicos) definen el perímetro funcional (Villéger et al. 2008). El número de coordenadas utilizadas para representar el espacio funcional por conjunto insular en cada hábitat (primeras cuatro) fue seleccionado con base en los criterios de Maire et al. (2015).

values of functional diversity), compared to pristine habitats (Villéger et al. 2010).

Statistical analysis

Using generalized Bayesian linear mixed models, we evaluated whether the calculated diversity indices (S , Δ^+ , NT, and FRic) varied according to the island group (oceanic or continental) and/or type of habitat (sand or rocky reef). Island group and habitat were modeled as fixed effects and their interaction was also considered. On the other hand, the island ($N = 5$) and site ($N = 20$) variables were included as random effects. All indices were modeled using a Gaussian distribution, with the exception of S , which was modeled using a Poisson distribution. The treatments (island group, habitat, and interaction) were considered different if the 95% credible interval of the posterior distribution did not overlap the value of zero. The models were run using the *brms* package (Bürkner 2018), and they used Monte Carlo-type simulation methods, 4 Markov chains, non-informative priors, and a subsequent analysis period of 4,000 cycles. The convergence of each model was evaluated based on well-mixed sampling chains and $rhat$ values equal to one. Finally, we conducted an *a posteriori* Tukey test to compare the distributions of the fixed effects in a paired way, using the *emmeans* package (Lenth 2019).

RESULTS

In total, we identified 73 species (8 of them only at the genus level), which included 65 bony fish (25 families and 47 genera) and 8 cartilaginous fish species (3 families and 5 genera) in the 13 h of video surveys. The class Actinopterygii had the highest frequency of occurrence for both island groups. Bony fish occurred in >94% of the video-transects in the continental group, and the dominant species were *Holacanthus passer* (>18% of video-transects), *Liopropoma fasciatum* (>12%), and *Paranthias colonus* (>12%). In the oceanic group, Actinopterygii were present in 77% of video-transects over rocky habitat and 86% of video-transects over sandy habitat, with the most frequently observed species being *Paranthias colonus* (>57% of video-transects), *Caranx lugubris* (>53%), and *Seriola rivoliana* (>23%) (Table S2). In general, the class Elasmobranchii was much less common. In the continental group, it was observed in only 4% of video-transects over rocky habitats and 6% over sandy habitats, with the *Urobatis* (4%) and *Urotrygon* (6%) genera as the most frequent. In the oceanic group, this class was observed in 14% of the video-transects conducted over sandy habitat and 23% of the video-transects over rocky habitat. In rocky oceanic habitats, sharks such as *Carcharhinus albimarginatus* (40%) and *Carcharhinus falciformis* (37%) were the most frequently observed (Table S2).

The accumulation curves for both island groups were asymptotic (Fig. 2), meaning that the sample size adequately

Por último, los valores de estas 4 coordenadas por especie en cada video-transecto se utilizaron para calcular la riqueza funcional promedio (FRic), que corresponde a la cantidad de espacio funcional que abarca un ensamblaje (en este caso cada video-transecto) en proporción al volumen total de la región (Villéger et al. 2008; Tabla S1). Bajos valores de FRic indican que en la comunidad hay nichos/recursos disponibles que no son ocupados/aprovechados (Mason et al. 2005). Este índice, al igual que el volumen funcional (i.e., el espacio abarcado por el ensamblaje en cada conjunto insular) y el número de FE, se calculó con los paquetes *FD* (Laliberté et al. 2014), *tripack* (Renka et al. 2020) y *geometry* (Roussel et al. 2019). Es necesario resaltar que los estudios de diversidad funcional complementan los análisis con índices tradicionales, ya que el incorporar información de atributos biológicos permite identificar el papel de las especies en los procesos ecosistémicos (Petchev et al. 2007, Francisco y de la Cueva 2017). Así, ensamblajes pertenecientes a hábitats perturbados o degradados presentarán una menor variedad de procesos (y por lo tanto menores valores de diversidad funcional), en comparación con hábitats prístinos (Villéger et al. 2010).

Análisis estadístico

Mediante modelos lineales generalizados mixtos bayesianos, evaluamos si los índices de diversidad calculados (S , Δ^+ , NT y FRic) variaron según el conjunto insular (oceánico o continental) y/o el tipo de hábitat (arena o arrecife rocoso). Tanto el conjunto insular como el hábitat fueron incorporados como efectos fijos individuales, y también se consideró su interacción. Por otro lado, las variables isla ($N = 5$) y sitio ($N = 20$) se incluyeron como efectos aleatorios. Todos los índices fueron modelados usando una distribución gaussiana, con la excepción de S , que fue modelada usando una distribución de Poisson. Los tratamientos (conjunto insular, hábitat e interacción) fueron considerados diferentes si el intervalo creíble al 95% de la distribución posterior no traspasó el valor de cero. Los modelos se ejecutaron utilizando el paquete *brms* (Bürkner 2018) empleando métodos de simulación de tipo Monte Carlo, 4 cadenas de Markov, antecedentes no informativos y un periodo posterior de análisis de 4,000 ciclos. La convergencia de cada modelo se evaluó con base en cadenas de muestreo bien mezcladas y valores $rhat$ igual a uno. Finalmente, utilizamos la prueba *a posteriori* de Tukey para comparar las distribuciones de los efectos fijos de manera pareada, con el paquete *emmeans* (Lenth 2019).

RESULTADOS

En total se identificaron 73 especies (8 de ellas solo a nivel de género): 65 peces óseos (25 familias y 47 géneros) y 8 cartilaginosos (3 familias y 5 géneros) en las 13 h de muestreo con video. La clase Actinopterygii tuvo la mayor frecuencia de ocurrencia en ambos conjuntos insulares. En

represented the actual fish assemblages. The rarefaction curves indicated less dominance of a few species and therefore more diversity in the oceanic islands, compared to the continental group (Fig. 2). Additionally, the funnel plot of Δ^+ suggested that both island groups had values lower than would be expected given the number of species observed in each video-transect (Fig. S1). This pattern was especially observed in the continental group, which indicates that the fish assemblages in this area are taxonomically less complex than would be expected.

For the S, Δ^+ , and NT indices, we found no differences between the oceanic and continental assemblages and no interaction between island group and habitat (Table S3). However, we did see an effect of habitat, with higher average values for rocky reefs compared to sandy habitats (Table S3). In contrast, for FRic we found an effect of the habitat and the interaction between island group and habitat. The *a posteriori* test showed that, within the oceanic group, video-transects from rocky reefs had higher average FRic values than those in sandy habitats, while there was no difference between habitats in the continental group. No difference was observed between the island groups (Table 1).

Finally, regarding the number FEs and the functional space occupied (Fig. 3), we observed higher values among rocky reefs compared to sandy habitats in both island groups. Among the oceanic group, we observed 40 FEs and 76% of functional space occupied in rocky reefs and 19 FEs and 44% of functional space occupied in sandy habitats. Similarly, in the continental group we observed a higher number of FEs (37 FEs) and functional space occupied (66%) in rocky reefs than in sandy habitats (22 FEs and 42% functional space occupied).

DISCUSSION

In this study, we analyzed the fish biodiversity observed at mesophotic depths around island clusters in 2 biogeographic provinces on the Pacific coast of Mexico. Despite the fact that oceanographic conditions, proximity to human populations, and levels of protection against resource extraction were dramatically different between both island groups, we did not find differences in most of the diversity indices tested. This result was the opposite of that reported by Ramírez-Ortiz et al. (2017), where they found significant differences in the richness and functional diversity of shallow fish and invertebrates between both provinces, with higher values in the province of Cortés compared to the Oceanic Islands province. This pattern was associated to the presence of more heterogeneous areas in the Gulf of California (Cortés), in terms of oceanographic conditions and habitat, which offered a greater variety of environments and niche spaces for different species compared with the Oceanic Islands province.

Part of the difference between the study by Ramírez-Ortiz et al. (2017) and ours could be attributed to the fact that our analysis included only conspicuous medium and

el conjunto continental, los peces óseos tuvieron >94% de frecuencia de ocurrencia en ambos hábitats y las especies más destacadas fueron *Holacanthus passer* (>18%), *Liopropoma fasciatum* (>12%) y *Paranthias colonus* (>12%). En el conjunto oceánico, esta clase representó el 77% en el hábitat rocoso y 86% en el arenoso, y destacaron las especies *Paranthias colonus* (>57%), *Caranx lugubris* (>53%) y *Seriola rivoliana* (>23%) (Tabla S2). En general, la clase Elasmobranchii fue menos común. En el conjunto continental presentó el 4% de frecuencia de ocurrencia en hábitats rocosos y 6% en hábitats arenosos, con los géneros *Urobatis* (4%) y *Urotrygon* (6%) como los más frecuentes. En el conjunto oceánico, este taxón presentó el 14% de frecuencia de ocurrencia en zonas arenosas, y 23% en arrecifes rocosos. Cabe destacar que en hábitats rocosos oceánicos, los tiburones como *Carcharhinus albimarginatus* (40%) y *Carcharhinus falciformis* (37%) presentaron alta frecuencia de ocurrencia (Tabla S2).

Las curvas de acumulación de ambos conjuntos insulares presentaron un comportamiento asintótico (Fig. 2), lo que quiere decir que el tamaño de muestra representó adecuadamente los ensamblajes de peces mesofóticos. Por su parte, las curvas de rarefacción mostraron que hubo menor dominancia de pocos individuos y, por tanto, más diversidad en el conjunto oceánico, en comparación con el conjunto continental (Fig. 2). Adicionalmente, la gráfica de embudo de Δ^+ determinó que ambos conjuntos de islas presentaron valores por debajo de lo esperado dado el número de especies observadas en cada video-transecto (Fig. S1). La mayoría de estos censos pertenecieron al conjunto continental, lo que indica que los ensamblajes de peces ahí son taxonómicamente menos complejos de lo esperado.

Para los índices S, Δ^+ y NT, no encontramos diferencias entre el conjunto oceánico y el continental, ni tampoco para la interacción conjunto insular y hábitat (Tabla S3). Sin embargo, se observó un efecto del hábitat, con mayores valores promedio en arrecifes rocosos en comparación con zonas arenosas (Tabla S3). En contraste, para FRic, encontramos un efecto del hábitat y la interacción conjunto insular y hábitat. La prueba *a posteriori* mostró que los arrecifes rocosos del conjunto oceánico presentaron mayores valores promedio de FRic en comparación con los de los hábitats arenosos (Tabla 1), pero no encontramos diferencias con respecto a ambos hábitats del conjunto continental. Cabe mencionar que para este índice, tampoco se encontraron diferencias entre los conjuntos insulares (Tabla 1).

Por último, en cuanto al número de FE y el espacio funcional ocupado (Fig. 3), se observaron mayores valores entre los arrecifes rocosos en comparación con los hábitats arenosos de ambos conjuntos insulares. En el conjunto oceánico, los arrecifes rocosos presentaron 40 FE y 76% de espacio funcional ocupado y los hábitats arenosos presentaron 19 FE y 44% de espacio funcional ocupado. De manera similar el conjunto continental presentó mayores valores de FE (37 FE) y espacio funcional ocupado (66%) en zonas

large ichthyofauna, since these were readily identifiable in the video-transects. In contrast, Ramírez-Ortiz et al. (2017) included invertebrates and some cryptic fish, which may contribute to the richness and functional diversity values reported in both regions in highly meaningful ways. Likewise, their analysis was based on an extensive sampling effort that covered a wider range of environments in the Gulf of California (Los Cabos, Cabo Pulmo, Espíritu Santo, Loreto), whereas our study included only areas in the immediate surroundings of Espíritu Santo and Cerralvo. Considering the high variability we observed between islands and sites, further exploration will be necessary to effectively capture the range of habitats and assemblages at mesophotic depths in both island groups. Although technological advances will increase accessibility to the mesophotic zone to allow for more robust comparisons with shallow reefs, this work is a first step towards that goal.

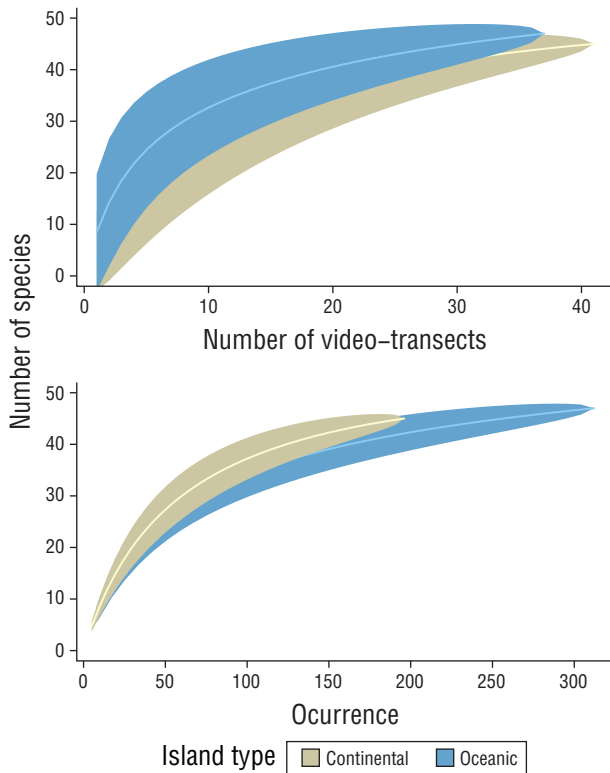


Figure 2. Species accumulation curves and rarefaction curves by island group. For the accumulation curves, the independent variable is the number of video-transects and the dependent variable is the number of accumulated species. For the rarefaction curves, the independent variable is occurrence, and the dependent variable is the number of species.

Figura 2. Curvas de acumulación de especies y curvas de rarefacción por conjunto insular. En las curvas de acumulación, la variable independiente es el número de video-transectos realizados y la variable dependiente es el número de especies acumuladas. En las curvas de rarefacción, la variable independiente es la ocurrencia y la variable dependiente es el número de especies.

rocosas que en zonas arenosas (22 FE y 42% de espacio funcional ocupado).

DISCUSIÓN

En el presente estudio analizamos la biodiversidad de peces en los ecosistemas mesofóticos insulares de 2 provincias biogeográficas de la costa mexicana del Pacífico. A pesar de que las condiciones oceanográficas, la proximidad a las poblaciones humanas y los niveles de protección contra la extracción de recursos fueron dramáticamente diferentes entre ambos conjuntos insulares, no encontramos diferencias en la mayoría de los índices de diversidad. Este resultado fue opuesto a lo reportado por Ramírez-Ortiz et al. (2017), quienes encontraron diferencias significativas en la riqueza y la diversidad funcional de peces e invertebrados someros entre ambas provincias, con mayores valores en la provincia de Cortés en comparación con la provincia de Islas Oceánicas. Este hecho lo atribuyeron a que el golfo de California (Cortés) es una de las zonas más heterogéneas en el área de estudio, en términos de condiciones oceanográficas y hábitat, lo que ofrece gran variedad de ambientes para distintas especies.

La diferencia entre el trabajo de Ramírez-Ortiz et al. (2017) y el de nosotros se debe, en parte, a que nuestro estudio sólo incluyó ictiofauna conspicua de talla mediana/grande, debido a que es fácilmente identificable en los video-transectos. En contraste, Ramírez-Ortiz et al. (2017) reportaron invertebrados y algunos peces crípticos, lo que pudo contribuir de manera importante a los valores de riqueza y diversidad funcional reportados para ambas regiones. Así mismo, su análisis se basó en un amplio esfuerzo de muestreo que abarcó más ambientes en el golfo de California (Los Cabos, Cabo Pulmo, Espíritu Santo y Loreto), mientras que nuestro estudio incluyó sólo zonas circundantes a Espíritu Santo y Cerralvo. Tomando en cuenta la gran variabilidad que observamos entre islas y sitios muestreados, será necesario realizar más exploraciones para capturar de manera efectiva la distribución de hábitats y ensamblajes mesofóticos en ambos conjuntos insulares. Si bien, los avances tecnológicos aumentarán la accesibilidad a profundidades mesofóticas para hacer comparaciones más sólidas con arrecifes someros, el presente trabajo constituye un primer paso hacia ese objetivo.

Los resultados para todos los índices (Tabla S3) coinciden con el efecto del hábitat en la diversidad de peces, lo que confirma nuestra quinta hipótesis de trabajo (mayor diversidad en hábitats rocosos) y complementa el análisis de Hollarsmith et al. (2020). Aunado a ello, otros análisis han destacado que la rugosidad es la característica que tiene mayor efecto en la diversidad de la ictiofauna (Kelley et al. 2006, Dustan et al. 2013); aunque dicha variable no fue directamente cuantificada, era visualmente obvio que las zonas arenosas (homogéneas y con mínimo relieve) eran tridimensionalmente menos complejas que los arrecifes rocosos.

Table 1. Results of Tukey tests for the Bayesian generalized linear mixed models, including the estimated value and the 95% credible interval (CI) by island group (difference between continental and oceanic), habitat (difference between rock and sand), and the interaction between island group and habitat (difference between rock and sand in continental vs. oceanic islands). Factors in bold indicate a significant effect (i.e., CI does not overlap zero).

Tabla 1. Resultados de las pruebas de Tukey de los modelos generalizados mixtos bayesianos que incluyen el valor estimado y el intervalo creíble al 95% (CI) por conjunto insular (diferencia entre continental y oceánico), hábitat (diferencia entre arrecife rocoso y zona arenosa) y la interacción entre conjunto insular y hábitat (diferencia entre arrecife rocoso y zona arenosa en islas continentales vs. oceánicas). Los factores en negritas indican un efecto significativo (i.e., CI no se sobrepone al cero).

	Estimate	95% CI
Species richness		
Island group	-1.53	-3.97 to 1.86
Habitat	3.67	2.45 to 5.47
Island group × habitat	-1.29	-2.77 to 1.79
Average taxonomic distinctness		
Island group	-14.20	-34.20 to 7.33
Habitat	33.60	20.20 to 47.10
Island group × habitat	-5.72	-30.80 to 20.80
Trophic level		
Island group	-0.82	-2.27 to 0.59
Habitat	0.56	-0.03 to 1.14
Island group × habitat	0.91	-0.20 to 2.13
Functional richness		
Island group	0.12	-0.04 to 0.29
Habitat	-0.05	-0.25 to 0.09
Island group × habitat	0.09	0.05 to 0.14

Across all assessed indices (Table S3), we found that habitat influences fish assemblages, which confirmed our fifth working hypothesis (greater diversity in rock habitats) and complemented the analysis of Hollarsmith et al. (2020). In addition to this, other analyses have highlighted that structural complexity (rugosity) is the characteristic that has the greatest effect on the diversity of ichthyofauna (Kelley et al. 2006, Dustan et al. 2013). Although this variable was not directly quantified, it was visually obvious that the sandy areas (homogeneous and with minimal rugosity) were three-dimensionally less complex than the rocky reefs.

In regard to differences in mesophotic fish assemblages between the island groups, and thus differences between the biogeographic provinces, we rejected our working hypotheses 1, 2, and 3. Traditional indices (S, Δ^+ , and NT) did not present significant differences between island groups,

En cuanto a si los ensamblajes de peces en arrecifes mesofóticos presentaron diferencias según el conjunto insular, y por tanto entre provincias biogeográficas, rechazamos nuestras hipótesis de trabajo 1, 2 y 3. Los índices tradicionales (S, Δ^+ y NT) no presentaron diferencias entre conjuntos insulares, lo cual indica que, aunque las especies difieran (Hollarsmith et al. 2020), la diversidad de la ictiofauna mesofótica fue prácticamente homogénea. Esto puede deberse a que el menor impacto de disturbios naturales y antropogénicos con respecto a la profundidad (Loya et al. 2016) podría favorecer condiciones similares en los estratos mesofóticos de ambas provincias biogeográficas y, por tanto, una ictiofauna con diversidad y niveles de conservación semejantes (Clarke y Warwick 1998, Pauly y Palomares 2005).

Se debe tomar en cuenta que los índices tradicionales (S, Δ^+ y NT) no consideran la identidad de las especies (a

indicating that, although the species themselves differed (Hollarsmith et al. 2020), the fish assemblages of the mesophotic zone were homogenous. This may be due to the fact that these depths are impacted by fewer natural and anthropogenic disturbances (Loya et al. 2016), which could mean similar conditions across both biogeographic provinces that could support fish assemblages with similar diversity and conservation status (Clarke and Warwick 1998, Pauly and Palomares 2005).

Given that traditional indices (S , Δ^+ , and NT) do not consider the identity of the species (despite incorporating information on the taxonomic hierarchy and trophic level), a further analysis, such as the calculation of functional richness (which incorporates information on functional traits),

pesar de incorporar información de jerarquía taxonómica y nivel trófico), por lo que fue necesario realizar un análisis de riqueza funcional (que incorpora información de los atributos funcionales) para confirmar si ambos conjuntos insulares en los 2 tipos de hábitat analizados presentaban una diversidad de peces similar (Tabla S4). En este caso, la riqueza funcional mostró un patrón diferente al de los demás índices: los ensamblajes de peces observados en arrecifes rocosos del conjunto oceánico abarcaron un mayor volumen funcional en comparación con hábitats arenosos del mismo conjunto (Fig. 3). Dado que el volumen funcional está definido por los vértices (representados por las FE con más atributos atípicos) más exteriores del ensamblaje, mayores valores de este índice señalan que una distribución más amplia de

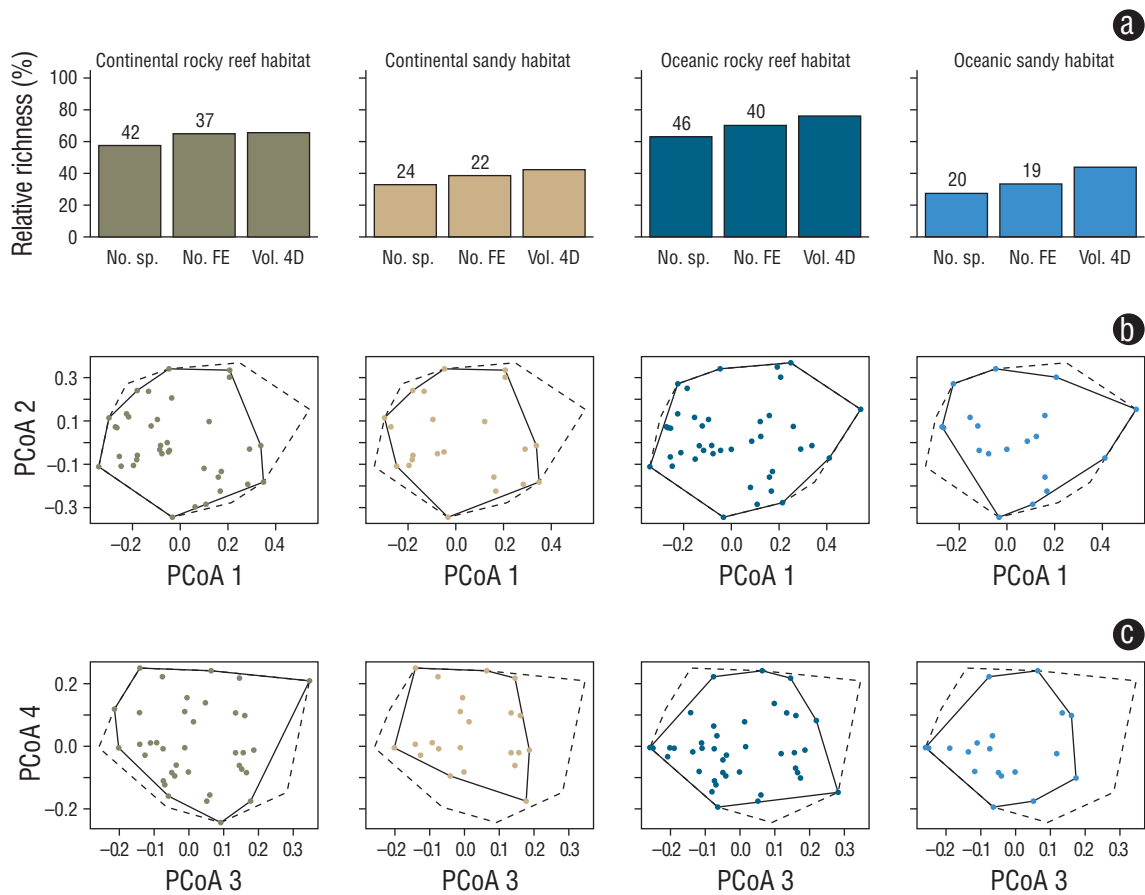


Figure 3. Functional space occupied by the ichthyofauna at mesophotic depths across both island groups (continental and oceanic) for the 2 habitats (rock and sand). In the first row (a), histograms of species richness (No. sp.), number of functional entities (No. FE), and percentage of occupied functional space (Vol. 4D) are presented (absolute value displayed at the top of each bar). The next 2 rows represent the distribution of the species recorded in the functional space, constructed from axes 1 and 2 (b), and axes 3 and 4 (c) of the PCoA. The volume occupied by the functional entities of each island group and habitat is framed in black and the regional space is shown with a black dashed line.

Figura 3. Espacio funcional ocupado por la ictiofauna de arrecifes mesofóticos de ambos conjuntos insulares (continental y oceánico) para los 2 hábitats (arrecife rocoso y zona arenosa). En la primera fila (a) se presentan histogramas de la riqueza de especies (No. sp.), número de entidades funcionales (No. FE) y porcentaje del espacio funcional ocupado (Vol. 4D) (valor absoluto desplegado en la parte superior de cada barra). Las siguientes 2 filas representan la distribución de las especies registradas en el espacio funcional, construido a partir de los ejes 1 y 2 (b), y ejes 3 y 4 (c) del PCoA. El volumen ocupado por las entidades funcionales de cada conjunto insular y hábitat está enmarcado en color negro y el espacio regional se muestra con línea punteada negra.

was necessary to confirm if fish assemblages in the 2 types of habitats in both island groups showed similar fish diversity (Table S4). In this case, functional richness showed a different pattern than the other indices: the fish assemblages observed in rocky reefs around the oceanic group occupied a greater functional volume compared to sandy habitats of the same group (Fig. 3). Considering that the functional volume is defined by the outermost vertices (represented by the FEs with more atypical traits) of the assemblage, higher values of this index indicate that the rocky reefs supported a wider range of functional niches in the oceanic group (Mouillot et al. 2014). The differences between both habitats were also observed in the total functional volume covered by each assemblage (Fig. 3), where the rocky reef habitat of the oceanic group comprised 76% of the regional volume, compared to 44% occupied by the assemblage found in sandy habitats.

The observed higher functional volume in the rock habitats around the oceanic group was likely driven by the high frequency of occurrence of elasmobranchs and transpacific species in rocky reefs of the Revillagigedo Archipelago (23%; Table S2). The extreme functional characteristics of sharks relative to other ichthyofauna can greatly increase the functional heterogeneity of an assemblage (Clarke and Warwick 1998, Rogers et al. 1999). In addition to elasmobranchs, the resident fauna of these rock habitats on oceanic islands is enriched by a great variety of transpacific species (Robertson and Cramer 2009), which are mostly benthopelagic. These species are often large, highly mobile, and with wide distributions, which would also increase functional heterogeneity, and thus total functional volume and richness, of an assemblage. This pattern has also been observed around other oceanic islands of the Eastern Tropical Pacific (Malpelo; Quimbayo et al. 2016). Importantly, many of these species with extreme traits and high frequency of occurrence (>23%; Table S2), such as *Caranx lugubris* and *Seriola rivoliana*, also make up economically important fisheries in Mexico (DOF 2018).

The preponderance of sharks and commercially important fish species in rocky reef habitats around the oceanic islands could indicate reduced fishing pressure in the region. Fishing exploitation tends to first remove large and high-trophic-level species given their high commercial value (Pauly and Palomares 2005). The remoteness of the Revillagigedo Archipelago (>700 km from the mainland) and its high levels of federal protection (CONANP 2018) could protect these assemblages from overexploitation. This fact is supported by the results of the Δ^+ funnel plot, where the observed values for the oceanic group were close to the expected values, indicating that the fish assemblages in this region have suffered less alterations than those around the continental group (Clarke and Warwick 1998).

This type of study, in which the assemblages of fish in mesophotic depths are described quantitatively and qualitatively, may have relevant implications for management strategies, because some commercially important species could

nichos funcionales está siendo cubierta en arrecifes rocosos del conjunto oceánico (Mouillot et al. 2014). Las diferencias entre ambos hábitats también fueron observadas al graficar el volumen funcional total cubierto por cada ensamblaje (Fig. 3), donde el arrecife rocoso del conjunto oceánico abarcó un 76% del total regional, en comparación con el 44% ocupado por el ensamblaje de zonas arenosas.

El mayor volumen funcional observado en los hábitats rocosos circundando al conjunto oceánico se puede asociar con la alta frecuencia de ocurrencia de elasmobranchios y especies transpacíficas en los arrecifes rocosos del archipiélago de Revillagigedo (23%; Tabla S2). Las características funcionales extremas de los tiburones en relación con las de la demás ictiofauna pueden contribuir a aumentar la heterogeneidad funcional en un ensamblaje (Clarke y Warwick 1998, Rogers et al. 1999). Además de elasmobranchios, la fauna residente de estos arrecifes rocosos en islas oceánicas se ve enriquecida por gran variedad de especies transpacíficas (Robertson y Cramer 2009), que en su mayoría son bentopelágicas. Estas especies frecuentemente presentan grandes tallas, alta movilidad y amplia distribución, lo cual puede incrementar la heterogeneidad funcional, y por ende el volumen funcional y riqueza funcional total, de un ensamblaje. Este patrón ya se ha observado para otras islas oceánicas del Pacífico Tropical Oriental (Malpelo; Quimbayo et al. 2016). Cabe mencionar que algunas de estas especies con atributos extremos que presentaron altas frecuencias de ocurrencia (>23%; Tabla S2), como *Caranx lugubris* y *Seriola rivoliana*, son consideradas especies de importancia comercial en México (DOF 2018).

De acuerdo con Pauly y Palomares (2005), la explotación pesquera tiende a remover primero especies de gran tamaño y alto nivel trófico por su gran valor comercial, por lo que la alta frecuencia de ocurrencia de tiburones y especies comerciales de peces óseos en arrecifes rocosos del conjunto oceánico podría asociarse a una menor presión pesquera derivada de la lejanía del archipiélago de Revillagigedo con respecto al continente (>700 km), así como a la restricción absoluta a actividades extractivas (CONANP 2018). Este hecho se apoya con los resultados de la gráfica de embudo de Δ^+ (Fig. S1), donde el conjunto oceánico mostró valores observados similares a los esperados, lo que indica que los ensamblajes de peces de este conjunto han sufrido menores alteraciones que los del conjunto continental (Clarke y Warwick 1998).

Es importante mencionar que este tipo de estudio, en donde se describe cuantitativa y cualitativamente a los ensamblajes de peces en profundidades mesofóticas, puede tener implicaciones relevantes para las estrategias de manejo, porque algunas especies de importancia comercial podrían encontrar refugio de la explotación pesquera en aguas más profundas. Sin embargo, la idea de que los arrecifes mesofóticos funcionan como refugios de especies comerciales aún no puede ser comprobada para la costa mexicana del Pacífico, debido a la falta de datos de abundancia y tallas de peces, así como de muestreos de estratos someros y

find refuge from fishing in deeper waters. However, the idea that mesophotic reefs function as refuges for commercial species cannot yet be verified for the Pacific coast of Mexico, due to the lack of data on abundance and fish sizes and of samples of shallow and deep strata taken with the same technique (video-transects with a remotely operated vehicle). According to theory, the value of NT should increase with respect to depth, as it is driven by a greater abundance of high trophic level species (commercially important) that seek refuge in these strata (Loya et al. 2016) and by a decrease in herbivores (NT = 2) due to the lack of seaweed coverage (reduced light limits primary production; Asher et al. 2017). This pattern was not observed for the fish assemblages in the mesophotic zone, which presented an average NT (3.81 ± 0.15 ; Table S4) similar to that reported for fish in shallow reefs at Revillagigedo (NT = 3.5) in the study by Fourrière et al. (2019).

Considering that the present work is a pioneer in the analysis of fish diversity in mesophotic reefs of the Pacific coast of Mexico, our results cannot be directly compared with most of the studies carried out in shallow depths (<30 m) of the Gulf of California (Aguilar-Medrano and Calderón-Aguilera 2015, Ramírez-Ortiz et al. 2017, Olivier et al. 2018) and the Revillagigedo Archipelago (Ramírez-Ortiz et al. 2017, Fourrière et al. 2019). However, it is necessary to highlight that, contrary to the homogeneity that we observed in the mesophotic zone, these regional studies have reported significant differences at shallow depths, including greater functional richness in Cortés province compared to the Mexican province (Aguilar-Medrano and Calderón-Aguilera 2015), and the Oceanic Islands province (Ramírez-Ortiz et al. 2017). In addition, these differences were also reported for the continental group, where Espíritu Santo and Cerralvo are even considered a biodiversity “hotspot” based on shallow fish, compared to the north and south of the Gulf of California (Olivier et al. 2018). Considering this, it will be necessary to carry out censuses with the same sampling method simultaneously in shallow and mesophotic reefs to try to determine if the heterogeneity between biogeographic provinces only occurs in the shallow strata.

Despite the fact that this study was based on a lower sampling effort (13 h) than comparable analyses of assemblages in the mesophotic zone of other regions such as the Gulf of Mexico (>20 h; Bryan et al. 2012, Streich et al. 2017), the accumulation curves indicated that the sample size was adequate to represent the fish assemblages of both island groups. In a complementary manner, this analysis and the study of Hollarsmith et al. (2020) constitute a qualitative and quantitative description of the mesophotic zone in Pacific waters off Mexico, an oceanographically complex and ecologically important region.

In conclusion, the diversity of fish in the mesophotic zone in the province of Cortés and the Oceanic Islands province were practically homogeneous, which is contrary to what was reported for shallow reef ichthyofauna. In contrast, habitat

profundos tomados con la misma técnica (video-transectos con el vehículo operado remotamente). De acuerdo con la teoría, el valor de NT aumenta con respecto a la profundidad, lo que se asocia con una mayor abundancia de especies comerciales de altos niveles tróficos que buscan refugio en estos estratos (Loya et al. 2016), así como a la disminución de herbívoros (NT = 2) en la zona mesofótica debido a la falta de alimento vegetal (poca cantidad de luz limita la fotosíntesis; Asher et al. 2017). Este patrón no se observó en los ensamblajes de peces de la zona mesofótica, que presentaron un NT promedio (3.81 ± 0.15 ; Tabla S4) similar al reportado para peces de arrecifes someros de Revillagigedo (NT = 3.5) en el estudio de Fourrière et al. (2019).

Dado que el presente trabajo es pionero en el análisis de diversidad de peces en arrecifes mesofóticos de la costa mexicana del Pacífico, nuestros resultados no pueden compararse de manera directa con la mayoría de los estudios realizados en estratos someros (<30 m) del golfo de California (Aguilar-Medrano y Calderón-Aguilera 2015, Ramírez-Ortiz et al. 2017, Olivier et al. 2018) y el archipiélago de Revillagigedo (Ramírez-Ortiz et al. 2017, Fourrière et al. 2019). Sin embargo, es necesario resaltar que, contrario a la homogeneidad que observamos en la zona mesofótica, estos estudios regionales han reportado diferencias significativas para zonas someras, como una mayor riqueza de grupos funcionales en sitios de la provincia de Cortés en comparación con la provincia Mexicana (Aguilar-Medrano y Calderón-Aguilera 2015), y la provincia de Islas Oceánicas (Ramírez-Ortiz et al. 2017). Además, estas diferencias también fueron reportadas para el conjunto continental, donde Espíritu Santo y Cerralvo incluso son consideradas un punto caliente de biodiversidad (*hotspot*), en comparación con el norte y el sur del golfo de California (Olivier et al. 2018). Con base en ello, es necesario realizar censos con el mismo método de muestreo de manera simultánea en arrecifes someros y mesofóticos para tratar de determinar si la homogeneidad entre provincias biogeográficas solo se presenta en estratos profundos.

A pesar de que en nuestro trabajo se llevó a cabo un menor esfuerzo de muestreo (13 h) en comparación con análisis de arrecifes mesofóticos de regiones como el golfo de México (>20 h; Bryan et al. 2012, Streich et al. 2017), las curvas de acumulación indicaron que el tamaño de muestra fue adecuado para representar los ensamblajes de peces de ambos conjuntos insulares (Fig. 2). De manera complementaria, este análisis y el de Hollarsmith et al. (2020) constituyen una primera aproximación a la descripción cualitativa y cuantitativa de una región oceanográficamente compleja y ecológicamente importante, como lo es la zona mesofótica a lo largo de la costa mexicana del Pacífico.

En conclusión, la diversidad de peces de la zona mesofótica en la provincia de Cortés y la provincia de Islas Oceánicas fue prácticamente homogénea, lo que resulta contrario a lo reportado para la ictiofauna de arrecifes someros. En contraste, el factor hábitat presentó un efecto en los índices tradicionales (S, Δ^+ y NT), con valores más altos para los

type influenced the traditional indices (S, Δ^+ , and NT), with higher values found for fish assemblages in rocky reef habitats (more complex) compared to sandy habitats, while the functional indices only differed among rock and sand habitats in the oceanic group. This was driven by numerous observations of sharks and transpacific fish in Revillagigedo, which resulted in greater functional heterogeneity among these assemblages. Altogether, high values of functional diversity and taxonomic distinctness observed in the oceanic group could indicate that the mesophotic fish assemblages of the oceanic region are in a better conservation status than those closer to the continent, but further exploration is required to observe if this pattern holds through time and to determine if these ecosystems serve as a refuge for commercial species in the face of the increasing anthropogenic threats to shallow reefs.

ACKNOWLEDGMENTS

Funds for the study were provided by the National Geographic Society (USA, Research and Exploration Grant CP-095ER-17), University of California Institute for Mexico and the United States (UC-MEXUS) Small Grant Program, The Explorer's Club Exploration Fund, American Philosophical Society Lewis and Clark Fund for Exploration and Field Research, NSF Graduate Research Fellowship Program (#1650042 to JAH), and the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Mexico) doctoral scholarship (#266599 to GRO). We thank the Universidad Autónoma de Baja California Sur, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (Eduardo Balart), Proazul Terrestre, Cortez Expeditions, and Sea Shepherd Conservation Society for the support with field trips that made this study possible. Thanks to the team that collaborated in technical support, field work, and fish identification: Blue Robotics, Kyle Neumann, Tallulah Winqvist, Katie Dubois, Arturo Ayala-Bocos, Jeb Rabadan, Paul Preciado-González, Deneb Saldierna-Calapiz, Lazuli Piceno, Alexia Uribe, Jenny Rodríguez, and the crew of the M/V Sharpie. Finally, we thank Gabriel Ng and Helen Yan for their advice on the statistical analysis, Christian Cortés, and the 2 reviewers who helped improve this manuscript. The authors declare that they do not have conflicts of interest in relation to this article.

REFERENCES

- Aburto-Oropeza O, Balart EF. 2001. Community structure of reef fish in several habitats of a rocky reef in the Gulf of California. *Mar Ecol.* 22(4):283–305. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0485.2001.01747.x>
- Aguilar-Medrano R, Calderon-Aguilera LE. 2015. Redundancy and diversity of functional reef fish groups of the Mexican Eastern Pacific. *Mar Ecol.* 37(1):119–133. <https://doi.org/10.1111/maec.12253>
- Asher J, Williams ID, Harvey ES. 2017. Mesophotic depth gradients impact reef fish assemblage composition and functional group partitioning in the main Hawaiian islands. *Front Mar Sci.* 4:1–8. <https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00098>
- Bryan DR, Kilfoyle K, Gilmore RG Jr, Spieler RE. 2012. Characterization of the mesophotic reef fish community in south Florida, USA. *J Appl Ichthyol.* 29(1):108–117. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2012.02055.x>
- Bürkner PC. 2018. Advanced Bayesian multilevel modeling with the R package brms. *The R Journal.* 10(1):395–411. <https://doi.org/10.32614/RJ-2018-017>
- Castro R, Durazo R, Mascarenhas A, Collins CA, Trasviña A. 2006. Thermohaline variability and geostrophic circulation in the southern portion of the Gulf of California. *Deep-Sea Res PT I.* 53(1):188–200. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2005.09.010>
- ensamblajes de peces en arrecifes rocosos (más complejos) en comparación con zonas arenosas. Sin embargo, los índices funcionales solo difirieron entre arrecifes rocosos y zonas arenosas en las islas oceánicas. Esto se asocia con la mayor frecuencia de ocurrencia de elasmobranquios e ictiofauna transpacífica en Revillagigedo, lo que resultó en una mayor heterogeneidad funcional entre estos ensamblajes. En conjunto, los altos valores de diversidad funcional y diferenciación taxonómica podrían indicar que los ensamblajes de peces mesofóticos del conjunto oceánico se encuentran en un mejor estado de conservación que los del conjunto continental, pero se requiere mayor exploración para observar si esta característica perdura a través del tiempo, así como para determinar si estos ecosistemas representan un refugio para especies comerciales ante el creciente impacto de amenazas en arrecifes someros.

AGRADECIMIENTOS

Los fondos para la realización del estudio fueron proporcionados por National Geographic Society (EUA, Research and Exploration Grant CP-095ER-17), University of California Institute for Mexico and the United States (UC-MEXUS) Small Grant Program, The Explorer's Club Exploration Fund, American Philosophical Society Lewis and Clark Fund for Exploration and Field Research, NSF Graduate Research Fellowship Program (clave #1650042 a JAH), así como la beca del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (México) de doctorado (clave #266599 a GRO). Agradecemos a la Universidad Autónoma de Baja California Sur, el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (Eduardo Balart), Proazul Terrestre, Cortez Expeditions y Sea Shepherd Conservation Society su apoyo con las salidas de campo que hicieron posible este estudio. Gracias al equipo que colaboró con apoyo técnico, trabajo de campo e identificación de peces: Blue Robotics, Kyle Neumann, Tallulah Winqvist, Katie Dubois, Arturo Ayala-Bocos, Jeb Rabadan, Paul Preciado-González, Deneb Saldierna-Calapiz, Lazuli Piceno, Alexia Uribe, Jenny Rodríguez y equipo de B/M Sharpie. Finalmente, agradecemos a Gabriel Ng y Helen Yan su asesoría en el análisis estadístico, a Christian Cortés y a los 2 revisores que ayudaron a mejorar este manuscrito. Los autores declaran no tener conflictos de interés, en relación a este artículo.

- Clarke KR, Warwick RM. 1998. A taxonomic distinctness index and its statistical properties. *J Appl Ecol.* 35(4):523–531. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2664.1998.3540523.x>
- [CONANP] Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. 2015 Ene 19. Programa de Manejo Parque Nacional Exclusivamente la Zona Marina del Archipiélago de Espíritu Santo [National Park Management Program Exclusively the Marine Zone of the Espíritu Santo Archipelago]. Mexico City: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- [CONANP] Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. 2018 Nov 30. Programa de Manejo Parque Nacional Revillagigedo [Revillagigedo National Park Management Program]. Mexico City: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- Cornwell WK, Schwilk DW, Ackerly DD. 2006. A trait-based test for habitat filtering: Convex hull volume. *Ecology.* 87(6):1465–1471. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2006\)87\[1465:ATTFHF\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2006)87[1465:ATTFHF]2.0.CO;2)
- Costello MJ, Tsai P, Wong PS, Cheung AKL, Basher Z, Chaudhary C. 2017. Marine biogeographic realms and species endemism. *Nat Commun.* 8:1–10. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01121-2>
- [DOF] Diario Oficial de la Federación. 2018 Jun 11. Carta Nacional Pesquera [National Fishing Charter]. Mexico City: Secretaría de Gobernación.
- Dustan P, Doherty O, Pardede S. 2013. Digital reef rugosity estimates coral reef habitat complexity. *PLOS ONE.* 8(2):1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057386>
- Fourrière M, Reyes-Bonilla H, Galván-Villa CM, Ayala Bocos A, Rodríguez-Zaragoza FA. 2019. Reef fish structure assemblages in oceanic islands of the eastern tropical Pacific: Revillagigedo Archipelago and Clipperton atoll. *Mar Ecol.* 40(3):1–14. <https://doi.org/10.1111/maec.12539>
- Francisco V, de la Cueva H. 2017. Nuevas perspectivas en la diversidad funcional de ambientes marinos. *Lat Am J Aquat Res.* 45(2):261–275. <http://doi.org/10.3856/vol45-issue2-fulltext-3>
- Froese R, Pauly D. 2019. FishBase. World Wide Web electronic publication. Stockholm (Sweden): FishBase; accessed 2019 May 02. <https://www.fishbase.org>
- Glynn PW, Manzello DP, Enochs IC. 2017. Coral Reefs of the Eastern Tropical Pacific: Persistence and Loss in a Dynamic Environment. *Coral Reefs of the World*, Vol. 8. Netherlands: Springer Nature. 657 p. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-7499-4>
- Gotelli NJ, Colwell RK. 2001. Quantifying biodiversity: procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. *Ecol Lett.* 4(4):379–391. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2001.00230.x>
- Gower JC. 1971. A general coefficient of similarity and some of its properties. *Biometrics.* 27(4):857–871. <https://doi.org/10.2307/2528823>
- Halpern BS, Frazier M, Afflerbach J, Lowndes JS, Micheli F, O'Hara C, Scarborough C, Selkoe KA. 2019. Recent pace of change in human impact on the world's ocean. *Sci Rep.* 9(1):1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47201-9>
- Hollarsmith JA, Ramírez-Ortiz G, Winquist T, Velasco-Lozano M, DuBouis K, Reyes-Bonilla H, Neumann KC, Grosholz ED. 2020. Habitats and fish communities at mesophotic depths in the Mexican Pacific. *J Biogeogr.* 47(7):1552–1563. <https://doi.org/10.1111/jbi.13842>
- Kahng SE, Akkaynak D, Shlesinger T, Hochberg EJ, Wiedenmann J, Tamir R, Tchernov D. 2019. Light, temperature, photosynthesis, heterotrophy, and the lower depth limits of mesophotic coral ecosystems. In: Loya Y, Puglise KA, Bridge TCL (eds.), *Mesophotic Coral Ecosystems. Coral Reefs of the World*, Vol. 12. Gewerbestrasse (Switzerland): Springer International Publishing. p. 801–828. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-92735-0>
- Kelley C, Moffitt RB, Smith J. 2006. Mega- to micro-scale classification and description of bottomfish essential fish habitat on four banks in the Northwestern Hawaiian Islands. *Atoll Res Bull.* 543(543):319–332.
- Laliberté E, Legendre P, Shipley B. 2014. FD: Measuring functional diversity (FD) from multiple traits, and other tools for functional ecology. R package version 1.0-12
- Lenth R. 2019. emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. R package version 1.4.1.
- León-de la Luz JL, Rebman JP. 2002. The vascular flora of Cerralvo Island. In: Case TJ, Cody ML, Ezcurra E (eds.), *A new islands biogeography of the Sea of Cortés*. New York (NY): Oxford University Press. p. 154–180.
- Loya Y, Eyal G, Treibitz T, Lesser MP, Appeldoorn R. 2016. Theme section on mesophotic coral ecosystems: advances in knowledge and future perspectives. *Coral Reefs.* 35:1–9. <https://doi.org/10.1007/s00338-016-1410-7>
- Maire E, Grenouillet G, Brosse S, Villéger S. 2015. How many dimensions are needed to accurately assess functional diversity? A pragmatic approach for assessing the quality of functional spaces. *Global Ecol Biogeogr.* 24(6):728–740. <https://doi.org/10.1111/geb.12299>
- Mason NWH, Mouillot D, Lee WG, Wilson JB. 2005. Functional richness, functional evenness and functional divergence: the primary components of functional diversity. *Oikos.* 111(1): 112–118. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2005.13886.x>
- Mouillot D, Villéger S, Parravicini D, Kulbicki M, Arias-González JE, Bender M, Chabanet P, Floeter SR, Friedlander A, Vigliola L, et al. 2014. Functional over-redundancy and high functional vulnerability in global fish faunas on tropical reefs. *P Natl Acad Sci USA-Biol.* 111(38):13757–13762. <https://doi.org/10.1073/pnas.1317625111>
- Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, Kindt R, Legendre P, McGlenn D, Minchin PR, O'Hara RB, Simpson GL, Solymos P, et al. 2019. vegan: Community Ecology Package. R package version 2.5-4.
- Olivier D, Loiseau N, Petatán-Ramírez D, Trujillo-Millán O, Suárez-Castillo AN, Torre J, Munguia-Vega A, Reyes-Bonilla H. 2018. Functional-biogeography of the reef fishes of the islands of the Gulf of California: Integrating functional divergence into marine conservation. *Global Ecol Conserv.* 16:1–15. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2018.e00506>
- Pauly D, Palomares ML. 2005. Fishing down marine food web: It is far more pervasive than we thought. *Bull Mar Sci.* 76(2):197–211.
- Petchey OL, Evans KL, Fishburn IS, Gaston KJ. 2007. Low functional diversity and no redundancy in British avian assemblages. *J Anim Ecol.* 76(5):977–985. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2007.01271.x>
- Pinheiro HT, Bernardi G, Simon T, Joyeaux JC, Macieira RM, Gasparini JL, Rocha C, Rocha LA. 2017. Island biogeography of marine organisms. *Nature.* 549:82–85. <https://doi.org/10.1038/nature23680>
- Portela E, Beier E, Barton ED, Castro R, Godínez V, Palacios-Hernández E, Fiedler PC, Sánchez-Velasco L, Trasviña A. 2016. Water masses and circulation in the Tropical Pacific off Central Mexico and surrounding areas. *J Phys Oceanogr.* 46(10):3069–3081. <https://doi.org/10.1175/JPO-D-16-0068.1>

- Quimbayo JP, Mendes TC, Kulbicki M, Floeter SR, Zapata FA. 2016. Unusual reef fish biomass and functional richness at Malpelo, a remote island in the Tropical Eastern Pacific. *Environ Biol Fish*. 100(2):149–162. <https://doi.org/10.1007/s10641-016-0557-y>
- R Core Team. 2019. R: A language and environment for statistical computing. Vienna (Austria): R Foundation for Statistical Computing; accessed 2019 Apr 26. <http://www.R-project.org/>.
- Renka RJ, Gebhardt A, Eglén S, Zuyev S, White D. 2020. tripack: Triangulation of irregularly spaced data. R package version 1.3-9.1
- Ramírez-Ortiz G, Calderón-Aguilar LE, Reyes-Bonilla H, Ayala-Bocos A, Hernández L, Rivera-Melo FF, López-Pérez A, Domínguez-Arosamena A. 2017. Functional diversity of fish and invertebrates in coral and rocky reefs of the Eastern Tropical Pacific. *Mar Ecol*. 38(4):1–9. <https://doi.org/10.1111/maec.12447>
- Robertson DR, Allen GR. 2015. Shorefishes of the Tropical Eastern Pacific: online information system. Version 2.0. Balboa (Panama): Smithsonian Tropical Research Institute; accessed 2019 May 02. <https://biogeodb.stri.si.edu/sftep/en/pages>
- Robertson DR, Cramer KL. 2009. Shore fishes and biogeographic subdivisions of the Tropical Eastern Pacific. *Mar Ecol Prog Ser*. 380:1–17. <https://doi.org/10.3354/meps07925>
- Rogers SI, Clarke KR, Reynolds JD. 1999. The taxonomic distinctness of coastal bottom-dwelling fish communities of the North-east Atlantic. *J Anim Ecol*. 68(4):769–782. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2656.1999.00327.x>
- Roussel JR, Barber CB, Habel K, Grasman R, Gramacy RB, Mozharovskiy P, Sterratt DC. 2019. geometry: Mesh Generation and Surface Tessellation. R package version 0.4.4
- Streich MK, Ajemian MJ, Wetz JJ, Stunz GW. 2017. A comparison of fish community structure at mesophotic artificial reefs and natural banks in the Western Gulf of Mexico. *Mar Coast Fish*. 9(1):170–189. <https://doi.org/10.1080/19425120.2017.1282897>
- Sydeman WJ, Thompson SA, Santora JA, Koslow JA, Goericke R, Ohman MD. 2015. Climate–ecosystem change off southern California: Time-dependent seabird predator–prey numerical responses. *Deep Sea Res. PT II*. 112:158–170. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2014.03.008>
- Turner JA, Babcock RC, Hovey R, Kendrick GA. 2017. Deep thinking: a systematic review of mesophotic coral ecosystems. *ICES J Mar Sci*. 74(9):2309–2320. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsx085>
- Villéger S, Mason NWH, Mouillot D. 2008. New multidimensional functional diversity indices for a multifaceted framework in functional ecology. *Ecology*. 89(8):2290–2301. <https://doi.org/10.1890/07-1206.1>
- Villéger S, Ramos-Miranda J, Flores-Hernández D, Mouillot D. 2010. Contrasting changes in taxonomic vs. functional diversity of tropical fish communities after habitat degradation. *Ecol Appl*. 20(6):1512–1522. <https://doi.org/10.1890/09-1310.1>

*Received February 2020,
accepted October 2020.*

SUPPLEMENTARY MATERIAL

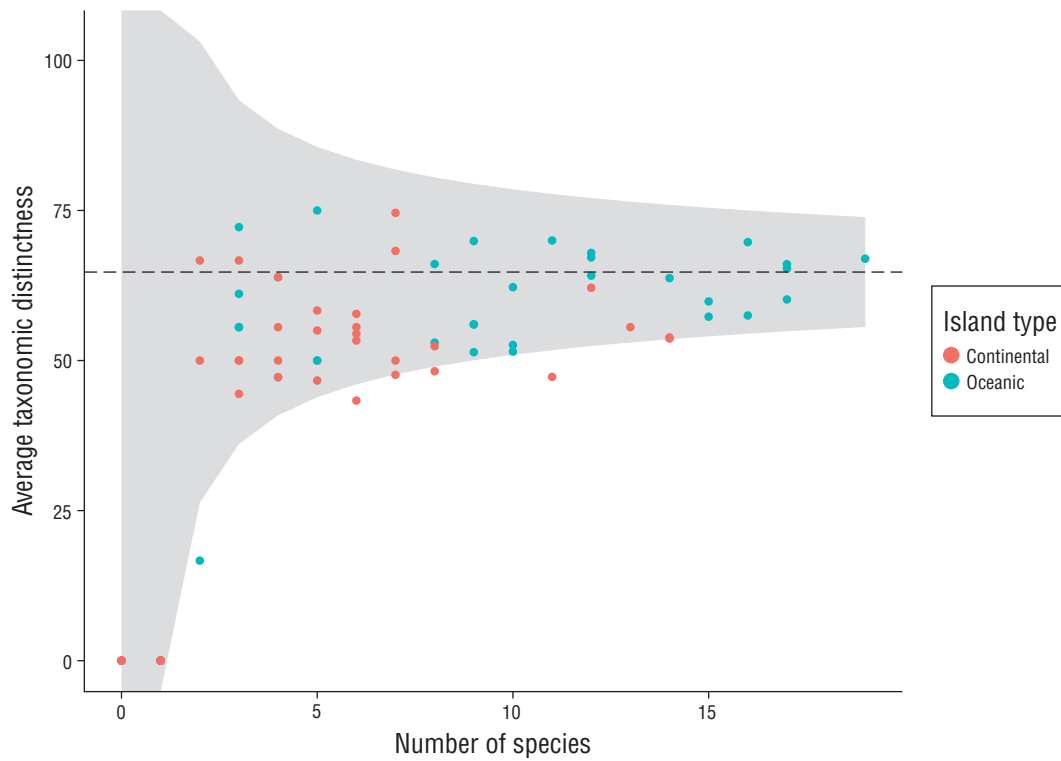


Figura S1. Average taxonomic distinctness funnel plot (Δ^+) for each island group (continental and oceanic). The outermost lines show the upper and lower limits, and the dotted line shows the expected value of Δ^+ for each video-transect.

Figura S1. Gráfica de embudo para la diferenciación taxonómica promedio (Δ^+) de acuerdo con el conjunto insular (continental y oceánico). Las líneas externas muestran el límite superior e inferior y la línea punteada indica el valor esperado de Δ^+ para cada video-transecto.

Table S1. Biodiversity indices estimated in the present study with their respective formulas and components.

Tabla S1. Índices de diversidad calculados en el presente análisis con sus respectivas fórmulas y componentes.

Metric	Formula	Components
Average taxonomic distinctness (Δ^+)	$\Delta^+ = \frac{[\sum \sum_{i < j} \omega_{ij}]}{[\frac{s(s-1)}{2}]}$	$\sum \sum_{i < j}$ is double summation of range i to j over s species. ω_{ij} s distinctness weight (linked to hierarchical classification between species i and j). s is the number of species present per video-transect
Trophic level (NT)	$NT_j = \frac{\sum_{ij} NT_j Y_{ij}}{\sum Y_{ij}}$	NT_j is the trophic level of species j . Y_{ij} is the number of species i per video-transect.
Functional richness (FRic)	$FR_{ic} = \frac{SF_{ic}}{R_i}$	FR_{ic} is the functional richness of functional character i per video-transect c . SF_{ic} is the niche space filled by the species within a video-transect. R_i is the absolute range of the character. This formula is used to estimate the value of a single functional trait; therefore, it changes depending on the number of traits employed in the study (Mason et al. 2005, Francisco and de la Cueva 2017).

Tabla S2. Frequency of occurrence (percentage) of species per island group and habitat type, including the respective trophic level and functional entity. CRRH, continental rocky reef habitat; CSH, continental sandy habitat; ORRH, oceanic rocky reef habitat; OSH, oceanic sandy habitat.

Tabla S2. Frecuencia de ocurrencia (porcentaje) de especies por conjunto insular y tipo de hábitat, incluido su nivel trófico y entidad funcional. CRRH, hábitat continental de arrecifes rocosos; CSH, hábitat arenoso continental; ORRH, hábitat de arrecifes rocosos oceánicos; OSH, hábitat arenoso oceánico.

Species	CRRH ocurrence (%)	CSH ocurrence (%)	ORRH ocurrence (%)	OSH ocurrence (%)	Trophic level	Functional entity
Class: Actinopterygii	96	94.00	77.00	86.00		
<i>Acanthurus nigricans</i>	0	0	6.67	0	2.00	32A11A
<i>Acanthurus xanthopterus</i>	8	0	3.33	0	2.90	53A11A
<i>Anisotremus interruptus</i>	20	6.25	26.67	42.85	3.50	53B12C
<i>Arothron meleagris</i>	0	0	3.33	0	3.40	42A11B
<i>Aulostomus chinensis</i>	0	0	10.00	28.57	3.90	52A11E
<i>Balistes polylepis</i>	12	18.75	10.00	28.57	3.30	53A11C
<i>Bodianus diplotaenia</i>	16	12.50	53.33	42.85	3.40	53A11C
<i>Cantherhines dumerilii</i>	0	0	10.00	0	3.10	43A11F
<i>Caranx caballus</i>	4	6.25	0	0	4.10	54A42E
<i>Caranx lugubris</i>	0	0	53.33	71.42	4.50	64B42E
<i>Caranx melampygus</i>	0	0	30.00	14.28	4.50	64A32E
<i>Caranx</i> sp.	0	0	3.33	0	4.10	53A43E
<i>Cephalopholis panamensis</i>	4	0	6.67	0	4.20	42A11E
<i>Chaetodon humeralis</i>	8	0	0	0	2.70	32A31F
<i>Chilomycterus reticulatus</i>	4	0	3.33	14.28	3.50	52A12B
<i>Chromis alta</i>	4	6.25	33.33	42.85	3.40	22A12D
<i>Chromis limbaughi</i>	36	18.75	0	0	3.40	21A31D
<i>Dermatolepis dermatolepis</i>	0	0	20.00	28.57	4.50	63A11E
<i>Diodon holocanthus</i>	16	6.25	36.67	14.28	3.30	42B11C
<i>Diodon hystrix</i>	4	0	0	0	3.70	42B11C
<i>Elagatis bipinnulata</i>	0	0	3.33	0	4.30	64A33E
<i>Epinephelus cifuentesi</i>	0	0	23.33	14.28	3.00	64A11E
<i>Epinephelus clippertonensis</i>	0	0	23.33	0	3.90	52B11E
<i>Epinephelus labriformis</i>	12	6.25	33.33	28.57	4.00	52B11E
<i>Fistularia commersonii</i>	4	6.25	10.00	0	4.30	63A12E
<i>Forcipiger flavissimus</i>	0	0	23.33	0	3.10	32A32B
<i>Gymnothorax castaneus</i>	0	0	3.33	0	4.00	61B11E
<i>Haemulon sexfasciatum</i>	16	6.25	0	0	4.20	53B31E
<i>Haemulon</i> sp.	0	0	3.33	0	4.20	53B31E
<i>Halichoeres dispilus</i>	12	0	0	0	3.90	32A11C
<i>Halichoeres</i> sp.	16	6.25	6.67	0	3.50	32A11C
<i>Heteroconger</i> sp.	4	18.75	0	0	3.40	51A11D
<i>Heteropriacanthus cruentatus</i>	0	0	20.00	0	3.60	52B12C
<i>Holacanthus clarionensis</i>	0	0	43.33	42.85	2.60	22A32B
<i>Holacanthus passer</i>	40	18.75	0	0	2.60	42A32B

Table S2 (Cont.)

Species	CRRH ocurrence (%)	CSH ocurrence (%)	ORRH ocurrence (%)	OSH ocurrence (%)	Trophic level	Functional entity
<i>Johnrandallia nigrirostris</i>	4	12.50	0	0	3.00	32A32F
<i>Liopropoma fasciatum</i>	44	12.50	0	0	3.60	33A11C
<i>Lutjanus argentiventris</i>	28	6.25	3.33	0	4.00	53B41E
<i>Lutjanus guttatus</i>	0	12.50	0	0	3.90	53B12C
<i>Lutjanus jordani</i>	28	18.75	0	0	4.50	53B41E
<i>Lutjanus novemfasciatus</i>	8	6.25	0	0	4.10	64B11E
<i>Lutjanus viridis</i>	0	0	13.33	0	4.20	33B32E
<i>Mulloidichthys dentatus</i>	8	0	0	0	3.70	43B31C
<i>Muraena argus</i>	4	12.50	0	0	4.00	61B11E
<i>Mycteroperca rosacea</i>	16	6.25	0	0	4.50	63B11E
<i>Ostracion meleagris</i>	4	0	0	0	2.70	32A11F
<i>Paranthias colonus</i>	44	12.50	63.33	57.14	3.80	43A42D
<i>Prionurus laticlavus</i>	16	0	0	0	2.70	53A41A
<i>Pristigenys serrula</i>	24	0	10.00	0	4.00	42B12E
<i>Prognathodes falcifer</i>	40	6.25	30.00	14.28	3.30	22A12B
<i>Quassiremus evionthas</i>	0	0	3.33	14.28	3.80	51A11E
<i>Scarus ghobban</i>	8	0	0	0	2.00	63A11A
<i>Scorpaena guttata</i>	8	0	0	0	3.80	41B11E
<i>Scorpaena</i> sp.	0	0	6.67	28.57	3.69	41B11E
<i>Semicossyphus pulcher</i>	4	6.25	0	0	3.60	63A11C
<i>Seriola rivoliana</i>	8	12.50	23.33	85.71	4.50	64A32E
<i>Serranus psittacinus</i>	24	0	0	0	3.60	32A11E
<i>Serranus socorroensis</i>	0	0	3.33	14.28	3.30	22A11E
<i>Stegastes leucorus</i>	0	0	13.33	0	2.00	21A11A
<i>Stegastes</i> sp.	4	0	3.33	0	2.25	21A11A
<i>Sufflamen verres</i>	4	12.50	10.00	0	3.30	43A31C
<i>Synodus lacertinus</i>	16	12.50	0	0	4.20	31B11E
<i>Thalassoma lucasanum</i>	0	0	3.33	0	3.50	22A31C
<i>Xanthichthys mento</i>	0	0	53.33	71.42	4.00	33A12D
<i>Zanclus cornutus</i>	2.44	0	10.00	0	2.90	32A31B
Class: Elasmobranchii	4.00	6.00	23.00	14.00		
<i>Carcharhinus albimarginatus</i>	0	0	40.00	14.28	4.20	64A12E
<i>Carcharhinus falciformis</i>	0	0	36.67	0	4.50	64A12E
<i>Carcharhinus galapagensis</i>	0	0	13.33	0	4.20	64A32E
<i>Hypanus longus</i>	0	0	3.33	0	3.50	61A11F
<i>Triaenodon obesus</i>	0	0	23.33	14.28	4.20	64B12E
<i>Urobatis concentricus</i>	0	6.25	0	0	3.30	42A11C
<i>Urobatis</i> sp.	4	0	0	0	3.23	42A11C
<i>Urotrygon</i> sp.	4	0	0	0	3.63	42A11B

Tabla S3. Results for the Bayesian generalized linear mixed models, including estimated value and credible interval (CI) at 95%. Factors in bold indicate a significant effect (i.e., CI does not overlap zero).

Tabla S3. Resultados de los modelos generalizados mixtos bayesianos que incluyen el valor estimado y el intervalo creíble (CI) al 95%. Los factores en negritas indican un efecto significativo (i.e., CI no se sobrepone al cero).

	Estimate	95% CI
Species richness		
Intercept	1.88	1.11 to 2.63
Island group: oceanic	0.55	-0.47 to 1.55
Habitat: sand	-1.18	-1.87 to -0.56
Island group (oceanic) × habitat (sand)	-0.26	-1.06 to 0.55
Average taxonomic distinctness		
Intercept	53.03	40.21 to 69.28
Island group: oceanic	16.89	-4.84 to 36.70
Habitat: sand	-30.67	-50.45 to -11.11
Island group (oceanic) × habitat (sand)	-5.68	-32.19 to 19.49
Trophic level		
Intercept	3.43	2.35 to 4.54
Island group: oceanic	0.36	-1.05 to 1.86
Habitat: sand	-1.02	-1.87 to -0.13
Island group (oceanic) × habitat (sand)	0.91	-0.30 to 2.05
Functional richness		
Intercept	0.05	-0.08 to 0.17
Island group: oceanic	0.12	-0.04 to 0.29
Habitat: sand	-0.03	-0.09 to 0.03
Island group (oceanic) × habitat (sand)	-0.12	-0.23 to -0.02

Tabla S4. Average values (mean \pm standard error) for each diversity index estimated for each island group, island, and habitat type. S, species richness; Δ^+ , average taxonomic distinctness; NT, trophic level; FRic, average functional richness.

Tabla S4. Valores promedio por índice de diversidad (promedio \pm error estándar) calculados para cada conjunto insular, isla y tipo de hábitat. S, riqueza de especies; Δ^+ , diferenciación taxonómica promedio; NT, nivel trófico; FRic, riqueza funcional promedio.

	S	Δ^+	NT	FRic
Continental islands	4.78 \pm 0.61	44.34 \pm 4.48	3.11 \pm 0.21	0.05 \pm 0.01
Espíritu Santo	4.68 \pm 0.84	44.13 \pm 5.04	3.01 \pm 0.24	0.04 \pm 0.01
Cerralvo	5.10 \pm 1.57	44.98 \pm 10.16	3.41 \pm 0.39	0.10 \pm 0.05
Rocky reef habitat	5.96 \pm 0.81	52.55 \pm 4.35	3.28 \pm 0.20	0.07 \pm 0.02
Sandy habitat	2.94 \pm 0.71	31.51 \pm 8.47	2.84 \pm 0.43	0.02 \pm 0.01
Oceanic islands	8.43 \pm 0.94	54.44 \pm 4.39	3.81 \pm 0.15	0.20 \pm 0.02
San Benedicto	12.33 \pm 1.55	68.56 \pm 2.29	3.74 \pm 0.04	0.22 \pm 0.04
Socorro	15.67 \pm 2.40	74.70 \pm 0.37	3.74 \pm 0.05	0.30 \pm 0.09
Clarión	6.16 \pm 0.96	46.92 \pm 5.90	3.85 \pm 0.08	0.17 \pm 0.03
Rocky reef habitat	8.52 \pm 1.06	54.53 \pm 4.85	3.80 \pm 0.06	0.21 \pm 0.03
Sandy habitat	8.00 \pm 2.1	53.92 \pm 11.28	3.87 \pm 0.10	0.20 \pm 0.05
Habitat				
Rocky reef	7.38 \pm 0.71	53.65 \pm 3.29	3.57 \pm 0.10	0.15 \pm 0.02
Sandy	4.32 \pm 0.89	37.62 \pm 7.09	3.12 \pm 0.33	0.09 \pm 0.04

Early development in *Kelletia kelletii* (Forbes, 1850) (Gastropoda: Buccinidae), an Eastern Pacific gastropod with planktonic larvae

Desarrollo temprano en *Kelletia kelletii* (Forbes, 1850) (Gastropoda: Buccinidae), un gasterópodo del Pacífico oriental con larvas planctónicas

Jann E Vendetti

Malacology Department, Natural History Museum of Los Angeles County, 900 Exposition Blvd., Los Angeles, California 90007, U.S.A.

E-mail: jvendett@nhm.org

ABSTRACT. *Kelletia kelletii* (Forbes, 1850) is an intertidal to subtidal marine buccinid gastropod with a range from California, USA, to Baja California, Mexico. Many characteristics of its mating behavior, general life history, and larval biology are known, but details about its larval morphology and behavior are lacking. Here, aspects of its larval development and morphology during early ontogeny are chronicled, including larval velar form and function, asymmetrical development, particle ingestion, larval yolk reserves, and larval shell morphology. Snail oviposition behavior was observed in aquaria and egg capsules were dissected at different stages of development and examined under optical and scanning electron microscopy. Egg capsules had undeveloped eggs and/or embryos that were not ingested by *K. kelletii* larvae. Hatching time (natural excapsulation) varied between 37 to 55 d depending on water conditions, and endogenous yolk reserves were present in most veligers at capsule emergence. Pre-hatching veligers could swim in the plankton if excapsulated at 27 d and had symmetrical velar lobes but different sized cephalic tentacles. At 2.5 weeks in the plankton, both cephalic tentacles and velar lobes were asymmetrical, with those on the larvae's right larger than those on their left. Larval shells were brittle and poorly mineralized at excapsulation but fully mineralized with an apertural beak and proto-siphonal canal by 2.5 weeks in the plankton. Particle capture and transport through the velar lobes to the mouth was possible in pre-hatching veligers, but ingestion only occurred in emerged veligers when yolk stores were depleted. Chronicling early ontogeny and its sequence, as in this study, is essential to the understanding of larval development and its evolution in gastropods, and to comparative studies of larval biology in the Buccinidae.

Key words: larval biology, planktotrophic, neogastropod, California, Mexico.

RESUMEN. *Kelletia kelletii* (Forbes, 1850) es un gasterópodo bucínido marino de zonas intermareales y submareales con un intervalo de distribución desde California, EUA, hasta Baja California, México. Se conocen muchas de las características de su apareamiento, historia de vida general y biología larvaria, pero poco se sabe sobre los detalles de su morfología y comportamiento larvario. Aquí, se describe una crónica de los aspectos de su desarrollo y morfología larvaria durante la ontogenia temprana, como la forma y función del velo larvario, el desarrollo asimétrico, la ingestión de partículas, las reservas vitelinas larvarias y la morfología de la concha larvaria. El comportamiento de oviposición de los caracoles se observó en los acuarios, y las ovicápsulas en diferentes estadios de desarrollo fueron diseccionadas y examinadas mediante microscopía óptica y electrónica de barrido. Las ovicápsulas tenían huevos y/o embriones sin desarrollar que no fueron ingeridos por las larvas de *K. kelletii*. El tiempo de eclosión (descapsulación natural) varió entre 37 y 55 d dependiendo de las condiciones del agua, y la mayoría de las larvas velígeras tenían reservas vitelinas endógenas al emerger de la cápsula. Las velígeras no eclosionadas podían nadar en el plancton si se descapsulaban a los 27 d y tenían lóbulos velares simétricos, pero tentáculos cefálicos de diferentes tamaños. A las 2.5 semanas en el plancton, los tentáculos cefálicos y los lóbulos velares eran asimétricos, y los del lado derecho de las larvas eran más grandes que los del lado izquierdo. Las conchas larvarias estaban frágiles y pobremente mineralizadas en la descapsulación, pero completamente mineralizadas con un pico de apertura y canal proto-sifonal a las 2.5 semanas en el plancton. La captura de partículas y su transporte por los lóbulos velares a la boca fue posible en las velígeras pre-eclosión, pero la ingestión solo ocurrió en las velígeras emergidas cuando las reservas vitelinas se habían agotado. La crónica de la ontogenia temprana y su secuencia, como la presentada en este estudio, es esencial para comprender el desarrollo larvario y su evolución en gasterópodos, y para los estudios comparativos de biología larvaria en Buccinidae.

Palabras clave: biología larvaria, planctotrófico, neogastropodo, California, México.

INTRODUCTION

The Kellet's whelk, *Kelletia kelletii* (Forbes, 1850), is a mostly subtidal buccinid gastropod endemic to the Eastern Pacific with a range that spans from Monterey Bay, California (USA), to Baja California Sur (Mexico) (McLean 1978, Herrlinger 1981). It is a conspicuous snail with a bright

INTRODUCCIÓN

El buccino de Kellet, *Kelletia kelletii* (Forbes, 1850), es un gasterópodo bucínido principalmente submareal endémico del Pacífico oriental con un intervalo de distribución que se extiende desde la bahía de Monterey, California (EUA), hasta Baja California Sur (México) (McLean 1978,

yellow to orange body and fairly large, high-spired shell often covered in pink and green algae. This species is dioecious and its mating aggregations can include 200–300 individuals (Rosenthal 1970, Morris et al. 1980, Lonhart 2001). Its biogeography, life history, and many of its larval characteristics have been described by MacGinitie and MacGinitie (1949), Rosenthal (1970), Morris et al. (1980), Lonhart (2001), Zacherl et al. (2003, Zacherl (2005), Romero et al. (2012), Rodríguez (2017), and Wilson (2017). Herein, additional aspects of this species' larval biology are documented, including pre- and post-hatching endogenous yolk reserves, veliger velar lobe morphology, particle capture and ingestion, asymmetrical development, and larval shell morphology. *Kelletia kelletii* snails were observed in aquaria and egg capsules were selected, dissected, and examined at different stages of larval development to chronicle the characteristics listed above. Larval shells and veligers were also examined using scanning electron microscopy (SEM) at early to late veliger stages.

In the more than 700 species within the gastropod family Buccinidae, egg capsules are laid in clutches, masses, towers, or capsule strings on benthic substrates that sometimes include the shells of conspecifics (e.g., *Solenosteira*, *Neptunea*, and *Kelletia*) (Power and Keegan 2001). Depending on the species, egg capsules can house a single embryo to more than 1,000 (Thorson 1950). Intracapsular embryos develop into either non-planktonic larvae that crawl out of their capsule as metamorphosed juveniles (direct development) (Romero et al. 2004) or planktonic veliger larvae that swim out of their capsule, may or may not be obligated to feed, and then metamorphose into benthic adults (planktonic development) (Pearce and Thorson 1967). Developmental mode is not known to vary within buccinid species (Miloslavich and Penchaszadeh 1994, Tan and Morton 1998).

During intracapsular development, buccinid larvae derive nourishment from their own yolk, intracapsular albumen (protein-rich fluid that fills the capsule), and/or by ingesting eggs (oophagy), young embryos (nurse eggs), and/or sibling larvae (adelphophagy) within their capsule. Unlike most buccinids in the North Pacific, *K. kelletii* has a planktonic developmental mode (Rosenthal 1970, Pechenik 1979, Romero et al. 2012) wherein early development, including the trochophore, occurs inside an egg capsule without nutritive intracapsular eggs or embryos (Rosenthal 1970). At excapsulation, larvae emerge from capsules as feeding veligers (Buckland-Nicks et al. 2002).

With few exceptions, documentation of larval development, and particularly larval morphology, in buccinid gastropods is lacking, especially for taxa with planktonic larvae. Accounts of detailed larval characteristics across this diverse family could inform studies of larval development, larval ecology, and developmental evolution (Collin and Moran 2018). Thus, this study is intended to complement the work that has documented much of early ontogeny in *K. kelletii*

(Herrlinger 1981). Es un caracol conspicuo con un cuerpo de color amarillo brillante a naranja y una concha bastante grande con espirales altos a menudo cubierta de algas rosadas y verdes. Esta especie es dioica y sus agregaciones de apareamiento pueden incluir entre 200 y 300 individuos (Rosenthal 1970, Morris et al. 1980, Lonhart 2001). Su biogeografía, historia de vida y muchas de sus características larvarias han sido descritas por MacGinitie y MacGinitie (1949), Rosenthal (1970), Morris et al. (1980), Lonhart (2001), Zacherl et al. (2003), Zacherl (2005), Romero et al. (2012), Rodríguez (2017) y Wilson (2017). Aquí, se documentan aspectos adicionales de la biología larvaria de esta especie, incluidas las reservas vitelinas endógenas antes y después de la eclosión, la morfología del lóbulo velar de la velígera, la captura y la ingestión de partículas, el desarrollo asimétrico y la morfología de la concha larvaria. Se observaron caracoles de *K. kelletii* en acuarios y se seleccionaron, diseccionaron y examinaron ovicápsulas en diferentes estadios de desarrollo larvario para describir las características mencionadas anteriormente. Las conchas larvarias y las velígeras también se examinaron mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) en las etapas tempranas y tardías de la velígera.

En las más de 700 especies de la familia de los gasterópodos Buccinidae, las ovicápsulas se colocan en nidadas, masas, torres o cadenas de cápsulas sobre sustratos bentónicos que a veces incluyen las conchas de conespecíficos (e.g., *Solenosteira*, *Neptunea* y *Kelletia*) (Power y Keegan 2001). Dependiendo de la especie, las ovicápsulas pueden albergar desde un solo embrión hasta más de 1,000 (Thorson 1950). Los embriones intracapsulares se desarrollan como larvas no planctónicas que se arrastran hasta salir de su cápsula como juveniles metamorfoseados (desarrollo directo) (Romero et al. 2004) o como larvas planctónicas velígeras que nadan para salir de su cápsula, pueden estar o no obligadas a alimentarse y luego se metamorfosean en adultos bentónicos (desarrollo planctónico) (Pearce y Thorson 1967). No se tienen conocimientos de que el modo de desarrollo varíe entre las especies de buccinidos (Miloslavich y Penchaszadeh 1994, Tan y Morton 1998).

Durante el desarrollo intracapsular, las larvas buccinidas se nutren de su propio vitelo, de la albúmina intracapsular (líquido rico en proteínas que llena la cápsula) y/o al ingerir huevos (oofagia), embriones jóvenes (huevos nodriza) y/o larvas hermanas (adelphofagia) dentro de su cápsula. A diferencia de la mayoría de los buccinidos en el Pacífico Norte, *K. kelletii* tiene un modo de desarrollo planctónico (Rosenthal 1970, Pechenik 1979, Romero et al. 2012) en el que el desarrollo temprano, incluido el trocóforo, ocurre dentro de una ovicápsula sin huevos o embriones intracapsulares nutritivos (Rosenthal 1970). En la descapsulación, las larvas emergen de las cápsulas como velígeras capaces de alimentarse (Buckland-Nicks et al. 2002).

Salvo algunas excepciones, se carece de documentación del desarrollo larvario, y en particular de la morfología

and provide additional information for comparative studies of development within and across neogastropod clades.

MATERIALS AND METHODS

Voucher material including adult shells, preserved egg capsules, and mounted larval shells are deposited in the University of California (UC) Museum of Paleontology (UCMP) extant shell collections and wet collections.

Kelletia kelletii specimen collection and maintenance

Twelve adult specimens of *K. kelletii* were collected in California by hand using scuba from subtidal kelp forests near Monterey ($n = 7$: 4 females, 3 males) by T. Herrlinger (UC Berkeley) in January 2006 and Santa Barbara ($n = 5$: 2 females, 3 males) by S. Anderson (UC Santa Barbara) in June 2007.

Snails were maintained in the Valley Life Sciences Building on the UC Berkeley campus in a climate- and light-controlled room in a re-circulating and aerated 10-gallon saltwater aquarium. Automatic overhead fluorescent lights were kept on a 12-h light/day-dark/night cycle. Water temperature remained at 13–16 °C and was measured every other day using a standard glass aquarium thermometer mounted to the inside of the aquarium. Salinity was measured weekly using a salinity refractometer and maintained at 34–35.

One third of the tank water was replaced with artificial or natural seawater once per month. Artificial seawater was made with Instant Ocean Sea Salt (Instant Ocean, Blacksburg, Virginia) to 34 salinity following the manufacturer's instructions. Natural, filtered seawater was acquired from Hopkins Marine Station, Pacific Grove, California. Adult snails were fed shrimp or bivalves every 3 to 4 weeks.

Behavioral, capsule, and larval observations

Mating and oviposition behavior was checked for at least 4 d per week and observed from January 2006 through October 2009. To chronicle the sequence of developmental changes in early ontogeny, 65 egg capsules were removed randomly from within the same clutches as well as from different clutches. Only egg capsules for which the date of oviposition was known were used for data collection.

Embryos and larvae were excapsulated by hand (with forceps and dissecting scissors) to allow different stages of development to be sampled, drawn, and photographed. A random sample of 5 egg capsules from different clutches was used to estimate egg/embryo number per capsule, and 15 capsules were measured from their base to their escape aperture to determine their typical dimensions. The onset of velar structures, organs, larval pigment, and larval shell mineralization were observed and recorded. After observations were made, the contents of capsules were sacrificed and preserved.

larvaria, en gasterópodos bucínidos, especialmente para taxones con larvas planctónicas. Los trabajos que detallan las características larvarias en esta familia diversa podrían orientar los estudios sobre el desarrollo larvario, la ecología larvaria y la evolución del desarrollo (Collin y Moran 2018). Por lo tanto, este estudio pretende complementar el trabajo que ha documentado gran parte de la ontogenia temprana de *K. kelletii* y proporcionar información adicional para estudios comparativos del desarrollo dentro y entre clados de neogastropodos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material de evidencia, que incluye conchas de adultos, ovicápsulas preservadas y conchas larvarias montadas, se encuentra depositado en las colecciones de conchas existentes y las colecciones húmedas del Museo de Paleontología (UCMP) de la Universidad de California (UC).

Recolección y mantenimiento de las muestras de *Kelletia kelletii*

Se recolectaron 12 especímenes adultos de *K. kelletii* en California. Los especímenes se obtuvieron manualmente por medio de buceo autónomo en los bosques de algas submareales cerca de Monterey ($n = 7$: 4 hembras, 3 machos) por T. Herrlinger (UC Berkeley) en enero de 2006 y Santa Bárbara ($n = 5$: 2 hembras, 3 machos) por S. Anderson (UC Santa Barbara) en junio de 2007.

Los caracoles se mantuvieron en el Edificio de Ciencias de la Vida del Valle en el campus de UC Berkeley en una habitación con clima y luz controlada en un acuario de agua salada de 10 galones con aireación y recirculación. Las luces fluorescentes automáticas sobre los acuarios se mantuvieron en un ciclo de 12 h de luz/día-oscuridad/noche. La temperatura del agua se mantuvo a 13–16 °C y se midió cada 2 d utilizando un termómetro de vidrio estándar para acuarios montado en el interior del acuario. La salinidad se midió semanalmente utilizando un refractómetro de salinidad y se mantuvo a 34–35.

Una tercera parte del agua del tanque se reemplazó con agua de mar artificial o natural una vez al mes. El agua de mar artificial se hizo con sal marina Instant Ocean (Instant Ocean, Blacksburg, Virginia) siguiendo las instrucciones del fabricante para alcanzar una salinidad de 34. El agua de mar natural y filtrada se adquirió de la Estación Marina Hopkins, Pacific Grove, California. Los caracoles adultos fueron alimentados con camarones o bivalvos cada 3 a 4 semanas.

Observaciones del comportamiento, las cápsulas y las larvas

Al menos 4 d a la semana se revisó si había comportamiento de apareamiento y oviposición, y este se observó desde enero de 2006 hasta octubre de 2009. Para hacer una

Intracapsular behavior was observed through transparent capsules laid by one female collected from Santa Barbara. Capsules, eggs, larvae, and swimming veligers were observed under magnification with a Wild Heerbrugg M-series stereomicroscope. Digital photographs and digital videos were taken through this microscope using an optical coupler (Optem) and Coolpix (Nikon) 995 camera. The total number of eggs, embryos, and larvae examined was not counted but would be 32,500 if there were 500 eggs, embryos, or larvae in each of the 65 examined capsules.

Larval feeding

In 5 trials, at least 50 veliger larvae that naturally emerged from their capsules and at least 50 that were excapsulated by hand were transferred by glass pipettes to Syracuse watch glasses filled with micro-filtered seawater. To test for feeding ability, a solution of 100 mL seawater was mixed with approximately 1 teaspoon of red or blue non-toxic micro-particles (DayGlo fluorescent pigment; DayGlo Color Corporation, Cleveland, Ohio), which was introduced into the water via a pipette. Veligers were left undisturbed in this particle-rich seawater for 10 min before being checked for ingested particles, which would be visible in their gut through their translucent larval shell. If after 10 min none had particles visible within their gut, they were considered unable to feed; if particles were visible, they were considered planktotrophic.

Larval shells: preparation for scanning electron microscopy

Ontogenetic series of larval shells (of at least 3 specimens each) were prepared from 35 samples of both intracapsular and emerged veligers. Isolated larval shells were prepared for SEM analysis following a modified protocol of Pedersen and Page (2000): veligers were gently removed from beakers using a pipette, anaesthetized in $MgCl_2$ for 2 h, then bathed in a 3:10 (bleach: water) solution for up to 18 h. Larval shells were rinsed with deionized water, allowed to dry on lint-free paper, then transferred by a fine sable brush into glass vials filled with acetone prior to mounting.

Cleaned larval shells were mounted with a sable brush onto conductive carbon adhesive pads on aluminum SEM stubs. Shells were repositioned when necessary using a paintbrush hair mounted on a wooden stirring stick. Mounted specimens were sputter coated with iridium on a Medo20 Sputter Coater to a thickness of 0.014 kÅ (kiloangstroms) and visualized with a Philips XL-30 ESEM. Specimens were viewed at 10–15 kV accelerating voltage and 15 mm working distance. Digital micrographs were taken using Philips XL-30 imaging software, and contrast and brightness were adjusted in Adobe Photoshop CS4. From these images, characteristics of larval shell ornamentation, microstructure, and shape were observed and recorded. Measurements were

crónica de la secuencia de los cambios en el desarrollo en la ontogenia temprana, se extrajeron 65 ovicápsulas al azar de las mismas nidadas y de diferentes nidadas. Para la recopilación de datos, solo se utilizaron las ovicápsulas para las cuales se conocía la fecha de oviposición.

Los embriones y las larvas fueron descapsuladas a mano (con pinzas y tijeras de disección) para poder muestrear, dibujar y fotografiar las diferentes etapas de desarrollo. Se utilizó una muestra aleatoria de 5 ovicápsulas de diferentes nidadas para estimar el número de huevos/embriones por cápsula, y se midieron 15 cápsulas desde su base hasta su apertura de escape para determinar sus dimensiones típicas. Se observó y registró la aparición de estructuras velares, órganos, pigmento larvario y mineralización de la concha larvaria. Después de realizar las observaciones, el contenido de las cápsulas fue sacrificado y preservado.

El comportamiento intracapsular se observó a través de cápsulas transparentes puestas por una hembra recolectada en Santa Bárbara. Se observaron cápsulas, huevos, larvas y velígeras nadadoras bajo aumento con un estereomicroscopio Wild Heerbrugg serie M. Se tomaron fotografías digitales y videos digitales a través de este microscopio utilizando un acoplador óptico (Optem) y una cámara Coolpix (Nikon) 995. No se contó el número total de huevos, embriones y larvas examinados, pero sería 32,500 si hubieron 500 huevos, embriones o larvas en cada una de las 65 cápsulas examinadas.

Alimentación de las larvas

En 5 ensayos, al menos 50 larvas veliger que emergieron naturalmente de sus cápsulas y al menos 50 que fueron descapsuladas a mano fueron transferidas con pipetas de vidrio a vidrios de reloj Syracuse llenos de agua de mar microfiltrada. Para examinar la capacidad de alimentación, se mezcló una solución de 100 mL de agua de mar con aproximadamente 1 cucharadita de micropartículas no tóxicas rojas o azules (pigmento fluorescente DayGlo; DayGlo Color Corporation, Cleveland, Ohio), la cual se introdujo en el agua a través de una pipeta. Las velígeras permanecieron intactas en esta agua de mar rica en partículas durante 10 min antes de ser revisadas para identificar partículas ingeridas, las cuales serían visibles en sus intestinos a través de su concha larvaria traslúcida. Si después de 10 min ninguna tenía partículas visibles dentro de su intestino, se consideró que no podían alimentarse; si las partículas eran visibles, se consideraban planctotróficas.

Conchas larvarias: preparación para la microscopía electrónica de barrido

Se prepararon series ontogenéticas de conchas larvarias (de al menos 3 especímenes cada una) a partir de 35 muestras de velígeras tanto intracapsulares como emergidas. Se prepararon conchas larvarias aisladas para el análisis MEB

made using ImageJ digitizing and imaging software (v.1.36b, National Institutes of Health; Image J 2004).

Larvae: preparation for scanning electron microscopy

Veliger larvae were relaxed in calcium-free seawater (Louise Page, pers. comm.), fixed in a 2% glutaraldehyde solution, rinsed in an osmium tetroxide and sodium cacodylate buffer, and dehydrated in a 7-step ethanol series from 35% to 99% ethanol. Fixed specimens were then critical point dried and visualized uncoated using a Hitachi TM-1000 SEM at an accelerating voltage between 15 and 20 kV.

RESULTS

Shell size, mating, and oviposition

Mean maximum length (ML) (from apex to siphonal canal tip) of shells collected in Santa Barbara snails ($n = 5$) was greater than that in Monterey-collected snails ($n = 6$) at ML = 92.5 mm, SD = 8.5 mm vs. ML = 85.2 mm, SD = 7.8 mm. The same was true for mean maximum width (MW) (i.e., Santa Barbara-collected specimens: MW = 51.6 mm, SD = 2.9 mm; Monterey-collected specimens: MW = 44.3 mm, SD = 4.7 mm). Males and females from Santa Barbara were not significantly different in shell length or width. Although the sample size is small, in Monterey-collected snails, the mean ML of shells was larger in females than in males: for females ($n = 4$) ML = 86.4 mm, SD = 8.9 mm, MW = 45.6 mm, SD = 4.7 mm; for males ($n = 3$) ML = 81.9 mm, SD = 5.0 mm, MW = 42.2 mm, SD = 3.6 mm.

In aquaria, Santa Barbara-collected snails ($n = 5$) mated from January–February, and Monterey-collected snails ($n = 6$) mated from May–June. Females tended to lay egg capsules next to clutches already laid by other females on the glass sides of the aquarium, on rocks, and in one case, on the shell of another adult (Fig. 1a). Oviposition while mating was observed twice.

Sixteen instances of egg laying (oviposition) were recorded between May and October from 2006 to 2008: 3 in May, 6 in June, 3 in July, and 4 in August. The identity of the female that was ovipositing could be determined in 8 instances, and of these, the same Monterey-collected female oviposited from May–July, and 2 Santa Barbara-collected females oviposited from July–August.

Egg capsules and intracapsular eggs and embryos

Egg capsules were laid in benthic clutches of 3 to 82 capsules per clutch ($n = 15$, mean = 25.1, SD = 23.3). In most capsules, the escape aperture and capsular plug were at the capsule top (Fig. 1b), although in one clutch the escape aperture was on the side of all capsules. Capsule walls were mostly translucent white to rarely transparent, and in the specimens examined here, rarely enclosed zero eggs or embryos. Egg/

siguiendo un protocolo modificado de Pedersen y Page (2000): las velígeras se retiraron suavemente de los vasos de precipitado con una pipeta, se anestesiaron en $MgCl_2$ durante 2 h y posteriormente se bañaron en una solución 3:10 (cloro:agua) por hasta 18 h. Las conchas larvárias se enjuagaron con agua desionizada, se dejaron secar sobre papel sin pelusa y se transfirieron con un pincel de marta fino a viales de vidrio que fueron llenados con acetona antes del montaje.

Las conchas larvárias limpias se montaron con un pincel de marta sobre cintas conductoras adhesivas de carbón sobre portamuestras de aluminio de MEB. Las conchas se reubicaron cuando fue necesario utilizando un pelo de pincel montado en un agitador de madera. Los especímenes montados se recubrieron por pulverización catódica con iridio en un recubridor por pulverización Medo20 hasta un espesor de 0.014 kÅ (kilo-angstroms) y se visualizaron con un microscopio electrónico de barrido ambiental Philips XL-30 ESEM. Las muestras se observaron con un voltaje de aceleración de 10 a 15 kV y una distancia de trabajo de 15 mm. Se tomaron micrografías digitales utilizando el software de imágenes Philips XL-30, y el contraste y el brillo se ajustaron en Adobe Photoshop CS4. Estas imágenes se usaron para observar y registrar las características de la ornamentación, microestructura y forma de la concha larvária. Las mediciones se realizaron utilizando el *software* de digitalización y tratamiento de imágenes ImageJ (v.1.36b, National Institutes of Health; Image J 2004).

Larvas: preparación para la microscopía electrónica de barrido

Las larvas velígeras se relajaron en agua de mar sin calcio (Louise Page, com. pers.), se fijaron en una solución de glutaraldehído al 2%, se enjuagaron en un tampón de tetróxido de osmio y cacodilato de sodio y se deshidrataron en una serie de etanol de 7 pasos desde etanol al 35% hasta 99%. Posteriormente, los especímenes fijados se secaron en el punto crítico y se visualizaron sin recubrir usando un MEB Hitachi TM-1000 a un voltaje de aceleración entre 15 y 20 kV.

RESULTADOS

Tamaño de la concha, apareamiento y oviposición

La longitud máxima (LM) media (desde el ápice hasta la punta del canal sifonal) de las conchas recolectadas de los caracoles de Santa Bárbara ($n = 5$) fue mayor que la de los caracoles recolectados en Monterey ($n = 6$) con una LM = 92.5 mm, desviación estándar (DE) = 8.5 mm vs. LM = 85.2 mm, DE = 7.8 mm. Se observó lo mismo para el ancho máximo (AM) medio (i.e., muestras recolectadas en Santa Bárbara: AM = 51.6 mm, DE = 2.9 mm; muestras recolectadas en Monterey: AM = 44.3 mm, DE = 4.7 mm). Los machos y las hembras de Santa Bárbara no fueron

embryo number varied between 477 and 966 per capsule ($n = 5$, mean = 887.4, SD = 183.8). Capsules averaged 8.09 mm in height from their base to escape aperture ($n = 15$, SD = 1.1) and 6.60 mm in maximum width ($n = 15$, SD = 0.34). Almost all were lingulate, slightly convex/concave, and without sutures. Capsule thickness was not measured.

Larval development

Development in 13–16 °C seawater was observed from uncleaved fertilized eggs, to trochophores, to excapsulated swimming veligers. Eggs and trochophores were bright yellow to orange. Black pigment developed on veligers prior to their emergence and this color change made the translucent capsules appear gray (Fig. 1b). The onset and sequence of larval traits from the day of oviposition are summarized below and in Figure 2.

At the day of oviposition, zygotes were observed as uncleaved eggs (Fig. 3a). Cell differentiation into 4–8 cells was evident at 2–3 d (Fig. 2, 3b). The post-gastrula to trochophore developed by 9–11 d (Fig. 3c). At the late trochophore stage, embryos slowly rotated inside capsules. At 18–19 d, eye spots were present and some larvae had black pigment. Early veligers were evident at 19–21 d and they were closely packed and had a larval shell, velum, and red-colored larval kidney. After 21 d, veligers showed ciliary movement and black pigment had become a prominent ring around the shell margin. At 23–25 d after oviposition, veligers actively swam inside the capsule with small velar lobes. At 27 d, if excapsulated, veligers were phototactic and competent swimmers with 2 endogenous yolk balls in their shell (Fig. 3d). By 30 d veligers had well-developed black pigment. Their operculum was obvious by 32 d. At 33 d, cephalic tentacles were present and veligers released a grainy exudate. By 36–37 d, yolk reserves were small to absent, larval shells had holes and were not fully mineralized (Fig. 3e, f), and many veligers were nearly breaking through the capsular plug. If excapsulated at this time, veligers did not ingest micro-particles. At 38–55 d, veligers emerged from their capsules as phototactic planktonic veligers, some with small endogenous yolk reserves in their shells, some with holes in their shells, and all with black pigment on their foot. By day 45 swimming veligers had asymmetrical cephalic tentacles. At 49 d, there were no endogenous yolk reserves within the shells of most veligers. At 53–54 d, velar lobes were noticeably asymmetrical. At 69 d, veligers could ingest micro-particles by trapping them in their velar lobes and bringing them toward the mouth. At 82 d after egg capsule deposition, few swimming veligers were alive without a food source.

Velar form and function

Feeding experiments indicate that opposed band cilia (the prototroch and metatroch) of velar lobes of *K. kelleitii*

significativamente diferentes en cuanto al largo o el ancho de la concha. Aunque el tamaño de la muestra es pequeño, en los caracoles recolectados en Monterey, la media de LM de las conchas fue mayor en las hembras que en los machos: para las hembras ($n = 4$) LM = 86.4 mm, DE = 8.9 mm, AM = 45.6 mm, DE = 4.7 mm; para los machos ($n = 3$) LM = 81.9 mm, DE = 5.0 mm, AM = 42.2 mm, DE = 3.6 mm.

En los acuarios, los caracoles recolectados en Santa Bárbara ($n = 5$) se aparearon de enero a febrero, y los caracoles recolectados en Monterey ($n = 6$) se aparearon de mayo a junio. Las hembras tendieron a depositar las ovicápsulas junto a las nidadas que habían depositado otras hembras sobre los vidrios a los lados del acuario, sobre las rocas y, en un caso, sobre la concha de otro adulto (Fig. 1a). La oviposición durante el apareamiento se observó 2 veces.

Se registraron 16 casos de puesta de huevos (oviposición) entre mayo y octubre de 2006 a 2008: 3 en mayo, 6 en junio, 3 en julio y 4 en agosto. La identidad de la hembra que estaba ovipositando se pudo determinar en 8 casos; de estos, la misma hembra recolectada en Monterey ovipositó de mayo a julio, y 2 hembras recolectadas en Santa Bárbara ovipositaron de julio a agosto.

Ovicápsulas y huevos y embriones intracapsulares

Las ovicápsulas fueron depositadas en nidadas bentónicas, con 3 a 82 cápsulas por nidada ($n = 15$, media = 25.1, DE = 23.3). En la mayoría de las cápsulas, la apertura de escape y el tapón capsular estaban en la parte superior de la cápsula (Fig. 1b), aunque en una nidada la apertura de escape estaba en el lateral de todas las cápsulas. Las paredes de las cápsulas eran, en su mayoría, blancas translúcidas y pocas veces transparentes y, en los especímenes examinados aquí, rara vez encapsulaban cero huevos o embriones. El número de huevos/embriones varió entre 477 y 966 por cápsula ($n = 5$, media = 887.4, DE = 183.8). Las cápsulas tenían una altura promedio de 8.09 mm desde su base hasta la apertura de escape ($n = 15$, DE = 1.1) y un ancho máximo promedio de 6.60 mm ($n = 15$, SD = 0.34). Casi todas eran linguladas, ligeramente convexas/cóncavas y sin suturas. No se midió el grosor de la cápsula.

Desarrollo larvario

Se observó el desarrollo en agua de mar a 13–16 °C, desde huevos fertilizados no divididos hasta trocóforos y veligeras nadadoras descapsuladas. Los huevos y los trocóforos eran de color amarillo brillante a naranja. El pigmento negro se desarrolló en las veligeras antes de que emergieran y este cambio de color hizo que las cápsulas translúcidas parecieran grises (Fig. 1b). El inicio y la secuencia de los rasgos larvarios desde el día de la oviposición se resumen a continuación y en la Figura 2.

En el día de la oviposición, se observaron cigotos como huevos no divididos (Fig. 3a). La diferenciación celular en

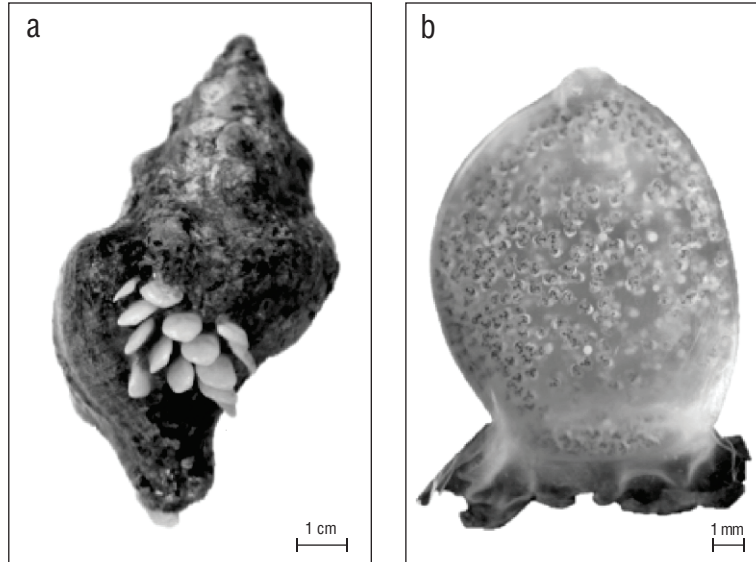


Figure 1. *Kelletia kelletii* egg capsules. (a) Living *K. kelletii* with egg capsules oviposited on its shell. (b) Single egg capsule with larvae nearly ready to emerge; capsule's escape aperture is at the top.

Figura 1. Ovicápsulas de *Kelletia kelletii*. (a) *K. kelletii* vivo con ovicápsulas ovipositadas en su concha. (b) Cápsula de un solo huevo con larvas casi listas para emerger; la apertura de escape de la cápsula está en la parte superior.

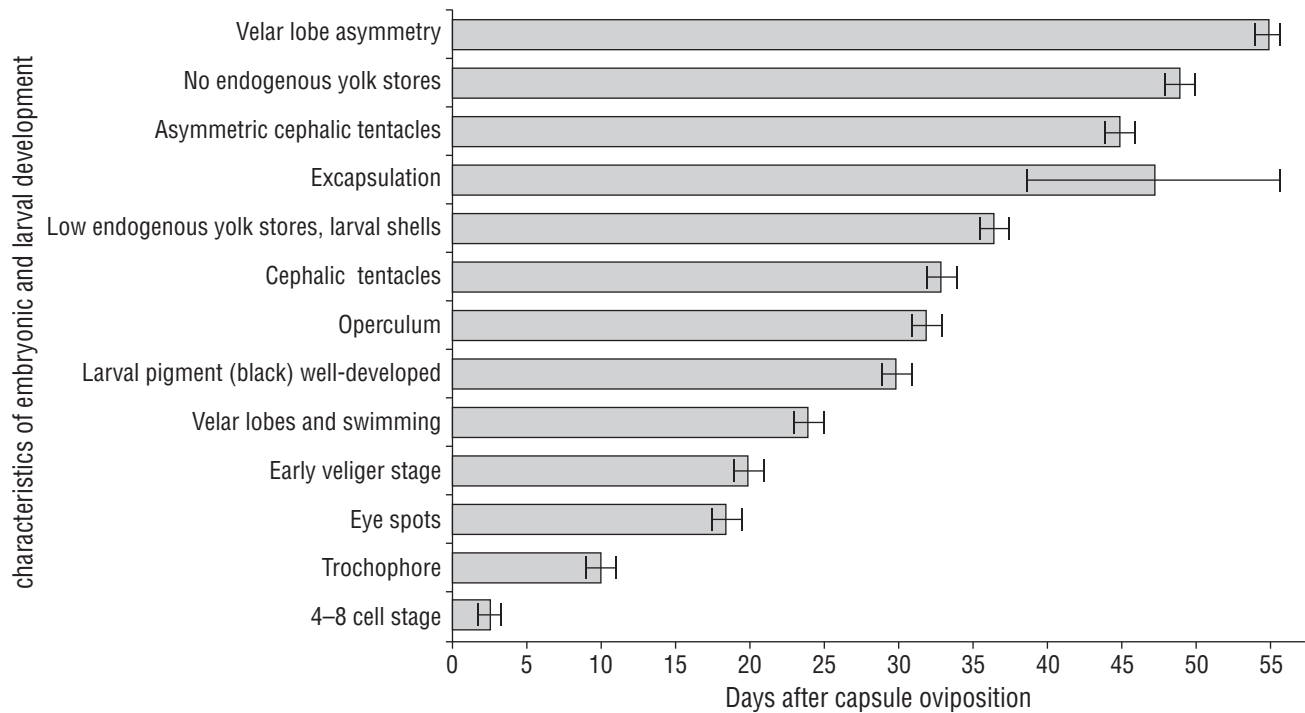


Figure 2. Characteristics of embryonic and larval development in *Kelletia kelletii* in aquaria at 13–16 °C beginning at oviposition (day 0). Error bars indicate mean ± SD. Graph design inspired by Horwitz et al. 2017.

Figura 2. Características del desarrollo embrionario y larvario en *Kelletia kelletii* en acuarios a 13–16 °C a partir de la oviposición (día 0). Las barras de error indican la media ± desviación estándar. Diseño gráfico inspirado en Horwitz et al. 2017.

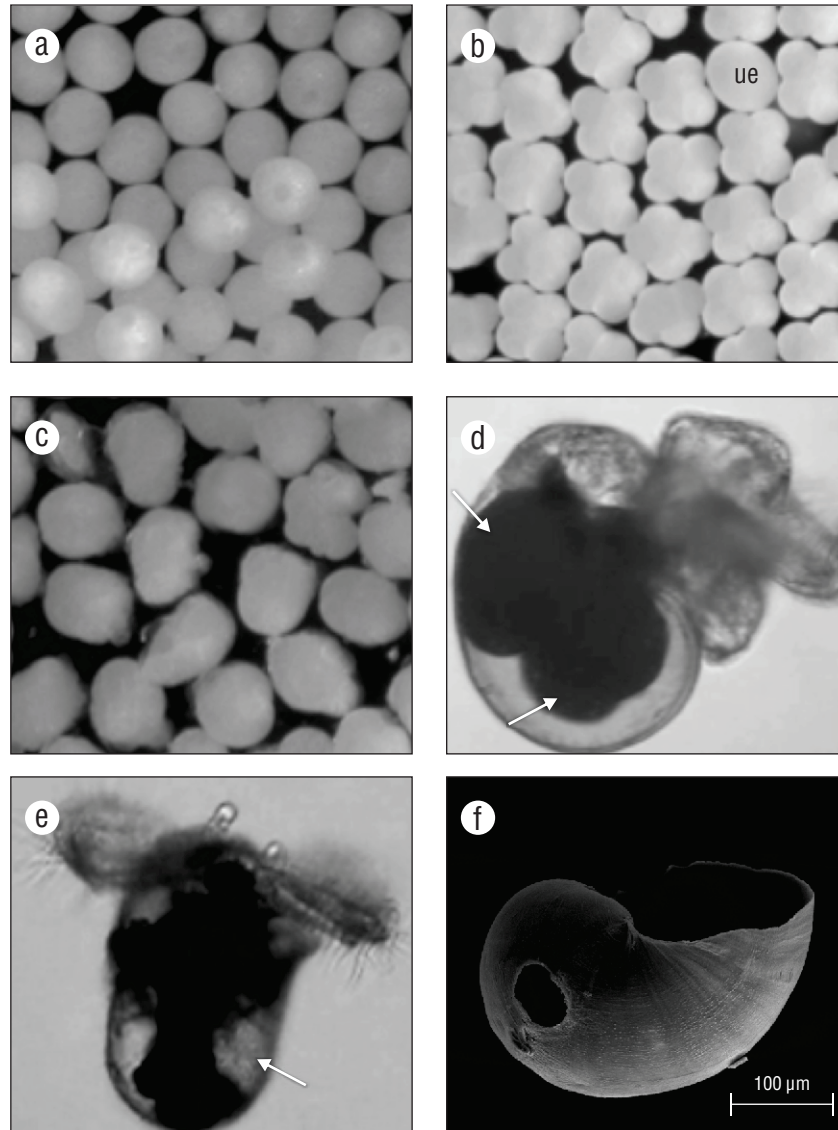


Figure 3. *Kelletia kelletii* embryonic and larval stages. (a) Zygote; (b) 4–8 cell stage (ue: egg or undeveloped embryo); (c) post-gastrula to trochophore stage; (d) encapsulated veliger (pre-hatching), with arrows indicating large endogenous yolk reserves; (e) excapsulated veliger (post-hatching), with arrow indicating low endogenous yolk reserve; and (f) SEM micrograph of late pre-hatching larval shell with brittle edges and hole due to poor mineralization.

Figura 3. Etapas embrionarias y larvarias de *Kelletia kelletii*. (a) cigoto; (b) estadio de 4–8 células (ue: huevo o embrión no desarrollado); (c) etapa postgástrula a trocóforo; (d) velígera encapsulada (pre-eclosión), con flechas que indican grandes reservas vitelinas endógenas; (e) velígera descapsulada (post-eclosión), con una flecha que indica la baja reserva vitelina endógena; y (f) micrografía mediante microscopía electrónica de barrido de la concha larvaria de pre-cria tardía con bordes quebradizos y un agujero debido a una mineralización deficiente.

are capable of particle capture and transport in addition to swimming. Before veligers naturally hatched from their capsules, they used the velum to swim within the albumen of the capsule. All veligers that could swim outside of the capsule whether naturally hatched or excapsulated by hand were phototactic. Before and after natural excapsulation, while yolk reserves were present, veligers could pull micro-particles from the water into the food groove of either velar lobe, but the particles would not be ingested; they would travel toward the mouth (Fig. 4) and be expelled down the foot.

4–8 células fue evidente a los 2–3 d (Fig. 2, 3b). La postgástrula se desarrolló a trocófora entre los 9 y 11 d (Fig. 3c). En la etapa tardía de la trocófora, los embriones rotaban lentamente dentro de las cápsulas. A los 18–19 d, había manchas oculares y algunas larvas tenían pigmento negro. A los 19–21 d, la presencia de velígeras tempranas era evidente; estas estaban muy compactas y tenían una concha larvaria, un velo y un riñón larvario de color rojo. Después de 21 d, las velígeras mostraban movimiento ciliar y el pigmento negro se había convertido en un anillo prominente

Asymmetrical development

Prior to hatching, veliger velar lobes were of equal size but cephalic tentacles were not (Fig. 5a, b). In all observed veligers, the right tentacle was longer than its counterpart on the left. By at least 50 d old or 2.5 weeks in the plankton, depending on the date of excapsulation, velar lobes were also asymmetrical, with the larva's right lobe larger than its left (Fig. 5c).

Undeveloped eggs, yolk reserves, and particle ingestion

Undeveloped or developmentally arrested embryos comprised 2.5%–38% of intracapsular individuals. In all dissected capsules ($n = 65$) there was a proportion of eggs/embryos that did not match the developmental stage of the majority of individuals in the capsule. This was true as early as the 4-cell stage as well as at veliger excapsulation. Undeveloped eggs were neither damaged nor were they in any stage of disintegration in all capsules examined, indicating that they had not been damaged or eaten by developing larvae. Observations through transparent capsules confirmed that trochophore and veliger larvae did not eat or disturb undeveloped eggs and embryos as they would have if these were nutritive material such as nurse eggs. Intracapsular embryos and veligers were fed by endogenous egg stores and possibly ingested protein-rich albumen.

Prior to hatching, bright yellow endogenous yolk reserves filled most of the veliger larval shell (Fig. 3d). Yolk was distributed into 1 or 2 ball-shaped reserves visible through the translucent shell. If veligers were excapsulated while yolk reserves were abundant, they would not ingest micro-particles. If micro-particles were introduced to an excapsulated pre-hatchling veliger, the pigment particles would get caught in the velar lobes, settle in the food groove, and move toward the mouth where they would be expelled down the ciliated foot. Veligers did not ingest particles unless their yolk stores were depleted (e.g., in some cases at 18 d in the plankton). Ingestion of micro-particles was confirmed by the bright color of the DayGlo micro-particles visible within the gut.

Larval shell morphology

Shells of late pre-hatching intracapsular veligers were thin, brittle, and often had holes indicating poor shell mineralization (Fig. 3f). Shells of emergent veligers were similar to those of pre-hatchlings but were slightly more mineralized and not as brittle. Between day 13 and 15 as a veliger, larval shells were fully mineralized and growth lines were evident (Fig. 6a, b, c). Late stage veligers at or near 20 d as excapsulated swimming veligers had a larval shell apertural beak and the beginnings of a siphonal canal (proto-siphonal canal) (Fig. 5c, 6c). In shells of veligers of different ages, bead-like micro-protuberances were evident up to the apertural margin (Fig. 6d, e, f). The maximum diameter of *K. kelletii*

alrededor del margen de la concha. A los 23–25 d después de la oviposición, las velígeras nadaban activamente dentro de la cápsula con pequeños lóbulos velares. A los 27 d, las velígeras, si eran descapsuladas, eran fototáxicas, nadaban hábilmente y tenían 2 esferas vitelinas endógenas en su concha (Fig. 3d). A los 30 d, las velígeras tenían un pigmento negro bien desarrollado. Su opérculo era obvio a los 32 d. A los 33 d, los tentáculos cefálicos estaban presentes y las velígeras liberaban un exudado granulado. A los 36–37 d, la reserva vitelina era pequeña o ausente, las cochas larvarias tenían agujeros y no estaban completamente mineralizadas (Fig. 3e, f), y muchas velígeras casi rompían el tapón capsular. Si eran descapsuladas en este momento, las velígeras no ingerían micropartículas. A los 38–55 d, las velígeras emergieron de sus cápsulas como velígeras planctónicas fototáxicas, algunas con pequeñas reservas vitelinas endógenas en sus conchas, algunas con agujeros en sus conchas y todas con pigmento negro en el pie. A los 45 d, las velígeras nadadoras tenían tentáculos cefálicos asimétricos. A los 49 d, no había reservas vitelinas endógenas dentro de las conchas de la mayoría de las velígeras. A los 53–54 d, los lóbulos velares eran notablemente asimétricos. A los 69 d, las velígeras podían ingerir micropartículas atrapándolas en sus lóbulos velares y llevándolas hacia la boca. A los 82 d después de la puesta de la ovicápsula, pocas velígeras nadadoras estaban vivas sin una fuente de alimento.

Forma y función del velo

Los experimentos de alimentación indican que los cilios de bandas opuestas (el prototroca y metatroca) de los lóbulos velares de *K. kelletii* son capaces de capturar y transportar partículas además de ser natorias. Antes de que las velígeras eclosionaran naturalmente de sus cápsulas, usaban el velo para nadar dentro de la albúmina de la cápsula. Todas las velígeras que podían nadar fuera de la cápsula, tanto las que eclosionaron de forma natural como las que fueron descapsuladas a mano, eran fototáxicas. Antes y después de la descapsulación natural, mientras las reservas vitelinas estuvieran presentes, las velígeras podían extraer micropartículas del agua hacia el surco alimentario de cualquiera de los lóbulos velares, pero las partículas no eran ingeridas; viajaban hacia la boca (Fig. 4) y eran expulsadas por el pie.

Desarrollo asimétrico

Antes de la eclosión, los lóbulos velares de las velígeras eran del mismo tamaño, pero los tentáculos cefálicos no (Fig. 5a, b). En todas las velígeras observadas, el tentáculo derecho era más largo que su contraparte izquierda. A por lo menos 50 d de edad o a las 2.5 semanas en el plancton, dependiendo de la fecha de descapsulación, los lóbulos velares también eran asimétricos, con el lóbulo derecho de la larva más grande que el izquierdo (Fig. 5c).

larval shells was 0.407 mm ($n = 10$) in apical view. However, overall size varied within capsules and cohorts were not always at the same stage of shell development and calcification, especially as pre-hatchlings and early-stage emerged veligers.

DISCUSSION

Many observations of *K. kelleitii* reported here are consistent with those documented elsewhere (e.g., by MacGinitie and MacGinitie 1949, Rosenthal 1970, Morris et al. 1980, Zacherl et al. 2003, Zacherl 2005, Romero et al. 2012, Rodriguez 2017, Wilson 2017). For example, larvae are non-feeding within their egg capsules, excapsulated larvae swim and feed in the plankton as veligers, and excapsulated larvae are phototactic. Notably, several observations of larval morphology and development are reported here for the first time: all examined egg capsules included developmentally arrested or non-fertilized eggs; after emergence from their capsule,

Huevos sin desarrollar, reservas vitelinas e ingestión de partículas

Los embriones no desarrollados o detenidos en el desarrollo correspondieron al 2.5%–38% de los individuos intracapsulares. En todas las cápsulas diseccionadas ($n = 65$) hubo una proporción de óvulos/embriones que no coincidió con el estadio de desarrollo de la mayoría de los individuos en la cápsula. Esto ocurrió desde etapas tan tempranas como la etapa de 4 células, así como en la descapsulación de velígeras. Los huevos no desarrollados no estaban dañados ni presentaron ninguna etapa de desintegración en todas las cápsulas examinadas, lo que indica que no habían sido dañados ni comidos por las larvas en desarrollo. Las observaciones a través las de cápsulas transparentes confirmaron que las larvas trocóforas y velígeras no comían ni perturbaban los huevos y embriones no desarrollados como lo hubieran hecho si estos tuvieran material nutritivo, como los huevos nodriza. Los embriones intracapsulares y las velígeras fueron

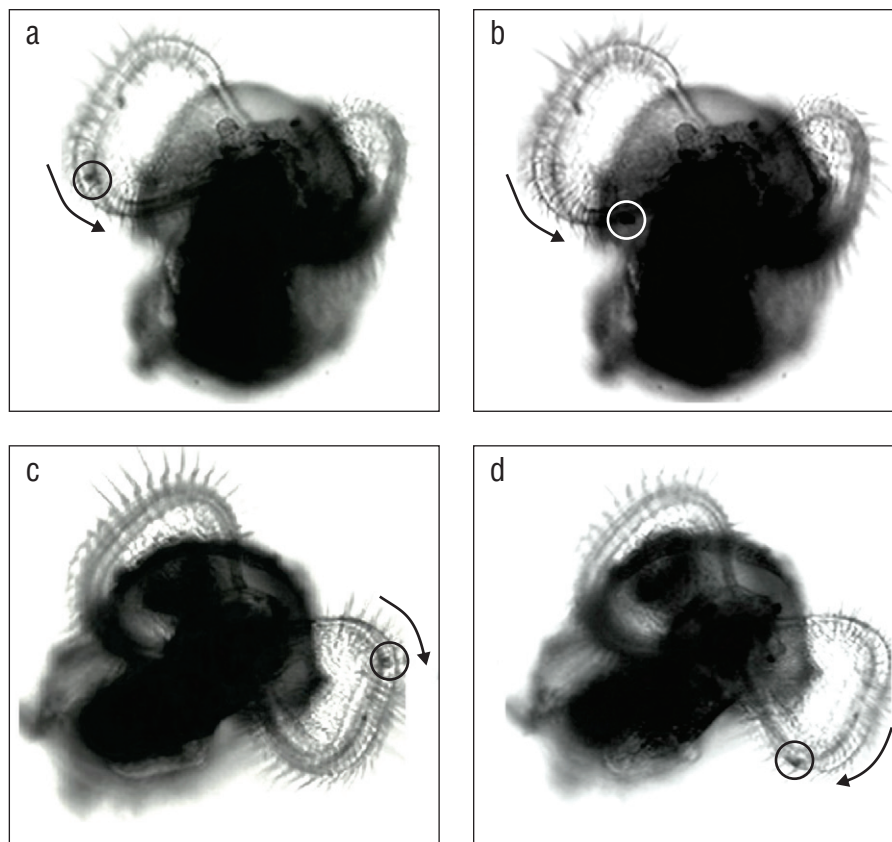


Figure 4. Particle capture and transport through the velar food groove in *Kelleitia kelleitii* veligers. Images were isolated from digital videos. Arrows indicate direction of particle movement. (a, b) Particle capture and counterclockwise movement in the right velar lobe of a post-hatched veliger. (c, d) Particle capture and clockwise movement in the left velar lobe of a post-hatched veliger.

Figura 4. Captura y transporte de partículas a través del surco alimentario del velo en velígeras de *Kelleitia kelleitii*. Las imágenes se aislaron de los videos digitales. Las flechas indican la dirección del movimiento de las partículas. (a, b) Captura de partículas y movimiento en sentido contrario a las agujas del reloj en el lóbulo velar derecho de una velígera post-eclosionada. (c, d) Captura de partículas y movimiento en el sentido de las agujas del reloj en el lóbulo velar izquierdo de una velígera post-eclosionada.

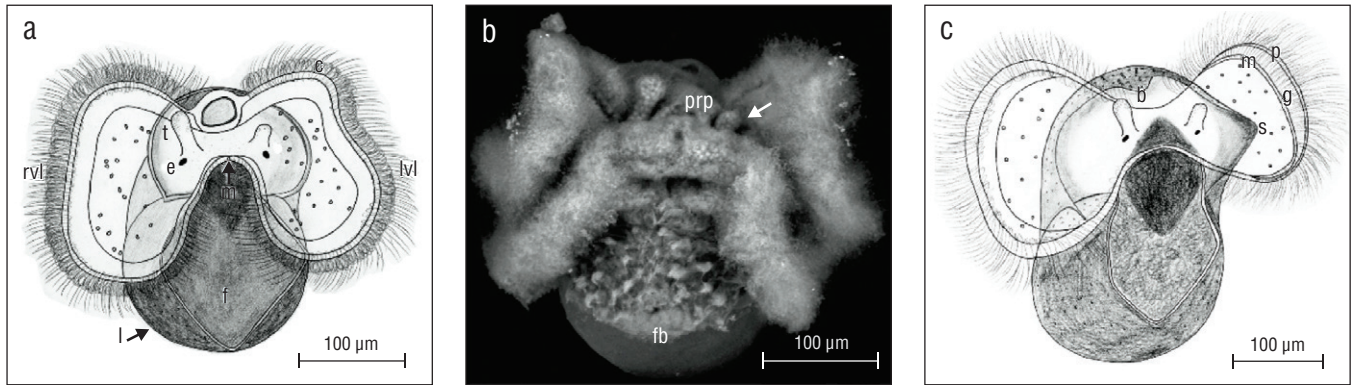


Figure 5. *Kelletia kelletii* veliger larvae at 2 weeks prior to hatching (a, b) and 2 weeks after hatching (c). (a) Veliger showing symmetrical velar lobes and asymmetrical cephalic tentacles; abbreviations: c, velar cilia; rvl, right velar lobe; lvl, left velar lobe; t, cephalic tentacle; e, eye; m, mouth; f, ciliated foot; l, larval shell. (b) SEM micrograph of veliger. Arrow indicates smaller left cephalic tentacle; abbreviations: prp, post-oral ciliary patch; fb, foot bristles. (c) Veliger showing asymmetrical velar lobes and asymmetrical cephalic tentacles; abbreviations: b, larval shell beak; g, food groove; s, proto-siphonal canal; p, prototroch; m, metatroch.

Figura 5. Larvas veligeras de *Kelletia kelletii* 2 semanas antes de la eclosión (a, b) y 2 semanas después de la eclosión (c). (a) Velígera que muestra lóbulos velares simétricos y tentáculos cefálicos asimétricos; abreviaturas: c, cilios velares; rvl, lóbulo velar derecho; lvl, lóbulo velar izquierdo; t, tentáculo cefálico; e, ojo; m, boca; f, pie ciliado; l, concha larval. (b) Micrografía de velígera mediante microscopía electrónica de barrido. La flecha indica tentáculo cefálico izquierdo más pequeño; abreviaturas: prp, parche ciliar post-oral; fb, cerdas de pie. (c) Velígera que muestra lóbulos velares asimétricos y tentáculos cefálicos asimétricos; abreviaturas: b, pico de concha larvaria; g, surco alimentario; s, canal proto-sifonal; p, prototroca; m, metatroca.

veligers fed on micro-particles only after their endogenous yolk stores were depleted; early larval shells were not fully mineralized; and excapsulated veligers had asymmetrical cephalic tentacles and velar lobes.

The substantial range in excapsulation timing in this study, from 39 to 55 d at 13–16 °C compared to 30–34 d at 14.5–17.5 °C in other studies (Rosenthal 1970, Zacherl et al. 2003), could be due to the cooler water temperatures maintained in this study as well as the minimal water disturbance in parts of the aquarium, which seemed to allow plugging of the capsule escape aperture with masses of undeveloped eggs. In areas of the aquarium that were better aerated and had greater water disturbance, veliger excapsulation was assisted by the water's agitation of the capsules. In still seawater, e.g., in a glass beaker, it was not uncommon for veligers to hatch after 45 d or more and for many intracapsular veligers to die inside of the capsule.

The asymmetrical development of velar lobes in late-stage *K. kelletii* veligers may counterbalance asymmetrical shell development, which, at that time, includes a proto-siphonal canal. This shell extension is opposite the larger right velar lobe, and when this feature is absent (as in younger veligers), the velar lobes are equal in size. Unequal velar lobes in swimming veligers with asymmetrical shell development has also been observed in other gastropods, including *Echinolittorina hawaiiensis* (Rosewater & Kadolsky, 1981) [formerly *Littorina picta*] (Struhsaker and Costlow 1968). In veligers, right cephalic tentacles that are larger than the left during some stage of larval development have also been observed in other marine snails (e.g., *Thais chocolata*

alimentados por reservas vitelinas endógenas y posiblemente ingirieron albúmina rica en proteínas.

Antes de la eclosión, las reservas vitelinas endógenas de color amarillo brillante ocupaban la mayor parte de la concha larvaria de las velígeras (Fig. 3d). El vitelo se distribuyó en 1 o 2 reservas en forma de esfera que eran visibles a través de la concha translúcida. Si las velígeras eran descapsuladas cuando las reservas vitelinas eran abundantes, estas no ingerían micropartículas. Si se introducían micropartículas a una velígera pre-cría descapsulada, las partículas de pigmento quedaban atrapadas en los lóbulos velares, se asentaban en el surco alimentario y se movían hacia la boca donde eran expulsadas por el pie ciliado. Las velígeras no ingirieron partículas a menos que sus reservas vitelinas se agotaran (e.g., en algunos casos a los 18 d en el plancton). La ingestión de micropartículas fue confirmada por el color brillante de las micropartículas DayGlo visibles dentro del intestino.

Morfología de la concha larvaria

Las conchas de las velígeras intracapsulares tardías pre-eclosionadas eran delgadas, quebradizas y, a menudo, tenían agujeros que indicaban una pobre mineralización de la concha (Fig. 3f). Las conchas de las velígeras emergentes eran similares a las de las pre-crias, pero estaban un poco más mineralizadas y no eran tan quebradizas. Entre los días 13 y 15 como velígeras, las conchas larvarias estaban completamente mineralizadas y las líneas de crecimiento eran evidentes (Fig. 6a, b, c). A los 20 d, o cerca de los 20 d, las velígeras en etapa tardía eran velígeras nadadoras descapsuladas que

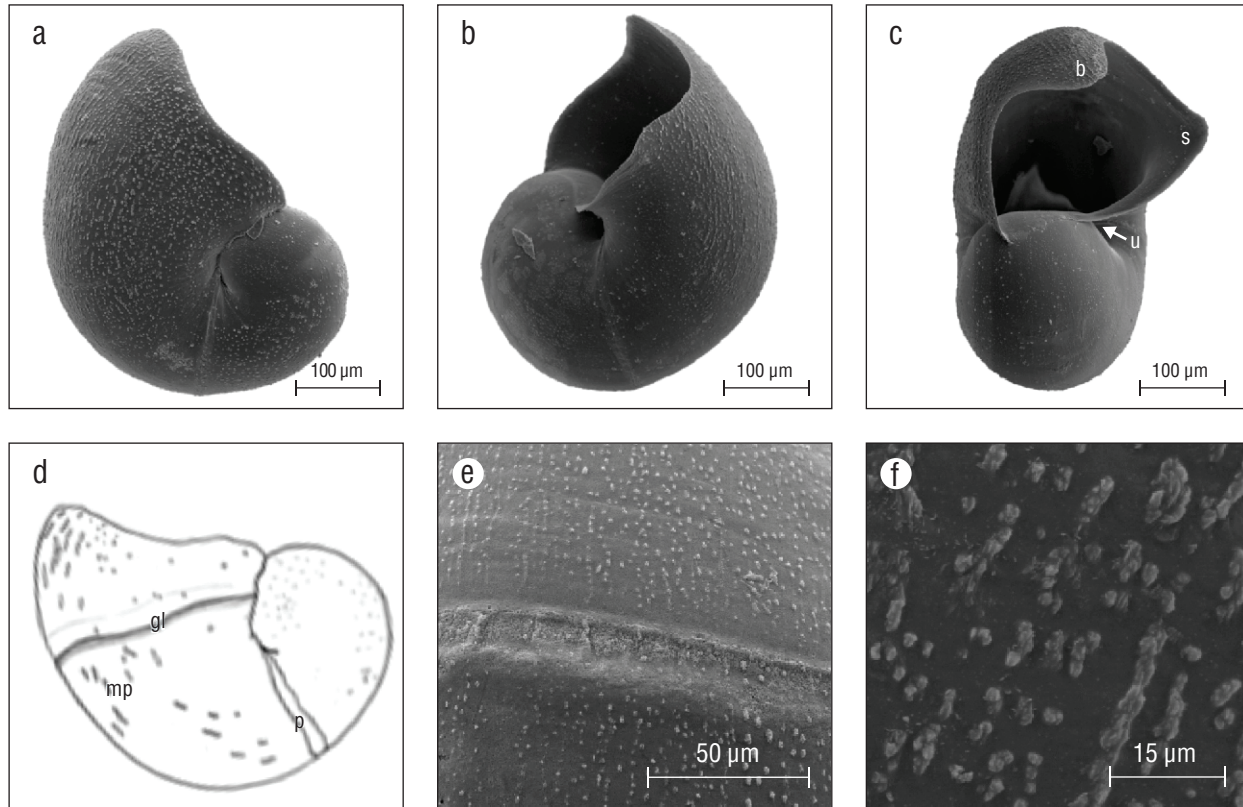


Figure 6. *Kelletia kelleitii* larval shells. (a–c) SEM micrographs of larval shells of veliger larvae 2 weeks after hatching, (d) line drawing of late-stage veliger shells with labeled features, (e) SEM micrograph of protoconch 1 boundary, and (f) SEM micrograph of larval shell micro-protuberances. Abbreviations: b, apertural beak; u, umbilicus; s, proto-siphonal canal; gl, shell boundary indicating shell size at hatching; mp, bead-like micro-protuberances; p: boundary/break in growth of protoconch 1.

Figura 6. Conchas larvares de *Kelletia kelleitii*. (a–c) Micrografías de la microscopía electrónica de barrido (MEB) de conchas larvares de larvas velígeras 2 semanas después de la eclosión, (d) dibujo lineal de conchas velígeras en etapa tardía con etiquetas de las características, (e) micrografía MEB del límite de la protoconcha 1 y (f) micrografía MEB de micro-protuberancias de la concha larvaria. Abreviaturas: b, pico de apertura; u, ombligo; s, canal proto-sifonal; gl, límite de la concha que indica el tamaño de la concha al momento de la eclosión; mp, microprotuberancias en forma redondeada; p: límite/ruptura en el crecimiento de la protoconcha 1.

(Duclos, 1832) (Romero et al. 2004) and *Amphissa versicolor* Dall, 1871 (Page and Parries 2000).

Dense taxon sampling is necessary within the Buccinidae, and other gastropod groups, for phylogenetic analyses that can elucidate the evolution and distribution of larval developmental mode (Collin and Moran 2018). Of course, such studies are only as good as the larval data examined with the phylogeny. Therefore, detailed data for this species, and others, of larval developmental timing, morphology, nutritive eggs, and intracapsular and extracapsular feeding mode are essential to inferring homology, understanding ancestral versus derived character states (Collin and Moran 2018), and making novel insights about evolutionary patterns in larval evolution.

ACKNOWLEDGMENTS

Funding from the UC Berkeley Department of Integrative Biology and Sigma Xi made this study possible. The author

tenían un pico de apertura en la concha larvaria y el comienzo de un canal sifonal (canal proto-sifonal) (Fig. 5c, 6c). En las conchas de las velígeras de diferentes edades, se evidenciaron microprotuberancias con forma redondeada hasta el margen de apertura (Fig. 6d, e, f). El diámetro máximo de las conchas larvares de *K. kelleitii* fue 0.407 mm ($n = 10$) en vista apical. Sin embargo, el tamaño general varió entre los individuos dentro de las cápsulas y las cohortes no siempre presentaron la misma etapa de desarrollo y calcificación de la concha, especialmente las velígeras pre-crías y las emergidas en estadios tempranos.

DISCUSIÓN

Muchas observaciones de *K. kelleitii* reportadas aquí son consistentes con las documentadas en otros estudios (e.g., por MacGinitie y MacGinitie 1949, Rosenthal 1970, Morris et al. 1980, Zacherl et al. 2003, Zacherl 2005, Romero et al. 2012, Rodríguez 2017, Wilson 2017). Por ejemplo, las larvas

is grateful to Ray Thompson (Memorial University, Canada) and Oscar Chaparro (Universidad Austral de Chile, Chile) for referring me to the DayGlo Company of Ohio who produced the micro-particles used in larval feeding experiments. For larval relaxation techniques, the advice and protocols of Louise Page (University of Victoria, Canada) were invaluable, as were conversations with Janice Voltzow (University of Scranton, PA) and Carole Hickman (UC Berkeley). Thanks as well to Kent McDonald, Guangwei Min, and Reena Zalpuri at The Robert D. Ogg Electron Microscope Laboratory at UC Berkeley for assistance with larval specimen manipulation, critical point drying, and SEM imaging. Tim Herrlinger (UC Berkeley) and Shane Anderson (UC Santa Barbara) collected all specimens, for which I am sincerely grateful. The careful edits and suggestions of 2 anonymous reviewers greatly improved this paper.

REFERENCES

- Buckland-Nicks J, Gibson G, Koss R. 2002. Phylum Mollusca: Gastropoda. In: Young CM, Sewell MA, Rice ME (eds.), Atlas of Marine Invertebrate Larvae. New York (USA): Academic Press. 640 p.
- Collin R, Moran A. 2018. Evolutionary transitions in mode of development. In: Carrier TJ, Reitzel AM, Heyland A (eds.), Evolutionary Ecology of Marine Invertebrate Larvae. UK: Oxford University Press. p. 50–66.
<https://doi.org/10.1093/oso/9780198786962.003.0004>
- Herrlinger TJ. 1981. Range extension of *Kelletia kelletii*. *Veliger*. 24(1):78.
- Horwitz R, Jackson MD, Mills SC. 2017. The embryonic life history of the tropical sea hare *Stylocheilus striatus* (Gastropoda: Opisthobranchia) under ambient and elevated ocean temperatures. *PeerJ*. 5:e2956.
<https://doi.org/10.7717/peerj.2956>
- [Image J] Image Processing and Analysis in Java. 2004. Image J. Bethesda (Maryland, USA): National Institutes of Health; accessed 1997–2018. <http://rsb.info.nih.gov/ij/>
- Lonhart SI. 2001. An invasive whelk as predator and prey: the ecology of *Kelletia kelletii* in Monterey Bay, California [dissertation]. [Santa Cruz (California)]: University of California. 228 p.
- MacGinitie GE, MacGinitie N. 1949. Natural History of Marine Animals 2nd ed. New York: McGraw-Hill. 512 p.
- McLean JH. 1978. Marine Shells of Southern California. 2nd ed. Science Series 24(11). Los Angeles (California): Natural History Museum of Los Angeles County. 104 p.
- Miloslavich P, Penchaszadeh PE. 1994. Spawn and development of *Engoniophos uncinatus* (Say, 1825) (Gastropoda: Prosobranchia) from the southern Caribbean Sea. *Veliger*. 37(4):425–429.
- Morris RH, Abbott DP, Haderlie EC. 1980. Intertidal Invertebrates of California. California: Stanford Press. 928 p.
- Page LR, Parries SC. 2000. Comparative study of the apical ganglion in planktotrophic caenogastropod larvae: ultrastructure and immunoreactivity to serotonin. *J Comp Neurol*. 418(4):383–401.
[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9861\(20000320\)418:4<383::aid-cne2>3.0.co;2-b](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9861(20000320)418:4<383::aid-cne2>3.0.co;2-b)
- Pearce JB, Thorson G. 1967. The feeding and reproductive biology of the red whelk, *Neptunea antiqua* (L.) (Gastropoda, Prosobranchia). *Ophelia*. 4(2):277–314.
<https://doi.org/10.1080/00785326.1967.10409624>
- no se alimentan dentro de sus ovicápsulas, las larvas descapsuladas nadan y se alimentan en el plancton como velígeras y las larvas desxcapsuladas son fototáxicas. Cabe destacar que aquí se informan por primera vez varias observaciones de la morfología y el desarrollo de las larvas: todas las ovicápsulas examinadas incluían huevos con un desarrollo detenido o no fertilizados; después de emerger de sus cápsulas, las velígeras se alimentaron de micropartículas solo cuando habían agotado sus reservas vitelinas endógenas; las conchas larvianas tempranas no estaban completamente mineralizadas; y las velígeras descapsuladas tenían tentáculos cefálicos y lóbulos velares asimétricos.
- El extenso intervalo en el tiempo de descapsulación observado en este estudio, de 39 a 55 d con una temperatura de 13–16 °C en comparación con los 30–34 d con una temperatura de a 14.5–17.5 °C observado en otros estudios (Rosenthal 1970, Zacherl et al. 2003), podría deberse a las temperaturas más frías que se mantuvieron en este estudio y a la mínima perturbación del agua en algunas partes del acuario, lo que pareció permitir la obstrucción de la apertura de escape de la cápsula con masas de huevos no desarrollados. En las áreas del acuario que estaban mejor aireadas y tenían una mayor perturbación del agua, la descapsulación de las velígeras fue asistida por la agitación de las cápsulas ocasionada por el agua. En agua sin movimiento, e.g., en un vaso de precipitado de vidrio, fue común que las velígeras eclosionaran después de 45 d o más y que muchas velígeras intracapsulares murieran dentro de la cápsula.
- El desarrollo asimétrico de los lóbulos velares en las velígeras de *K. kelletii* en etapa tardía puede contrarrestar el desarrollo asimétrico de la concha, el cual, en ese momento, incluye un canal proto-sifonal. Esta extensión de la concha se encuentra opuesta al lóbulo velar derecho, que es de mayor tamaño, y cuando esta característica está ausente (como en las velígeras más jóvenes), los lóbulos velares presentan el mismo tamaño. También se han observado lóbulos velares desiguales en velígeras nadadoras con un desarrollo asimétrico de la concha en otros gasterópodos, como *Echinolittorina hawaiiensis* (Rosewater & Kadolsky, 1981) [antes *Littorina picta*] (Struhsaker y Costlow 1968). En velígeras, también se han observado tentáculos cefálicos que son más grandes en el lado derecho que en el izquierdo durante alguna etapa del desarrollo larvario en otros caracoles marinos (e.g., *Thais chocolata* (Duclos, 1832) (Romero et al. 2004) y *Amphissa versicolor* (Dall, 1871) (Page y Parries 2000).
- Se requiere un muestreo de taxones denso dentro de los Buccinidae, y otros grupos de gasterópodos, para los análisis filogenéticos que puedan dilucidar la evolución y la distribución del modo de desarrollo larvario (Collin y Moran 2018). Por supuesto, estos estudios solo son tan buenos como los datos larvarios examinados con la filogenia. Por lo tanto, los datos detallados para esta especie, y otras, sobre el tiempo de desarrollo de las larvas, la morfología, los huevos nutritivos y el modo de alimentación intracapsular y extracapsular son

- Pechenik JA. 1979. Role of encapsulation in invertebrate life histories. *Am Nat.* 114(6):859–870.
<https://doi.org/10.1086/283533>
- Pedersen RVK, Page LR. 2000. Development and metamorphosis of the planktotrophic larvae of the moon snail, *Polinices lewisii* (Gould, 1847) (Caenogastropoda: Naticoidea). *Veliger.* 43(1):58–63.
- Power AJ, Keegan BF. 2001. The significance of imposex levels and TBT contamination in the red whelk, *Neptunea antiqua* (L.) from the offshore Irish Sea. *Mar Pollut Bull.* 42(9):761–772.
[https://doi.org/10.1016/s0025-326x\(00\)00221-6](https://doi.org/10.1016/s0025-326x(00)00221-6)
- Rodriguez KN. 2017. Linking large scale ocean-atmospheric patterns with recruitment in Kelle's whelk (*Kelletia kelletii*). [Undergraduate Senior Project]. [San Luis Obispo (California)]: Biological Sciences Department California Polytechnic State University. 19 p.
- Romero MS, Gallardo CS, Bellolio G. 2004. Egg laying and embryonic-larval development in the snail *Thais (Stramonita) chocolata* (Duclos, 1832) with observations on its evolutionary relationships within the Muricidae. *Mar Biol.* 145:681–692.
<https://doi.org/10.1007/s00227-004-1368-9>
- Romero MR, Walker KM, Cortez CJ, Sanchez Y, Nelson KJ, Ortega DC, Smick SL, Hoese WJ, Zacherl DC. 2012. Larval diel vertical migration of the marine gastropod *Kelletia kelletii* (Forbes, 1850). *J Mar Biol.* 2012:386575.
<https://doi.org/10.1155/2012/386575>
- Rosenthal RJ. 1970. Observations on the reproductive biology of the Kelle's whelk, *Kelletia kelletii* (Gastropoda Neptunidae). *Veliger.* 12(3):319–324.
- Struhsaker JW, Costlow JD Jr. 1968. Larval development of *Littorina picta* (Prosobranchia, Mesogastropoda), reared in the laboratory. *J Molluscan Stud.* 38(2):153–160.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.mollus.a065033>
- Tan KS, Morton B. 1998. The ecology of *Engina armillata* (Gastropoda: Buccinidae) in the Cape d'Aguilar Marine Reserve, Hong Kong, with particular reference to its preferred prey (Polychaeta: Serpulidae). *J Zool.* 244(3):391–403.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1998.tb00044.x>
- Thorson G. 1950. Reproductive and larval ecology of marine bottom invertebrates. *Biol Rev.* 25(1):1–45.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-185x.1950.tb00585.x>
- Wilson M. 2017. Understanding the transition from dispersive larva to benthic adult: A study of the environmental factors that impact *Kelletia kelletii* larval settlement. [Undergraduate Senior Project]. [San Luis Obispo (California)]: Biological Sciences Department California Polytechnic State University.
- esenciales para inferir la homología, comprender los estados de carácter ancestrales contra los derivados (Collin y Moran 2018) y generar nuevos conocimientos sobre patrones evolutivos en la evolución larvaria.

AGRADECIMIENTOS

Los fondos del Departamento de Biología Integrativa de UC Berkeley y Sigma Xi hicieron posible este estudio. El autor agradece a Ray Thompson (Memorial University, Canadá) y Oscar Chaparro (Universidad Austral de Chile, Chile) por recomendar la empresa DayGlo de Ohio, que produjo las micropartículas utilizadas en los experimentos de alimentación de larvas. Para las técnicas de relajación larvaria, los consejos y protocolos de Louise Page (Universidad de Victoria, Canadá) fueron invaluable, al igual que las conversaciones con Janice Voltzow (Universidad de Scranton, PA) y Carole Hickman (UC Berkeley). Gracias también a Kent McDonald, Guangwei Min y Reena Zalpuri del Laboratorio de Microscopios Electrónicos Robert D. Ogg en UC Berkeley por su ayuda con la manipulación de las muestras larvales, el secado de puntos críticos y las imágenes MEB. Tim Herrlinger (UC Berkeley) y Shane Anderson (UC Santa Barbara) recolectaron todos los especímenes, por lo cual estoy sinceramente agradecida. Las cuidadosas ediciones y sugerencias de 2 revisores anónimos mejoraron enormemente este documento.

Traducido al español por Claudia Michel-Villalobos.

- Zacherl DC. 2005. Spatial and temporal variation in statolith and protoconch trace elements as natural tags to track larval dispersal. *Mar Ecol Prog Ser.* 290:145–163.
<https://doi.org/10.3354/meps290145>
- Zacherl D, Gaines SD, Lonhart SI. 2003. The limits to biogeographical distributions: insights from the northward range extension of the marine snail, *Kelletia kelletii* (Forbes, 1852). *J Biogeogr.* 30(6):913–924.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2699.2003.00899.x>

Received February 2020,
 accepted August 2020.

The biodiversity of fishes at the Islas Marías Biosphere Reserve, Mexico, as determined by baited remote underwater video

Biodiversidad de peces en la Reserva de la Biosfera Islas Marías, México, determinada por video subacuático remoto cebado con carnada

Brittany Tholan¹, Peter Carlson¹, JJ Adolfo Tortolero-Langarica², James T Ketchum^{3,4}, Abel Trejo-Ramírez³, Erendira Aceves-Bueno⁵, Jennifer E Caselle^{1*}

¹ Marine Science Institute, University of California, Santa Barbara, Santa Barbara, CA, USA.

² Tecnológico Nacional de México/IT Bahía de Banderas, Bahía de Banderas, Nayarit, Mexico.

³ Pelagios-Kakunja-Marine Conservation, La Paz, Baja California Sur, Mexico.

⁴ Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, Baja California Sur, Mexico.

⁵ School of Marine and Environmental Affairs, University of Washington, Seattle, WA, USA.

* Corresponding author. E-mail: caselle@ucsb.edu

ABSTRACT. The Islas Marías Biosphere Reserve, made up of 4 islands in Pacific waters off central Mexico, supports a large diversity of marine life. However, scientific research was restricted for decades by the occupation of Isla María Madre by the Federal Penitentiary Colony of Mexico from 1905 to 2019. Aside from a list of coastal fish species published in 2011, little has been published about the fish biodiversity in the area. While the limited access to the archipelago may have acted as a *de-facto* marine reserve, there is evidence that fishing continued both legally for the benefit of the colony and illegally by trespassing vessels. In order to establish baseline ecological data for future conservation planning, we used baited remote underwater video (BRUV) surveys at all 4 islands during 3 expeditions to the archipelago in 2018. A total of 131 BRUV surveys representing ~150 h of footage were analyzed to create the most current compilation of species and abundance data on coastal marine fishes at Islas Marías. Ninety-nine species were identified, 3 of which were additions to the previous assessment. We found strong separation of fish communities based on both habitat and depth, and an association between hard-bottom habitats and high biodiversity of reef fishes. With the declaration of Islas Marías as a natural reserve and relocation of the prison in 2019, there is an opportunity for the reserve to become a priority area for marine conservation on the Pacific coast of Mexico. Spatial analyses of fish biodiversity at Isla María Cleofas can help develop sustainable management strategies at a time when the governmental jurisdiction of the iconic archipelago is uncertain.

Key words: Islas Marías Biosphere Reserve, BRUV, Tropical Eastern Pacific, marine conservation, biodiversity.

RESUMEN. La Reserva de la Biosfera Islas Marías, compuesta por 4 islas en aguas del Pacífico frente a la costa central mexicana, sustenta una gran diversidad de vida marina. Sin embargo, la investigación científica ha sido restringida durante décadas por la presencia de la colonia penal federal en isla María Madre desde 1905 hasta 2019. Además de una lista de especies de peces costeros publicada en 2011, se ha publicado poco sobre la biodiversidad de peces en el área. Si bien el acceso limitado al archipiélago pudo haber creado una reserva marina *de facto*, hay evidencia de que la pesca continuó, tanto legalmente para el beneficio de la colonia, como ilegalmente por embarcaciones externas. Con el fin de establecer datos ecológicos de referencia para futuros planes de conservación, en 2018 realizamos monitoreos mediante el uso de video subacuático remoto con carnada (BRUV, por sus siglas en inglés) durante 3 expediciones a las 4 islas. Las imágenes resultantes de 131 monitoreos con el sistema BRUV (~150 h) se analizaron para compilar una lista actualizada de especies y datos de abundancia de peces marinos costeros en islas Marías. Se identificaron 99 especies, 3 de las cuales fueron complementarias a la evaluación previa. Los resultados mostraron una fuerte separación de la comunidad de peces con base en el tipo de hábitat y la profundidad, así como una asociación entre hábitats de fondo duro y la alta diversidad de peces arrecifales. Con el decreto de islas Marías como reserva natural y la reubicación de la prisión en 2019, existe la oportunidad de que la reserva se convierta en un área prioritaria para la conservación marina en la costa mexicana del Pacífico. Los análisis espaciales de la biodiversidad en isla María Cleofas pueden ayudar en el desarrollo de estrategias de manejo sustentable ante la presente incertidumbre de jurisdicción gubernamental en este icónico archipiélago.

Palabras clave: Reserva de la Biosfera Islas Marías, BRUV, Pacífico Oriental Tropical, conservación marina, biodiversidad.

INTRODUCTION

The Tropical Eastern Pacific (TEP), a marine region that runs from the Gulf of California to northern Peru, is characterized by high endemism of coastal marine species on both regional and local scales because of its relative isolation (Briggs 1974, Grigg and Hey 1992, Allen and Robertson

INTRODUCCIÓN

El Pacífico Oriental Tropical (POT), una región marina que se extiende desde el golfo de California hasta el norte del Perú, se caracteriza por un alto endemismo de especies marinas costeras tanto a escala regional como a escala local debido a su relativo aislamiento (Briggs 1974, Grigg y Hey

1994, Hastings 2000, Hastings and Robertson 2001, Nasar et al. 2016). Many islands throughout this region have been identified as “stepping stones” of shallow water habitat, facilitating the movements and migrations of mobile fish species as well as larval dispersal throughout the TEP (Ketchum and Reyes-Bonilla 1997, 2001). The region is also home to many iconic species such as migratory sharks and sea turtles which are groups of conservation concern (CONANP-SEMARNAT 2010). In recognition of the importance of biodiversity in this region, several islands and archipelagos within the TEP have been the subject of recent conservation efforts (Ketchum and Reyes-Bonilla 1997, Jones 2013, Friedlander et al. 2019, Morales-de-Anda et al. 2020), while others remain virtually unstudied.

In this study we examine the biodiversity and community structure of fishes and the emergent habitat correlations at the uniquely positioned and largely understudied Islas Mariás (Mexico), an archipelago in the TEP. Also known as the Tres Mariás Islands, Islas Mariás is located ~132 km offshore of Nayarit state, in a position centrally located between northern and southern marine bioregions (Fig. 1) (Robertson and Cramer 2009, CONANP-SEMARNAT 2010). The archipelago’s high biodiversity and rates of endemism in both the marine and terrestrial realms attracted the attention of both national and international conservation groups, and it was declared a UNESCO World Heritage Site in 2010 following its designation as a Biosphere Reserve (Mexico) in 2000 (CONANP-SEMARNAT 2010, UNESCO 2012). However, the unique history of the archipelago may have restricted the exploitation of the abundant marine resources since long before the establishment of the reserve (CONANP-SEMARNAT 2010). The largest of the 4 islands, Isla María Madre, served as the site of the Federal Penitentiary of Mexico from 1905 to 2019, and the restricted access coupled with enforcement through military occupation may have functioned as a *de facto* marine reserve for all 4 islands (CONANP-SEMARNAT 2010, Times 2019). Despite this, 2 activities may have threatened the preservation of marine species at Islas Mariás. First, domestic fishing, “exclusively with manual lines and for the development of the Penitentiary Complex”, was permitted within certain zones of the Biosphere Reserve (CONANP-SEMARNAT 2011). Second, there is evidence of shark fishing at Islas Mariás in both recent (Pérez-Jiménez et al. 2005) and historical contexts, traceable back to the 1940s, and a high demand for shark liver oil (McGoodwin 1976).

Due to the long-time restricted nature of the archipelago, the available scientific research on the marine ecosystems of Islas Mariás is extremely limited (CONANP-SEMARNAT 2010). As the most recent census of fishes was published in 2011 (Erisman et al. 2011), the primary objective of this study was to establish basic ecological data (occurrence and abundance) for the coastal marine fishes of Islas Mariás. Baited remote underwater video (BRUV) surveys were chosen as

1992, Allen y Robertson 1994, Hastings 2000, Hastings y Robertson 2001, Nasar et al. 2016). Muchas islas de esta región han sido identificadas como “refugios de paso” de hábitat de agua poco profunda, ya que facilitan los movimientos y migraciones de especies de peces móviles, así como la dispersión de larvas a lo largo del POT (Ketchum y Reyes-Bonilla 1997, 2001). La región también alberga muchas especies icónicas, como tiburones y tortugas marinas migratorias, que son grupos de interés para la conservación (CONANP-SEMARNAT 2010). En reconocimiento a la importancia de la biodiversidad en esta región, varias islas y archipiélagos dentro del POT han sido el objeto de esfuerzos de conservación recientes (Ketchum y Reyes-Bonilla 1997, Jones 2013, Friedlander et al. 2019, Morales-de-Anda et al. 2020), mientras que otros sitios permanecen prácticamente sin estudiar.

En este estudio examinamos la biodiversidad y la estructura comunitaria de peces y las correlaciones de hábitats emergentes en islas Mariás (México), un archipiélago en el POT que tiene una posición única y que ha sido en gran parte poco estudiada. Las islas Mariás, también conocidas como las islas Tres Mariás, se ubican frente al estado de Nayarit ~132 km mar adentro, en una localización céntrica entre biorregiones marinas al norte y al sur (Fig. 1) (Robertson y Cramer 2009, CONANP-SEMARNAT 2010). La alta biodiversidad y las tasas de endemismo del archipiélago en los ámbitos marino y terrestre atrajeron la atención de grupos conservacionistas nacionales e internacionales, y fue declarado Patrimonio de la Humanidad por la UNESCO en 2010 tras su designación como Reserva de la Biosfera (México) en el año 2000 (CONANP-SEMARNAT 2010, UNESCO 2012). Sin embargo, la particular historia del archipiélago pudo haber restringido la explotación de los abundantes recursos marinos desde mucho antes del establecimiento de la reserva (CONANP-SEMARNAT 2010). La más grande de las 4 islas, isla María Madre, sirvió como el sitio de la Penitenciaría Federal de México de 1905 a 2019, y el acceso restringido junto con su implementación a través de la ocupación militar pudo haber funcionado como una reserva marina *de facto* para las 4 islas (CONANP-SEMARNAT 2010, Times 2019). A pesar de esto, 2 actividades pudieron haber amenazado la preservación de especies marinas en islas Mariás. En primer lugar, estaba permitida la pesca doméstica, “exclusivamente con líneas manuales y para el desarrollo del Complejo Penitenciario”, dentro de determinadas zonas de la Reserva de la Biosfera (CONANP-SEMARNAT 2011). En segundo lugar, existe evidencia de la pesca de tiburones en islas Mariás en contextos tanto recientes (Pérez-Jiménez et al. 2005) como históricos, que se remontan a la década de 1940, y una alta demanda de aceite de hígado de tiburón (McGoodwin 1976).

Debido al periodo prolongado del carácter restringido del archipiélago, la investigación científica existente sobre los ecosistemas marinos de islas Mariás es extremadamente limitada (CONANP-SEMARNAT 2010). Dado que el censo de

a non-invasive, easily repeatable method for evaluating fish populations (Harvey and Shortis 1996, MacNeil et al. 2020) in such a way that aims to maximize observations of large predators (i.e., sharks) that tend to avoid divers (Willis and Babcock 2000, Colton and Swearer 2010) and nocturnal predators that may be attracted to the bait (Bassett and Montgomery 2011). The secondary objective of this study was to examine the effects of habitat and depth on biodiversity and fish community assemblage. Considering previous assessments on community structure and biodiversity in the TEP (Aburto-Oropeza and Balart 2001, Charles and Denice 2002, Dominici-Arosemena and Wolff 2006, Palacios and Zapata 2014), we hypothesized that biodiversity would vary significantly between all habitat types (reef, patchy, cobble, sand, and water column) and that community assemblages at different habitats and depths would also prove significantly different from one another.

This study comes shortly after the declaration of Islas Marias as a natural preserve and conservation area in March 2019, which initiated the relocation of the federal penitentiary to the mainland (Rodríguez-Mega 2019). With the removal of the prison, there is an opportunity for Islas Marias to become a priority area for marine conservation efforts in Pacific waters off Mexico. Therefore, the final intention of this assessment is to inform future plans for protecting the marine areas and vital ecological interactions at Islas Marias.

MATERIALS AND METHODS

BRUV unit deployment

In 2018 three single-camera BRUV units were deployed repeatedly during 3 separate expeditions to Islas Marias in March ($n = 30$), June ($n = 52$), and late July/early August ($n = 49$). Each unit contained a GoPro Hero 4 video camera in underwater housing rated to 40 m and was baited with 1 kg of local reef fish, cut and contained within a semi-mesh bait canister to allow a bait plume to form (Fig. 2). By design, the units floated approximately 1 m off the substrate. BRUV surveys were allowed to record on the bottom for a soak time of approximately 60 min, although the soak time varied between videos and in all cases, the entirety of the video was viewed. In order to ensure independence of replicate surveys, BRUV units were positioned at least 700 m apart. While more testing is needed in the range of attraction of bait plumes, Cappo et al. (2004b) devised a formula using factors such as soak time, local currents, and the body lengths and swimming speeds of fishes. Considering those calculations (and a soak time of 60 min), the authors opted to space the BRUV units 450 m apart (Cappo et al. 2004b). The BRUV surveys were set at depths between 5 and 40 m during daylight hours (06:00 AM to 18:00 PM). In total, 131 BRUV drops were watched: 97 at María Cleofas, 12 at María Madre, 11 at María Magdalena, 6 at San Juanito, 4 in the channel

peces más reciente se publicó en 2011 (Erisman et al. 2011), el objetivo principal de este estudio fue establecer datos ecológicos básicos (ocurrencia y abundancia) de los peces marinos costeros de islas Marias. Se eligió el monitoreo con video subacuático remoto con carnada (BRUV, por sus siglas en inglés) como un método no invasivo y fácilmente repetible para evaluar las poblaciones de peces (Harvey y Shortis 1996, MacNeill et al. 2020) de tal manera que se maximizan las observaciones de grandes depredadores (i.e., tiburones) que tienden a evitar a los buzos (Willis y Babcock 2000, Colton y Swearer 2010) y de depredadores nocturnos que pueden ser atraídos por la carnada (Bassett y Montgomery 2011). El objetivo secundario de este estudio fue examinar los efectos del hábitat y la profundidad sobre la biodiversidad y las agrupaciones de las comunidades de peces. Considerando las evaluaciones previas sobre la estructura de las comunidades y la biodiversidad en el POT (Aburto-Oropeza y Balart 2001, Charles y Denice 2002, Dominici-Arosemena y Wolff 2006, Palacios y Zapata 2014), planteamos la hipótesis de que la biodiversidad variaría significativamente entre todos los tipos de hábitats (arrecifes, con parches, guijarros, arena y columna de agua) y que las agrupaciones de las comunidades en diferentes hábitats y profundidades también presentarían diferencias significativas entre sí.

Este estudio surge poco después de la declaración de islas Marias como reserva natural y área de conservación en marzo de 2019, que dio inicio al traslado de la Penitenciaría Federal al continente (Rodríguez-Mega 2019). Con la remoción de la prisión, islas Marias puede convertirse en un área prioritaria para los esfuerzos de conservación marina en las aguas del Pacífico frente a México. Por lo tanto, la intención final de esta evaluación es informar los planes futuros para proteger las áreas marinas y las interacciones ecológicas vitales en islas Marias.

MATERIALES Y MÉTODOS

Despliegue de la unidad BRUV

En 2018, se desplegaron repetidamente 3 unidades BRUV con cámara durante 3 expediciones diferentes a islas Marias en marzo ($n = 30$), junio ($n = 52$) y finales de julio/principios de agosto ($n = 49$). Cada unidad contenía una cámara de video GoPro Hero 4 en una carcasa submarina con capacidad de 40 m, y 1 kg de carnada de peces de arrecife locales, cortados y contenidos en un envase de carnada de semi-malla para permitir que se formara una pluma de carnada (Fig. 2). Por diseño, las unidades flotaban aproximadamente a 1 m del sustrato. Para el monitoreo con BRUV, se grabó en el fondo durante un tiempo de inmersión de aproximadamente 60 min, aunque el tiempo de inmersión varió entre los videos y, en todos los casos, se revisó la totalidad del video. Para garantizar la independencia de los monitoreos repetidos, las unidades BRUV se colocaron al menos a 700 m de distancia. Si bien se necesitan más pruebas para conocer

between San Juanito and María Madre, and 1 without GPS coordinates (Fig. 2). Of these, 9 did not observe any fish.

Video analysis

The videos recorded by the BRUV surveys were analyzed using SeaGIS EventMeasure v.5.32 software. All fishes observed were identified to the lowest taxonomic group according to Robertson and Allen (2015). In order to quantify fishes, we recorded the maximum number of individuals of a species present in a single frame (N_{max}) (Willis and Babcock 2000). Without the ability to discern individuals or distinguish multiple sightings of the same fish, N_{max} is typically used in BRUV analysis as a conservative measure of abundance (Willis and Babcock 2000). The mean video length was ~71 min and the mode was 64 min. There was no significant trend in the relationship between drop biodiversity and video length (as measured by bottom time).

In order to make comparisons between fish communities, one of 4 benthic habitat categories was assigned to each video based on the amount of rock visible. The “reef” category

el alcance de atracción de las plumas de carnada, Cappo et al. (2004b) idearon una ecuación utilizando factores como el tiempo de inmersión, las corrientes locales y la longitud del cuerpo y la velocidad de nado de los peces. Considerando esos cálculos (y un tiempo de inmersión de 60 min), los autores optaron por espaciar las unidades BRUV con 450 m entre cada unidad (Cappo et al. 2004b). Los monitoreos con BRUV se realizaron a profundidades de entre 5 y 40 m durante las horas luz (06:00 AM a 18:00 PM). En total, se revisaron 131 inmersiones de BRUV: 97 en María Cleofas, 12 en María Madre, 11 en María Magdalena, 6 en San Juanito, 4 en el canal entre San Juanito y María Madre y 1 sin coordenadas GPS (Fig. 2). De estas, en 9 no observó ningún pez.

Análisis de los videos

Los videos grabados durante los monitoreos con BRUV se analizaron utilizando el *software* SeaGIS EventMeasure v.5.32. Todos los peces observados fueron identificados al grupo taxonómico más bajo según Robertson y Allen (2015). Para cuantificar los peces, registramos el número máximo

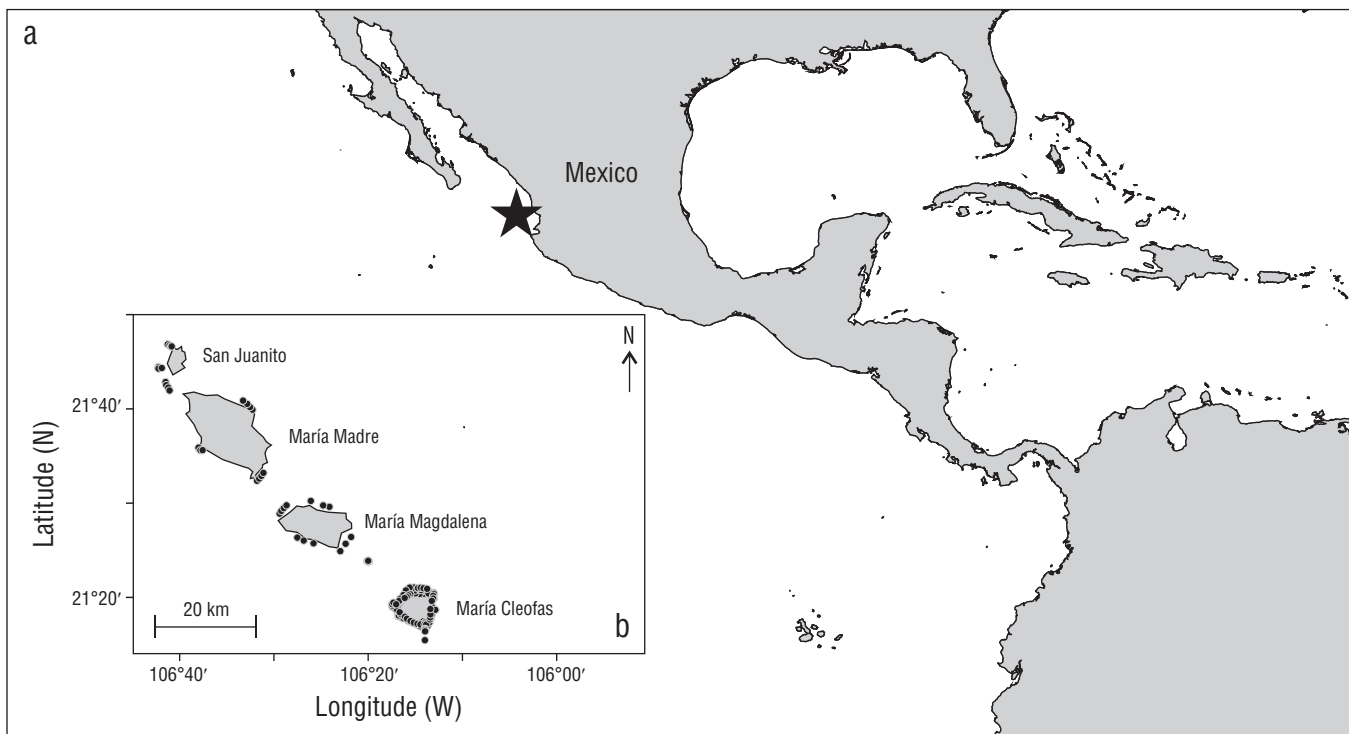


Figure 1. (a) A map of the Tropical Eastern Pacific (TEP) region, with the star representing the location of Islas Marias within the TEP. (b) The study location at Islas Marias Biosphere Reserve, Mexico. We analyzed 131 BRUV surveys from all 4 islands in the archipelago, but surveys were most spatially intensive at Isla María Cleofas, the southernmost island. Black dots represent the locations of all BRUV surveys.

Figura 1. (a) Un mapa de la región del Pacífico Oriental Tropical (POT). La estrella representa la ubicación de islas Marias dentro del POT. (b) La ubicación del estudio en la Reserva de la Biosfera Islas Marias, México. Analizamos 131 monitoreos con BRUV de las 4 islas del archipiélago, pero los monitoreos fueron espacialmente más intensivos en isla María Cleofas, la isla más al sur. Los puntos negros representan las ubicaciones de todos los monitoreos con BRUV.

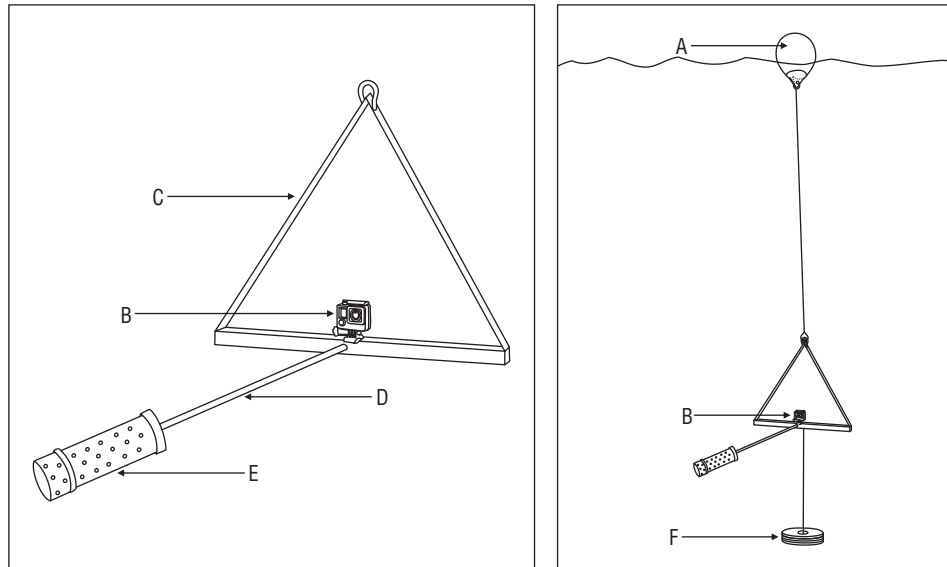


Figure 2. Diagram of the typical BRUV unit deployed at Islas Marias. A surface float (A) marks the location of each BRUV unit. The single camera (B) is a GoPro Hero 4 in underwater housing rating to 40 m. The camera is mounted to a metal frame (C). The bait arm (length = 1 m) (D) extends within view of the camera. Either a semi-mesh bait canister or mesh bait bag (E) contains 1 kg of local reef fish. An anchor (F) keeps the unit positioned ~1 m off the substrate.

Figura 2. Diagrama de la unidad BRUV típica desplegada en islas Marias. Un flotador de superficie (A) marca la ubicación de cada unidad BRUV. La cámara (B) es una GoPro Hero 4 con una carcasa subacuática con un alcance de hasta 40 m. La cámara está montada en un marco de metal (C). El brazo de la carnada (longitud = 1 m) (D) se extiende dentro de la vista de la cámara. Ya sea un envase de carnada con una semi malla o una bolsa de carnada de malla (E) contiene 1 kg de peces de arrecife local. Un ancla (F) mantiene la unidad posicionada a ~1 m del sustrato.

($n = 41$) was defined as habitat where the clear majority of cover was either bedrock or large boulders—any habitat with visible relief and little to no visible sand. “Patchy” ($n = 20$) was defined as habitat that may have had significant relief due to large boulders but also contained large patches of sand (~50%–80% cover sand). “Cobble” ($n = 15$) substrate was defined by a majority (>50%) cover of coral rubble, small rocks, and shell fragments. “Sand” ($n = 32$) habitat had zero relief and no appearance of reef or large swaths of cobble within view. A fifth category, “water column,” ($n = 23$), was assigned to drops that were positioned in the midwater with no benthic substrate visible.

Abundance and frequency of occurrence

As a measure of abundance, the mean N_{\max} for each species was calculated over all 121 surveys, including those in which the particular species was absent (includes zeroes), and these values were used in all statistical analyses. We also standardized N_{\max} relative to the most abundant member in each trophic group and used these values only for a comparison with frequency of occurrence (Fig. 3, see Aburto-Oropeza et al. 2001). Trophic groups were assigned using diet information from FishBase and Robertson and Allen (2015). Group I comprised herbivores, planktivores, and low-level omnivores (i.e., diet consists of algae, plankton, sponges, tunicates,

de individuos de una especie presentes en un solo fotograma (N_{\max}) (Willis y Babcock 2000). Sin la capacidad de discernir individuos o distinguir múltiples avistamientos del mismo pez, N_{\max} se usa típicamente en el análisis de BRUV como una medida conservadora de abundancia (Willis y Babcock 2000). La duración promedio del video fue de ~71 min y la moda fue de 64 min. No hubo una tendencia significativa en la relación entre la biodiversidad de las inmersiones y la duración del video (medida por el tiempo en el fondo).

Para hacer comparaciones entre las comunidades de peces, se le asignó una de las 4 categorías de hábitat bentónico a cada video con base en la cantidad de roca visible. La categoría de “arrecife” ($n = 41$) se definió como un hábitat donde la mayor parte de la cobertura era roca madre o grandes rocas —cualquier hábitat con relieve visible y poca o nada de arena visible—. “En parches” ($n = 20$) se definió como un hábitat que podía haber tenido un relieve significativo debido a grandes rocas, pero que también contenía grandes parches de arena (~50%–80% de cobertura de arena). El sustrato de “guijarros” ($n = 15$) se definió por una cobertura mayoritaria (>50%) de escombros de coral, rocas pequeñas y fragmentos de conchas. El hábitat de “arena” ($n = 32$) tenía un relieve nulo y no se percibían arrecifes o grandes franjas de guijarros visibles. Una quinta categoría, “columna de agua” ($n = 23$), se asignó a las inmersiones que se posicionaron a media agua sin sustrato bentónico visible.

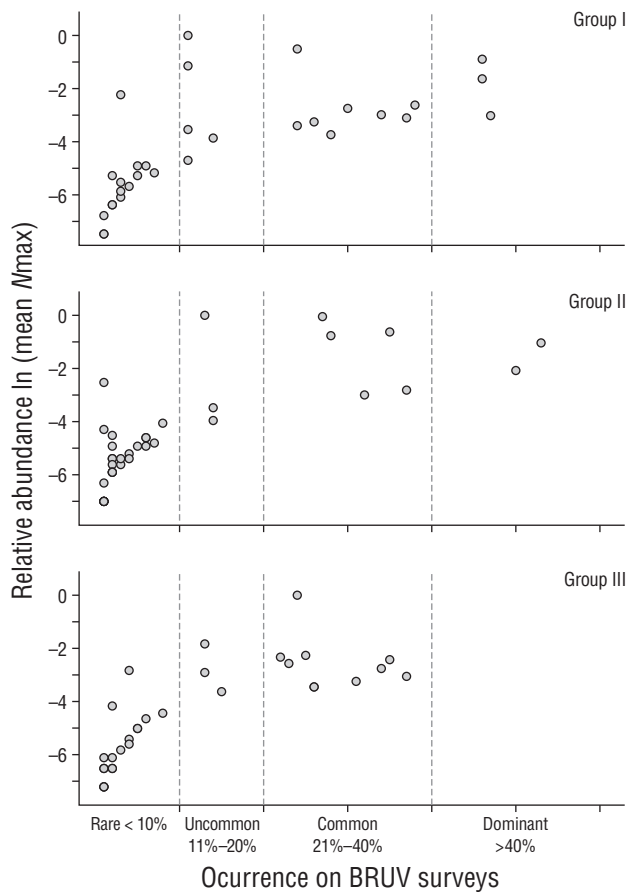


Figure 3. The relationship between frequency of occurrence (% BRUV surveys present on) and relative abundance (mean N_{\max}) on a log scale for groups I, II, and III. Group I: herbivores, planktivores, and low-level omnivores (i.e., diet consists of algae, plankton, sponges, tunicates, bryozoans, hydroids, or other sessile invertebrates). Group II: low-level predators (i.e., diet consists of benthic mobile invertebrates including crustaceans, echinoderms, mollusks, and cephalopods). Group III: mid-level and top-level predators (i.e., piscivores). Occurrence categories are as follows: rare ($\leq 10\%$ of surveys), uncommon (11%–20% of surveys), common (21%–40% of surveys), dominant ($> 40\%$ of surveys).

Figura 3. La relación entre la frecuencia de ocurrencia (% de los monitoreos con BRUV en la cual estuvo presente) y la abundancia relativa (N_{\max} media) en una escala logarítmica para los grupos I, II y III. Grupo I: herbívoros, planctívoros y omnívoros de bajo nivel (i.e., la dieta se compone de algas, plancton, esponjas, tunicados, briozoos, hidroides u otros invertebrados sésiles). Grupo II: depredadores de bajo nivel (i.e., la dieta consiste en invertebrados móviles bentónicos que incluyen crustáceos, equinodermos, moluscos y cefalópodos). Grupo III: depredadores de nivel medio y superior (i.e., piscívoros). Las categorías de la frecuencia de ocurrencia son las siguientes: escasa ($\leq 10\%$ de los monitoreos), poco común (11%–20% de los monitoreos), común (21%–40% de los monitoreos), dominante ($> 40\%$ de los monitoreos).

Abundancia y frecuencia de ocurrencia

Como medida de abundancia, se calculó la N_{\max} promedio para cada especie a partir de los 121 monitoreos, incluidos aquellos en los que la especie en particular estaba ausente (incluye ceros), y estos valores se utilizaron en todos los análisis estadísticos. También estandarizamos N_{\max} en relación con el miembro más abundante en cada grupo trófico y usamos estos valores solo para una comparación con la frecuencia de ocurrencia (Fig. 3, ver Aburto-Oropeza et al. 2001). Se usó la información de dietas reportada por Fish-Base y Robertson y Allen (2015) para asignar los grupos tróficos. El grupo I comprendió herbívoros, planctívoros y omnívoros de bajo nivel (i.e., la dieta está compuesta por algas, plancton, esponjas, tunicados, briozoos, hidroides u otros invertebrados sésiles). El grupo II comprendió depredadores de bajo nivel (i.e., la dieta está compuesta por invertebrados móviles bentónicos como crustáceos, equinodermos, moluscos y cefalópodos). El grupo III comprendió depredadores de nivel medio y superior (i.e., piscívoros).

La frecuencia de ocurrencia se calculó para cada especie para describir la prevalencia de una especie en particular en nuestro estudio y se definió como el porcentaje de monitoreos en los que se observó una especie. Las especies se agruparon en 4 categorías de ocurrencia con base en la separación natural de los datos: escasa ($\leq 10\%$ de los monitoreos), poco común (11%–20% de los monitoreos), común (21%–40% de los monitoreos), dominante ($> 40\%$ de los monitoreos).

Variación en las agrupaciones de las comunidades

Se utilizó un escalamiento multidimensional no métrico (EMD-NM) para visualizar las diferencias en las comunidades de peces. Solo se incluyeron especies con al menos 5 individuos observados a lo largo de nuestro estudio, y solo se utilizaron los monitoreos en los que se observó al menos un pez de la lista de especies reducida (71 especies y 119 inmersiones). Los valores de N_{\max} se transformaron a raíz cuarta y se calculó una disimilitud de Bray-Curtis para comparar las comunidades de peces grabadas en cada video de monitoreo. Para visualizar mejor cualquier relación con el hábitat, se agregaron envolventes convexas según la categoría del hábitat. Se realizó un análisis de varianza multivariado basado en permutaciones (PERMANDEVA) de 2 vías con 999 permutaciones para probar las diferencias en las agrupaciones de las comunidades por hábitat y profundidad. Con el fin de evaluar las diferencias entre los hábitats, y en particular para evaluar la disimilitud entre las comunidades de los arrecifes y las del hábitat con parches, el PERMANDEVA también se utilizó para realizar comparaciones pareadas entre todos los tipos de hábitat. Dieciséis monitoreos con BRUV no tuvieron datos de profundidad y fueron excluidos del análisis PERMANDEVA para un total de 103 inmersiones. Los valores P reportados a partir de las comparaciones pareadas utilizan la corrección de Bonferroni para

bryozoans, hydroids, or other sessile invertebrates). Group II comprised low-level predators (i.e., diet consists of benthic mobile invertebrates, including crustaceans, echinoderms, mollusks, and cephalopods). Group III comprised mid-level and top-level predators (i.e., piscivores).

The frequency of occurrence was calculated for each species to describe how prevalent a particular species was in our study and was defined as the percentage of surveys on which a species was observed. Species were grouped into 4 occurrence categories based on natural separations in the data: rare ($\leq 10\%$ of surveys), uncommon (11%–20% of surveys), common (21%–40% of surveys), dominant ($>40\%$ of surveys).

Variation in community assemblages

Nonmetric multidimensional scaling (nMDS) was used to visualize differences in the fish communities. Only species with at least 5 individuals observed throughout our study were included, and only surveys that observed at least 1 fish from the reduced species list were used (71 species and 119 drops). N_{\max} values were fourth root transformed and a Bray–Curtis dissimilarity was calculated to compare fish communities recorded on each video survey. To better visualize any relationships with habitat, convex hulls based on habitat category were added. A two-way permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA) test with 999 permutations was performed to test for differences in community assemblage by habitat and depth. In order to assess differences between habitats, and particularly to assess the dissimilarity between reef and patchy communities, the PERMANOVA was also used to make pairwise comparisons among all habitat types. Sixteen BRUV surveys did not have depth data and were excluded from the PERMANOVA analysis for a total of 103 drops. Reported P -values from the pairwise comparisons use the Bonferroni correction for multiple comparisons. All multi-variate analyses were done in R v.4.0.1 using the metaMDS function in the *Vegan* package v.2.5-6 (R Core Team 2018).

Biodiversity and species richness

We calculated the Shannon diversity index (H') for each drop using the equation below, where p_i is the proportion of individuals of species i to the total number of individuals:

$$H' = - \sum_{i=1}^s p_i \ln p_i \quad .$$

To test for differences in biodiversity by habitat, we employed a pairwise Wilcoxon rank sum test in R v.4.0.1 *stats* package. Reported P -values have the Bonferroni adjustment for multiple comparisons. We mapped species richness, H' and habitat type at Isla María Cleofas, where surveys were most spatially intensive and nearest to shore ($n = 89$ nearshore drops around Isla María Cleofas of 97 total drops) (Fig. 1).

comparaciones múltiples. Todos los análisis multivariados se realizaron en R v.4.0.1 utilizando la función metaMDS en el paquete *Vegan* v.2.5-6 (R Core Team 2018).

Biodiversidad y riqueza de especies

Calculamos el índice de diversidad de Shannon (H') para cada inmersión usando la siguiente ecuación, donde p_i es la proporción de individuos de la especie i respecto al número total de individuos:

$$H' = - \sum_{i=1}^s p_i \ln p_i \quad .$$

Para probar las diferencias en la biodiversidad por hábitat, empleamos una prueba pareada de la suma de rangos de Wilcoxon en el paquete R v.4.0.1 *stats*. Los valores P reportados tienen el ajuste de Bonferroni para comparaciones múltiples. Se cartografió la riqueza de especies, H' y el tipo de hábitat en la isla María Cleofas, donde los monitoreos fueron espacialmente más intensivos y más cercanos a la costa ($n = 89$ inmersiones cercanas a la costa alrededor de la isla María Cleofas de 97 inmersiones totales) (Fig. 1).

Distribución espacial de tiburones

Debido a la larga historia de la pesca de tiburones en la isla María Cleofas (McGoodwin 1976), y a la evidencia más reciente de que la pesca de tiburones continúa en la cercana isla Isabel y quizás también en todo el archipiélago (Pérez-Jiménez et al. 2005), estábamos particularmente interesados en las especies de tiburones en islas Mariás. Además de los análisis descritos anteriormente, nuestro objetivo era descubrir (1) qué especies de tiburones están presentes en islas Mariás y (2) cuáles eran las distribuciones espaciales de estas especies dentro del contexto de islas Mariás. Al desagregar la distribución espacial de los tiburones y discutir los resultados específicamente, nuestro objetivo es apoyar a los esfuerzos futuros de monitoreo y conservación de los principales depredadores apicales.

RESULTADOS

Abundancia y frecuencia de ocurrencia

Se identificaron 99 especies de peces de 35 familias a partir de los monitoreos con BRUV (Tabla 1). Carangidae (jureles) y Labridae (lábridos) fueron las familias con mayor riqueza específica con 13 y 12 especies, respectivamente. Lutjanidae (pargos) siguió con 7 especies y Haemulidae (roncos), Pomacentridae (damiselas) y Serranidae (cabrillas) tuvieron 6 especies cada una. En cuanto a la frecuencia de ocurrencia, predominaron 5 especies: *Balistes polylepis* (pez puerco), *Sufflamen verres* (bota amarilla), *Arothron meleagris* (botete aletas punteadas), *Acanthurus xanthopterus* (barbero aleta amarilla) y *Prionurus punctatus* (barbero cochinito).

Spatial distribution of sharks

Due to the long history of shark fishing at Isla María Cleofas (McGoodwin 1976), and to more recent evidence that shark fishing continues at nearby Isabel Island and perhaps all of Islas Marías as well (Pérez-Jiménez et al. 2005), we were particularly interested in the shark species at Islas Marías. In addition to the analyses described above, we aimed to discover (1) what shark species are present at Islas Marías and (2) what the spatial distributions of these species were within the context of Islas Marías. By disaggregating the spatial distribution of sharks and specifically discussing the results, our goal is to aid future monitoring and conservation efforts of the important apex predators.

RESULTS

Abundance and frequency of occurrence

Ninety-nine fish species from 35 families were identified from the BRUV surveys (Table 1). Carangidae (jacks) and Labridae (wrasses) were the most speciose families with 13 and 12 species, respectively. Lutjanidae (snappers) followed with 7 species and Haemulidae (grunts), Pomacentridae (damsel fishes), and Serranidae (groupers) had 6 species each. In terms of frequency of occurrence, 5 species were dominant: *Balistes polylepis* (finescale triggerfish), *Sufflamen verres* (orangeside triggerfish), *Arothron meleagris* (guineafowl puffer), *Acanthurus xanthopterus* (yellowfin surgeonfish), and *Prionurus punctatus* (yellowtail surgeonfish). These are all conspicuous reef-associated fish in trophic groups I and II, feeding mainly on benthic invertebrates. Group III (piscivores) did not contain any dominant species (Fig. 3). Overall, 23 species were common, 11 were uncommon, and 60 were rare.

The most abundant species in each group were as follows (Table 1): group I = *Decapterus muroadsi* (amberstripe scad) (mean $N_{\max} = 14.55$, max $N_{\max} = 900$), group II = *Haemulon maculicauda* (spottail grunt) (mean $N_{\max} = 9.10$, max $N_{\max} = 300$), group III = *Lutjanus viridis* (blue and gold snapper) (mean $N_{\max} = 11.22$, max $N_{\max} = 150$) (Table 1). Other highly abundant species in group I were *Paranthias colonus* (Pacific creolefish) and *P. punctatus*; in group II, *Halichoeres dispilus* (Chameleon wrasse), *Mulloidichthys dentatus* (Mexican goatfish), and *Thalassoma lucasanum* (Cortez rainbow wrasse) (Table 1). In group III, only *L. viridis* was highly abundant. In total, 8 species were highly abundant within their group, 33 species were moderately abundant, and 58 species had low abundance.

Variation in community assemblages

We found strong separation between reef and sand communities, while the 3 other communities (patchy, rubble, and water column) encompass a wider breadth of species present

Todos estos son peces conspicuos asociados a los arrecifes en los grupos tróficos I y II, pues se alimentan principalmente de invertebrados bentónicos. El grupo III (piscívoros) no contenía ninguna especie dominante (Fig. 3). En general, 23 especies fueron comunes, 11 poco comunes y 60 escasas.

Las especies más abundantes en cada grupo fueron las siguientes (Tabla 1): grupo I = *Decapterus muroadsi* (macarela mexicana) (promedio de $N_{\max} = 14.55$, máxima de $N_{\max} = 900$), grupo II = *Haemulon maculicauda* (burrito roncador) (promedio de $N_{\max} = 9.10$, máxima de $N_{\max} = 300$), grupo III = *Lutjanus viridis* (rayito) (promedio de $N_{\max} = 11.22$, máxima de $N_{\max} = 150$) (Tabla 1). Otras especies muy abundantes del grupo I fueron *Paranthias colonus* (colradito) y *P. punctatus*; en el grupo II, *Halichoeres dispilus* (camaleón), *Mulloidichthys dentatus* (salmonete barbón) y *Thalassoma lucasanum* (arcoiris) (Tabla 1). En el grupo III, solo *L. viridis* fue muy abundante. En total, 8 especies fueron altamente abundantes dentro de su grupo, 33 especies fueron moderadamente abundantes y 58 especies tuvieron baja abundancia.

Variación en las agrupaciones de las comunidades

Encontramos una fuerte separación entre las comunidades de arrecifes y las de arena, mientras que las otras 3 comunidades (parches, escombros y columna de agua) agruparon una gama más amplia de las especies presentes en este estudio (Fig. 4). Estas observaciones fueron apoyadas por un análisis de PERMANDEVA que presentó un efecto significativo del hábitat ($P < 0.001$) y la profundidad ($P < 0.001$) (Tabla S1). Una comparación por pares de cada tipo de hábitat mostró una diferencia significativa entre todos los tipos de hábitat excepto entre la arena y la columna de agua (Tabla S2). La fuerte separación a lo largo del eje x del diagrama EMD-NM sigue un patrón general de las comunidades de fondo duro asociadas a arrecifes a la izquierda y las comunidades de fondo blando de la columna de agua a la derecha. Para explorar las especies que impulsan estas comunidades, agregamos las 10 puntuaciones de las especies más altas en cada dirección al diagrama (i.e., los valores negativos más bajos y positivos más altos del eje x). La magnitud de la puntuación de una especie en particular fue representada por la longitud de cada flecha (Fig. 4).

Biodiversidad y riqueza de especies

Los índices de diversidad de Shannon graficados por hábitat muestran una progresión desde la mayor biodiversidad en el hábitat de fondo duro hasta la menor biodiversidad en el hábitat de fondo blando (Fig. 5). En la Figura 5, las líneas sobre hábitats particulares indican pares en los que no pudimos detectar una diferencia significativa en la diversidad observada. No pudimos detectar una diferencia en el H' promedio de 2 pares: parches y guijarros, y arena y columna de agua. La biodiversidad de los arrecifes fue

Table 1. List of coastal marine fishes at Islas Marias, Mexico, as determined by BRUV surveys, inclusive of “water column” drops and shark tagging efforts during the same time period. Families are ordered alphabetically within groups. Group I: herbivores, planktivores, and low-level omnivores (i.e., diet consists of algae, plankton, sponges, tunicates, bryozoans, hydroids, or other sessile invertebrates). Group II: low-level predators (i.e., diet consists of benthic mobile invertebrates including crustaceans, echinoderms, mollusks, and cephalopods). Group III: mid-level and top-level predators (i.e., piscivores). Occurrence (%) = percent of BRUV surveys on which the species was observed. Occurrence (Category) is based on percent occurrence: rare ($\leq 10\%$ of surveys), uncommon ($11\%–20\%$ of surveys), common ($21\%–40\%$ of surveys), dominant ($>40\%$ of surveys). Mean N_{\max} is the maximum number of individuals in each species per drop, averaged over all 121 drops with fish present, inclusive of zeroes. • = observed on tagging study. Bolded species were previously unlisted on Erisman et al. (2011). Bolded and starred species are range extensions. Starred species names are a combined species category.

Tabla 1. Lista de peces marinos costeros en las Islas Marias, México, según lo determinado por los monitoreos con BRUV, los cuales incluyen las inmersiones para visualizar la “columna de agua” y los esfuerzos de marcaje de tiburones durante el mismo periodo de tiempo. Las familias están ordenadas alfabéticamente dentro de los grupos. Grupo I: herbívoros, planctívoros y omnívoros de bajo nivel (i.e., la dieta se compone de algas, plancton, esponjas, tunicados, briozoos, hidroides u otros invertebrados sésiles). Grupo II: depredadores de bajo nivel (i.e., la dieta consiste en invertebrados móviles bentónicos que incluyen crustáceos, equinodermos, moluscos y cefalópodos). Grupo III: depredadores de nivel medio y superior (i.e., piscívoros). Ocurrencia (%) = porcentaje de monitoreos con BRUV en las que se observó la especie. La frecuencia de ocurrencia (categoría) se basa en el porcentaje de la presencia: escasa ($\leq 10\%$ de los monitoreos), poco común ($11\%–20\%$ de los monitoreos), común ($21\%–40\%$ de los monitoreos), dominante ($> 40\%$ de los monitoreos). La N_{\max} media es el número máximo de individuos de cada especie por inmersión, promediado entre las 121 inmersiones con peces presentes, incluidos los ceros. • = observado en el estudio de marcaje. Las especies en negritas no estaban incluidas previamente en Erisman et al. (2011). Las especies en negritas y con asterisco son extensiones de la distribución. Los nombres de especies con asteriscos son una categoría de especies combinada.

Group	Family	Species	Common name	Common name in Nayarit/Jalisco	Occurrence (%)	Occurrence (Category)	mean N_{\max}
I	Acanthuridae	<i>Prionurus punctatus</i>	Yellowtail surgeonfish	Barbero cochinito/calandria	46	D	5.95
		<i>Acanthurus xanopterus</i>	Yellowfin surgeonfish	Barbero aleta amarilla/cirujano/navajero	46	D	2.84
	Balistidae	<i>Acanthurus nigricans</i>	Whitecheek surgeonfish	Barbero carablanca	14	U	0.31
	Carangidae	<i>Melichthys niger</i>	Black triggerfish	Puerco/bota	1	R	0.01
		<i>Decapterus muroadsi</i>	Amberstripe sead		11	U	14.55
	Chaetodontidae	<i>Johrmandallia nigrirostris</i>	Blacknosed butterflyfish	Mariposa barbero	30	C	0.93
		<i>Chaetodon humeralis</i>	Threeband butterflyfish	Mariposa tres bandas	34	C	0.74
		<i>Forcipiger flavissimus</i>	Longnose butterflyfish		6	R	0.11
	Channidae	<i>Chanos chanos</i>	Milkfish	Sábalo	2	R	0.07
		<i>Kyphosus ocyurus</i>	Bluestriped chub	Verdecillo	3	R	1.56
	Kyphosidae	<i>Kyphosus elegans/Kyphosus vaigiensis*</i>	Cortez sea chub/brassy chub	Chopa/cagona/chopa gris/chopa rayada/cagona	28	C	0.35
		<i>Auluterus scriptus</i>	Scribbled leatherjacket filefish	Huarache/bota pinta	11	U	0.13
	Ostraciidae	<i>Auluterus monoceros</i>	Unicorn leatherjacket filefish	Bota de altura/lija	3	R	0.06
		<i>Ostracion meleagris</i>	Whitespotted boxfish	Cofre moteado	2	R	0.02
	Pomacanthidae	<i>Holocanthus passer</i>	King angelfish	Ángel real	37	C	0.65
		<i>Pomacanthus zonipectus</i>	Cortez angelfish	Ángel	7	R	0.08

Table 1 (Cont.)

Group	Family	Species	Common name	Common name in Nayarit/Jalisco	Occurrence (%)	Occurrence (Category)	mean Nmax
	Pomacentridae	<i>Chromis atrilobata</i>	Scissortail damselfish	Cola de tijera	11	U	4.63
		<i>Stegastes flavilatus</i>	Beaubrummel	Damisela cola amarilla	26	C	0.56
		<i>Abudefduf troschelli</i>	Panamic sergeant major	Petaca banderita	11	U	0.42
		<i>Stegastes acapulcoensis</i>	Acapulco major	Damisela agricultor	5	R	0.11
		<i>Microspathodon dorsalis</i>	Giant damselfish	Damisela gigante	5	R	0.07
		<i>Chromis limbaughi</i>	Limbaugh's damselfish	Castañeta mexicana	1	R	0.02
	Scaridae	<i>Scarus rubroviolaceus</i>	Ember parrotfish	Loro bicolor/logro violáceo	38	C	1.06
		<i>Scarus perrico</i>	Bumphead parrotfish	Loro jorobado/perico	4	R	0.05
		<i>Carotomus carolinus*</i>	Carolines parrotfish		3	R	0.04
		<i>Scarus compressus</i>	Azure parrotfish	Loro chato/guacamaya	1	R	0.01
	Serranidae	<i>Paranthias colonus</i>	Pacific creolefish	Coloradito/viejita	24	C	8.74
	Tetraodontidae	<i>Arothron meleagris</i>	Guineafowl puffer	Botete aletas punteadas	47	D	0.71
		<i>Arothron hispidus</i>	White-spotted puffer	Botete panza rayada	3	R	0.03
		<i>Canthigaster punctatissima</i>	Spotted sharpnosed puffer	Botete bonito	2	R	0.02
	Zanclidae	<i>Zanclus cornutus</i>	Moorish idol	Ídolo moro	24	C	0.49
II	Balistidae	<i>Balistes polylepis</i>	Finescale triggerfish	Bota/pez puero	53	D	3.22
		<i>Sufflamen verres</i>	Orangeside triggerfish	Taxi/bota amarilla	50	D	1.14
		<i>Pseudobalistes naufragium</i>	Stone triggerfish	Bota morada/capulima	37	C	0.55
	Carangidae	<i>Selar crumenophthalmus</i>	Bigeye scad	Charrito ojón/ojotón	1	R	0.12
		<i>Carangoides orthogrammus</i>	Island trevally	Jurel isleño/verdecillo	1	R	0.01
		<i>Carangoides otrynter</i>	Threadfin pompano	Pámpano de hebra	1	R	0.01
	Dasyatidae	<i>Dasyatis dipterura</i>	Diamond stingray		6	R	0.07
		<i>Dasyatis longus</i>	Longtail stingray	Raya látigo	2	R	0.04
	Diodontidae	<i>Diodon holocanthus</i>	Longspined porcupinefish	Pez erizo mapache	14	U	0.17
		<i>Chilomycterus reticulatus</i>	Spotfin burrfish		4	R	0.05
		<i>Diodon hystrix</i>	Spotfin porcupinefish	Pez erizo pecosco	2	R	0.02

Table 1 (Cont.)

Group	Family	Species	Common name	Common name in Nayarit/Jalisco	Occurrence (%)	Occurrence (Category)	mean Nmax
	Ephippidae	<i>Chaetodipterus zonatus</i>	Pacific spadefish	Mona/chavelito/zopilote negro	2	R	0.04
	Haemulidae	<i>Haemulon maculicauda</i>	Spottail grunt	Rasposa/burruto roncador	13	U	9.10
		<i>Haemulon steindachneri</i>	Chere-chere grunt	Burro latino/ronco amarillo	1	R	0.73
		<i>Haemulon sexfasciatum</i>	Greybar grunt	Burro almejero/bacoco rayado	14	U	0.28
		<i>Haemulon flaviguttatum</i>	Yellowspotted grunt	Burro de Cortés/ronco manchado	2	R	0.07
		<i>Anisotremus taeniatus</i>	Panama porkfish	Chopilla/sol de China/comisario	1	R	0.02
		<i>Haemulon scudderii</i>	Grey grunt	Burro pecoso/roncador pecoso	1	R	0.01
	Labridae	<i>Halichoeres dispilus</i>	Chameleon wrasse	Camaleón	27	C	8.67
		<i>Thalassoma lucasanum</i>	Cortez rainbow wrasse	Arcoiris	28	C	4.23
		<i>Halichoeres nicholsi</i>	Spinster wrasse	Solterona	32	C	0.45
		<i>Halichoeres chierchiae</i>	Wounded wrasse	Señorita herida	8	R	0.16
		<i>Novaculichthys taenourus</i>	Rockmover wrasse		6	R	0.09
		<i>Thalassoma grammaticum</i>	Sunset wrasse		6	R	0.09
		<i>Halichoeres adustus</i>	Black wrasse	Señorita negra	7	R	0.07
		<i>Halichoeres notospilus</i>	Banded wrasse	Señorita listada	3	R	0.03
		<i>Halichoeres melanotis</i>	Golden wrasse		2	R	0.02
		<i>Halichoeres insularis</i>	Socorro wrasse		1	R	0.01
		<i>Inistius pavo</i>	Peacock wrasse	Cuchillo pavo real	1	R	0.01
	Mullidae	<i>Mulloidichthys dentatus</i>	Mexican goatfish	Chivo/salmonete barbón	35	C	4.87
		<i>Pseudupeneus grandisquamis</i>	Bigscale goatfish		2	R	0.10
	Myliobatidae	<i>Rhinoptera steindachneri</i>	Pacific cownose ray		2	R	0.02
	Priacanthidae	<i>Heteropriacanthus cruentatus</i>	Glasseye snapper	Sol ojón	1	R	0.01
	Serranidae	<i>Alphestes immaculatus</i>	Pacific mutton hamlet	Guaseta/granada/jabonero	5	R	0.07
		<i>Alphestes multiguttatus</i>	Rivulated mutton hamlet		2	R	0.03
	Tetraodontidae	<i>Sphoeroides lobatus</i>	Longnose puffer	Botete verrugoso	3	R	0.04
	Torpedinidae	<i>Narcine entemedor</i>	Giant electric ray	Guitarra eléctrica	4	R	0.04

Table 1 (Cont.)

Group	Family	Species	Common name	Common name in Nayarit/Jalisco	Occurrence (%)	Occurrence (Category)	mean Nmax
III	Belontiidae	<i>Strongylura exilis</i>	Californian needlefish	Agujón/pez de aguja	1	R	0.01
		<i>Bothus leopardinus</i>	Pacific leopard flounder		1	R	0.02
	Carangidae	<i>Caranx caballus</i>	Green jack	Chile verde/cocinero	13	U	1.79
		<i>Caranx melampygus</i>	Bluefin trevally	Pantalón	22	C	1.09
		<i>Caranx sexfasciatus</i>	Bigeye trevally	Ojo de perra/jurel ojón	2	R	0.17
		<i>Seriola rivoliana</i>	Longfin yellowtail	Medregal/castel	8	R	0.13
		<i>Gnathanodon speciosus</i>	Golden trevally	Chocho amarillo/palometa	6	R	0.11
		<i>Alectis ciliaris</i>	African pompano	Caballo	3	R	0.03
		<i>Elagatis bipinnulata</i>	Rainbow runner	Albacora/macarela	2	R	0.02
		<i>Trachinotus rhodopus</i>	Gafftopsail pompano	Palmilla/pámpano rayado	1	R	0.02
	<i>Caranx caninus</i>	Pacific crevalle jack	Jurel toro	1	R	0.01	
Carcharhinidae	<i>Carcharhinus obscurus</i> •	Dusky shark	Tiburón arenero,gambuso,obscure/zarco	NA	NA	NA	
	<i>Galeocerdo cuvier</i> •	Tiger shark	Tiburón tigre/tintorera	NA	NA	NA	
	<i>Triaenodon obesus</i>	Whitetip reef shark	Cazón coralero trompacorta/tintorera punta aleta blanca	4	R	0.04	
Fistulariidae	<i>Fistularia commersonii/Fistularia corneta</i> *	Bluespotted cornetfish/Pacific cornetfish	Corneta	23	C	0.86	
	<i>Ginglymostoma unami</i>	Nurse shark	Tiburón gata	31	C	0.44	
Labridae	<i>Bodianus diplotaenia</i>	Mexican hogfish	Vieja mexicana/perrita	26	C	0.36	
	<i>Lutjanus viridis</i>	Blue and gold snapper	Cuico/rayito	24	C	11.22	
Lutjanidae	<i>Lutjanus argentiventris</i>	Yellow snapper	Parga/calandrio/alazán	35	C	0.99	
	<i>Lutjanus inermis</i>	Golden snapper	Sandriita/rubia	4	R	0.66	
	<i>Lutjanus guttatus</i>	Spotted rose snapper	Flamenco/lunarejo	13	U	0.61	
	<i>Hoplopagrus guentherii</i>	Mexican barred snapper	Coconaco/pargo rayado	26	C	0.36	
	<i>Lutjanus novemfasciatus</i>	Pacific dog snapper	Pargo colmillón/pargo mulato	5	R	0.07	
	<i>Lutjanus aratus</i>	Mullet snapper	Morena verde	2	R	0.02	
Muraenidae	<i>Gymnothorax castaneus</i>	Panamic green moray		37	C	0.53	

Table 1 (Cont.)

Group	Family	Species	Common name	Common name in Nayarit/Jalisco	Occurrence (%)	Occurrence (Category)	mean N_{max}
	Nemtistiidae	<i>Nemastistius pectoralis</i>	Roosterfish	Gallo/papagayo	4	R	0.05
	Rhinobatidae	<i>Rhinobatos productus</i>	Shovelnose guitarfish	Diablo	1	R	0.01
	Scombridae	<i>Euthynnus lineatus</i>	Black skipjack	Barrilete/bonito negro	5	R	0.07
		<i>Scomberomorus sierra</i>	Pacific sierra	Sierra/terrucho	1	R	0.02
	Serranidae	<i>Cephalopholis panamensis</i>	Pacific graysby	Enjambre/cuevero	25	C	1.17
		<i>Epinephelus labriformis</i>	Starry grouper	Maranguana	34	C	0.71
		<i>Serranus psittacinus</i>	Barred serrano	Serrano	15	U	0.30
	Urotrygonidae	<i>Urobatis halleri</i>	Round stingray	Raya redonda	2	R	0.02

in this study (Fig. 4). These observations were supported by a PERMANOVA analysis that found a significant effect of habitat ($P < 0.001$) and depth ($P < 0.001$) (Table S1). A pairwise comparison of each habitat type showed a significant difference between all types except sand and water column (Table S2). The strong separation along the x -axis of the nMDS plot follows a general pattern of hard bottom, reef associated communities on the left and soft bottom, water column communities on the right. To explore the species driving these communities, we added the top 10 species scores in each direction to the plot (i.e., lowest negative and highest positive x -axis values). The magnitude of a particular species score was represented by the length of each arrow (Fig. 4).

Biodiversity and species richness

Shannon diversity indices plotted by habitat show a progression from highest biodiversity in hard-bottom habitat to lowest biodiversity in soft-bottom habitat (Fig. 5). In Figure 5, lines above particular habitats indicate pairs where we failed to detect a significant difference in observed diversity. We failed to detect a difference in the average H' of 2 pairs: patchy and cobble, and sand and water column. Reef biodiversity was significantly greater than biodiversity in all other habitat types, although all habitat types had high variation, indicating that species are likely using multiple habitat types. Biodiversity in patchy and cobble habitats was significantly greater from sand and water column habitats.

Biodiversity and species richness were not uniform around Isla María Cleofas, but rather showed distinct hotspots and cool spots (Fig. 6a, b). The northeast, the south, and the area around an offshore rock had the highest fish diversity and richness, which roughly corresponded to reef habitat (Fig. 6a, c). Conversely, the lowest diversity and richness areas roughly corresponded to sand habitat (Fig. 6a, c). The visual similarity in the 2 geographic patterns can be partially attributed to the Shannon diversity index (H'), which accounts for both richness and evenness in a single metric.

Spatial distribution of sharks

The BRUV surveys observed 2 species of shark, both of which are reef-associated: *Ginglymostoma cirratum* (nurse shark) and *Triaenodon obesus* (whitetip reef shark). While *T. obesus* made an appearance in 4% of drops, *G. cirratum* was more common, occurring in 31% of drops and often interacting with the bait. Spatially, *G. cirratum* was present at all 4 islands and around most of the perimeter of Isla María Cleofas, except for a sandy patch along the eastern edge of the island (Fig. 7). *Triaenodon obesus* was observed at María Madre ($n = 12$ drops) and María Cleofas ($n = 97$ drops), although never in a drop that did not also have *G. cirratum* present. In addition, 2 other shark species were observed while fishing and tagging sharks off María Cleofas:

significativamente mayor que la biodiversidad en todos los demás tipos de hábitats, aunque todos los tipos de hábitats tuvieron una alta variación, lo que indica que es probable que las especies estén utilizando múltiples tipos de hábitats. La biodiversidad en los hábitats con parches y de guijarros fue significativamente mayor que en los hábitats de arena y columna de agua.

La biodiversidad y la riqueza de especies no fueron uniformes alrededor de isla María Cleofas, sino que mostraron distintos puntos de biodiversidad alta (puntos calientes) y baja (puntos fríos) (Fig. 6a, b). El noreste, el sur y el área alrededor de una roca mar adentro tenían la mayor diversidad y riqueza de peces; estas áreas correspondían aproximadamente al hábitat de arrecifes (Fig. 6a, c). Por el contrario, las áreas de menor diversidad y riqueza correspondieron aproximadamente al hábitat de arena (Fig. 6a, c). La similitud visual en los 2 patrones geográficos se puede atribuir parcialmente al índice de diversidad de Shannon (H'), que explica tanto la riqueza como la uniformidad en una sola métrica.

Distribución espacial de tiburones

En los monitoreos con BRUV se observaron 2 especies de tiburones, ambas asociadas a los arrecifes: *Ginglymostoma cirratum* (tiburón nodriza) y *Triaenodon obesus* (tintorera punta aleta blanca). Mientras que *T. obesus* apareció en el 4% de las inmersiones, *G. cirratum* fue más común, pues se presentó en el 31% de las inmersiones y a menudo interactuó con la carnada. Especialmente, *G. cirratum* estuvo presente en las 4 islas y alrededor de la mayor parte del perímetro de isla María Cleofas, excepto en un parche arenoso a lo largo del borde este de la isla (Fig. 7). Se observó a *T. obesus* en María Madre ($n = 12$ inmersiones) y María Cleofas ($n = 97$ inmersiones), aunque nunca en una inmersión en la que no se observara también a *G. cirratum*. Además, otras 2 especies de tiburones fueron observadas mientras se pescaban y marcaban tiburones frente a María Cleofas: *Carcharhinus obscurus* (tiburón arenoso) y *Galeocerdo cuvier* (tiburón tigre).

DISCUSIÓN

Un objetivo general de este estudio era proporcionar datos biológicos que pudieran informar las estrategias de manejo futuras en islas Marías. El archipiélago de las islas Marías ha sido menos estudiado que otras islas fuera de la costa de México (e.g., islas Revillagigedo) y en el POT (e.g., Clipperton, Cocos, Malpelo y las islas Galápagos) (Grove y Lavenberg 1997, Ketchum y Reyes-Bonilla 1997, Edgar et al. 2004, Bessudo et al. 2011, Friedlander et al. 2012, Quimbayom et al. 2017, Crane et al. 2018, Claudino-Sales 2019, Friedlander et al. 2019) a pesar de la relativa facilidad de acceso desde México continental. Agregamos a la lista anterior de especies de peces (Erisman et al. 2011) las

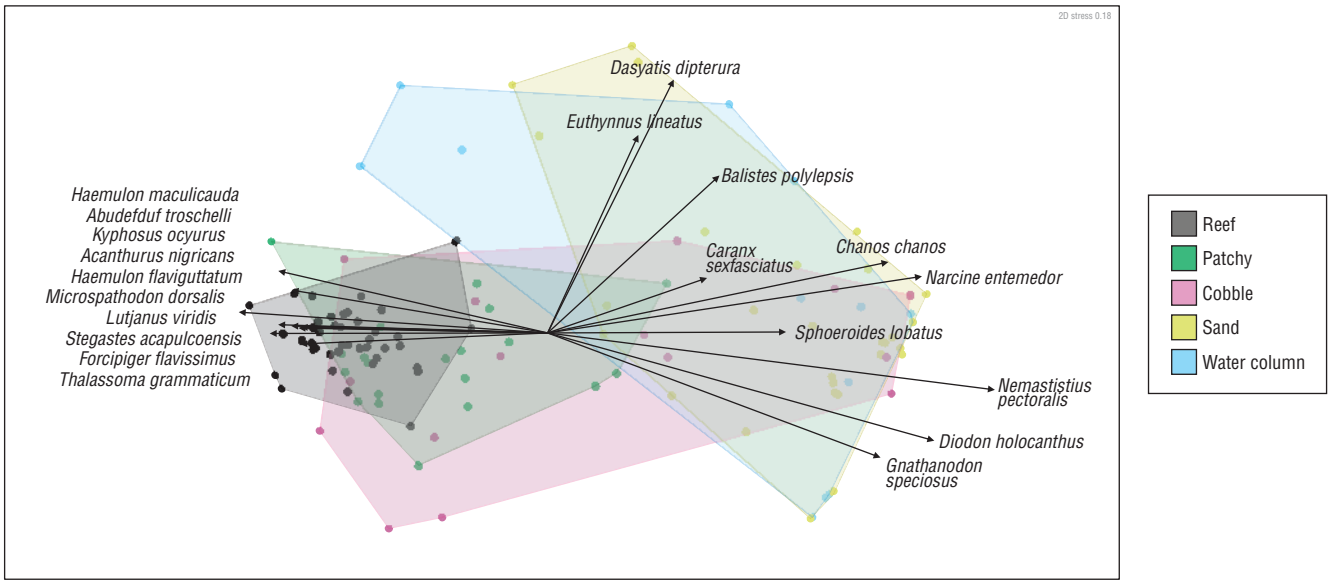


Figure 4. A non-metric multidimensional scaling (nMDS) plot of the Bray–Curtis dissimilarity of fish communities by habitat type. Data were fourth root transformed. Convex hulls encircle the outermost points of each habitat designation. The top 10 drivers of reef and sand communities (with the most negative and positive nMDS1 scores, respectively) are labeled, vectors to scale of nMDS1 scores.

Figura 4. Una gráfica de escalamiento multidimensional no métrico (EMD-NM) de la disimilitud de Bray–Curtis de las comunidades de peces por tipo de hábitat. Los datos se transformaron a raíz cuarta. Las envolventes convexas rodean los puntos más externos de cada designación de hábitat. Los 10 principales impulsores de las comunidades de arrecifes y arena (con las puntuaciones EMD-NM1 más negativas y positivas, respectivamente) están etiquetados como vectores a escala de las puntuaciones EMD-NM1.

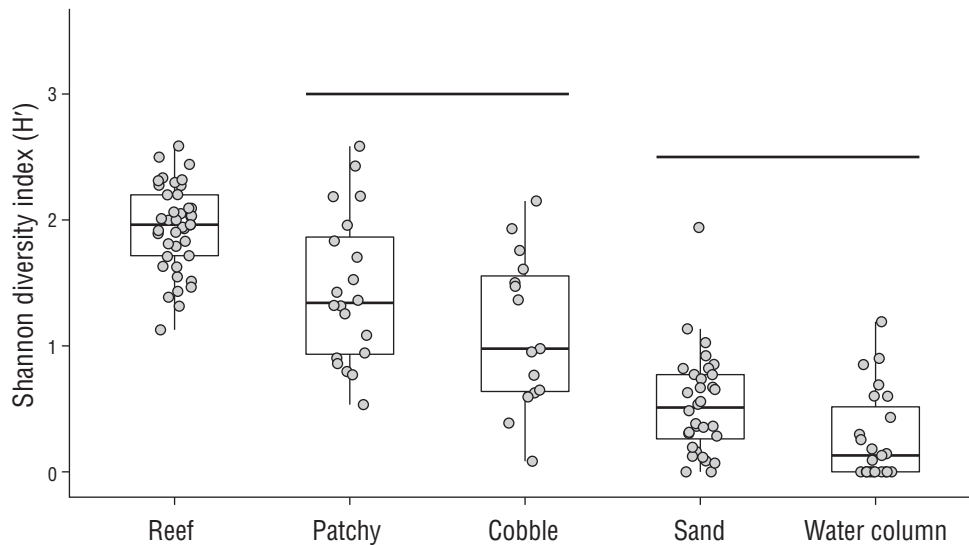


Figure 5. Boxplots of Shannon diversity indices by habitat. The lower and upper hinges represent the 25th and 75th percentiles and the middle line represent the median of the data. Points are jittered for better visualization. We ran a pairwise Wilcoxon rank sum test on the data; lines connect habitats that are not significantly different.

Figura 5. Diagramas de caja de los índices de diversidad de Shannon por hábitat. Las bisagras inferior y superior representan los percentiles 25 y 75 y la línea media representa la mediana de los datos. Los puntos están desplazados para una mejor visualización. Realizamos una prueba de la suma de rangos de Wilcoxon por pares con los datos; las líneas conectan hábitats que no son significativamente diferentes.

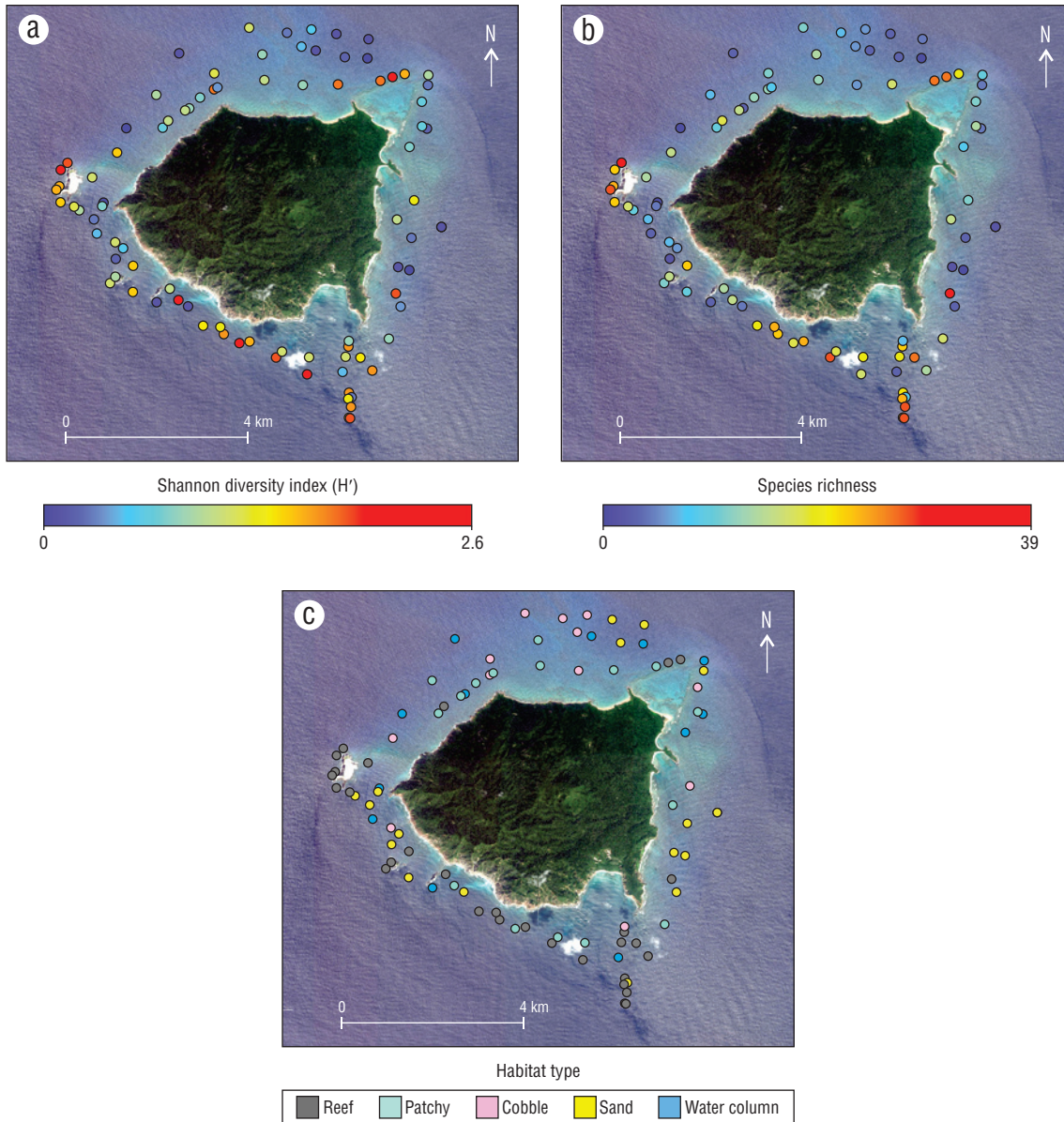


Figure 6. A spatial plot of (a) Shannon diversity (H'), (b) species richness, and (c) habitat designations at Isla María Cleofas.

Figura 6. Un diagrama espacial de (a) la diversidad de Shannon (H'), (b) la riqueza de especies y (c) las designaciones de hábitat en isla María Cleofas.

Carcharhinus obscurus (dusky shark) and *Galeocerdo cuvier* (tiger shark).

DISCUSSION

An overarching goal of this study was to provide biological data that could inform future management strategies at Islas Mariás. The Islas Mariás archipelago has been less well-studied than other offshore islands of Mexico (e.g., Revillagigedo Islands) and the TEP (e.g., Clipperton, Cocos, Malpelo, and Galapagos Islands) (Grove and Lavenberg 1997, Ketchum and Reyes-Bonilla 1997, Edgar et al. 2004,

observaciones de 3 nuevos registros. También hicimos un monitoreo intensivo de una isla, isla María Cleofas, y proporcionamos información espacial detallada sobre la diversidad y el hábitat de los peces, observaciones que pueden utilizarse para tomar decisiones de conservación y gestión dentro de la isla, así como para orientar la investigación marina futura.

Nuestra observación de una mayor diversidad de peces en hábitats con mayores cantidades de roca respalda una gran cantidad de investigaciones que indican que incluso una pequeña cantidad de estructura puede influir positivamente en la biodiversidad de las comunidades de peces de arrecife (Roberts y Ormond 1987, McLain y Pratt 1999,

Bessudo et al. 2011, Friedlander et al. 2012, Quimbayom et al. 2017, Crane et al. 2018, Claudino-Sales 2019, Friedlander et al. 2019) despite the relative ease of access from mainland Mexico. We added to the previous fish species list (Erismán et al. 2011) with observations of 3 new records. We also intensively surveyed one island, Isla María Cleofas, and provide detailed spatial information on fish diversity and habitat, observations that can be utilized for within island conservation and management decisions as well as guiding future marine research.

Our observation of higher fish diversity in habitats with greater amounts of rock supports an abundance of research that even a small amount of structure can positively influence biodiversity of reef fish communities (Roberts and Ormond 1987, McLain and Pratt 1999, Charles and Denice 2002). High-relief reefs may be a potentially high-value target for protection. The effect of intermediate amounts of rock (i.e., cobble and patchy habitats in this study) on biodiversity and fish community composition is less certain (Sale 1980, Charles and Denice 2002). We found that the island of María Cleofas contains a diversity of benthic habitat types—from extensive sandy areas to high-relief rock reefs and intermediate habitat types with cobble and patchy rock/sand. While high-relief rock contained the greatest abundance, diversity, and richness, the other habitats supported unique and important species as well. At María Cleofas, in particular, we show spatial “hot spots” that have high levels of diversity and species richness. These areas are often

Charles y Denice 2002). Los arrecifes de alto relieve pueden ser un objetivo de protección de valor potencialmente alto. El efecto de cantidades intermedias de roca (i.e., hábitats de guijarros y con parches en este estudio) sobre la biodiversidad y la composición de la comunidad de peces es menos certero (Sale 1980, Charles y Denice 2002). Encontramos que la isla de María Cleofas contiene una diversidad de tipos de hábitat bentónicos —desde extensas áreas arenosas hasta arrecifes rocosos de alto relieve y tipos de hábitats intermedios con guijarros y con parches de rocas/arena—. Aunque la roca de alto relieve contenía la mayor abundancia, diversidad y riqueza, los otros hábitats también albergaron especies únicas e importantes. En María Cleofas, en particular, mostramos “puntos calientes” espaciales que tienen altos niveles de diversidad y riqueza de especies. Estas áreas a menudo están asociadas a sustratos de fondo duro y de parches. En particular, encontramos una gran diversidad y riqueza cerca de 2 pináculos emergentes mar adentro en el oeste y el sur de la isla. Los patrones que observamos en la diversidad (H') en todos los tipos de hábitat se reflejaron en gran medida en la estructura de la comunidad. La comunidad de arrecifes se diferenciaba de las de todos los demás tipos de hábitat, mientras que las comunidades de parches y de guijarros presentaron solo diferencias significativas marginales (Tabla S2) entre ellas y una superposición en el espacio EMD-NM con el arrecife y la columna de agua/arena. También encontramos, como era de esperar, que las comunidades de arena de fondo blando son bastante diferentes en su

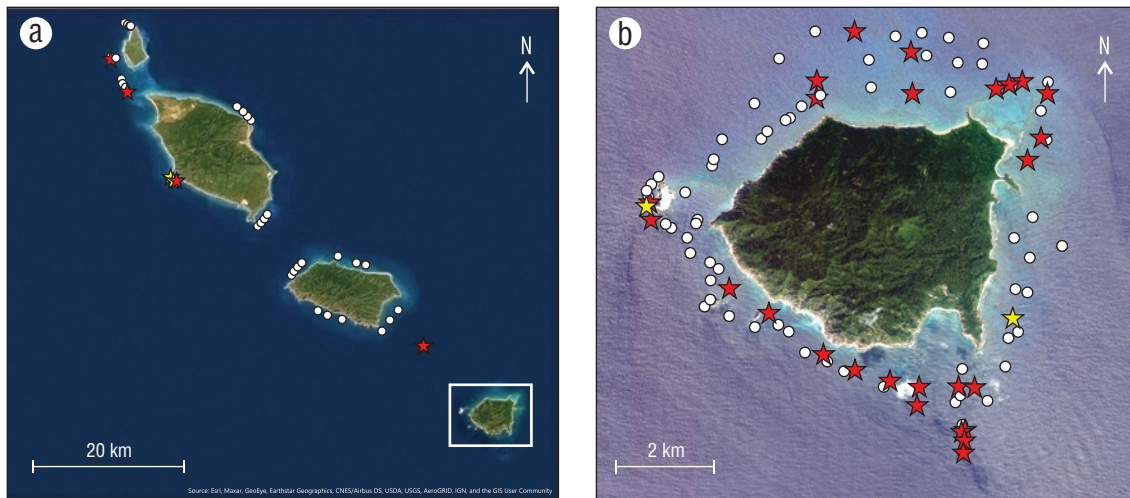


Figure 7. The spatial distribution of sharks at Islas Marías. Stars indicate drops where at least one shark species was present; white dots represent all other drops. Red stars indicate the presence of the *Ginglymostoma cirratum* (nurse shark). Yellow stars indicate the presence of *Triaenodon obesus* (whitetip reef shark) in addition to *G. cirratum*. There were no drops in which *T. obesus* was observed exclusively. (a) Full extent map and drops at the 3 northern islands of the Marías Archipelago. (b) Zoom-in to the 89 drops nearshore of Isla María Cleofas.

Figura 7. La distribución espacial de los tiburones en islas Marías. Las estrellas indican inmersiones en las que al menos una especie de tiburón estuvo presente; los puntos blancos representan todas las demás inmersiones. Las estrellas rojas indican la presencia del *Ginglymostoma cirratum* (tiburón nodriza). Las estrellas amarillas indican la presencia de *Triaenodon obesus* (tintorera punta aleta blanca) además de *G. cirratum*. No hubo inmersiones en las que se observó *T. obesus* exclusivamente. (a) Mapa de la extensión completa y de las inmersiones en las 3 islas del norte del archipiélago de las Marías. (b) Ampliación de las 89 inmersiones cercanas a la costa de isla María Cleofas.

associated with hard-bottom and patchy substrates. In particular, we found high diversity and richness near 2 offshore emergent pinnacles in the west and the south of the island. The patterns we observed in diversity (H') across habitat types were largely reflected in the community structure. The reef community differed from those in all other habitat types, whereas the patchy and cobble communities were only marginally significantly different (Table S2) from one another and showed overlap in nMDS space with both reef and sand/water column. We also found, not surprisingly, that soft-bottom, sand communities are quite different in their composition. Sand and water column communities were characterized by rays (i.e., *Dasyatis dipterura*, *Narcine entemedor*), puffers and porcupine fish (i.e., *Diodon holocanthus*, *Spherooides lobatus*), and reef-associated pelagics (i.e., *Nemastistius pectoralis*, *Gnathanodon speciosus*, *Chanos chanos*, *Caranx sexfasciatus*, *Euthynnus lineatus*). As most of the species observed in the sand and water column (20 out of 22) were also observed on hard-bottom habitats (reef and patchy), the observed differences in community structure are likely not due to a novel suite of species in the sand and water column, but rather to a soft-bottom community that utilizes a variety of habitats.

Intermediate habitat types such as coral rubble, rocky cobbles, and patchy substrates are particularly interesting because these habitats may be increasing with environmental disturbances such as warming events causing deterioration of coral reefs (Glynn and Colgan 1992) and destructive fishing practices that can level structural components of reefs (Mangi and Roberts 2006). On the coast of Oaxaca, while mean fish abundance tended to increase with rock cover, fish biodiversity increased in locations with increased amounts of coral rubble (López-Pérez et al. 2012). In our study cobble habitats showed an intermediate level of biodiversity, between reef and sand communities. Cobble communities occupied one of the widest community spaces on our nMDS plot, suggesting that if cobble substrate is becoming more prevalent in the TEP, it may still be able to support a wide breadth of the fish community. With potential for future habitat loss, studies that focus on the role of intermediate benthic substrates (such as patchy or cobble in this study) will be important in assessing fish communities and their ability to support historic levels of biomass and diversity.

BRUV method testing

In order to test the capabilities of the BRUV method in capturing reef community structure, the distribution–abundance relationship was plotted by trophic group in Figure 3. The BRUVs captured 3 broad trophic levels of fishes, from herbivores/omnivores to low-level predators to mid-level and top-level predators/piscivores. The relationship between frequency of occurrence and relative abundance within a trophic group follows the same general trends in all 3 trophic groups and is in line with community structure

composición. Las comunidades de arena y columna de agua se caracterizaron por rayas (i.e., *Dasyatis dipterura*, *Narcine entemedor*), peces globo y peces erizo (i.e., *Diodon holocanthus*, *Spherooides lobatus*) y peces pelágicos asociados a los arrecifes (i.e., *Nemastistius pectoralis*, *Gnathanodon speciosus*, *Chanos chanos*, *Caranx sexfasciatus*, *Euthynnus lineatus*). Como la mayoría de las especies observadas en la arena y la columna de agua (20 de 22) también se observaron en los hábitats de fondos duros (arrecifes y parches), las diferencias observadas en la estructura de la comunidad probablemente no se deben a un nuevo conjunto de especies en la arena y la columna de agua, sino a una comunidad de fondo blando que utiliza una variedad de hábitats.

Los tipos de hábitats intermedios como los escombros de coral, los guijarros rocosos y los sustratos en parches son particularmente interesantes porque estos tipos de hábitats pueden estar aumentando con las perturbaciones ambientales, como los eventos de calentamiento que causan el deterioro de los arrecifes de coral (Glynn y Colgan 1992) y las prácticas de pesca destructivas que pueden aplanar los componentes estructurales los de arrecifes (Mangi y Roberts 2006). En la costa de Oaxaca, mientras que la abundancia media de peces tendió a aumentar con la cobertura rocosa, la biodiversidad de peces aumentó en lugares con mayores cantidades de escombros de coral (López-Pérez et al. 2012). En nuestro estudio, los hábitats de guijarros mostraron un nivel intermedio de biodiversidad, entre las comunidades de arrecifes y las de arena. Las comunidades de guijarros ocuparon uno de los espacios de las comunidades más amplios en nuestro diagrama EMD-NM, lo que sugiere que, si el sustrato de guijarros es cada vez más prevalente en el POT, es posible que aún pueda sustentar una amplia gama de la comunidad de peces. Con la potencial pérdida de hábitat en el futuro, los estudios que se centran en el papel de los sustratos bentónicos intermedios (como los parches o los guijarros en este estudio) serán importantes para evaluar las comunidades de peces y su capacidad para soportar niveles históricos de biomasa y diversidad.

Pruebas del método BRUV

Para probar las capacidades del método BRUV para captar la estructura de la comunidad de arrecifes, la relación distribución-abundancia fue graficada por grupo trófico en la Figura 3. Los BRUV capturaron 3 niveles tróficos amplios de peces, desde herbívoros/omnívoros a depredadores de bajo nivel hasta depredadores/piscívoros de nivel medio y superior. La relación entre la frecuencia de ocurrencia y la abundancia relativa dentro de un grupo trófico sigue las mismas tendencias generales en los 3 grupos tróficos y concuerda con la teoría de la estructura de las comunidades (Preston 1948). Estas tendencias observadas son (1) la mayoría de las especies se agrupan cerca del origen y se presentan de manera escasa y, cuando lo hacen, con baja abundancia, y (2) la presencia y abundancia están correlacionadas

theory (Preston 1948). These observed trends are (1) most species cluster near the origin, occurring rarely and, when they do, in low abundance, and (2) occurrence and abundance are positively correlated, indicating that only a few species dominate and occur in relatively high abundance. Although there was an extreme lack of top-level predators at Islas Mariás (only *T. obsesus* and *E. lineatus* qualify), we have reason to believe this is an observed trend at Islas Mariás (see: *The richness (or lack thereof) of sharks*) and that the BRUV surveys are useful in capturing a variety of community assemblages and trophic groups over a variety of habitats.

Novel observations

Three species observed on the BRUV surveys were absent from the previous list of fishes at Islas Mariás (Erisman et al. 2011). These were *Carangoides otrynter* (threadfin pompano), *S. lobatus* (longnose pufferfish), and *Calotomus carolinus* (Caroline's parrotfish). The differing life strategies of these species (a benthopelagic piscivore, omnivorous reef fish, and corallivore) suggest the ability of BRUV surveys to detect a variety of new species in a variety of habitats. While the ranges of *C. otrynter* and *S. lobatus* previously were supposed to include the islands (Robertson and Allen 2015), this is the first recording of *C. carolinus* within 90 km of the central Mexican mainland. *Calotomus carolinus* is present throughout the Indian and southern Pacific oceans, from Madagascar to the Galapagos Islands, and in Pacific waters off Mexico at the Revillagigedo Islands, Clipperton Atoll, and the southern tip of the Baja California Peninsula (Robertson and Allen 2015).

Notwithstanding previous (non-BRUV) studies in the TEP that either failed to observe *Gymnothorax castaneus* (Panamic green moray) or reported it as rare (Aburto-Oropeza and Balart 2001, Campos-Dávila et al. 2005, Erisman et al. 2011), *G. castaneus* occurred commonly on the BRUV surveys. In fact, the nocturnal mesopredator was the seventh most frequently occurring species out of the 99 species observed. Although observed in low numbers, with a mean N_{\max} of 0.53 and a relative abundance of 0.05 in its group, *G. castaneus* individuals often interacted with the camera and bait in an aggressive manner (Fig. 8). With the advantage of bait, BRUV surveys tend to attract significantly more olfactory species than diver surveys, and in particular, this result supports evidence that BRUVs lure moray eels out of their diurnal hiding places (Bardach et al. 1959, Bassett and Montgomery 2011). In addition to establishing more accurate baselines of cryptic fishes, estimating the abundances of morays more accurately through BRUV analysis may better detail the effects of the removal of apex predators in Pacific waters off Mexico, as there is some speculation that as coastal shark populations decline worldwide (MacNeil et al. 2020), eels may become increasingly abundant and important predators (Pinheiro et al. 2017).

positivamente, lo que indica que solo pocas especies dominan y presentan una abundancia relativamente alta. Aunque hubo una ausencia extrema de depredadores de alto nivel en islas Mariás (solo *T. obsesus* y *E. lineatus* califican), tenemos razones para creer que esta es una tendencia observada en islas Mariás (ver: *La riqueza (o falta de ella) de tiburones*) y que los monitoreos con BRUV son útiles para captar una variedad de agrupaciones de comunidades y grupos tróficos en una variedad de hábitats.

Observaciones novedosas

Los monitoreos con BRUV mostraron 3 especies que estaban ausentes en la lista anterior de los peces de islas Mariás (Erisman et al. 2011). Estas fueron *Carangoides otrynter* (pámpano de hebra), *S. lobatus* (botete berrugoso) y *Calotomus carolinus* (pococho perico). Las diferentes estrategias de vida de estas especies (un piscívoro bentopelágico, un pez de arrecife omnívoro y un coralívoro) sugieren que los monitoreos con BRUV tienen la capacidad para detectar una variedad de nuevas especies en una variedad de hábitats. Aunque anteriormente se suponía que las distribuciones de *C. otrynter* y *S. lobatus* incluían las islas (Robertson y Allen 2015), este es el primer registro de *C. carolinus* dentro de los 90 km del centro de México continental. *Calotomus carolinus* está presente en los océanos Índico y Pacífico Sur, desde Madagascar hasta las islas Galápagos, y en aguas del Pacífico frente a México en las islas Revillagigedo, el atolón Clipperton y el extremo sur de la península de Baja California (Robertson y Allen 2015).

A pesar de que en los estudios previos (sin BRUV) en el POT no se observó a *Gymnothorax castaneus* (Morena verde) ni fue reportada como escaza (Aburto-Oropeza y Balart 2001, Campos-Dávila et al. 2005, Erisman et al. 2011), *G. castaneus* se presentó comúnmente en los monitoreos con BRUV. De hecho, el mesodepredador nocturno fue la séptima especie más frecuente de las 99 especies observadas. Aunque se observó un bajo número de individuos, con una N_{\max} media de 0.53 y una abundancia relativa de 0.05 en su grupo, los individuos de *G. castaneus* con frecuencia interactuaron con la cámara y la carnada de manera agresiva (Fig. 8). Con la ventaja de la carnada, los monitoreos con BRUV tienden a atraer significativamente más especies olfativas que los monitoreos con buzos y, en particular, este resultado respalda la evidencia de que los BRUV atraen a las morenas y estas salen de sus escondites diurnos (Bardach et al. 1959, Bassett y Montgomery 2011). Además de establecer líneas base más precisas de peces crípticos, estimar la abundancia de morenas con mayor precisión a través del análisis con BRUV puede detallar mejor los efectos de la eliminación de depredadores apicales en las aguas del Pacífico frente a México, ya que se especula que a medida que las poblaciones de tiburones costeros disminuyen en todo el mundo (MacNeil et al. 2020), las anguilas pueden convertirse en depredadores cada vez más abundantes e importantes (Pinheiro et al. 2017).



Figure 8. *Gymnothorax castaneus*, a cryptic mesopredator, is not so cryptic on the BRUV surveys.

Figura 8. *Gymnothorax castaneus*, un mesodepredador críptico, no es tan críptico en los monitoreos con BRUV.

The richness (or lack thereof) of sharks

Previous studies indicate that Islas Mariás is within the natural ranges of 21 species of shark present elsewhere in the TEP (Robertson and Allen 2015). Yet, many large shark species known to be present in the region were not observed either in our BRUV surveys or in parallel shark tagging efforts during the expeditions, despite the previous success of BRUV surveys in evaluating shark populations worldwide (Cappo et al. 2004a, Bradley et al. 2017, MacNeil et al. 2020). While tagging efforts resulted in observations of one dusky shark (*Carcharhinus obscurus*) and 5 tiger sharks (*Galeocerdo cuvier*), the BRUV surveys only observed 2 species of shark, *Ginglymostoma cirratum* (nurse shark) and *T. obesus* (whitetip reef shark), both which are reef-associated. The latter is not surprising considering that BRUV surveys were designed to target benthic fish communities. However, 22 BRUV drops viewed the water column at Isla María Cleofas, a historical shark fishing ground (McGoodwin 1976), and these, too, failed to detect any large pelagic sharks. Erisman et al.'s 2010 expedition also observed far fewer pelagic sharks than expected, only 2 scalloped hammerheads (*Sphyrna lewini*) and 1 bull shark (*Carcharhinus leucas*) in addition to the reef-associated *G. cirratum* and *T. obesus* (Erisman et al. 2011). The low abundance of sharks, when considered jointly with the evidence of ongoing shark-fishing in the area (Pérez-Jiménez et al. 2005, CONANP-SEMARNAT 2010), seems to indicate

La riqueza (o falta de ella) de los tiburones

Estudios previos indican que islas Mariás se encuentra dentro de las distribuciones naturales de 21 especies de tiburones presentes en otras partes del POT (Robertson y Allen 2015). Sin embargo, muchas especies de tiburones grandes que se sabe están presentes en la región no se observaron ni en nuestros monitoreos con BRUV ni en los esfuerzos paralelos de marcaje de tiburones durante las expediciones, a pesar del éxito anterior de los monitoreos con BRUV en la evaluación de las poblaciones de tiburones en todo el mundo (Cappo et al. 2004a, Bradley et al. 2017, MacNeil et al. 2020). Aunque los esfuerzos de marcaje dieron como resultado la observación de un tiburón arenero (*Carcharhinus obscurus*) y 5 tiburones tigre (*Galeocerdo cuvier*), en los monitoreos con BRUV solo se observaron 2 especies de tiburones, *Ginglymostoma cirratum* (tiburón nodriza) y *T. obesus* (tintorera punta aleta blanca), ambos asociados a los arrecifes. La presencia de este último no es sorprendente considerando que los monitoreos con BRUV se diseñaron para dirigirse a las comunidades de peces bentónicos. Sin embargo, 22 inmersiones de BRUV capturaron la columna de agua en isla María Cleofas, un sitio de pesca de tiburones histórico (McGoodwin 1976), y en estas tampoco se detectaron tiburones pelágicos grandes. En la expedición de Erisman et al. (2010) también se observó una cantidad de tiburones pelágicos mucho menor de lo esperado, solo 2 tiburones martillo común (*Sphyrna lewini*) y 1 tiburón toro (*Carcharhinus leucas*), además de los

local overfishing of these slow-growing predators. This growing body of evidence raises concerns about the conservation merits of the Biosphere Reserve, and it is apparent that future monitoring efforts will need to employ various techniques to detect changes in apex predator populations.

Conservation recommendations

Recently, Islas Mariás was declared a natural preserve and conservation area, including planning for the relocation of the Federal Penitentiary to the mainland (Rodríguez-Mega 2019). The opportunity now exists for Islas Mariás to become a priority area for marine conservation efforts in Pacific waters off Mexico. Our study highlights the presence of a diverse fish community, but we also note signs of overfishing despite the multiple reserve designations (Mexico Biosphere Reserve and UNESCO World Heritage Site) and the reputation as a *de facto* reserve of the “prison islands.” The lack of sharks in our BRUV surveys and our tagging efforts was particularly concerning in that many well-protected offshore islands and reefs in Mexico, such as Revillagigedo (Becerril-García et al. 2020, Ketchum et al. 2020) and Cabo Pulmo (Ketchum et al. 2020), show much higher shark abundance. Further research is necessary to better understand the causes of such observations. In particular, it is necessary to assess the effect of global change and local-scaled anthropogenic threats including but not limited to legal and illegal fishing, sportfishing, and other tourism activities. Additionally, future studies should assess the seasonal and long-term annual variability of fishes at Islas Mariás, in relation to seasonal upwelling events, interannual El Niño/Southern Oscillation events, and other oceanographic factors, which may impact fish community assemblages and functional composition (Lopez-Sandoval et al. 2009, Morales-de-Anda et al. 2020).

Due to its distance from the coast, and the absence of large human population centers, this archipelago has the potential to become an emblematic site for marine conservation in Mexico. However, its current and future marine conservation status seems uncertain. Our study will aid in the development of appropriate management strategies tailored to the spatial characteristics of the area and will also help in promoting conservation efforts in this archipelago.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by the Kirby Jones Family Foundation. The Nature Conservancy contributed to the coordination of partners involved in this project. The authors would like to thank the authorities from Islas Mariás (Secretaría de Gobernación, Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales-Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas [CONANP]) and the Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca (Mexico) and CONANP for the permits granted to carry out scientific work at the islands. We also

tiburones asociados a los arrecifes *G. cirratum* y *T. obsesus* (Erisman et al. 2011). La baja abundancia de tiburones, cuando se considera junto con la evidencia de la pesca de tiburones que continua en el área (Pérez-Jiménez et al. 2005, CONANP-SEMARNAT 2010), parece indicar una sobrepesca local de estos depredadores de crecimiento lento. Este creciente volumen de evidencia genera preocupaciones sobre los méritos de conservación de la Reserva de la Biosfera, y es evidente que los esfuerzos de monitoreo futuros deberán emplear varias técnicas para detectar cambios en las poblaciones de depredadores apicales.

Recomendaciones para la conservación

Recientemente, islas Mariás fue declarada una reserva natural y un área para la conservación, lo cual incluye la planificación para la reubicación del Penitenciario Federal al continente (Rodríguez-Mega 2019). Ahora existe la oportunidad para que islas Mariás se convierta en un área prioritaria para los esfuerzos de conservación marina en las aguas del Pacífico frente a México. Nuestro estudio destaca la presencia de una comunidad de peces diversa, pero también destacamos signos de sobrepesca a pesar de las múltiples designaciones de reserva (Reserva de la Biosfera de México y Patrimonio de la Humanidad de la UNESCO) y la reputación como una reserva *de facto* de las “islas prisión”. La ausencia de tiburones en nuestros monitoreos con BRUV y nuestros esfuerzos de marcaje fue particularmente preocupante porque muchas islas y arrecifes mar adentro bien protegidos en México, como Revillagigedo (Becerril-García et al. 2020, Ketchum et al. 2020) y Cabo Pulmo (Ketchum et al. 2020), presentan una abundancia de tiburones mucho mayor. Se necesitan más investigaciones para entender mejor las causas de estos hallazgos. En particular, es necesario evaluar el efecto del cambio global y las amenazas antropogénicas a escala local que incluyen, pero no se limitan a, la pesca legal e ilegal, la pesca deportiva y otras actividades turísticas. Además, los estudios futuros deben evaluar la variabilidad estacional y anual de largo plazo de los peces en las islas Mariás, en relación con los eventos de surgencia estacional, los eventos interanuales de El Niño/Oscilación del Sur y otros factores oceanográficos, los cuales pueden afectar la agrupación de las comunidades de peces y la composición funcional (Lopez-Sandoval et al. 2009, Morales-de-Anda et al. 2020).

Por su distancia de la costa y la ausencia de grandes núcleos de población humana, este archipiélago tiene el potencial de convertirse en un sitio emblemático para la conservación marina en México. Sin embargo, su estado de conservación marina actual y futuro parece incierto. Nuestro estudio ayudará a desarrollar estrategias de manejo apropiadas adaptadas a las características espaciales del área y también a promover los esfuerzos de conservación en este archipiélago.

thank Grupo Cleofas, La Punta Outdoors, and Protección y Restauración de Islas y Zonas Naturales for logistical support and use of field facilities during the expedition. Thank you to Amílcar Cupul-Magaña for the local names of fishes, as well as Ben Victor and D Ross Robertson for help with fish identifications. Thank you to Octavio Aburto and Ismael Mascarenas for their help with data collection. Lastly thanks to the crew of the María Cleofas and all the members of the field team, including photographer Sam Shimizu-Jones. This manuscript benefitted from the reviews of 3 anonymous reviewers.

REFERENCES

- Aburto-Oropeza O, Balart EF. 2001. Community structure of reef fish in several habitats of a rocky reef in the Gulf of California. *Mar Ecol.* 22(4):283–305.
<https://doi.org/10.1046/j.1439-0485.2001.01747.x>
- Allen GR, Robertson DR. 1994. *Fishes of the tropical eastern Pacific*. Honolulu (HI): University of Hawaii Press. 332 p.
- Bardach JE, Winn HE, Menzel DW. 1959. The role of the senses in the feeding of the nocturnal reef predators *Gymnothorax moringa* and *G. vicinus*. *Copeia*. 1959(2):133–139.
<https://doi.org/10.2307/1440065>
- Bassett DK, Montgomery JC. 2011. Investigating nocturnal fish populations *in situ* using baited underwater video: With special reference to their olfactory capabilities. *J Exp Mar Biol Ecol.* 409(1–2):194–199.
<https://doi.org/10.1016/j.jembe.2011.08.019>
- Becerril-García EE, Hoyos-Padilla EM, Henning B, Salinas-De León P. 2020. Sharks, rays, and chimaeras of the Revillagigedo National Park: An update of new and confirmed records. *J Fish Biol.* 97(4): 1228–1232.
<https://doi.org/10.1111/jfb.14457>
- Bessudo S, Soler GA, Klimley PA, Ketchum J, Arauz R, Hearn A, Guzmán A, Calmettes B. 2011. Vertical and horizontal movements of the scalloped hammerhead shark (*Sphyrna lewini*) around malpelo and Cocos Islands (Tropical Eastern Pacific) using satellite telemetry = Movimientos verticales y horizontales del tiburón martillo (*Sphyrna lewini*) alrededor de las islas Malpelo y Cocos (Pacífico Oriental Tropical) usando telemetría satelital. *Bol Invest Mar Cost.* 40(Supl. Esp.):91–106.
<https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2011.40.0.133>
- Bradley D, Papastamatiou YP, Caselle JE. 2017. No persistent behavioural effects of scuba diving on reef sharks. *Mar Ecol Prog Ser.* 567:173–184.
<https://doi.org/10.3354/meps12053>
- Briggs JC. 1974. *Marine Zoogeography*. New York: McGraw-Hill.
- Campos-Dávila L, Cruz-Escalona VH, Galván-Magaña F, Abitia-Cárdenas A, Gutiérrez-Sánchez FJ, Balart EF. 2005. Fish assemblages in a Gulf of California marine reserve. *B Mar Sci.* 77(3):347–362.
- Cappo M, Meekan MG, Perry MB, McCauley RD, Harvey ES. 2004a. Traditional fishing puts the bite on sharks. *Australasian Science.* 25:29–32.
- Cappo M, Speare P, De'ath G. 2004b. Comparison of baited remote underwater video stations (BRUVS) and prawn (shrimp) trawls for assessments of fish biodiversity in inter-reefal areas of the Great Barrier Reef Marine Park. *J Exp Mar Biol Ecol.* 302(2):123–152.
<https://doi.org/10.1016/j.jembe.2003.10.006>

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue apoyado por la Kirby Jones Family Foundation. The Nature Conservancy contribuyó a la coordinación de los socios involucrados en este proyecto. Los autores desean agradecer a las autoridades de islas Marías (Secretaría de Gobernación, Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales-Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas [CONANP]) y a la Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca (México) y CONANP por los permisos concedidos para realizar trabajos científicos en las islas. También agradecemos a Grupo Cleofas, La Punta Outdoors, y Protección y Restauración de Islas y Zonas Naturales por el apoyo logístico y el uso de las instalaciones de campo durante la expedición. Gracias a Amílcar Cupul-Magaña por los nombres locales de los peces, así como a Ben Victor y D Ross Robertson por su ayuda con la identificación de los peces. Gracias a Octavio Aburto e Ismael Mascarenas por su ayuda con la recopilación de los datos. Por último, gracias a la tripulación del María Cleofas y a todos los miembros del equipo de campo, incluido el fotógrafo Sam Shimizu-Jones. Este manuscrito se benefició de las revisiones de 3 revisores anónimos.

Traducido al español por Claudia Michel-Villalobos.

- Charles AA, Denice NR. 2002. Diversity in coral reef fish communities: the effects of habitat patchiness revisited. *Mar Ecol Prog Ser.* 227:87–96.
<https://doi.org/10.3354/meps227087>
- Claudino-Sales V. 2019. Malpelo fauna and flora sanctuary, Colombia. In: Claudino-Sales V (ed.), *Coastal World Heritage Sites*. Dordrecht (Netherlands): Springer. p. 315–320.
- Colton MA, Swearer SE. 2010. A comparison of two survey methods: differences between underwater visual census and baited remote underwater video. *Mar Ecol Prog Ser.* 400:19–36.
<https://doi.org/10.3354/meps08377>
- [CONANP-SEMARNAT] Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas-Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Mexico). 2010. Programa de Conservación y Manejo Reserva de la Biosfera Islas Marías, México [Conservation and Management Program for the Marías Islands Biosphere Reserve, Mexico]. Mexico City: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- [CONANP-SEMARNAT] Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas-Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Mexico). 2011. Acuerdo por el que se da a conocer el resumen del Programa de Manejo de la Reserva de la Biosfera Islas Marías [Agreement by which the summary of the Management Program of the Islas Marías Biosphere Reserve is disclosed]. Mexico City: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales 50 pp. Section 2.
- Crane NL, Tariel J, Caselle JE, Friedlander AM, Robertson DR, Bernardi G. 2018. Clipperton Atoll as a model to study small marine populations: Endemism and the genomic consequences of small population size. *PLOS ONE.* 13(6):e0198901.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198901>

- Dominici-Arosemena A, Wolff M. 2006. Reef fish community structure in the Tropical Eastern Pacific (Panama): living on a relatively stable rocky reef environment. *Helgol Mar Res.* 60:287–305.
<https://doi.org/10.1007/s10152-006-0045-4>
- Edgar GJ, Banks S, Fariña JM, Calvopiña M, Martínez C. 2004. Regional biogeography of shallow reef fish and macro-invertebrate communities in the Galapagos archipelago. *J Biogeogr.* 31:1107–1124.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2004.01055.x>
- Erismán BE, Galland GR, Mascarenas I, Moxley J, Walker HJ, Aburto-Oropeza O, Hastings PA, Ezcurra E. 2011. List of coastal fishes of Islas Mariás archipelago, Mexico, with comments on taxonomic composition, biogeography, and abundance. *Zootaxa.* 2985(1):26–40.
<https://doi.org/10.11646/zootaxa.2985.1.2>
- Friedlander AM, Giddens J, Ballesteros E, Blum S, Brown EK, Caselle JE, Henning B, Jost C, Salinas-de-León P, Sala E. 2019. Marine biodiversity from zero to a thousand meters at Clipperton Atoll (Île de La Passion), Tropical Eastern Pacific. *PeerJ.* 7:e7279
<https://doi.org/10.7717/peerj.7279>
- Friedlander AM, Zgliczynski BJ, Ballesteros E, Aburto-Oropeza O, Bolaños A, Sala E. 2012. The shallow-water fish assemblage of Isla del Coco National Park, Costa Rica: structure and patterns in an isolated, predator-dominated ecosystem. *Rev Biol Trop.* 60(Suppl. 3):321–338.
- Glynn PW, Colgan MW. 1992. Sporadic disturbances in fluctuating coral reef environments: El Niño and coral reef development in the Eastern Pacific. *Am Zool.* 32(6):707–718.
<https://doi.org/10.1093/icb/32.6.707>
- Grigg RW, Hey R. 1992. Paleooceanography of the Tropical Eastern Pacific Ocean. *Science.* 255(5041):172–178.
<https://doi.org/10.1126/science.255.5041.172>
- Grove JS, Lavenberg RJ. 1997. The fishes of the Galápagos Islands. Redwood City (CA, USA): Stanford University Press. p. 863 p.
- Harvey ES, Shortis MR. 1996. A system for stereo-video measurement of subtidal organisms. *Mar Technol Soc J.* 29:10–22.
- Hastings PA. 2000. Biogeography of the Tropical Eastern Pacific: distribution and phylogeny of chaenopsid fishes. *Zool J Linn Soc.* 128(3):319–335.
<https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.2000.tb00166.x>
- Hastings PA, Robertson DR. 2001. Systematics of tropical eastern Pacific fishes. *Rev Biol Trop.* 49(Suppl 1):209.
- Jiménez Prado P, Béarez P. 2004. Marine fishes of continental Ecuador. SIMBIOE/NAZCA/IFEA.
- Jones PJS. 2013. A governance analysis of the Galápagos Marine Reserve. *Mar Policy.* 41:65–71.
<https://doi.org/10.1016/j.marpol.2012.12.019>
- Ketchum JT, Hoyos-Padilla M, Aldana-Moreno A, Ayres K, Galván-Magaña F, Hearn A, Lara-Lizardi F, Muntaner-Lopez G, Grau M, Trejo-Ramírez A, et al. 2020. Shark movement patterns in the Mexican Pacific: A conservation and management perspective. In: Larson S, Lowry D (eds.), *Conservation of Mexican Sharks, Advances in Marine Biology.* London (UK): Academic Press.
- Ketchum JT, Reyes Bonilla H. 1997. Biogeography of hermatypic corals of the Archipiélago Revillagigedo, Mexico. In: Lessios HA, Macintyre IG (eds.), *Proceedings of the 8th International Coral Reef Symposium; 1996 Jun 24–29, Panama City, Panama:* Smithsonian Tropical Research Institute. p. 471–476.
- Ketchum JT, Reyes Bonilla H. 2001. Taxonomía y distribución de los corales hermatípicos (Scleractinia) del Archipiélago de Revillagigedo, México. *Rev Biol Trop.* 49:803–848.
- Knudsen SW, Clements KD. 2013. Revision of the fish family Kyphosidae (Teleostei: Perciformes). *Zootaxa.* 3751(1):1–101.
<http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.3751.1.1>
- López-Pérez RA, Calderon-Aguilera LE, Zepeta-Vilchis RC, López Pérez Maldonado I, López Ortiz AM. 2012. Species composition, habitat configuration and seasonal changes of coral reef fish assemblages in western Mexico. *J Appl Ichthyol.* 29(2):437–448.
<https://doi.org/10.1111/jai.12029>
- Lopez-Sandoval D, Rubén J, Lara-Lara R, Álvarez-Borrego S. 2009. Phytoplankton production by remote sensing in the region off Cabo Corrientes, Mexico = Producción fitoplanctónica por sensores remotos en la región frente a Cabo Corrientes, México. *Hidrobiológica.* 19(3):185–192.
- MacNeil MA, Chapman DD, Heupel M, Simpfendorfer CA, Heithaus M, Meekan M, Harvey E, Goetze J, Kiszka J, Bond ME et al. 2020. Global status and conservation potential of reef sharks. *Nature.* 583:801–806.
<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2519-y>
- Mangi SC, Roberts CM. 2006. Quantifying the environmental impacts of artisanal fishing gear on Kenya's coral reef ecosystems. *Mar Pollut Bull.* 52(12):1646–1660.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2006.06.006>
- McGoodwin JR. 1976. Society, economy, and shark-fishing crews in rural Northwest Mexico. *Ethnology.* 15(4):377–391.
<https://doi.org/10.2307/3773306>
- McLain DK, Pratt AE. 1999. Nestedness of coral reef fishes across a set of fringing reefs. *Oikos.* 85(1):53–67.
<https://doi.org/10.2307/3546791>
- Morales-de-Anda D, Cupul-Magaña AL, Rodríguez-Zaragoza FA, Aguilar-Betancourt C, González-Sansón G, Rodríguez-Troncoso AP. 2020. Reef fish functional composition and metrics reveal spatial differences in three protected islands in the Eastern Pacific. *Mar Ecol Progr Ser.* 635:139–150.
<https://doi.org/10.3354/meps13186>
- Nasar J, Ketchum J, Peñaherrera C, Arauz R, Bessudo S, Espinoza E, Soler G, Shillinger G, Green J, Hoyos M, et al. 2016. Tracking iconic migratory species among UNESCO World Heritage sites in the Eastern Tropical Pacific. In: Casier R, Douvère F (eds.), *The Future of the World Heritage Convention for Marine Conservation.* Paris (France): United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization. p. 57–65.
- Palacios MM, Zapata FA. 2014. Fish community structure on coral habitats with contrasting architecture in the Tropical Eastern Pacific. *Rev Biol Trop.* 62(Suppl. 1):343–357.
<https://doi.org/10.15517/rbt.v62i0.16360>
- Pérez-Jiménez JC, Sosa-Nishizaki O, Furlong-Estrada E, Corro-Espinosa D, Venegas-Herrera A, Barragán-Cuencas OV. 2005. Artisanal shark fishery at "Tres Marias" Islands and Isabel Island in the Central Mexican Pacific. *J Northw Atl Fish Sci.* 35:333–343.
<https://doi.org/10.2960/J.v35.m489>
- Pinheiro E, Layman CA, Castello JP, Leite TS. 2017. Trophic role of demersal mesopredators on rocky reefs in an equatorial Atlantic Ocean island. *J Appl Ichthyol* 33(1):47–53.
<https://doi.org/10.1111/jai.13204>
- Preston FW. 1948. The commonness, and rarity, of species. *Ecology.* 29(3):254–283.
<https://doi.org/10.2307/1930989>
- Quimbayo JP, Mendes TC, Kulbicki M, Floeter SR, Zapata FA. 2017. Unusual reef fish biomass and functional richness at Malpelo, a remote island in the Tropical Eastern Pacific. *Environ Biol Fish.* 100:149–162.
<https://doi.org/10.1007/s10641-016-0557-y>

- R Core Team. 2018. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing; accessed 2018 Dec. <https://www.R-project.org>.
- Roberts CM Ormond RFG. 1987. Habitat complexity and coral reef fish diversity and abundance on Red Sea fringing reefs. *Mar Ecol Prog Ser.* 41(1):1–8. <https://doi.org/10.3354/meps041001>
- Robertson DR, Allen GR. 2015. Shorefishes of the Tropical Eastern Pacific: online information system. Balboa (Panamá): Smithsonian Tropical Research Institute; accessed 2018 Dec 04. <https://biogeodb.stri.si.edu/sftep/en/pages>.
- Robertson DR, Cramer KL. 2009). Shore fishes and biogeographic subdivisions of the Tropical Eastern Pacific. *Mar Ecol Prog Ser.* 380:1–17. <https://doi.org/10.3354/meps07925>
- Rodríguez-Mega E. 2019. Mexican ecologists push to transform prison island into nature reserve. *Nature.* 568(7752):287–288. <https://doi.org/10.1038/d41586-019-01030-y>
- Sale PF. 1980. The ecology of fishes on coral reefs. *Oceanogr. Mar Biol Annu Rev.* 18:367–421.
- Times TY. 2019 Mar 18. Mexico ships inmates out of “Las Islas Marías” last island penal colony in the Americas. *The Yucatan Times*; accessed 2019 Dec 04; <https://www.theyucatanimes.com/2019/03/mexico-ships-inmates-out-of-las-islas-marias-last-island-penal-colony-in-the-americas/>.
- Topp RW. 1970. Behavior and color change of the rudderfish, *Kyphosus elegans*, in the Gulf of Panama. *Copeia.* 1970(4):763–765. <https://doi.org/10.2307/1442322>
- [UNESCO] United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization. 2012. Islas María. Ecological sciences for sustainable development. [Place unknown]: UNESCO; accessed 2019 Jul 31. <http://www.unesco.org/new/en/natural-sciences/environment/ecological-sciences/biosphere-reserves/latin-america-and-the-caribbean/mexico/islas-María/> 2019).
- Willis TJ, Babcock RC. 2000. A baited underwater video system for the determination of relative density of carnivorous reef fish. *Mar Freshwater Res.* 51(8):755–763. <https://doi.org/10.1071/mf00010>

*Received February 2020,
accepted September 2020.*

APPENDIX

A note on *Kyphosus elegans* and *Kyphosus vaigiensis*

Kyphosus elegans (Cortez sea chub) and *Kyphosus vaigiensis* (bronze sea chub) are related species of chub (family Kyphosidae) both present at Islas Mariás and in the TEP that sometimes school together (Grove and Lavenberg 1997, Robertson and Allen 2015). As the species exhibit color change behavior (Topp 1970, Jiménez Prado and Béarez 2004,) and are only distinguishable by slight variances in color in the same phase (Robertson and Allen 2015), *K. elegans* and *K. vaigiensis* are reported on the BRUV surveys as one category: *Kyphosus elegans/vaigiensis*. *Kyphosus ocyurus*, while more closely related to *K. vaigiensis* (Knudsen and Clements 2013), has a distinct shape and color pattern and remained reported in a separate category.

APÉNDICE

Una nota sobre *Kyphosus elegans* y *Kyphosus vaigiensis*

Kyphosus elegans (chopa de Cortés) y *Kyphosus vaigiensis* (chopa rayada) son especies emparentadas de cacho (familia Kyphosidae) presentes en las islas Mariás y en el POT que a veces se agrupan en cardúmenes (Grove y Lavenberg 1997, Robertson y Allen 2015). Como las especies exhiben un comportamiento de cambio de color (Topp 1970, Jiménez Prado y Béarez 2004) y solo se distinguen por ligeras variaciones de color en la misma fase (Robertson y Allen 2015), *K. elegans* y *K. vaigiensis* se reportan en los monitoreos con BRUV como una categoría: *Kyphosus elegans/vaigiensis*. *Kyphosus ocyurus*, aunque está más estrechamente relacionado con *K. vaigiensis* (Knudsen y Clements 2013), tiene una forma y un patrón de color distintos y se reportó en una categoría separada.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Table S1. Summary of the permutational multivariate analysis of variance results on depth (continuous) and habitat type (reef, patchy, cobble, sand, water column) of the Bray–Curtis dissimilarity matrix (fourth root transformed).

Tabla S1. Resumen de los resultados del análisis de varianza multivariado basado en permutaciones de la profundidad (continua) y el tipo de hábitat (arrecife, parches, guijarro, arena, columna de agua) de la matriz de disimilitud de Bray–Curtis (transformada a raíz cuarta).

Environmental factors	d.f.	Sum sq.	Pseudo- <i>F</i>	<i>R</i> ²	<i>P</i>
Habitat	4	9.550	10.40	0.29	0.001
Depth	1	0.962	4.18	0.029	0.001

d.f., degrees of freedom; Sum sq., sum of squares; Pseudo-*F*, *F* value by permutation; *P*-values based on 999 permutations.

Table S2. Pairwise permutational multivariate analysis of variance comparison tests of habitat types. Reported *P*-values use the Bonferroni correction for multiple comparisons.

Tabla S2. Pruebas del análisis de varianza multivariado basado en permutaciones por pares de los tipos de hábitat. Los valores *P* reportados utilizan la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples.

Pairwise comparisons		Fish community matrix	Shannon diversity index
Habitat 1	Habitat 2	<i>P</i> -value	<i>P</i> -value
Reef	Patchy	0.01	<0.01
	Cobble	0.01	<0.01
	Sand	0.01	<0.01
	Water column	0.01	<0.01
Patchy	Cobble	0.02	1.00
	Sand	0.01	<0.01
	Water column	0.01	<0.01
Cobble	Sand	0.03	0.03
	Water column	0.11	<0.01
Sand	Water column	1.00	0.07

Environmental drivers of fish community functional diversity in arid mangroves compared to a tropical estuary

Factores ambientales determinantes de la diversidad funcional de la comunidad de peces en manglares áridos en comparación con un estuario tropical

Juan Ángel Payan-Alcacio, Gustavo De La Cruz-Agüero, Rodrigo Moncayo-Estrada*

Instituto Politécnico Nacional-Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Avenida Instituto Politécnico Nacional, S/N, 23096, La Paz, Baja California Sur, Mexico.

* Corresponding author. E-mail: rmoncayo@ipn.mx

ABSTRACT. Mangroves are important habitats for fish across latitudinal gradients, but few studies have examined fish community functional diversity in mangroves from arid environments. To address this, we assembled 11 morpho-functional traits and taxonomic diversity for 123 fish species and environmental characteristics from 3 mangrove ecosystems in the Gulf of California, where arid conditions prevail. We compared these arid mangrove fish communities to a semitropical community in an estuarine condition to analyze functionality. Arid mangrove fish communities were similar to each other, but different from semitropical estuarine fish communities ($R = 0.951$, $P = 0.007$). Mangrove fish communities had higher trait diversity than the estuarine community, but the estuary had higher redundancy. Taxonomic diversity showed a latitudinal gradient, with the southernmost site in the arid region functioning as a transition site to estuarine communities. Despite the different taxonomic composition, the functional structure remained similar in the fish communities within the arid region and had higher counts of diverse traits than the site with estuarine conditions. High salinity and evaporation deficit in the arid mangroves relaxed habitat filtering pressures relative to the estuarine conditions, where the higher tolerance to salinity changes imposes redundant morphologies. Future studies should focus on seasonal variation of environmental effects on the functional aspects of the fish community.

Key words: richness, dispersion, redundancy, taxonomic diversity, Gulf of California.

RESUMEN. Los manglares son hábitats importantes para los peces a través de los gradientes latitudinales, pero pocos estudios han examinado la diversidad funcional de las comunidades de peces en ambientes áridos. Para abordar esto, reunimos 11 atributos morfofuncionales y analizamos la diversidad taxonómica de 123 especies de peces, además de analizar las características ambientales de 3 ecosistemas de manglar en el golfo de California, donde prevalecen condiciones áridas. Comparamos estas comunidades de peces de manglar árido con una comunidad semitropical en condiciones estuarinas para analizar la funcionalidad. Las comunidades de peces de los manglares áridos fueron similares entre sí, pero diferentes de las comunidades de estuarios semitropicales ($R = 0.951$, $P = 0.007$). Las comunidades de peces de los manglares áridos tuvieron una mayor diversidad de atributos que la comunidad estuarina, pero esta presentó una mayor redundancia de atributos. La diversidad taxonómica mostró un gradiente latitudinal, donde el sitio más sureño de la región árida funcionó como un sitio de transición para las comunidades estuarinas. A pesar de la diferente composición taxonómica, la estructura funcional siguió siendo similar en las comunidades de peces dentro de la región árida y obtuvo un mayor número de diversos atributos que el sitio en condiciones estuarinas. El alto déficit de salinidad y evaporación en los manglares áridos redujo la presión de filtrado del hábitat en relación con las condiciones estuarinas, donde la mayor tolerancia a los cambios de salinidad impone morfologías redundantes. Los estudios futuros deberán centrarse en la variación estacional de los efectos ambientales en los aspectos funcionales de la comunidad de peces.

Palabras clave: riqueza, dispersión, redundancia, diversidad taxonómica, golfo de California.

INTRODUCTION

Mangroves are important coastal environments around the circumtropical belt characterized by low-energy intertidal habitats (Sheaves 2017). Mangrove forest biodiversity and structure provide several ecological services, including ecosystem processes such as carbon sequestration, shore protection barriers (Barbier et al. 2011), and economically important fishing grounds (Costanza et al. 1997). Given the perceived beneficial effects of mangroves, their conservation is considered as a key issue in coastal environments (Al-Maslamani et al. 2013). In terms of associated fishes,

INTRODUCCIÓN

Los manglares son importantes ambientes costeros alrededor del cinturón circumtropical que se caracterizan por presentar hábitats intermareales de baja energía (Sheaves 2017). La estructura y la biodiversidad de manglares brindan varios servicios ecológicos, incluidos procesos del ecosistema como el secuestro de carbono, barreras de protección costera (Barbier et al. 2011) y zonas pesqueras económicamente importantes (Costanza et al. 1997). Debido a los beneficios que presentan los manglares, su conservación se considera un tema clave en el entorno costero (Al-Maslamani

mangroves are breeding, nursery, and feeding grounds for juvenile and transitive species (Lugendo et al. 2007).

Although during the past 3 decades there has been an increase in the number of studies related to the fish communities in mangrove habitats, most of the publications are geographically biased to certain continents and countries and are consequently related more to tropical environmental conditions (Faunce and Serafy 2006). As a result, there is a lack of information regarding other climates, such as the arid type in the northernmost geographical distribution.

The northern Pacific coast of Mexico has a predominantly arid and semiarid climate. Along the Gulf of California (GC), there are several mangrove patches in bays and protected coastal zones in the states of Baja California Sur, Sonora, and Sinaloa (Payan-Alejo 2012). Coverage of these mangrove habitats has not changed significantly, but Sinaloa has experienced coverage loss due to anthropogenic pressures (CONABIO 2009). The region presents brief seasonal rainfall mainly related to the influence of hurricanes and tropical storms.

In general, the mangrove habitat in this region is relatively undeveloped, usually limited to a narrow fringe bordering the coast discontinuously (Millán-Aguilar et al. 2020). It grows under suboptimal conditions such as tidal saltwater with higher salinity values than tropical areas (López-Medellín and Ezcurra 2012), resulting in relatively lower habitat complexity and lower fish species richness (Ochoa-Gómez et al. 2018). In this context, the present study includes the analysis of the fish community within the arid mangrove type near its distribution limit in the American Pacific and compares it to a site with estuarine conditions as a reference point.

The number of studies on the biogeography and composition of mangrove fishes in the region has begun to increase (Padilla-Serrato et al. 2017) to understand how the carbon input affects the food webs (Ochoa-Gómez et al. 2018) and how environmental conditions affect the diversity and distribution of these fish communities (Padilla-Serrato et al. 2016). Although these studies are important to understand the organization and complexity of communities in select areas of the GC, complementary analyses must also be implemented to identify intra and interspecific relationships and the regional structure and dynamics of the communities.

There are 3 different ecological approaches to explore the structure of fish communities in a multifaceted way: the classical approach, which considers ecological indices related to abundance and species richness; the taxonomic approach, which considers phylogenetic relationships of species revealing similarities in the evolutionary pathway (Clarke and Warwick 1999); and the functional approach, which is based on how species perform according to their ecological traits (e.g., feeding strategies, locomotion capabilities, reproduction, behavior, morphological or life history variables; Mason et al. 2005). Particularly, in the context of the functional structure, we have described complementary indices related to the target community. Furthermore, some studies

et al. 2013). En términos de peces asociados, los manglares son zonas de reproducción, crianza y alimentación de especies juveniles y transeúntes (Lugendo et al. 2007).

Aunque durante las últimas 3 décadas ha habido un aumento en el número de estudios relacionados con las comunidades de peces en hábitats de manglar, la mayoría de las publicaciones están sesgadas geográficamente a ciertos continentes y países, y en consecuencia están más relacionadas con las condiciones ambientales tropicales (Faunce y Serafy 2006). Como resultado, existe la falta de información sobre otros climas, como el tipo árido en su distribución geográfica más septentrional.

La costa del Pacífico norte de México tiene un clima predominantemente árido y semiárido. A lo largo del golfo de California (GC), hay varios parches de manglar en bahías y zonas costeras protegidas en los estados de Baja California Sur, Sonora y Sinaloa (Payan-Alejo 2012). La cobertura de estos hábitats de manglar no ha cambiado significativamente, a excepción de Sinaloa, que ha experimentado una pérdida del área debido a la presión antropogénica (CONABIO 2009). La región presenta lluvias estacionales ocasionales relacionadas, principalmente, con la influencia de huracanes y tormentas tropicales.

En general, el hábitat de manglar en esta región está relativamente poco desarrollado, limitado a una franja estrecha que bordea la costa de manera discontinua (Millán-Aguilar et al. 2020). Crece en condiciones subóptimas como las de aguas de marea con valores de salinidad más altos que en las zonas tropicales (López-Medellín y Ezcurra 2012), lo que resulta en una menor complejidad del hábitat relativa y una baja riqueza de especies de peces (Ochoa-Gómez et al. 2018). En este contexto, el presente estudio incluye el análisis de la comunidad de peces dentro del tipo de manglar árido cerca de su límite de distribución en la costa americana del Pacífico y lo compara con un sitio con condiciones estuarinas como punto de referencia.

El número de estudios sobre la biogeografía y la composición de los peces de manglar en la región ha empezado a incrementar (Padilla-Serrato et al. 2017) para comprender cómo el aporte de carbono afecta las redes tróficas (Ochoa-Gómez et al. 2018) y cómo las condiciones ambientales afectan la diversidad y la distribución de estas comunidades de peces (Padilla-Serrato et al. 2016). Aunque estos estudios son importantes para comprender la organización y la complejidad de las comunidades en áreas seleccionadas del GC, se deben implementar análisis complementarios para identificar las relaciones intra e interespecíficas, así como la estructura regional y la dinámica de las comunidades.

Existen 3 diferentes enfoques ecológicos para explorar la estructura de las comunidades de peces de una manera multifacética: el enfoque clásico, que considera los índices ecológicos relacionados con la abundancia y la riqueza de especies; el enfoque taxonómico, que considera las relaciones filogenéticas de las especies que revelan similitudes en el proceso evolutivo (Clarke y Warwick 1999); y el enfoque funcional,

have included more than one of these aspects of fish communities in different ecosystems, suggesting that taxonomic and functional diversity allow to overcome the limitations of the classical perspective, providing insights into the finer ecological processes (Villéger et al. 2010, Zhang et al. 2020).

We addressed 2 hypotheses. (1) The extreme environment drives the functional traits in the assembly process of the fish community structure of the arid mangrove system. Because of this, such traits will be unique to each locality, but the proportion of its functional traits will remain similar at the regional level (northwest Mexico), differing from the estuarine environment. (2) Because of the lack of continuous freshwater input, morphology of the fish community should indicate a higher presence of more specialized species in the arid conditions (*sensu* Villéger et al. 2010).

MATERIALS AND METHODS

Study area

Four sites in the GC northwest region of Mexico were studied. Three of the sites share similar arid environmental conditions, with high evaporation rates (>1,750 mm·yr⁻¹) that greatly exceed precipitation (López-Medellín and Ezcurra 2012, Table 1). Additionally, they lack permanent freshwater contributions from rivers, and the mangrove trees consequently tend to be dwarfed; the water depth in the coastal mangrove fringe is relatively shallow, with a semi-mixed tidal regime. The most common mangrove species are *Rhizophora mangle*, *Avicennia germinans*, and *Laguncularia racemosa* (Payan-Alejo 2012, Padilla-Serrato et al. 2016).

Bahía de La Paz (Baja California Sur, BCS) is the largest protected coastal system on the eastern side of the Baja California Peninsula. It is located in the southern region of

que se basa en cómo se comportan las especies de acuerdo con sus atributos ecológicos (e.g., estrategias de alimentación, capacidad de locomoción, reproducción, comportamiento, variables morfológicas o de historia de vida; Mason et al. 2005). Particularmente, en el contexto de la estructura funcional, describimos índices complementarios relacionados con la comunidad objetivo. Además, algunos estudios han incluido más de uno de estos aspectos de comunidades de peces en diferentes ecosistemas, con lo cual han determinado que la diversidad taxonómica y funcional permite superar las limitaciones de la perspectiva clásica, lo cual da resolución a los procesos ecológicos más finos (Villéger et al. 2010, Zhang et al. 2020).

Se abordaron 2 hipótesis. (1) El entorno ambiental extremo impulsa los atributos funcionales en el proceso de ensamblaje de la estructura de la comunidad de peces del manglar árido. Debido a eso, dichos atributos serán únicos para cada localidad, pero la proporción de sus atributos funcionales será similar a nivel regional (noroeste de México), difiriendo del ambiente estuarino. (2) Debido a la falta de aporte continuo de agua dulce, la morfología de la comunidad de peces debería indicar una mayor presencia de especies más especializadas en las condiciones áridas (*sensu* Villéger et al. 2010).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Se estudiaron 4 sitios en la región del GC en el noroeste de México. Tres de estos sitios compartieron condiciones ambientales áridas similares, con altas tasas de evaporación (>1,750 mm·año⁻¹) que excedieron ampliamente la tasa de precipitación (López-Medellín y Ezcurra 2012, Tabla 1).

Table 1. Different reported* environmental conditions at the mangrove sites analyzed.
Tabla 1. Diferentes condiciones ambientales reportadas* de los sitios de manglar analizados.

Site	La Paz Bay	Santa María-La Reforma	Las Guásimas	Marismas Nacionales
Code**	BCS	SIN	SON	NAY
Mangrove area (km ²)	44	32	52	437
Substrate	Muddy sand bottom	Muddy sand bottom	Muddy sand bottom	Muddy sand bottom
Salinity	39	34	38	24
Evaporation (mm·yr ⁻¹)	1,996.5	1,857.6	2,716.0	1,900.0
Temperature (°C, max)	31	32	31	22
Temperature (°C, min)	16	18	17	18
Rainfall (mm·yr ⁻¹)	182.6	650	253.4	1,500.0

*RAMSAR (2008), Félix-Pico et al. (2011), Vázquez-Botello (2011), Payan-Alejo (2012), CONABIO (2013), Payan-Alcacio (2015), Padilla-Serrato et al. (2017).

** Site codes are BCS, Baja California Sur; SIN, Sinaloa; SON, Sonora; and NAY, Nayarit.

the Central GC (*sensu* Brusca et al. 2005) between 24°07' and 24°21' N and 110°17' and 110°40' W. Bahía de la Paz has several mangrove patches, with different substrate conditions. The bay has a surface area of 45 km² and a maximum depth of 450 m, although the depth of the selected mangroves is shallow (2 m). Annual rainfall is around 200 mm. Santa María-La Reforma (Ramsar designation date 02 February 2009, No. 2025) is found on the western coast of the state of Sinaloa (SIN) in the region of the Southern GC. It is located between 24°43' and 25°15' N and 107°55' and 108°26' W, with a surface area of 40 km² and depths ranging from 0.5 to 32.0 m. This location is protected by sandy barriers formed by the action of the ocean currents, and annual rainfall there is 650 mm. Las Guásimas (Ramsar designation date 02 February 2008, No. 1790) is a coastal lagoon located on the eastern coast of the GC in the southern region of the state of Sonora (SON) between 27°49' and 27°55' N and 110°29' and 110°45' W. This is a shallow lagoon (0.7 m average depth) with a surface area of 37 km² and it is protected by 2 sand barriers that separate the water body from the sea, with 250 mm of annual rainfall (Fig. 1).

The fourth site is an estuarine location and was selected to test the first hypothesis. The differences between the 3 target arid localities and this site provide the opportunity to compare if the functional structure of fish is driven by more elusive conditions in tropical environments (e.g., greater presence of freshwater, lower evaporation rates), and how this could change the functional and taxonomic diversity of the fish community. Marismas Nacionales is one of the most important mangrove sites on the Pacific coast of Mexico because of its diversity and productivity (Ramsar designation date 22 June 1995, No. 732; CONABIO 2009). It is located to the south and outside of the GC region in the state of Nayarit (NAY), between 21°30' and 23°51' N and 105°14' and 106°01' W. This is a subhumid site with estuarine conditions that receives a supply of freshwater from different rivers year-round, and an annual rainfall of 1,500 mm.

Species composition

In BCS, fish composition was determined from monthly field samples (2010–2011) in 4 sites within 2 localities using a beach seine (50 × 3 m; mesh size: 1 cm). At each sampling site, 2 hauls were collected during high tide. For the other localities, species lists were extracted from the scientific literature for SIN (Payan-Alejo 2012), SON (Padilla-Serrato et al. 2016), and NAY (CONABIO 2009). All surveys from the literature followed systematic seasonal sampling lasting a yearlong and used seine nets and in some cases fish trawling to increase species detection effort. All extractions were done near the mangroves, an aspect that limits the maximum depth at which sampling can be performed. In the end, the overall sampling effort portrayed the ichthyofauna of each site in a similar way, allowing for analysis based on the presence and absence of species per location.

Adicionalmente, los sitios carecen de aportes permanentes de agua dulce provenientes de ríos, y consecuentemente, los árboles de mangle tienden a ser enanos; la profundidad del agua en el borde costero del manglar tiende a ser relativamente somera, con un régimen de mareas semidiurno. Las especies más comunes de mangle son *Rhizophora mangle*, *Avicennia germinans*, y *Laguncularia racemosa* (Payan-Alejo 2012, Padilla-Serrato et al. 2016).

Bahía de La Paz (Baja California Sur, BCS) es el sistema costero protegido más grande en la sección este de la península de Baja California. Se localiza en la región suroeste de la parte central del GC (*sensu* Brusca et al. 2005) entre 24°07' y 24°21' N y 110°17' y 110°40' W. La bahía de La Paz presenta varios parches de manglar, con diferentes condiciones en su sustrato. La bahía tiene un área de 45 km² y una profundidad máxima de 450 m, aunque la profundidad de los manglares seleccionados es somera (2 m). La precipitación anual es de alrededor de 200 mm. Santa María-La Reforma (fecha de designación Ramsar 02 de febrero de 2009, No. 2025) se encuentra en el litoral occidental del estado de Sinaloa (SIN) en la región del sur del GC. Se localiza entre 24°43' y 25°15' N y 107°55' y 108°26' W, con un área de 40 km² y profundidades de 0.5 a 32.0 m. Este sitio está protegido por una barreras arenosas formadas por la acción de las corrientes marinas, y presenta una precipitación anual de 650 mm. Las Guásimas (fecha de designación Ramsar 02 de febrero de 2008, No. 1790) es una laguna costera también localizada en la costa este del GC, en la parte sur del estado de Sonora (SON), entre 27°49' y 27°55' N y 110°29' y 110°45' W. Es una laguna somera (0.7 m de profundidad promedio) con un área superficial de 37 km² protegida por 2 barreras arenosas que separan el cuerpo de agua de la parte marina, con precipitación anual de 250 mm (Fig. 1).

El cuarto sitio es una localidad estuarina y se seleccionó para evaluar la primera hipótesis. Las diferencias entre las 3 localidades áridas objetivo y este sitio dieron la oportunidad de comparar si la estructura funcional de los peces es dirigida por condiciones más elusivas en un ambiente tropical (e.g., mayor presencia dulceacuícola y menores tasas de evaporación), y cómo esto puede cambiar la diversidad taxonómica y funcional de la comunidad de peces. Marismas Nacionales es uno de los sitios de manglar más importantes en la costa mexicana del Pacífico debido a su productividad y diversidad (fecha de designación Ramsar 22 de junio de 1995, No. 732; CONABIO 2009). Se localiza al sur y fuera de la región del GC, en el estado de Nayarit (NAY), entre 21°30' y 23°51' N y 105°14' y 106°01' W. Es un sitio semi-húmedo con condiciones estuarinas que recibe aportes dulceacuícolas por parte de ríos todo el año, y tiene una precipitación anual de 1,500 mm.

Composición de las especies

En BCS, la composición de peces fue determinada a partir de muestreos mensuales (2010–2011) en 4 sitios dentro de

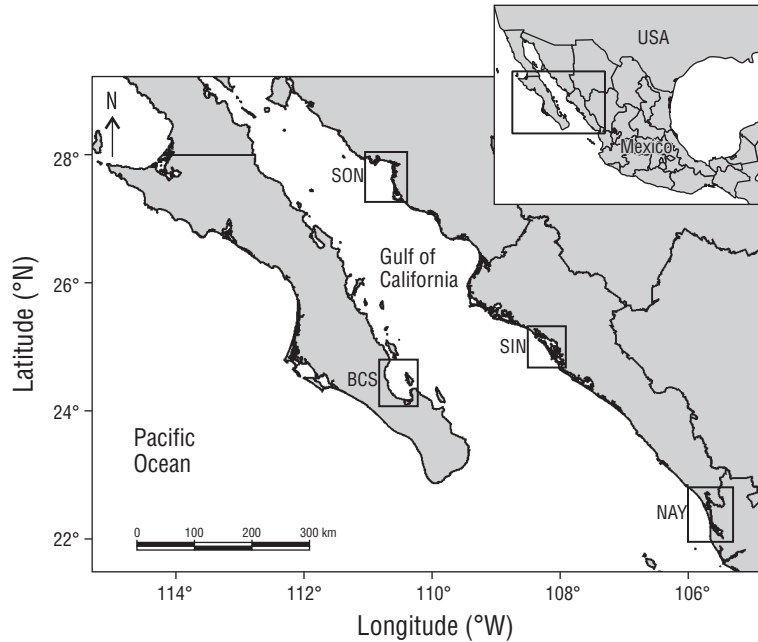


Figure 1. Map of the locations within the Gulf of California. Baja California Sur (BCS), Sinaloa (SIN), Sonora (SON), and Nayarit (NAY).
Figura 1. Mapa de las localidades dentro del golfo de California. Baja California Sur (BCS), Sinaloa (SIN), Sonora (SON), and Nayarit (NAY).

Analysis of similarity (ANOSIM) was used to test for differences in species composition similarity among sites and between sites (BCS, SIN, SON, and NAY). ANOSIM is a nonparametric test that uses a rank dissimilarity (Jaccard distance), where random iterations of the relationship between 2 objects are calculated and the resulting values range from -1 to 1 ; values closer to 1 indicate statistical difference between groups, while values closer to 0 indicate that the relationships are no different from a random construction. We separated 2 groups, the arid locations in one (BCS, SIN, and SON) and NAY in the second. Six random re-samples from NAY were required in order to generate enough data to create the second group, from which we ran 999 permutations of the analysis (Clarke 1993).

Functional data

Representative photographs of each species were obtained from specialized fish webpages (e.g., FishBase, <https://www.fishbase.de/>; Naturalista, <https://www.naturalista.mx/>). Five species were not considered in the analysis because available photographs did not match the quality criteria to be selected. Using ImageJ software (National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA; <http://imagej.nih.gov/ij/>), 19 homologous points were digitized in each photo (Fig. 2). From such points, 13 measurements (heights and lengths) were calculated for each species (Table 2). Finally, a total of 11 functional traits were obtained, which were derived from the proportions between measurements (Table 3). The traits were selected from those proposed by Villéger et al.

2 localidades usando un chinchorro playero (50×3 m; apertura de malla: 1 cm). En cada sitio de muestreo se realizaron 2 arrastres durante la marea alta. Para las otras localidades, la lista de especies fue extraída de la literatura científica para SIN (Payan-Alejo 2012), SON (Padilla-Serrato et al. 2016) y NAY (CONABIO 2009). Todos los estudios citados siguieron un muestreo sistemático estacional durante un año, y usaron redes de arrastre y, en algunos casos, arrastres camaroneros con la finalidad de incrementar la detección de especies. Todas las capturas se realizaron cerca de la sección de mangle, factor que limitó la máxima profundidad a la cual se pudo realizar el muestreo. Al final de cuentas, todos los muestreos describieron la ictiofauna para cada sitio de manera similar, lo que permitió el análisis con base en la presencia y ausencia de las especies por localidad.

El análisis de similitud (ANOSIM) fue utilizado para probar diferencias en la similitud de la composición de especies entre los sitios y las regiones (BCS, SIN, SON y NAY). Esta es una prueba no paramétrica que usa rangos de disimilitud (índice de Jaccard), donde las iteraciones aleatorias sobre la relación entre 2 objetos son calculadas y los resultados varían en un intervalo de -1 a 1 ; los valores cercanos a 1 indican diferencias estadísticas entre los grupos, mientras que valores cercanos a 0 indican que las relaciones estadísticas entre los grupos no son diferentes de una construcción aleatoria. Se separaron 2 grupos, las localidades áridas en uno (BCS, SIN y SON) y NAY en el segundo. Se realizaron 6 remuestreos aleatorios de NAY con la finalidad de crear suficiente información para el segundo grupo, para el cual se corrieron 999 permutaciones en el análisis (Clarke 1993).

(2010) and Soares et al. (2013) to best represent the strategies of fish species in relation to food acquisition, habitat, and locomotion. Correlation tables were used to identify and exclude those variables that were highly correlated with one another (Pearson coefficients >0.80), to avoid overestimation of the process that is represented in the functional attribute. From the remaining variables, a principal component analysis was used to identify those that were most significant in explaining the trait variation in the regional species pool (Houseman and Gross 2011). As long as trait selection is representative of species performance (Villéger et al. 2017), functional diversity indices are more reliable measures describing communities using even a small number of samples (Bady et al. 2005).

Some authors have suggested modifying the measurement procedure to reduce the variability in the measurements of the most extreme morphologies (e.g., flatfishes) (Toussaint et al. 2016). However, we decided not to do so since it is important to consider differences in morphology for a better understanding of the ecological processes studied (Toussaint et al. 2016).

Functional space

To create a multidimensional functional space from the traits selected, an affinity matrix using the Euclidean distance was calculated. Then, with the resulting matrix, a principal coordinate analysis (PCoA) was performed and results from the species coordinates were interpreted for the first 5 axes (Buisson et al. 2012).

Functional indices

The functionality of the fish community was characterized using the functional richness (FRic, Villéger et al. 2010), functional dispersion (FDis, Laliberté and Legendre 2010), and functional redundancy (FRed, Bello et al. 2007). Using

Datos funcionales

Fotografías representativas de cada especie fueron obtenidas de páginas web especializadas en peces (e.g., Fish-Base, <https://www.fishbase.de/>; Naturalista, <https://www.naturalista.mx/>). Cinco especies no fueron consideradas en el análisis porque las fotografías disponibles no cumplían con el criterio de calidad establecido para su selección. Con el uso del software ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, EUA; <http://imagej.nih.gov/ij/>), se digitalizaron 19 puntos homólogos en cada una de las fotografías (Fig. 2). A partir de esos puntos, 13 medidas (alturas y longitudes) se calcularon para cada especie (Tabla 2). Finalmente, un total de 11 atributos funcionales fueron obtenidos, que fueron derivados de las proporciones entre las medidas (Tabla 3). Los atributos fueron seleccionados de aquellos propuestos por Villéger et al. (2010) y Soares et al. (2013) para representar de la mejor manera las estrategias de los peces en relación con la obtención de su alimento, el hábitat y la locomoción. Se utilizaron tablas de correlación para identificar y remover aquellas variables que se encontraban altamente relacionadas entre sí (coeficientes de Pearson >0.80), con el fin de evitar la magnificación del proceso que se representaba en el atributo funcional. Con las variables restantes, se utilizó un análisis de componentes principales para identificar aquellas con mayor significancia para explicar la variación de los atributos en el grupo regional de las especies (Houseman y Gross 2011). En la medida que la selección de los atributos sea representativa del desempeño de las especies (Villéger et al. 2017), los índices de diversidad funcional serán medidas más confiables para describir la comunidad, aunque se utilice un pequeño número de muestras (Bady et al. 2005).

Algunos autores han sugerido modificar los procesos de medición para reducir la variabilidad entre las medidas de las morfologías más extremas (e.g., lenguados) (Toussaint et al. 2016). Sin embargo, se decidió no cambiarlas porque es importante considerar la diferencia en las morfologías para

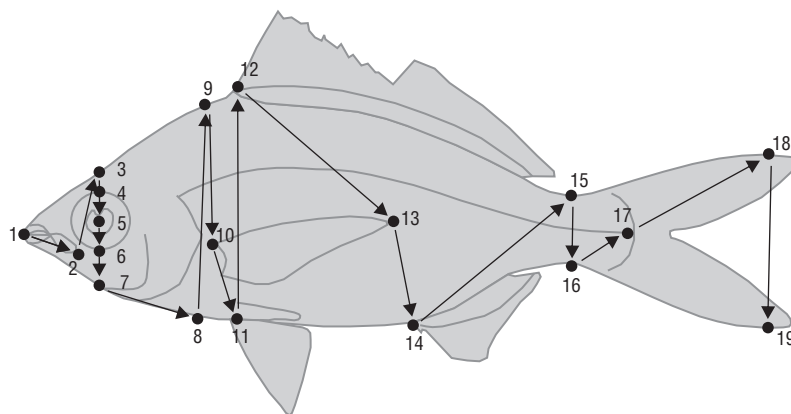


Figure 2. Set of homologous points measured in every species.

Figura 2. Registro de los puntos homólogos medidos en cada especie.

Table 2. Measurements obtained from the photographs.
Tabla 2. Medidas obtenidas a partir de las fotografías.

Measure	Acronym	Point A	Point B
Standard length	Sl	1	17
Maximum body height	Bh	11	12
Head height	Hh	8	9
Head length	Hl	1	8
Eye diameter	Ed	4	6
Eye position	Ep	5	11
Jaw length	Jl	1	2
Mouth position	Mp	1	11
Pectoral fin length	PFl	1	13
Pectoral fin insertion	Pfi	10	11
Caudal peduncle height	CPh	15	16
Caudal peduncle length	CPl	15	17
Caudal fin height	CFh	18	19

the R statistical language (v.3.6.1, R Core Team 2019), the first 2 indices were calculated with the multidimFD package (Villéger et al. 2017) and functional redundancy was calculated with the SYNCSA package (Debastiani and Pillar 2012).

To test our first hypothesis, functional richness was used to refer to the ecological niche occupied by species within a community (Mason et al. 2005). Functional dispersion is the weighted mean distance in the multidimensional trait space of individual species to the centroids (Laliberté and Legendre 2010), and it works as a complementary analysis to understand the distance of the traits from the center of the functional space. Both indices allowed us to create the baseline of the traits present in the community and to understand how the assembly process could be shaped.

Environmental and biotic interactions

With the aim of relating these traits to environmental conditions such as salinity, maximum and minimum temperature, type of substrate, precipitation rate, evaporation rate, precipitation deficit (precipitation rate – evaporation rate; $\text{mm} \cdot \text{yr}^{-1}$), and mangrove coverage area, distance-based redundancy analysis with Jaccard distance was used. The analysis uses PCoA eigenvalues into a redundancy analysis, allowing us to identify the relationship between multiple variables x and y in a non-symmetrical way. The analysis was processed with the function capscale of the package vegan in R (v.3.6.1, R Core Team 2019). Additionally, we described the environmental characteristics of each site from scientific publications and specialized fish webpages to corroborate this relationship (e.g., Castro-Aguirre et al. 1999; FishBase, <https://www.fishbase.de/>).

entender mejor los procesos ecológicos estudiados (Toussaint et al. 2016).

Espacio funcional

Para crear un espacio funcional multidimensional a partir de los atributos seleccionados, se calculó una matriz de afinidad utilizando distancias euclidianas. Posteriormente, con la matriz resultante, se realizó un análisis de coordenadas principales (PCoA, por sus siglas en inglés) y se interpretaron los resultados de las coordenadas de las especies para los primeros 5 ejes (Buisson et al. 2012).

Índices funcionales

La funcionalidad de la comunidad de peces fue caracterizada utilizando la riqueza funcional (FRic, Villéger et al. 2010), la dispersión funcional (FDis, Laliberté y Legendre 2010) y la redundancia funcional (FRed, Bello et al. 2007). Con el lenguaje estadístico R (v.3.6.1, R Core Team 2019), los primeros 2 índices fueron calculados con el paquete multidimFD (Villéger et al. 2017) y la redundancia funcional fue calculada con el paquete SYNCSA (Debastiani y Pillar 2012).

Con el fin de probar nuestra primera hipótesis, se utilizó la riqueza funcional para referirnos al nicho ecológico ocupado por las especies dentro de la comunidad (Mason et al. 2005). La dispersión funcional es la distancia media ponderada en el espacio multidimensional de las especies al centroide (Laliberté y Legendre 2010), y funciona como un análisis complementario para entender la distancia de los atributos al centro del espacio funcional. Ambos índices nos permitieron crear una línea base de los atributos presentes en

Specialized traits

In order to verify our second hypothesis and detect the specialized traits in the communities, functional redundancy analysis was selected to represent the maximum saturation of species with similar traits that are found in a given community; a zero value indicated that all the species are functionally different, in contrast to a value of one, which indicated that all the species shared similar traits in the community (Ricotta et al. 2016).

To complement the detection of the specialized traits, a taxonomic distinctness analysis was used to add another perspective into the differences in the community structure. As less taxa are found, it is most likely that the community would be represented by dominant traits, pointing out to a specialized community. This technique calculates the average distance based on the species phylogenetic tree of the locality, pairing all the species together (Clarke and Warwick 1999) based on their taxonomic relationships (species, genus, family, order, and class). The nature of this technique has proven effective in overcoming the limitation of comparing sites with different sampling efforts, by a resampling process of the “regional” pool of the species and the mathematical pairing of the analysis. An *a posteriori* test was used to detect the statistical similarity in the taxonomic structure of the sites, through the respective indices calculated from random subsets of communities to create a probability funnel, in which the localities are positioned; the ones outside the funnel are considered statistically different (Clarke and Warwick 1999). The analyses were performed using PRIMER software (v.6, Clarke and Gorley 2006).

Table 3. Formulas for calculating functional attributes.
Tabla 3. Fórmulas para calcular los atributos funcionales.

Attribute	Acronym	Formula*
Body elongation	tBe	Bh/SI
Body form	tBf	HI/SI
Body height	tBh	Hh/Bh
Oral gape position	tOGp	Mp/Hh
Mouth length	tMI	JI/HI
Eye size	tEI	Ed/Hh
Eye orientation	tEp	Ep/Hh
Pectoral fin size	tPFa	PFI/SI
Pectoral fin position	tPFp	PFi/Bh
Caudal pendule throttling	tCPt	CPh/CFh
Caudal pendule aspect	tCPa	CPh/CPI

*See Table 2 for definitions of abbreviations used in the formulas.

la comunidad y entender cómo el proceso de ensamblaje se podría representar.

Interacciones bióticas y ambientales

Con el objetivo de relacionar los atributos a las condiciones ambientales como la salinidad, la temperatura máxima y mínima, el tipo de sustrato, la tasa de precipitación, la tasa de evaporación, el déficit de precipitación (tasa de precipitación – tasa de evaporación; $\text{mm} \cdot \text{año}^{-1}$) y la cobertura del área de manglar, se utilizó un análisis de redundancia basado en distancias con el índice de Jaccard. El análisis usa eigenvalores de PCoA dentro de un análisis de redundancia, lo cual permite identificar la relación entre múltiples variables x e y de forma no simétrica. El análisis fue realizado con la función `capscale` del paquete `Vegan` en R (v.3.6.1, R Core Team 2019). Adicionalmente, se describieron las características ambientales donde se presentan las especies, a partir de publicaciones científicas y páginas especializadas en peces, para corroborar las relaciones encontradas (e.g., Castro-Aguirre et al. 1999; FishBase, <https://www.fishbase.de/>).

Atributos especializados

Con el objetivo de verificar la segunda hipótesis y detectar atributos especializados en las comunidades, se seleccionó el análisis de redundancia funcional para identificar la máxima saturación de especies con atributos similares dentro de una comunidad dada; un valor de cero indicó que todas las especies son funcionalmente diferentes, en contraste con el valor de uno, que indicó que todas las especies comparten los mismos atributos (Ricotta et al. 2016).

Con el fin de complementar la detección de los atributos especializados, se usó un análisis de distintividad taxonómica para agregar otra perspectiva a las diferencias en la estructura de la comunidad. Mientras menos taxones se encuentren, es menor la probabilidad de que la comunidad esté dirigida por atributos dominantes, lo que indica una comunidad especializada. Esta técnica calcula la distancia promedio dentro de un árbol filogenético de las especies en una localidad, emparejándolas todas (Clarke y Warwick 1999) con base en sus relaciones taxonómicas (especie, género, familia, orden y clase). La naturaleza de esta técnica ha demostrado ser efectiva para superar la limitación de las comparaciones de sitios con diferentes esfuerzos de muestreo, mediante un proceso de remuestreo del grupo “regional” de las especies y la técnica de emparejamiento matemático del análisis. Se utilizó una prueba *a posteriori* para detectar la similitud estadística en la estructura taxonómica de los sitios, a través de los índices calculados a partir de subconjuntos aleatorios de comunidades para crear un túnel de probabilidad, en el que las localidades están posicionadas; aquellas localidades fuera del túnel se consideran estadísticamente diferentes (Clarke y Warwick 1999). Los análisis se realizaron con el software PRIMER (v.6, Clarke y Gorley 2006).

RESULTS

Species richness

A total of 123 species were identified in the arid mangrove habitats in the GC region in northwest Mexico. Specifically, 69 species were found in Las Guásimas (SON), 58 in Santa María-La Reforma (SIN), and 50 in La Paz Bay (BCS). We found 12 shared species within 9 families across these localities: Haemulidae (3 spp.), Lutjanidae (2 spp.), Ephippidae, Gerreidae, Gobiidae, Mugilidae, Paralichthyidae, Synodontidae, and Tetraodontidae (one species each). For each pair of localities in the gulf, at least 8 to 9 species were shared (SIN–SON, SON–BCS, and BCS–SIN). Marismas Nacionales (NAY) is represented by 111 species, with 10 species in common with the species pool of the GC sites. It shares species from 8 out of 9 families with the exception of Gobiidae, with 59 exclusive species. ANOSIM detected differences between the arid mangrove sites and the external community ($R = 0.951$, $P = 0.007$).

Functionality

The variables that defined the grouping of the functional space in the community were the position of the mouth, aspect of the caudal peduncle, and position of the eye. The explained variance for the 4 localities was 95% in the first 5 ordination axes.

The results pertinent to the first hypothesis were that functional richness and dispersion presented the highest values in SON because of a higher diversity of species traits related to the presence of flatfishes in the community (Fig. 3). There was a large clustering of species from the order Perciformes in the middle of the functional space for all localities, where the attributes tended to be redundant because of their similar morphologies (perch-shape). Outside the cluster of redundancy, the nearest points are related to benthic species (Gobiidae, Tetraodontidae), while the farthest points are related to the morphology of flatfishes. The NAY locality, on the other hand, presented the lowest functional values for richness and dispersion because of its estuarine condition.

The distance-based redundancy analysis detected 3 separate groups among the sites analyzed and the environmental factors. In the first axis, there was a salinity gradient with the arid locations closely associated with higher values, BCS and SIN presented similar salinity concentrations, and NAY had lower salinity. The variable related to the surface area describes how NAY (with the highest richness) was related to a larger land extension of mangrove vegetation. Finally, in SON the community was governed by higher evaporation rates (Fig. 4).

In the description of the milieu of overall species (179 species in the 4 localities), 56% were defined as strictly marine, 32% had a marine–estuarine affinity, 10% were present from marine to freshwater habitats (e.g., *Achirus mazatlanus*,

RESULTADOS

Riqueza específica

Se identificaron un total de 123 especies en los hábitats áridos de manglar para la región del GC en el noroeste de México. Específicamente, se encontraron 69 especies en Las Guásimas (SON), 58 en Santa María-La Reforma (SIN) y 50 en bahía de La Paz (BCS). Se encontraron 12 especies compartidas dentro de 9 familias en estas localidades: Haemulidae (3 spp.), Lutjanidae (2 spp.), Ephippidae, Gerreidae, Gobiidae, Mugilidae, Paralichthyidae, Synodontidae y Tetraodontidae (1 sp. cada uno). Para cada par de localidades en el golfo, se compartieron entre 8 y 9 especies (SIN–SON, SON–BCS y BCS–SIN). Marismas Nacionales (NAY) está representada por 111 especies, con 10 especies en común con el conjunto de especies de los sitios del GC. Esta localidad comparte especies en 8 de 9 familias a excepción de Gobiidae, y tiene 59 especies exclusivas. El ANOSIM detectó diferencias entre los sitios de manglar áridos y la comunidad externa ($R = 0.951$, $P = 0.007$).

Funcionalidad

Las variables que definieron los agrupamientos en el espacio funcional de la comunidad fueron la posición de la boca, el aspecto del pedúnculo caudal y la posición del ojo. La varianza explicada para las 4 localidades fue del 95% en los primeros 5 ejes de ordenación.

Los resultados para la primera predicción fueron que la riqueza funcional y la dispersión presentaron los valores más altos en SON debido a una mayor diversidad de atributos de las especies relacionados con la presencia de lenguados en la comunidad (Fig. 3). Se obtuvo un gran agrupamiento de especies del orden Perciformes en la mitad del espacio funcional para todas las localidades, donde los atributos tendieron a ser redundantes debido a sus morfologías similares (forma de percas). Fuera del grupo de redundancia, los puntos más cercanos están relacionados con especies bentónicas (Gobiidae, Tetraodontidae), mientras que los puntos más alejados están relacionados con la morfología de los lenguados. La localidad de NAY, por su parte, presentó los valores funcionales más bajos de riqueza y dispersión debido a su condición estuarina.

El análisis de redundancia basado en distancias detectó 3 grupos separados entre los sitios analizados y los factores ambientales. En el primer eje, hubo un gradiente de salinidad con las localidades áridas estrechamente asociadas con valores más altos, BCS y SIN presentaron altas concentraciones de salinidad y NAY presentó menor salinidad. La variable de superficie describe cómo el sitio NAY (que presentó la mayor riqueza de especies) se relacionó principalmente con una mayor extensión de vegetación de manglar. Finalmente, en SON la comunidad estuvo condicionada por las tasas de evaporación más altas (Fig. 4).

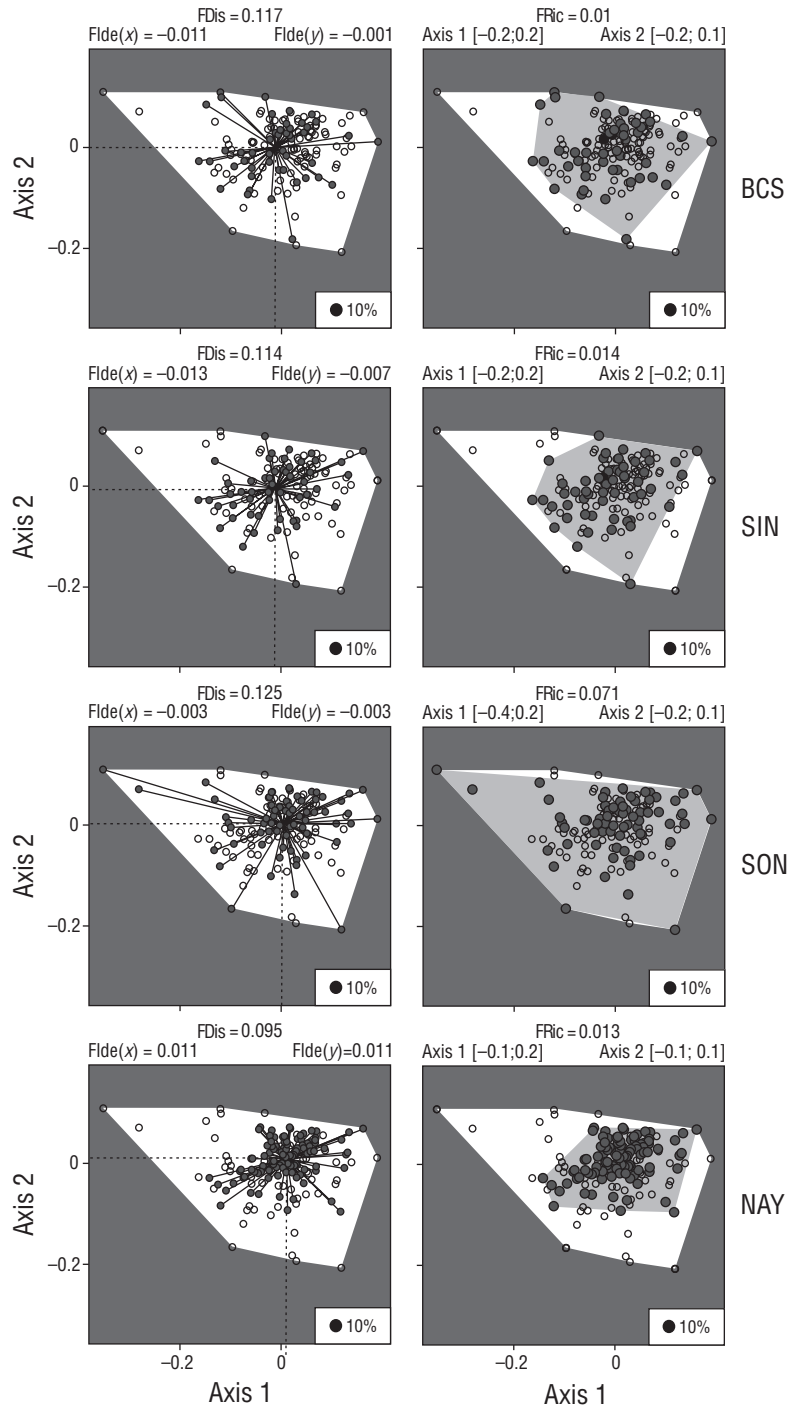


Figure 3. Principal coordinate analysis for functional dispersion (FDis) and functional richness (FRic) in each locality: Baja California Sur (BCS), Sinaloa (SIN), Sonora (SON), and Nayarit (NAY). The functional space of the mangrove fishes in the Gulf of California represents the species distributed along the first and second axes using 11 functional traits. The clear polygon represents the functional space of the total pool of species at all localities, while the smaller polygon (shaded) represents the functional space at each locality. The explained variability in the axis is 60.0% for BCS, 57.9% for NAY, 52.3% for SON, and 49.3% for SIN. In general, the northern localities had higher values in both indices than the southern locality (NAY).

Figura 3. Análisis de coordenadas principales para la dispersión funcional (FDis) y la riqueza funcional (FRic) por localidad: Baja California Sur (BCS), Sinaloa (SIN), Sonora (SON) y Nayarit (NAY). El espacio funcional de los peces de manglar en el golfo de California representa las especies distribuidas a lo largo del primer y segundo eje usando 11 atributos funcionales. El polígono claro representa el espacio funcional del conjunto total de especies en todas las localidades, mientras que el polígono de menor dimensión (sombreado) representa el espacio funcional de cada localidad. La variabilidad explicada en el eje va del 60.0% para BCS, 57.9% para NAY, 52.3% para SON y 49.3% para SIN. En general, las localidades norteñas presentaron mayores valores en ambos índices que la localidad más sureña (NAY).

Eucinostomus currani, *Gerres cinereus*, *Mugil curema*, and *Mugil cephalus*), and 2% were peripheral with continuous migration from the sea into the river (e.g., *Colpichthys hubbsi* and *Colpichthys regis*). Only one introduced species of freshwater origin was found in NAY (*Oreochromis aureus*). Regarding the species with wide salinity tolerance, 6, 8, 11, and 16 species were found in the SON, BCS, SIN, and NAY sites, respectively. In the case of the species that occurred at all sites (11 spp.), those with marine–estuarine affinity were the most common (5 spp.), followed by those that were strictly marine (3 spp.), and finally those with an affinity to all environments (3 spp.).

The results related to the second hypothesis showed that functional redundancy had similar results for all localities with overlap in the community's functional space, with an increasing gradient starting from the northern to the southern localities (SON: 0.586; BCS: 0.595; SIN: 0.600; and NAY: 0.641). The taxonomic diversity showed significant statistical variation in the taxonomic composition of the localities within the GC because SIN was outside the probabilistic funnel. However, if we compare the position of NAY, there is a higher level of variance within this location (Fig. 5). Additionally, this analysis showed that the organizational levels with the greatest probability of change were found at the taxonomic level of order.

DISCUSSION

Using a functional approach for the analysis of the fish community at different sites in the GC, we found that the communities seem to show functional overlap due to the similarities in the arid conditions of the mangrove ecosystem of northwest Mexico (López-Medellín and Ezcurra 2012). In terms of our hypotheses, contrary to the first one, we did not find trait uniqueness for each locality, but a high similarity in the ecoregion functional structure. We found that the high functional similarity in community structure could be related to the similar use of the mangroves by fishes in the gulf. Since coastal fishes usually look for shelter in protected areas (Sheaves 2017), the few mangrove sites available along the GC (CONABIO 2009) have a higher importance as nursery grounds for the juveniles than other coastal zones and ecosystems along the region (Álvarez-Romero et al. 2013). Additionally, these habitats attract opportunistic predators, as has been reported for some species (*Oligoplites altus* and *Auxis thazard*) in the warm season in locations within La Paz Bay, BCS (González-Acosta et al. 2005), and SON (Padilla-Serrato et al. 2017). In addition, it is probable that the functional filtering factor for estuarine fish communities is higher than high-salinity sites because of the physiological conditions needed to withstand greater variations in the water conditions of an estuarine environment.

According to the hypothesis that drier environmental conditions promote higher presence of more specialized species, the results supported this statement with lower redundancy

En la descripción de la afinidad ambiental de las especies (179 especies en las 4 localidades), el 56% de estas se definieron como estrictamente marinas, el 32% tuvo una afinidad marino-estuarina, el 10% estuvo presente en hábitats marinos y hasta en los de agua dulce (e.g., *Achirus mazatlanus*, *Eucinostomus currani*, *Gerres cinereus*, *Mugil curema* y *Mugil cephalus*) y el 2% eran periféricos con migración continua desde el mar hacia el río (e.g., *Colpichthys hubbsi*, *Colpichthys regis*). Solo se encontró una especie introducida con origen dulceacuícola en NAY (*Oreochromis aureus*). Con respecto a las especies con amplia tolerancia a la salinidad, se encontraron 6 en SON, 8 en BCS, 11 en SIN y 16 en NAY. En el caso de las especies que se presentaron en todos los sitios (11 spp.), aquellas con afinidad marino-estuarina fueron las más comunes (5 spp.), seguidas de aquellas que eran estrictamente marinas (3 spp.) y finalmente aquellas con afinidad a todos los ambientes (3 spp.).

Los resultados relacionados con la segunda predicción mostraron que la redundancia funcional presentó valores similares para todas las localidades con una superposición en el espacio funcional de la comunidad, con un gradiente que aumentó a partir de las localidades del norte hacia las del sur (SON: 0.586; BCS: 0.595; SIN: 0.6; y NAY: 0.641). La diversidad taxonómica mostró una variación estadística significativa en la composición taxonómica de las localidades dentro del GC porque SIN salió del túnel probabilístico. Sin embargo, si comparamos la posición de NAY, hay un mayor nivel de variación dentro de esta ubicación (Fig. 5). Adicionalmente, este análisis mostró que los niveles organizacionales con mayor probabilidad de cambio se encontraron en el nivel taxonómico de orden.

DISCUSIÓN

Al utilizar un enfoque funcional para el análisis de la comunidad de peces en diferentes sitios del GC, se encontró que, debido a las similitudes en la condición árida del ecosistema de manglares del noroeste de México (López-Medellín y Ezcurra 2012), las comunidades aparentemente presentan superposición funcional. Tomando en cuenta las hipótesis, contrario a lo predicho en la primera propuesta, no se encontraron atributos únicos para cada localidad, sino una gran similitud en la estructura funcional de la ecoregión. Se encontró que la alta similitud funcional en la estructura de la comunidad puede estar relacionada con el uso semejante que hacen los peces de los manglares en el golfo. Dado que los peces costeros generalmente buscan refugio en áreas protegidas (Sheaves 2017), los pocos sitios de manglares disponibles a lo largo del GC (CONABIO 2009) tienen una mayor importancia como guarderías para los juveniles que otras zonas costeras y ecosistemas a lo largo de la región (Álvarez-Romero et al. 2013). Además, estos hábitats atraen depredadores oportunistas, como se ha reportado en la estación cálida para algunas especies (*Oligoplites altus* y *Auxis thazard*) en lugares dentro de bahía de La Paz, BCS

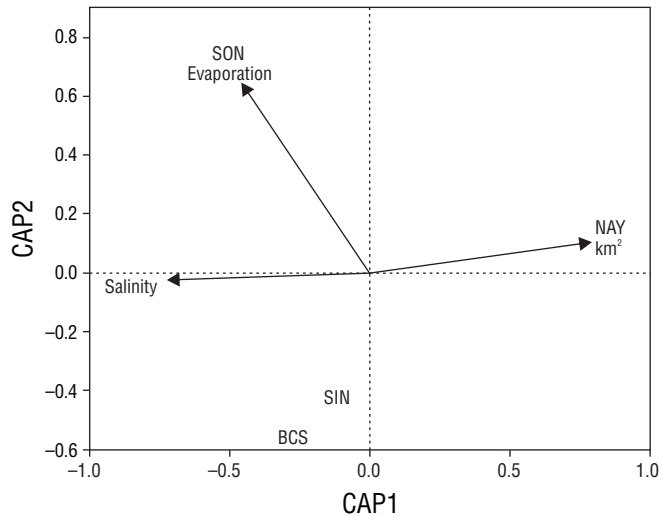


Figure 4. Distribution-based redundancy analysis ordination diagram of northwest region with environmental variables and species scores for Baja California Sur (BCS), Sinaloa (SIN), Sonora (SON), and Nayarit (NAY).

Figura 4. Diagrama de ordenación del análisis de redundancia basado en distancias de la región noroeste con los valores de las variables ambientales y las especies para Baja California Sur (BCS), Sinaloa (SIN), Sonora (SON) y Nayarit (NAY).

values in the Cortezian ecoregion. Representative fish such as flatfish, gobies, and puffers belonged to the benthic guild. Also a taxonomic latitudinal gradient seemed to be present for the mangrove fish community. Northern localities were less diverse, and SIN represented a transitional locality between the arid and semitropical conditions (NAY), probably due to more frequent riverine supply.

Composition of fish communities

A comparison of the diversity of fish species in mangroves from the GC with that of other mangroves with arid conditions worldwide (e.g., Shahraki et al. 2016) indicated that our localities (>55 spp. on average) presented almost twice the richness of species than that at other sites (± 30 spp.). A possible explanation is that the GC presents temporal and spatial changes in the climatic and environmental conditions, promoting the annual and interannual signals that enable the entrance of fish species into the gulf (Escalante et al. 2013). Consequently, it is common to find species with tropical and temperate affinities (González-Acosta et al. 2005).

On the other hand, when comparing the total richness of the GC sites against NAY (111 spp.), we found reduced richness of species in northwest Mexico. For example, in NAY, the presence of marine and brackish species in the families Centropomidae, Eleotridae, and Sciaenidae was common, as was the presence of some freshwater euryhaline species like the those in the family Cichlidae. In the case of marine demersal

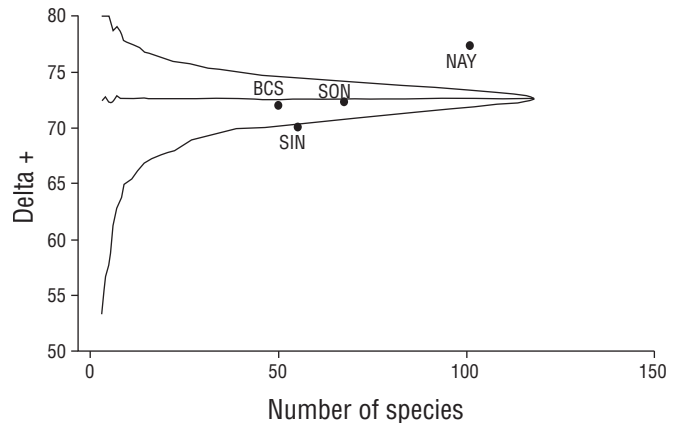


Figure 5. The probability funnel of the taxonomy shows the northwest localities of Mexico, and the ones that are inside the funnel had statistically similar taxonomic composition. Baja California Sur (BCS), Sinaloa (SIN), Sonora (SON), and Nayarit (NAY). The values with respect to the y-axis (delta +) show the taxon level of variation of the community (order level).

Figura 5. El túnel de probabilidad taxonómica muestra las localidades del noroeste de México, y las que se encuentran dentro del túnel tuvieron una composición taxonómica estadísticamente similar. Baja California Sur (BCS), Sinaloa (SIN), Sonora (SON), y Nayarit (NAY). Los valores con respecto al eje y (delta +) muestran el nivel taxonómico de variación de la comunidad (nivel de orden).

(González-Acosta et al. 2005) y SON (Padilla-Serrato et al. 2017). Adicionalmente, es probable que el factor de filtración funcional para las comunidades de peces estuarinos sea mayor que en los sitios de alta salinidad, debido a las condiciones fisiológicas requeridas para soportar mayores variaciones en las condiciones del agua del ambiente estuarino.

De acuerdo con la hipótesis de que las condiciones ambientales áridas promueven una mayor presencia de especies más especializadas, los resultados respaldaron esta afirmación con valores de redundancia más bajos en la ecorregión Corteziana. Los lenguados, los gobios y los botetes pertenecientes al gremio bentónico representaron esta comunidad. Además, pareció estar presente un gradiente latitudinal taxonómico para la comunidad de peces de manglar. Las localidades del norte fueron menos diversas y SIN representó una localidad de transición entre las condiciones áridas y semitropicales (NAY), probablemente debido a un suministro fluvial más frecuente.

Composición de las comunidades de peces

Cuando se compara la diversidad de las especies de peces en manglares del GC con la de otros manglares en el mundo con condiciones áridas (e.g., Shahraki et al. 2016), las localidades del presente estudio (en promedio >55 spp.) presentan casi el doble de la riqueza de especies que en otros sitios (± 30 spp). Una posible explicación es que el GC presenta cambios temporales y espaciales en sus condiciones

fish, some species of Haemulidae (*Anisotremus interruptus* and *Genyatremus dovii*), Lutjanidae (*Lutjanus inermis* and *Lutjanus jordani*), and Carangidae (*Carangoides otrynter*) were absent in the northwest.

The functional approach

The first 2 axes in the functional space of the mangrove fish community explained a high percentage of the overall variance since almost all the species belonged to Perciformes. The traits with the higher functional explanation power were the position of the mouth and position of the eye on the first axis, both related to the feeding process. Meanwhile, the aspect of the caudal peduncle better described the second axis and is related to locomotion. Similar results were found by Soares et al. (2013) for fish communities in Brazil. However, the results of the explained variance appear to be magnified by the percentage of species present from the families Lutjanidae, Haemulidae, Sciaenidae, Serranidae, and Gerreidae (fishes with similar morphology, from now on referred as generalists). This has been reported for other fish fauna that have experienced high radiation events but had less significant differences in morphological features (Toussaint et al. 2016).

Other fish adaptations in the results showed sessile benthic species (flatfishes, the farthest species from the cluster of generalist species) on the first axis. These species are characterized by relatively thick peduncles, indicating the use of short burst movements. Further, the mouth and eyes are higher with respect to the size of the head (although this aspect is more related to an ontogenetic process than a feeding one, Stoner and Ottmar 2003). Another important group that we could identify is that of pelagic fish (present in the upper positive zone from the generalist species), which have thin peduncles, as they are more compact for constant movements. Additionally, the origin of their mouths is in the lower part of the head and far towards the back of the body, allowing the greater opening of the jaw and also generating more suction to capture prey (Webb 1984). From the upper positive part of the PCoA to the lower negative area (axis 2), we could mainly differentiate a change in locomotion strategies from pelagic species that can be characterized by a continuous, sustained swimming speed to those with less locomotion capacity (Sambilay 1990).

The sites in the GC showed lower functional redundancy than NAY. Consequently, the values of the functional indices were higher in northwest locations because of the diversification of traits (Fig. 3). Similar results had been found by other authors, where localities at higher latitudes presented a higher functional diversity of traits than localities closer to the equator (Stuart-Smith et al. 2013, Toussaint et al. 2016). Considering the geographical proximity of our localities, we corroborated what has been proposed by other authors, which is that these functional indices allow for more sensitive detection of small disturbances (Villéger et al. 2017). Therefore,

climáticas y ambientales, lo cual propicia que las señales anuales e interanuales afecten más la entrada de especies de peces al golfo (Escalante et al. 2013). En consecuencia, es común encontrar especies con afinidades tropicales y templadas (González-Acosta et al. 2005).

Por su parte, al comparar la riqueza total de los sitios en el GC contra NAY (111 spp.), se encontró una riqueza de especies reducida en el noroeste de México. Por ejemplo, en NAY fue común la presencia de especies marinas y salobres de las familias Centropomidae, Eleotridae y Sciaenidae, así como algunas especies eurihalinas de agua dulce como aquellas de la familia Cichlidae. En el caso de peces demersales marinos algunas especies de Haemulidae (*Anisotremus interruptus* y *Genyatremus dovii*), Lutjanidae (*Lutjanus inermis* y *Lutjanus jordani*) y Carangidae (*Carangoides otrynter*) no estuvieron presentes para la región del noroeste.

El enfoque funcional

Los 2 primeros ejes en el espacio funcional de la comunidad de peces de manglar explicaron un alto porcentaje de la varianza total debido a que casi todas las especies pertenecieron a los Perciformes. Los atributos con mayor poder de explicación funcional fueron la posición de la boca y la posición del ojo en el primer eje, ambos relacionados con el proceso de alimentación. Mientras tanto, el aspecto del pedúnculo caudal describió mejor el segundo eje y estuvo relacionado con la locomoción. Resultados similares fueron encontrados por Soares et al. (2013) para comunidades de peces en Brasil. Sin embargo, los resultados de la varianza explicada parecen estar magnificados, por el porcentaje de especies presentes de las familias Lutjanidae, Haemulidae, Sciaenidae, Serranidae y Gerreidae (peces similares en su morfología, de ahora en adelante referidos como generalistas). Esto se ha reportado en otras faunas ícticas que han experimentado eventos de alta radiación pero con pequeñas diferencias significativas en las características morfológicas (Toussaint et al. 2016).

Otras adaptaciones de peces en los resultados mostraron a las especies bentónicas sésiles (lenguados, las especies más alejadas del grupo de especies generalistas) en el primer eje. Estas especies se caracterizan por tener pedúnculos relativamente gruesos, lo que indica el uso de movimientos cortos explosivos. Además, la boca y los ojos son más grandes con respecto al tamaño de la cabeza (aunque este aspecto está más relacionado con un proceso ontogenético que uno de alimentación, Stoner y Ottmar 2003). Otro grupo importante que se puede identificar es el de los peces pelágicos (ubicados en la zona de valores positivos arriba de las especies generalistas), los cuales tienen pedúnculos delgados, ya que son más compactos para movimientos constantes. Adicionalmente, el origen de su boca está en la parte inferior de la cabeza y prolongado hacia la parte posterior del cuerpo, lo que permite una mayor apertura de la mandíbula y también genera más succión para capturar presas (Webb 1984). Desde

the communities in northwest Mexico had a greater diversity of feeding methods and locomotion traits than those at the other sites, due more to the environmental affinity of the species and oceanic conditions than to the heterogeneity of resources (Shahraki et al. 2014). Consequently, the mangrove fish community's richness was structured by a latitudinal gradient (regardless of how small it was), and the community's functional composition was governed by the hydroclimatic conditions. We identified different traits in relation to seasonality. In the warm season, Payan-Alejo (2012) and this study found predators in arid habitat conditions usually related to migratory swimmers, such as members of the Carangidae and Scombridae families. In both studies, adults enter the environment in order to feed on juveniles of some benthopelagic species (e.g., Mugilidae, Gerreidae); we therefore consider them as opportunistic predators.

In the cold season, all authors have reported fewer organisms. However, flatfishes of different families (e.g., Achiridae and Paralichthyidae) are found as the temperature in the BCS sites usually drops down to 10 °C because of the shallow habitats less than 1.5 m depth. Most of the species migrate to deeper waters where the temperature is more stable. In this context, the mangrove is available with low competition. Therefore, the flatfish, being a species that prefers cold temperatures, capitalizes on this habitat (Wilber et al. 2013). Thus, we do not differentiate 2 community structures but rather temporal functional traits that appear/rise from temperature-related conditions. Additionally, some studies have reported that the substratum is also an important distribution factor for flatfishes, particularly that sediment size is related to their habitat preference (Spinner et al. 2016). In this context, it is possible that the high richness found in the localities of BCS and SON (Padilla-Serrano et al. 2016) is related to the presence of sediments of different sizes in the mangrove substratum (a mixture of lime and small-grained sand).

Fish species and environment

From an environmental perspective, fish richness in NAY is separated based on its estuarine conditions, such as greater contribution of freshwater and generally lower temperature. Also, as reported by Henriques et al. (2017), habitat extension is related to a higher diversity of species. On the other hand, the localities in the northwest were divided by the evaporation rate, where SON had significantly higher values that separated it from SIN and BCS. From these results, we are able to suggest that salinity, rather than temperature, is a more influential factor in the redundancy of functional traits for the fish in mangroves, even considering the low contribution of freshwater in the arid zones.

Given the hypersaline characteristic of some of the sites analyzed, most of the species had a strictly marine and marine-estuarine affinity. In addition, the presence of peripheral species such as silversides had been related to a wide salinity range (Veale et al. 2014). On the other hand, most of

la parte positiva superior del PCoA hacia el área negativa inferior (eje 2), podemos diferenciar principalmente un cambio en las estrategias de locomoción de las especies pelágicas que pueden caracterizarse por una velocidad de nado continua y sostenida a aquellas con menor capacidad de locomoción (Sambily 1990).

Los sitios en el GC mostraron menor redundancia funcional que NAY. En consecuencia, los valores de los índices funcionales fueron más altos en las localidades del noroeste debido a la diversificación de los atributos (Fig. 3). Otros autores han encontrado resultados similares, donde las localidades en latitudes más altas presentaron una mayor diversidad funcional de atributos que las localidades más cercanas al ecuador (Stuart-Smith et al. 2013, Toussaint et al. 2016). Considerando la proximidad geográfica de las localidades, se corroboró lo que han propuesto otros autores, en el sentido de que estos índices funcionales permiten la detección más sensible de pequeñas perturbaciones (Villéger et al. 2017). Por lo tanto, las comunidades del noroeste de México tenían una mayor diversidad de métodos de alimentación y atributos de locomoción que las de los otros sitios, debido más a la afinidad ambiental de las especies y las condiciones oceánicas que a la heterogeneidad de los recursos (Shahraki et al. 2014). En consecuencia, la riqueza de la comunidad de peces de manglar se estructuró por un gradiente latitudinal (sin importar cuán pequeño fuera), y la composición funcional de la comunidad estuvo regida por las condiciones hidroclimáticas. Se identificaron diferentes atributos en relación con la estacionalidad. En la temporada cálida, Payan-Alejo (2012) y el presente estudio encontraron depredadores en condiciones áridas del hábitat generalmente relacionados con nadadores migratorios, como son los miembros de las familias Carangidae y Scombridae. En ambos estudios se presentaron adultos que ingresaron al medio para alimentarse de los juveniles de algunas especies benthopelágicas (e.g., Mugilidae, Gerreidae); por tanto, los consideramos depredadores oportunistas.

En la temporada fría, todos los autores han reportado menos organismos. Sin embargo, se encontraron lenguados de diferentes familias (e.g., Achiridae y Paralichthyidae), ya que la temperatura en los sitios de BCS generalmente baja hasta 10 °C debido a los hábitats someros de menos de 1.5 m de profundidad. La mayoría de las especies migra hacia aguas más profundas donde la temperatura es más estable. En este contexto el manglar está disponible con una menor competencia, aspecto que capitalizan los lenguados, ya que son especies con preferencia por temperaturas frías (Wilber et al. 2013). Por lo tanto, no diferenciamos 2 estructuras comunitarias, sino, más bien, atributos funcionales temporales que aparecen/se incrementan a partir de las condiciones relacionadas con la temperatura. Además, algunos estudios han reportado que el sustrato también es un factor de distribución importante para los lenguados, particularmente que el tamaño de los sedimentos se relaciona con la preferencia de hábitat (Spinner et al. 2016). En este contexto, es posible

the species that had some freshwater affinity were found only in environments with regular freshwater contributions (SIN and NAY), whereas some fish like mojarras and sanddabs were also found in areas with the lowest freshwater input (SON and BCS, Vega-Cendejas and De Santillana 2004). Although the species composition from arid localities within the GC differ almost 50% from that of NAY, the environmental affinity of the ichthyofauna was dominated mainly by marine species. The absence of some pelagic and freshwater species in the GC may be related to the collection method (seine nets) and to the location of the sampling sites (brackish and coastal sections).

Taxonomic diversity

In the case of the taxonomic structure of the fish community, we identified significant changes at the order level. In other habitats, similar results have been found at this taxonomic resolution (Mueller et al. 2013), suggesting a highly stable habitat. However, it seems more convenient to consider stability at the family level to generate a probabilistic list of families present in these environments. The most diverse and frequent families in the area are in agreement with those reported by Sheaves (2017) as the most likely families to be found in mangrove habitats. However, according to the arid conditions of the mangroves present in the GC, the degree of importance of the families was different. Particularly, the most frequent families are those with a high tolerance for environmental stress, such as Mugilidae, Gerreidae, and Lutjanidae (Mora and Ospina 2001).

The differences in the taxonomic structure were greater when introducing NAY into the analysis. In the probability funnels, SIN was significantly different from the other locations in the northwest (Fig. 5). However, when comparing the distances that separate the points of SIN and NAY from those for the rest of the localities, SIN behaves as a transitive area. The taxonomic structure of the mangrove fish of the northwest gradually changes with respect to the more tropical localities in a latitudinal gradient, an aspect identified in other regions for which these techniques were used (Henriques et al. 2017). Both localities, SIN and NAY, show an increase in species of the Carangidae, Centropomidae, and Sciaenidae families. Contrasting this, NAY presents a greater number of species with estuarine affinity that are absent from the northern section of the GC, which increases the difference in the taxonomic composition of the arid mangroves with respect to the more southern localities.

Future studies must increase the number of sites covered (particularly sites that currently lack information) and evaluate environmental differences in the assembly process of the fish community. This will aid in understanding whether it is the latitudinal position that governs these functional and taxonomic changes or if it is the suboptimal characteristics of the environment that force a higher rate of diversification of species traits (Villéger et al. 2017).

que la alta riqueza encontrada en las localidades de BCS y SON (Padilla-Serrano et al. 2016) esté relacionada con la presencia de diferentes tamaños de sedimentos en el sustrato de manglar (una mezcla de limo y arena de grano fino).

Especies de peces y medio ambiente

En una perspectiva ambiental, la riqueza de peces en NAY se separa con base en su condición estuarina, dados un mayor aporte de agua dulce y la temperatura global más baja. Además, como lo describen Henriques et al. (2017), la extensión del hábitat está relacionada con una mayor diversidad de especies. Por otro lado, las localidades del noroeste están divididas por la tasa de evaporación, donde SON presentó valores significativamente más altos que lo separan de SIN y BCS. A partir de estos resultados, se puede proponer que la salinidad, más que la temperatura, es el factor que más influye en la redundancia de atributos funcionales para los peces en los manglares, aun considerando el bajo aporte de agua dulce en las zonas áridas.

Debido a la característica hipersalina de algunos de los sitios analizados, la mayoría de las especies tuvieron una afinidad estrictamente marina y estuarino-marina. Además, la presencia de especies periféricas como los charales ha sido relacionada con un amplio intervalo de salinidad (Veale et al. 2014). Por otro lado, la mayoría de las especies que tuvieron alguna afinidad dulceacuícola se encontraron solo en ambientes con contribuciones regulares de agua dulce (SIN y NAY), mientras que otros peces como las mojarras y lenguados también se encontraron en áreas con un menor aporte de agua dulce (SON y BCS; Vega-Cendejas y De Santillana 2004). Aunque la composición de especies de las localidades áridas del GC difiere casi en un 50% de la de NAY, la afinidad ambiental de la ictiofauna estuvo dominada principalmente por especies marinas. La ausencia de algunas especies pelágicas y dulceacuícolas en el GC puede estar relacionada con el método de colecta (redes de cerco), así como con la ubicación de los sitios de muestreo (secciones salobres y costeras).

Diversidad taxonómica

En el caso de la estructura taxonómica de la comunidad de peces, se identificaron cambios significativos a nivel de orden. En otros hábitats, se han encontrado resultados similares a esta resolución taxonómica (Mueller et al. 2013), lo que sugiere un hábitat altamente estable. Sin embargo, parece más conveniente considerar la estabilidad a nivel de familia para generar una lista de familias que probablemente estén presentes en estos ambientes. Las familias más diversas y frecuentes de la zona coinciden con las reportadas por Sheaves (2017) como aquellas con mayor probabilidad de encontrarse en hábitats de manglar. Sin embargo, de acuerdo con las condiciones áridas de los manglares presentes en el GC, el grado de importancia de las familias fue diferente.

ACKNOWLEDGMENTS

JAPA is a fellow graduate student of BEIFI (IPN) and the National Council of Science and Technology (Mexico). RME and GDLCA are Instituto Politécnico Nacional COFAA and EDI fellows.

REFERENCES

- Al-Maslamani I, Walton MEM, Kennedy HA, Al-Mohannadi M, Le Vay L. 2013. Are mangroves in arid environments isolated systems? Life-history and evidence of dietary contribution from inwelling in a mangrove-resident shrimp species. *Estuar Coast Shelf Sci.* 124:56–63. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2013.03.007>
- Álvarez-Romero JG, Pressey RL, Ban NC, Torre-Cosío J, Aburto-Oropeza O. 2013. Marine conservation planning in practice: lessons learned from the Gulf of California. *Aquat Conserv.* 23(4):483–505. <https://doi.org/10.1002/aqc.2334>
- Bady P, Dolédec S, Fesl C, Gayraud S, Bacchi M, Schöll F. 2005. Use of invertebrate traits for the biomonitoring of European large rivers: The effects of sampling effort on genus richness and functional diversity. *Freshw Biol.* 50(1):159–173. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2004.01287.x>
- Barbier EB, Hacker SD, Kennedy C, Koch EW, Stier AC, Silliman BR. 2011. The value of estuarine and coastal ecosystem services. *Ecol Monogr.* 81(2):169–193. <https://doi.org/10.1890/10-1510.1>
- Bello F, Lepš J, Lavorel S, Moretti M. 2007. Importance of species abundance for assessment of trait composition: an example based on pollinator communities. *Commun Ecol.* 8(2):163–170. <https://doi.org/10.1556/ComEc.8.2007.2.3>
- Brusca RC, Findley LT, Hastings PA, Hendrickx ME, Torre Cosío J, van der Heiden AM. Macrofaunal diversity in the Gulf of California. 2005. In: Cartron JL, Caballos EG, Felger RS (eds.), *Biodiversity, Ecosystems and Conservation in Northern Mexico*. Oxford: Oxford University Press. p. 179–203.
- Buisson L, Grenouillet G, Villéger S, Canal J, Laffaille P. 2012. Toward a loss of functional diversity in stream fish assemblages under climate change. *Glob Chang Biol.* 19(2):387–400. <https://doi.org/10.1111/gcb.12056>
- Castro-Aguirre JL, Espinosa-Pérez H, Schmitter-Soto J. 1999. *Ictiofauna estuarino-lagunar y vicaria de México*. Mexico City: Editorial Limusa. 711 p.
- Clarke KR. 1993. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Austral Ecol.* 18(1):117–143. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.1993.tb00438.x>
- Clarke KR, Gorley RN. 2006. *PRIMER v6: User Manual/Tutorial (Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research)*. Plymouth: PRIMER-E.
- Clarke KR, Warwick RM. 1999. The taxonomic distinctness measure of biodiversity: weighting of step lengths between hierarchical levels. *Mar Ecol Prog Ser.* 184:21–29. <https://www.jstor.org/stable/24853226>
- [CONABIO] Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (MX). 2009. *Manglares de México: Extensión y distribución*. 2nd ed. Mexico: CONABIO. 128 p.
- [CONABIO] Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (MX). 2013. *Manglares de México: Extensión, Distribución y Monitoreo*. Mexico City: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 128 p.
- En particular, las familias más frecuentes son aquellas con una alta tolerancia al estrés ambiental, como Mugilidae, Gerreidae y Lutjanidae (Mora y Ospina 2001).
- Las diferencias en la estructura taxonómica incrementaron al introducir a NAY en el análisis. En los túneles de probabilidad, SIN fue significativamente diferente de las otras localidades del noroeste (Fig. 5). Sin embargo, al comparar las distancias que separan los puntos de SIN y NAY de los del resto de las localidades, SIN se comporta como un área de transición. La estructura taxonómica de los peces de manglar del noroeste cambia gradualmente con respecto a las localidades más tropicales en un gradiente latitudinal, aspecto identificado en otras regiones para las cuales se utilizaron estas técnicas (Henriques et al. 2017). Ambas localidades, SIN y NAY, muestran un aumento en las especies de las familias Carangidae, Centropomidae y Sciaenidae. Contrariamente, NAY presenta un mayor número de especies con afinidad estuarina que están ausentes en la sección norte del GC, lo cual aumenta la diferencia en la composición taxonómica de los manglares áridos con respecto a las localidades más sureñas.
- Los estudios futuros deben aumentar el número de sitios (particularmente sitios que actualmente carezcan de información) y evaluar las diferencias ambientales en el proceso de agrupación de la comunidad de peces. Esto ayudará a identificar si la posición latitudinal es la que dirige los cambios funcionales y taxonómicos o si son las características subóptimas del ambiente las que fomentan una mayor tasa de diversificación de atributos de las especies (Villéger et al. 2017).

AGRADECIMIENTOS

JAPA es becario BEIFI (IPN) y del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). RME y GDLCA son becarios de COFAA y EDI del Instituto Politécnico Nacional.

- Costanza R, d'Arge R, Groot R, de Farber S, Grasso M, Hannon B. 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature.* 387:253–260. <https://doi.org/10.1038/387253a0>
- Debastiani VJ, Pillar VD. 2012. SyNCSA-R tool for analysis of metacommunities based on functional traits and phylogeny of the community components. *Bioinformatics.* 28(15):2067–2068. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts325>
- Escalante F, Valdez-Holguín JE, Álvarez-Borrego S, Lara-Lara JR. 2013. Variación temporal y espacial de temperatura superficial del mar, clorofila *a* y productividad primaria en el golfo de California = Temporal and spatial variation of sea surface temperature, chlorophyll *a*, and primary productivity in the Gulf of California. *Cienc Mar.* 39(2):203–215. <https://doi.org/10.7773/cm.v39i2.2233>
- Faunce CH, Serafy JE. 2006. Mangroves as fish habitat: 50 years of field studies. *Mar Ecol Prog Ser.* 318:1–18. <https://doi.org/10.3354/meps318001>

- Félix-Pico EF, Holguin-Quñones OE, Escamilla-Montes R. 2011. Macroinvertebrados marinos asociados al manglar. In: Félix-Pico EF, Serviere-Zaragoza E, Riosmena-Rodríguez R, León-De La Cruz JL (eds.), *Los Manglares de la Península de Baja California*. La Paz (Baja California Sur, Mexico): Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, Universidad Autónoma de Baja California Sur. 326 p.
- González-Acosta AF, de la Cruz-Agüero G, de la Cruz-Agüero J, Ruíz-Campos G. 2005. Seasonal pattern of the fish assemblage of El Conchalito mangrove swamp, La Paz Bay, Baja California Sur, Mexico. *Hidrobiológica*. 15(2):205–214.
- Henriques S, Guilhaumon F, Villéger S, Amoroso S, França S, Pasquaud S, Cabral HN, Vasconcelos RP. 2017. Biogeographical region and environmental conditions drive functional traits of estuarine fish assemblages worldwide. *Fish Fish*. 18(4):752–771.
<https://doi.org/10.1111/faf.12203>
- Houseman G, Gross KL. 2011. Linking grassland plant diversity to species pools, sorting and plant traits. *J Ecol*. 99(2):464–472.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2010.01786.x>
- Laliberté E, Legendre P. 2010. A distance-based framework for measuring functional diversity from multiple traits. *Ecology*. 91(1):299–305.
<https://doi.org/10.1890/08-2244.1>
- López-Medellín X, Ezcurra E. 2012. The productivity of mangroves in northwestern Mexico: a meta-analysis of current data. *J Coast Conserv*. 16(3):399–403.
<https://doi.org/10.1007/s11852-012-0210-7>
- Lugendo BR, Nagelkerken I, Kruitwagen G, van der Velde G, Mgaya YD. 2007. Relative importance of mangroves as feeding habitats for fishes: A comparison between mangrove habitats with different settings. *Bull Mar Sci*. 80(3):497–512.
- Mason NWH, Mouillot D, Lee WG, Wilson JB. 2005. Functional richness, functional evenness and functional divergence: the primary components of functional diversity. *Oikos*. 111(1):112–118.
<https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2005.13886.x>
- Millán-Aguilar O, Nettel-Hernanz A, Hurtado-Oliva MA, Dodd RS, Flores-Cárdenas F, Manzano-Sarabia M. 2020. Landscape metrics and conservation status of five mangrove wetlands in the eastern Gulf of California margin. *J Coast Res*. 36(1):94–102.
<https://doi.org/10.2112/JCOASTRES-D-18-00060.1>
- Mora C, Ospina A. 2001. Tolerance to high temperatures and potential impact of sea warming on reef fishes of Gorgona Island (tropical eastern Pacific). *Mar Biol*. 139(4): 765–769.
<https://doi.org/10.1007/s002270100626>
- Mueller M, Pander J, Geist J. 2013. Taxonomic sufficiency in freshwater ecosystems: effects of taxonomic resolution, functional traits, and data transformation. *Freshw Sci*. 32(3):762–778.
<https://doi.org/10.1899/12-212.1>
- Ochoa-Gómez JG, Serviere-Zaragoza E, Lluch-Cota DB, Rivera-Monroy VH, Oechel W, Troyo-Diéguez E, Lluch-Cota SE. 2018. Structural complexity and biomass of arid zone mangroves in the southwestern Gulf of California: Key factors that influence fish assemblages. *J Coast Res*. 34(4):979–986.
<https://doi.org/10.2112/JCOASTRES-D-16-00220.1>
- Padilla-Serrato J, López-Martínez J, Rodríguez-Romero J, Acevedo-Cervante A, Galván-Magaña F, Lluch-Cota D. 2017. Changes in fish community structures in a coastal lagoon in the Gulf of California, México. *Rev Biol Mar Oceano*. 52(3):567–579.
<https://doi.org/10.4067/S0718-19572017000300013>
- Padilla-Serrato J, López Martínez J, Rodríguez-Romero J, Lluch-Cota DB, Galván-Magaña F, Acevedo-Cervantes A. 2016. Composición y aspectos biogeográficos del ensamble de peces de la laguna costera Las Guasimas, Sonora, México. *Lat Am J Aquat Res*. 44(1):85–98.
<https://doi.org/10.3856/vol44-issue1-fulltext-9>
- Payan-Alcacio JA. 2015. Diversidad funcional de la comunidad de peces en hábitats de manglar en la Bahía de La Paz, BCS México. Mexico: Instituto Politécnico Nacional-Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. 107 p.
- Payan-Alejo J. 2012. Estructura de la captura artesanal de peces en el sistema lagunar Santa María La Reforma, Angostura, Sinaloa, durante 2001-2002 [MSc thesis]. [Mexico City]: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Ramsar. 2008. Ficha Informativa del complejo Lagunar Bahía Guasimas-Estero Lobos. Mexico: Ramsar. 19 p.
- Ricotta C, de Bello F, Moretti M, Caccianiga M, Cerabolini BEL, Pavoine S. 2016. Measuring the functional redundancy of biological communities: a quantitative guide. *Methods Ecol Evol*. 7(11):1386–1395.
<https://doi.org/10.1111/2041-210X.12604>
- RStudio Team. 2019. RStudio: Integrated Development for R. Boston (MA): RStudio, PBC; accessed 2019 Oct 18. <http://www.rstudio.com/>
- Sambilay VC Jr. 1990. Interrelationships between swimming speed, caudal fin aspect ratio and body length of fishes. *Fishbyte*. 8(3):16–20.
- Shahraki M, Fry B, Krumme U, Rixen T. 2014. Microphytobenthos sustain fish food webs in intertidal arid habitats: a comparison between mangrove-lined and un-vegetated creeks in the Persian Gulf. *Estuar Coast Shelf*. 149:203–212.
<https://doi.org/10.1016/j.ecss.2014.08.017>
- Shahraki M, Saint-Paul U, Krumme U, Fry B. 2016. Fish use of intertidal mangrove creeks at Qeshm Island, Iran. *Mar Ecol Prog Ser*. 542:153–166.
<https://doi.org/10.3354/meps11546>
- Sheaves M. 2017. How many fish use mangroves? The 75% rule an ill-defined and poorly validated concept. *Fish Fish*. 18(4):778–789.
<https://doi.org/10.1111/faf.12213>
- Soares BE, Ruffeil TOB, Montag LF de A. 2013. Ecomorphological patterns of the fishes inhabiting the tide pools of the Amazonian Coastal Zone, Brazil. *Neotrop Ichthyol*. 11(4):845–858.
<http://dx.doi.org/10.1590/S1679-62252013000400013>
- Spinner M, Kortmann M, Traini C, Gorb SN. 2016. Key role of scale morphology in flatfishes (Pleuronectiformes) in the ability to keep sand. *Sci Rep*. 6(1):26308.
<https://doi.org/10.1038/srep26308>
- Stoner AW, Ottmar ML. 2003. Relationships between size-specific sediment preferences and burial capabilities in juveniles of two Alaska flatfishes. *J Exp Mar Biol Ecol*. 282(1–2):85–101.
[https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(02\)00447-1](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(02)00447-1)
- Stuart-Smith RD, Bates AE, Lefcheck JS, Duffy JE, Baker SC, Thomson RJ, Stuart-Smith JF, Hill NA, Kininmonth SJ, Airoidi L, et al. 2013. Integrating abundance and functional traits reveals new global hotspots of fish diversity. *Nature*. 501:539–542.
<https://doi.org/10.1038/nature12529>
- Toussaint A, Charpin N, Brosse S, Villéger S. 2016. Global functional diversity of freshwater fish is concentrated in the Neotropics while functional vulnerability is widespread. *Sci Rep*. 6(1):22125.
<https://doi.org/10.1038/srep22125>

- Vázquez-Botello A. 2011. Vulnerabilidad de las zonas costeras del Pacífico Mexicano (Sinaloa-Nayarit) ante el cambio climático: Primer informe de Proyecto. Mexico: Universidad Nacional Autónoma de México. 99 p.
- Veale L, Tweedley JR, Clarke KR, Hallett CS, Potter IC. 2014. Characteristics of the ichthyofauna of a temperate microtidal estuary with a reverse salinity gradient, including inter-decadal comparisons. *J Fish Biol.* 85(5):1320–1354. <https://doi.org/10.1111/jfb.12467>
- Vega-Cendejas ME, De Santillana MH. 2004. Fish community structure and dynamics in a coastal hypersaline lagoon: Rio Lagartos, Yucatan, Mexico. *Estuarine Coast Shelf Sci.* 60(2):285–299. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2004.01.005>
- Villéger S, Brosse S, Mouchet M, Mouillot D, Vanni MJ. 2017. Functional ecology of fish: current approaches and future challenges. *Aquat Sci.* 79(4):783–801. <https://doi.org/10.1007/s00027-017-0546-z>
- Villéger S, Miranda JR, Hernández DF, Mouillot D. 2010. Contrasting changes in taxonomic vs. functional diversity of tropical fish communities after habitat degradation. *Ecol Appl.* 20(6):1512–1522. <https://doi.org/10.1890/09-1310.1>
- Webb PW. 1984. Body form, locomotion and foraging in aquatic vertebrates. *Amer Zool.* 24(1):107–120. <https://doi.org/10.1093/icb/24.1.107>
- Wilber DH, Davis D, Clarke DG, Alcoba CJ, Gallo J. 2013. Winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) estuarine habitat use and the association between spring temperature and subsequent year class strength. *Estuar Coast Shelf S.* 133:251–259. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2013.09.004>
- Zhang C, Fujiwara M, Pawluk M, Liu H, Cao W, Gao X. 2020. Changes in taxonomic and functional diversity of fish communities after catastrophic habitat alteration caused by construction of Three Gorges Dam. *Ecol Evol.* 10(12):5829–5839. <https://doi.org/10.1002/ece3.6320>

*Received February 2020,
accepted August 2020.*