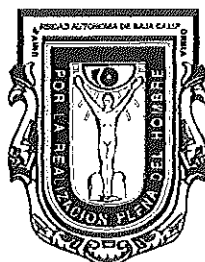


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLOGICAS



" EFECTOS DE LA DENSIDAD, PERIODICIDAD EN EL SUMINISTRO DE ALIMENTO Y RACIÓN ALIMENTICIA EN UN CULTIVO PILOTO COMERCIAL DE LARVAS DE ERIZO ROJO *Strongylocentrotus franciscanus*".

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

OCEANÓLOGO PRESENTA :

ANGEL SALAS FILSINGER

ENSENADA, B.C. JUNIO DE 1997

RESUMEN

Debido a la importancia económica y a la sobre explotación a la que se ha visto sometido el erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* en Baja California, es necesario implantar medidas para la recuperación del recurso, y una de ellas es la producción de juveniles en laboratorio para repoblamiento y cultivo, como una alternativa para incrementar la producción. Con este fin se analizaron mediante cuatro experimentos en un cultivo piloto comercial de larvas de erizo rojo tres aspectos básicos de su alimentación: densidad, periodicidad en el suministro de alimento y ración alimenticia, para evaluar sus efectos y avanzar en el desarrollo de una biotecnología de producción de semilla para producir juveniles en cantidades suficientes y hacer costeable esta actividad. Los reproductores fueron colectados en la Bahía de Todos Santos, B.C. e inducidos al desove por medio de una inyección intracelómica de una solución salina de Cloruro de Potasio. Las larvas se cultivaron desde el estadio larvario prisma hasta la pluteus 8B competente a la metamorfosis. En el experimento uno se utilizaron dos densidades de cultivo 1.6 y 3.2 larvas por mililitro. En el segundo experimento se comparó la sobrevivencia de las larvas que se alimentaron con la microalga *Rhodomonas* sp. cultivada con dos medios de cultivo diferentes: F/2 de Guillard y un fertilizante agrícola. En el experimento tres se evaluó la periodicidad en el suministro de alimento, alimentando diariamente con 2500 cel/ml y cada dos días con 5000 cel/ml. En el cuarto experimento se evaluaron tres diferentes raciones 3000, 5000 y 7000 cel/ml. La temperatura varió entre 15 y 18 ° C. La duración del estadio larvario fue de 21-24 días. La densidad baja de 1.6 larvas/ml presentó mejores sobrevivencias, recomendándose por ello su utilización. El fertilizante agrícola como fuente de nitrógeno para producir el alimento es una opción viable y económicamente más rentable. El suministro de alimento cada dos días presentó mejores resultados. Con la ración inicial de 7000 cel/ml se obtuvieron mejores sobrevivencias en las larvas.

EFFECTOS DE LA DENSIDAD, PERIODICIDAD EN EL SUMINISTRO DE ALIMENTO
Y RACION ALIMENTICIA EN UN CULTIVO PILOTO COMERCIAL DE LARVAS DE
ERIZO ROJO *Strongylocentrotus franciscanus*.

TESIS QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

OCEANOLOGO

PRESENTA

ANGEL SALAS FILSINGER

APROBADA POR :

M.C ALFREDO SALAS GARZA

Presidente del Jurado

Oc. LEWIS SAMSON McANALLY

SALAS

Sinodal Propietario

Oc. RAUL YEPIZ VELAZQUEZ

Sinodal Propietario

ENSENADA B.C. JUNIO DE 1997

AGRADECIMIENTOS

A M.C. Alfredo Salas por su tiempo, conocimientos, consejos y ayuda para la realizacion de esta tesis.

A Oc. Lewis McAnally por su ayuda y consejos a lo largo de la realización de esta tesis

A Oc. Raúl Yepíz por su tiempo y ayuda para la realización de esta tesis

A mis papás por su apoyo

A Jeannette por haberme esperado

A Miguel Angel por su ayuda en los buceos y salidas de campo.

INDICE DE CONTENIDO

- Resumen	i
- Aprobación	ii
- Dedicatoria	iii
- Agradecimientos	iv
- Lista de Figuras	v
- Lista de Tablas	vi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
3. OBJETIVOS	5
4. MATERIALES	6
4.1 Obtención de Reproductores	6
4.2 Inducción al Desove	6
4.3 Fertilización	6
4.4 Conteo de larvas	7
4.5 Sistemas de cultivo	7
4.6 Experimentos	8
4.7 Alimento	10
4.8 Análisis estadístico	10
5. RESULTADOS	
5.1 Parámetros Físico-Químicos	11
5.2 Desarrollo larvario	11
5.3 Efecto de la densidad de cultivo	11
5.4 Efecto del medio de cultivo empleado para la microalga <i>Rhodomonas</i> sp. utilizada como alimento	15

5.5	Efecto de la periodicidad en el suministro de alimento	15
5.6	Efecto de la Ración Alimenticia	15

6. DISCUSIÓN

6.1	Parámetros Físico-Químicos	23
6.2	Desarrollo larvario	23
6.3	Efecto de la densidad de cultivo	24
6.4	Efecto del medio de cultivo empleado para la microalga <i>Rhodomonas</i> sp. utilizada como alimento	25
6.5	Efecto de la periodicidad en el suministro de alimento	27
6.6	Efecto de la ración alimenticia.	28

7. CONCLUSIONES

- LITERATURA CITADA

- ANEXO.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Sobrevivencia de las larvas de erizo rojo <i>Stongylocentrotus franciscanus</i> con dos densidades de cultivo.	12
Figura 2.	Sobrevivencia en porcentaje de las larvas de erizo rojo <i>Stongylocentrotus franciscanus</i> con dos densidades de cultivo.	13
Figura 3.	Sobrevivencia de las larvas de erizo rojo <i>Stongylocentrotus franciscanus</i> al evaluar el efecto del medio usado para cultivar la microalga <i>Rhodomona sp.</i> utilizada como alimento.	17
Figura 4.	Sobrevivencia en porcentaje de las larvas de erizo rojo <i>Stongylocentrotus franciscanus</i> al evaluar el efecto del medio usado para cultivar la microalga <i>Rhodomona sp.</i> utilizada como alimento.	18
Figura 5.	Sobrevivencia de las larvas de erizo rojo <i>Stongylocentrotus franciscanus</i> como efecto de la periodicidad en el suministro de alimento.	19
Figura 6.	Sobrevivencia en porcentaje de las larvas de erizo rojo <i>Stongylocentrotus franciscanus</i> como efecto de la periodicidad en el suministro de alimento.	20
Figura 7.	Sobrevivencia de las larvas de erizo rojo <i>Stongylocentrotus franciscanus</i> como resultado de la ración alimenticia.	21
Figura 8.	Sobrevivencia en porcentaje de las larvas de erizo rojo <i>Stongylocentrotus franciscanus</i> como resultado de la ración alimenticia.	22

LISTA DE TABLAS

TABLA I.	Descripción de los tratamientos (T) efectuados por duplicado en los cuatro experimentos (E) para evaluar: el efecto de la densidad de larvas (E1); medios de cultivo para la microalga <i>Rhodomonas</i> sp. utilizada como alimento de las larvas (E2); periodicidad en el suministro de alimento (E3) y ración alimenticia (E4) sobre la sobrevivencia de las larvas de erizo rojo <i>Strongylocentrotus franciscanus</i> .	9
TABLA II.	Sobrevivencia de las larvas de erizo rojo <i>Strongylocentrotus franciscanus</i> en cada uno de los experimentos realizados.	14

INTRODUCCIÓN

El erizo rojo es un equinodermo perteneciente a la familia Stroglylocentrotidae, son organismos de cuerpo esférico achatado por los polos, con simetría pentaradial, un exoesqueleto compuesto por cinco placas de carbonato de calcio de aproximadamente 10 cm de diámetro, cubierto por espinas que alcanzan los 5 cm de longitud. Su coloración es café a café rojizo (Brandon y Rockop, 1985) y algunas veces púrpura oscuro. Es un organismo bentónico, herbívoro y dióico, sin dimorfismo sexual.

Son desovadores libres, con larvas de vida pelágica llamadas equinoplutei (Strathmann, 1987). La larva se alimenta principalmente de fitoplancton y otras partículas suspendidas como: diatomeas, dinoflagelados, cocolitofóridos, silicoflagelados y tintínidos (Strathmann, 1975).

La época reproductiva del erizo rojo es muy variable dependiendo de cada zona (Kato y Schoeter, 1985); esta estacionalidad puede estar relacionada con la disponibilidad de alimento (Bernard, 1977). Las gónadas se desarrollan durante el invierno y algunos de los organismos en la parte central de California están maduros desde Febrero (Hyman, 1955; Smith y Carlton, 1975), aunque la mayoría desova en Abril o Mayo. En el sur de California la estación reproductiva es mas temprana y algunos desoves se han registrado en invierno.

Presenta una distribución geográfica que comprende las costas de Norteamérica, desde Alaska (Estados Unidos) hasta Isla de Cedros en la costa Occidental de Baja California (México), también se encuentra en las costas de Japón (Ricketts *et al.*, 1968) donde es muy apreciado por sus gonadas. Habita los substratos rocosos entre 5 y 10 metros de profundidad, aunque es posible encontrarlos en la zona de entremareas o hasta los 125 metros de profundidad. (Mottet, 1976).

Su importancia comercial es debida al delicado sabor de sus gónadas, que son muy apreciadas en Oriente ya que se consideran comparables con el caviar. (Smith y Carlton, 1975; Brandon y Rockop, 1985).

Japón es el principal consumidor de las gónadas de erizo. Buscando satisfacer su demanda y cuidando no sobreexplotar su recurso, se vio obligado a importar gónadas de erizo de otros países como Canadá, Estados Unidos y México. (Farías-Sánchez, 1980)

En México la pesca comercial del erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* se inició en 1972 en las costas de Baja California (Farías-Sánchez, 1980). Debido a su importancia económica la población de erizo ha sido sometido a una sobreexplotación lo que causó una disminución en los stocks naturales, problemas en el reclutamiento y baja en la tasa de reproducción. (Tegner y Danton, 1977).

En México este decaimiento es fácilmente apreciable en estadísticas de pesquería, y aunque las capturas a través del tiempo han presentado fluctuaciones (Palleiro-Nayar, 1982), en los últimos años la captura por unidad de esfuerzo cayó en un 60 % lo cual puede indicar una disminución del recurso que pone en peligro la pesquería. (Palleiro-Nayar, 1994).

Debido a que el erizo rojo es un recurso de gran importancia para la región, se ha puesto especial atención a estos problemas. En 1982 se implementaron medidas regulatorias para la protección del recurso, estableciéndose una talla mínima de captura de 80 mm de diámetro de testa y una temporada de veda que comprende de Febrero a Julio; pero también es necesario implementar medidas para la recuperación del recurso, entre ellas la acuicultura, que si bien no remplazara la pesca (Bardach *et al.*, 1986) sí puede servir como apoyo para la producción de juveniles en laboratorio para el repoblamiento de las áreas mas afectadas y el desarrollo de sistemas de cultivo, para así poder incrementar la producción de erizo rojo en las costas de Baja California.

Para llevar a cabo esto, es necesario conocer los aspectos biológicos fundamentales para la producción de los juveniles en laboratorio como son, la densidad de cultivo, el alimento y la ración adecuada para los diferentes estadios larvarios, así como la respuesta a variables físicas y químicas que influyen sobre el desarrollo de los organismos. (Bardach *et al.*, 1986).

2. ANTECEDENTES

En 1989, en Hawaii se trató de realizar un cultivo piloto comercial, (entendido como una fase que permite evaluar el comportamiento de las condiciones óptimas para pasar a un nivel comercial) de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* (Miller, 1989), el cual no se pudo desarrollar por falta de información básica acerca de las condiciones necesarias para la producción de las larvas a gran escala.

En Japón, actualmente se realizan con éxito, cultivos de dos especies de erizo, *Strongylocentrotus intermedius* (Saito *et al*, 1989) y de *Anthodidaris cressispina*. Gracias a estos estudios y resultados, se incrementó el interés por aplicar nuevas técnicas enfocadas a laboratorios de producción, donde diversos autores han encontrado que en la producción de las larvas de erizo, lo más importante es dar a las larvas el alimento y ración adecuada (González *et al*, 1987; Bustos *et al*, 1991), así como controlar las densidades de cultivo (Hinegardner, 1969).

González *et al* (1987), en experimentos realizados en Chile con larvas de erizo *Loxechinus albus*, utilizó como alimento dos diferentes microalgas *Dunaliella tertiolecta* e *Isochrysis aff. galbana*, y evaluó dos dietas diferentes. La primera dieta estuvo compuesta por una mezcla de iguales proporciones de ambas microalgas, con la que obtuvo buenos resultados. Utilizó raciones de 3000 células por mililitro cada dos días en las primeras etapas del desarrollo y una vez al día hacia el final del desarrollo. Con la segunda dieta compuesta únicamente por *Dunaliella tertiolecta*, no obtuvo buenos resultados. En trabajos realizados con la microalga *Dunaliella tertiolecta* como alimento para las larvas de erizo rojo, Miller (1989) señala que la metamorfosis ocurre entre los 30 y 50 días después de la fertilización.

En cultivos alimentados con dietas mixtas a 10°C, la larva equinopluteus de *Strongylocentrotus franciscanus* completa su desarrollo en aproximadamente 35 días (Strathmann, 1971; Emlet *et al*, 1987), y Strathmann (1978) reporta que a un intervalo de

temperatura de 7° y 13°C completa su desarrollo larvario en aproximadamente 51 días, mientras que con *Rhodomona lens* como alimento las larvas de erizo rojo alcanzaron la metamorfosis 45 días después de la fertilización a una temperatura de 12 °C. (Cameron y Schroeter, 1980).

En experimentos desarrollados en México, en el Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Zúñiga (1994), menciona que las larvas de erizo rojo presentan un mejor desarrollo alimentándolas con la microalga *Rhodomona sp.*, Martínez (1994) encontró que utilizando *Rhodomona sp.* como alimento asegura el requerimiento nutricional para el desarrollo normal de las larvas hasta alcanzar la metamorfosis.

Strathmann (1987), recomienda para las larvas de erizo rojo una ración de 3000 células por mililitro utilizando *Rhodomona lens* como alimento y una densidad de cultivo menor a una larva por mililitro. Sin embargo, Martínez (1994) recomienda en los primeros estadios larvarios (hasta pluteus 4B) una dosis de 5000 células por mililitro y duplicar esta ración hacia el final del desarrollo, así como una densidad de 2 larvas por mililitro, pero las sobrevivencias que obtuvo en las larvas fue baja, menor de 10%.

En un cultivo de larvas, las bajas densidades evitan la competencia por espacio y alimento, y se disminuyen los efectos por la acumulación de desechos metabólicos. Sin embargo, el presente trabajo pretende evaluar diferentes raciones y densidades para así poder llegar a determinar las condiciones necesarias para poder producir larvas de calidad capaces de soportar el procesos de la metamorfosis obteniendo así una mayor producción de juveniles de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* en laboratorio para las condiciones ambientales de la zona.

OBJETIVO

- Evaluar el efecto de la densidad así como tres diferentes variables que intervienen en la alimentación de las larvas de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* en un cultivo piloto comercial.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar el efecto de la densidad en un cultivo de larvas de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* en base a la sobrevivencia.
- Evaluar el efecto de la periodicidad en el suministro de alimento en un cultivo de larvas de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* en base a la sobrevivencia.
- Evaluar las concentraciones de 3000, 5000 y 7000 células por mililitro de alimento con la microalga *Rhodomonas* sp. como alimento, en un cultivo de larvas de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* en base a la sobrevivencia.
- Comparar el efecto de dos diferentes medios de cultivo (un fertilizante agrícola y el medio F/2 de Guillard) para producir la microalga *Rhodomonas* sp. utilizada como alimento en un cultivo de larvas de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* en base a la sobrevivencia.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

OBTENCIÓN DE LARVAS

4.1 Obtención de los reproductores.-

Se colectaron organismos entre los 8.0 y 9.0 centímetros de diámetro de testa fueron colectados en diferentes localidades de la Bahía de Todos Santos y en Punta Banda al sur de la Bahía, a una profundidad entre los cuatro y diez metros por medio de buceo libre. Fueron trasladados al laboratorio, en seco, dentro de cubetas de plástico, cubiertos con algas o en botes cerrados con agua para evitar la deshidratación. Generalmente se mantuvieron en tanques de 350 litros con flujo continuo de agua de mar por períodos de 12 a 24 horas antes de ser utilizados para los desoves y en ocasiones, fueron inmediatamente inducidos al desove.

4.2 Inducción al desove.-

Debido a que los organismos no pueden ser sexados exteriormente, fueron desovados individualmente. Las gametas fueron obtenidas mediante una inyección intracelómica de 1.5 ml de una solución salina de cloruro de potasio (KCl) a una concentración 0.55 M. (Stephens, 1972; Hinegardner, 1975; Strathmann, 1987).

4.3 Fertilización

Se diluyó una gota de una solución densa de esperma en 50 ml de agua de mar filtrada. Se tomó una alícuota y se observó al microscopio para ver la actividad del esperma. Posteriormente se tomó un mililitro de una solución densa de óvulos y se puso en 100 ml de agua de mar filtrada, se agregó un mililitro de la solución diluida de esperma y se agitó constantemente.

Después de 10 a 15 minutos se dejaron sedimentar los óvulos; se colectaron y lavaron en un filtro de 48µm con agua de mar filtrada para eliminar el exceso de esperma. Posteriormente se tomaron muestras de los óvulos y se observaron al microscopio para determinar el porcentaje de fertilización, (evidenciado por la aparición de la membrana de fertilización). Si este era menor al 95 % se desechaban los óvulos y se procedía a repetir el proceso con óvulos de otros organismos. Por último los óvulos fertilizados fueron colocados en recipientes de 15 litros y sin aireación durante 48 horas, tiempo que tarda en desarrollarse la larva prisma. En este estadio de desarrollo se iniciaron los experimentos, pues es cuando la larva comienza su alimentación en el medio natural.

4.4 Conteo de las larvas

Después de 48 horas, ya desarrollada la larva prisma, se contó y distribuyó en tanques de 350 litros a la densidad que correspondió a cada experimento. Para contar las larvas, éstas se concentraron en un volumen conocido, de dos o tres litros, y se tomaron cinco alícuotas de 0.2 , 0.5 o 1 ml (dependiendo de la cantidad de larva presente). Las larvas fueron colocadas en una camarilla de conteo y contadas con la ayuda de un microscopio compuesto. Se determinó el número promedio de larvas por mililitro y se multiplicó por el total del volumen, para conocer el total de larvas. Las larvas fueron contadas al inicio del experimento, a los 8, 14 y 22 días después de haber iniciado cada experimento.

4.5 Sistemas de Cultivo

Se utilizaron tanques de fibra de vidrio de 350 litros y con fondo plano. El 50 % del agua de mar filtrada (1µm) y pasada por radiación UV, fue renovada cada dos días y en un 100% cada semana.

Para los cambios de agua del 50 % se utilizaron sifones cubiertos con malla de 48µm para evitar la pérdida de las larvas en los tanques. El cambio total se llevó a cabo vaciando todo el contenido a través de un tamiz con luz de malla de 48 µm la primer semana, de 106 µm la segunda semana y 160 µm la tercera, para retener las larvas y dejar pasar partículas, restos de alimento, y otros organismos. El tamiz se mantuvo sumergido en una charola con agua de mar filtrada para evitar el maltrato de la larva.

Después del cambio total de agua los tanques fueron lavados con agua y jabón. Al término de cada recambio de agua, a las larvas se les proporcionó como alimento la microalga *Rhodomonas* sp. en la proporción correspondiente al tratamiento en turno.

4.6 Experimentos

En el periodo de Mayo 1995 - Marzo 1996, se llevaron a cabo cuatro experimentos diferentes por duplicado, en tanques de 350 litros de capacidad (Tabla 1). El experimento 1 (E1) fué para evaluar el efecto de la densidad de cultivo de las larvas en la sobrevivencia. Se utilizaron dos densidades de cultivo 3.2 larvas por mililitro y 1.5 larvas por mililitro. Se alimentaron ambos con 5000 células por mililitro de la microalga *Rhodomonas* sp.

En el experimento 2 (E2) se evaluó el efecto en sobrevivencia larval proporcionando como alimento la microalga *Rhodomonas* sp. cultivada con dos medios diferentes de cultivo: a) medio F/2 de Guillard y b) un medio enriquecido con una mezcla de fertilizantes (NO₃; P₂O₅; FeDTA; MnSO₄; ZnSO₄ y CuSO₄), proporcionado por el Instituto de Investigaciones Oceanológicas. Se utilizó una densidad de una larva por mililitro y una ración alimenticia de 5000 células/ml.

Se realizó un tercer experimento (E3) para evaluar el efecto de la forma de alimentación. A un tanque se le suministró alimento cada dos días con una ración de 5000 células/ml y al otro se le proporcionó 2500 cel/ml diariamente, lo que nos da un número igual de células para los tanques cada dos días. Se utilizó una densidad de 1.6 larvas por mililitro.

TABLA 1 .- Descripción de los tratamientos (T) efectuados por duplicado, en los cuatro experimentos (E) para evaluar : el efecto de la densidad de larvas (E1); medios de cultivo para la microalga *Rhodomonas* sp. utilizada como alimento de las larvas (E2); suministro del alimento (E3) y ración alimenticia (E4) sobre la sobrevivencia de las larvas de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus*.

VARIABLE	E1		E2		E3		E4		
	Densidad de Cultivo		Medios de cultivo para el alimento		Suministro de alimento		Ración alimenticia		
	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T3
No. inicial de larvas (x1000)	800	400	277	277	400	400	380	346	380
Densidad de cultivo (No. de larvas/ml)	3.2	1.6	1.0	1.0	1.6	1.6	1.4	1.4	1.4
Suministro de alimento	c/dos días	c/dos días	c/dos días	c/dos días	diario	c/dos días	c/dos días	c/dos días	c/dos días
Ración alimenticia	5000 cel/ml	5000 cel/ml	5000 cel/ml	5000 cel/ml	5000 cel/ml	5000 cel/ml	3000 cel/ml	5000 cel/ml	7000 cel/ml
Ración para la tercera semana	10000 cel/ml	10000 cel/ml	10000 cel/ml	10000 cel/ml	10000 cel/ml	10000 cel/ml	6000 cel/ml	10000 cel/ml	14000 cel/ml
Medio utilizado para cultivar el alimento	F/2	F/2	F/2	FT	F/2	F/2	F/2	F/2	F/2
Recambio de Agua	c/3er día	c/3er día	c/3er día	c/3er día	c/3er día	c/3er día	c/3er día	c/3er día	c/3er día

Para determinar el efecto de la ración alimenticia se llevó a cabo un cuarto experimento (E4), cuya densidad de cultivo fue de 1.4 larvas por mililitro. Los tratamientos para el experimento fueron tres raciones, de 3000, 5000 y 7000 células por mililitro de la microalga *Rhodomonas* sp.

Durante los experimentos se midieron parámetros ambientales antes y después de los cambios de agua. Los parámetros medidos fueron Salinidad (medida con un refractómetro), Temperatura, pH (medido con una pluma para pH), y Oxígeno (medido con un oxímetro).

4.7 Alimento

La microalga *Rhodomonas* sp utilizada como alimento de las larvas de erizo rojo se cultivó en el Instituto de Investigaciones Oceanológicas. Las microalgas fueron cultivadas en medios enriquecidos con medio F/2 de Guillard para todos los experimentos. Para el experimento dos (E2), además se cultivaron microalgas en un medio enriquecido con un fertilizante agrícola.

Las microalgas se contaron en un hematocitómetro. Los conteos del cultivo de microalgas se realizaron tomando dos muestras de un mililitro del alimento a utilizar, se fijaron con lugol y se contó por duplicado. Posteriormente se realizaron los cálculos para determinar la ración de cada tanque.

4.8 Análisis Estadístico

A los datos obtenidos de los conteos se les aplicó un análisis de normalidad (Kolmogorov - Smirnov). Posteriormente se sometieron a una prueba de homogeneidad de varianzas (Bartlett) que determinó la utilización de un Análisis de Varianza (ANOVA) de una vía, y donde se encontraron diferencias significativas ($\alpha < 0.05$) se les aplicó un análisis a posteriori de Tukey. Todos los análisis anteriores fueron realizados en el paquete estadístico STATGRAPHICS (Versión 6.0), a un nivel de confianza del 95%. ($\alpha = 0.05$).

5. RESULTADOS

5.1 Parámetros fisicoquímicos.

El oxígeno presentó valores entre 7.5 y 7.6 mg/l en todos los experimentos antes del recambio de agua de los tanques, y entre 7.6 y 7.8 después del cambio. El pH antes y después del cambio de agua se mantuvo en 8.1 en todos los experimentos. La temperatura no fue controlada y varió entre 15 ° y 18 ° C.

5.2 Desarrollo larvario

Las larvas no presentaron diferencias en la duración del periodo larvario para las dos épocas en las que se trabajó; invierno y primavera, siendo ligeramente menor el tiempo de desarrollo para los experimentos E1 y E3 realizados en la época de primavera, teniendo una duración de 21-22 días, mientras que para los experimentos realizados en invierno E2 y E4 fue de 22-24 días.

5.3 Efecto de la densidad de cultivo.

Los experimentos con una densidad larvaria de 1.6 larvas/ml fueron los que presentaron la mayor sobrevivencia. (Tabla II, Figuras 1 y 2)

Las mortalidades más importantes durante el experimento en ambas densidades se observaron las dos primeras semanas, donde la mortalidad fue de más del 75% en ambos casos, aunque fue más notable para el cultivo con mayor densidad.

Al término del experimento se encontró un efecto significativo ($p < 0.05$) de la densidad en la sobrevivencia de las larvas. La mayor sobrevivencia, con 58,400 larvas (14.6%), ocurrió con la densidad de cultivo baja de 1.6 larvas/ml, mientras que solamente sobrevivieron 45,000 larvas, equivalentes a un 5.62 % con la densidad alta, de 3.2 larvas/ml (Figuras 1 y 2, Tabla II).

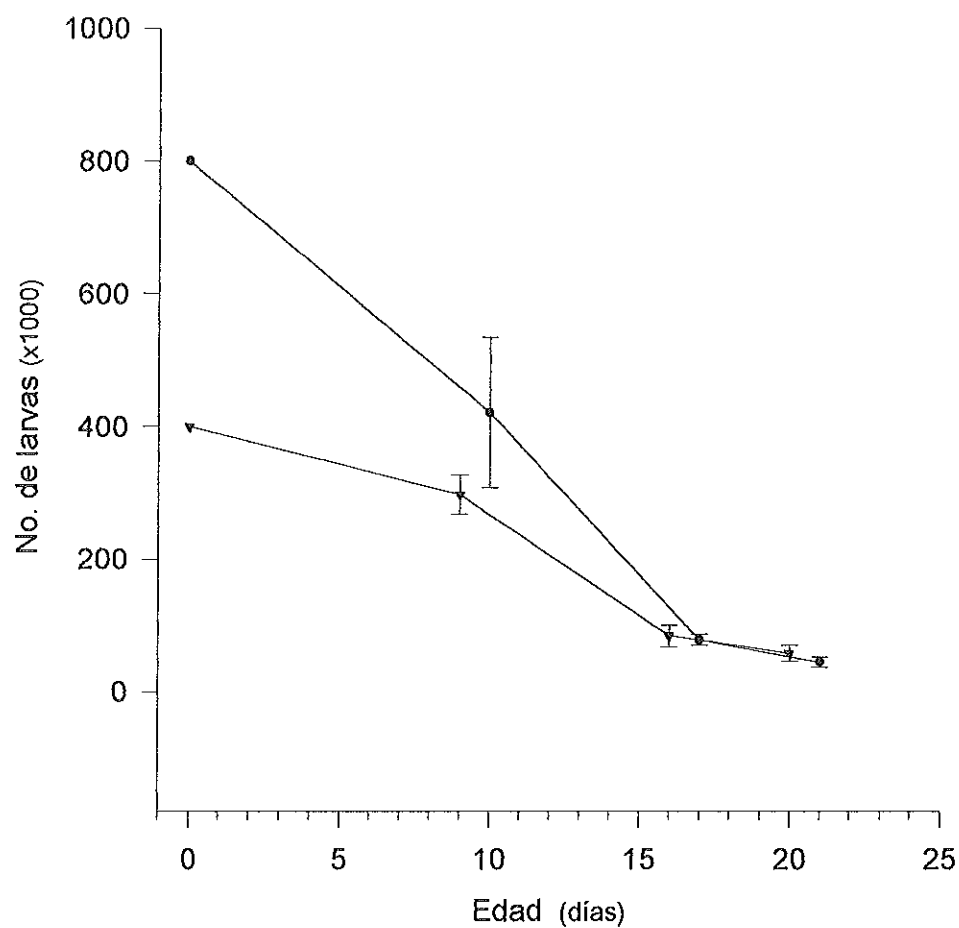


FIGURA 1.- Supervivencia de las larvas de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* con dos densidades de cultivo. El T1 (●) con una densidad de 3.2 larvas por mililitro y el T2 (▼) con una densidad de 1.6 larvas por mililitro. Las barras verticales representan la desviación estándar ($\alpha=0.05$). (Los muestreos fueron realizados en la misma fecha pero se muestran desfasados para evitar traslape.)

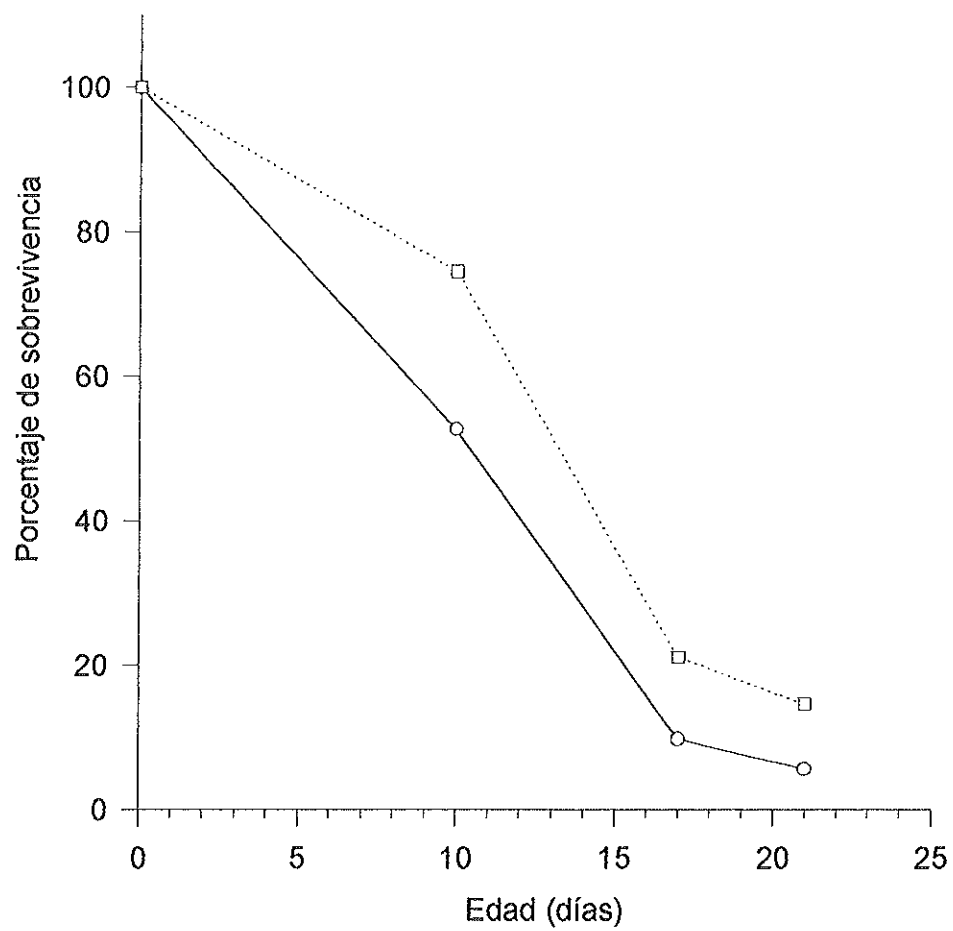


Figura 2.- Supervivencia en porcentaje de las larvas de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* con dos densidades de cultivo. El T1 (○) con una densidad de 3.2 larvas por mililitro y el T2 (□) con una densidad de 1.6 larvas por mililitro.

TABLA II .- Sobrevivencia de las larvas de erizo rojo en cada tratamiento de los experimentos realizados. En el día 22 se completó el desarrollo larvario y se inició la metamorfosis. (En el experimento 1* las larvas completaron su desarrollo larval el día 21 y en el experimento 2** las larvas completaron su desarrollo larval el día 24).

TRATAMIENTO	SOBREVIVENCIA					
	Primera evaluación		Segunda evaluación		Tercer evaluación	
	No. de larvas	%	No. de larvas	%	No. de larvas	%
Experimento 1*						
Tratamiento 1 3 larvas/ml	421500	52.6	78250	9.7	45000	5.6
Tratamiento 2 1.6 larvas/ml	298000	74.5	84500	21.1	58400	14.6
Experimento 2**						
Tratamiento 1 F/2 de Guillard	208125	75.1	104000	37.5	15700	5.6
Tratamiento 2 Fertilizante agrícola	223000	80.4	169200	61.0	18900	6.8
Experimento 3						
Tratamiento 1 Alimentación diaria	354600	88.6	228600	57.1	29800	7.4
Tratamiento 2 Alimentación cada 2 días	280000	70.0	253200	63.3	63400	15.8
Experimento 4						
Tratamiento 1 3000 cel/ml	335400	88.2	65000	17.1	0	0
Tratamiento 2 5000 cel/ml	258400	74.5	136620	39.4	22400	6.4
Tratamiento 3 7000 cel/ml	378650	99.6	189200	49.7	36500	9.6

5.4 Efecto del medio de cultivo empleado para la microalga *Rhodomonas* sp utilizada como alimento de las larvas.

Al final de este experimento no se presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) en la sobrevivencia de las larvas que se alimentaron con la microalga *Rhodomonas* sp, cultivada con un fertilizante agrícola y el medio F/2 de Guillard. No obstante, a los 14 días, el número de larvas fue significativamente diferente ($p < 0.05$) ya que, con el fertilizante agrícola el número de larvas fue de 169,200 que correspondiente al 61%, mientras que con el medio F/2 de Guillard solamente fueron 104,000 equivalente a 37.52% (Figuras 3 y 4, Tabla II).

5.5 Efecto del suministro de alimento.-

Al final del experimento se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en la sobrevivencia entre las larvas que se alimentaron diario y las larvas que se alimentaron cada dos días. Para esta última fue del 15.85% con 63,400 larvas, mientras que con alimentación diaria, sólo se obtuvieron 29,800 larvas equivalentes a 7.45% (Figuras 5 y 6, Tabla II). En las evaluaciones de los 10 y 16 días no ocurrieron diferencias significativas, debido a que se presentó una gran variabilidad entre las réplicas.

5.6 Efecto de la Ración Alimenticia.-

El mayor suministro de alimento con 7000 cel/ml de la microalga *Rhodomonas* sp., proporcionó la mejor sobrevivencia. Desde la primera evaluación (día 8), presentó diferencia significativa ($\alpha < 0.05$) en la sobrevivencia de larvas entre los tratamientos de 3000 cel/ml (T1) y los de 5000 (T2) y 7000 células/ml (T3). (Figura 7 y 8, Tabla II)

El T3 presentó menor mortalidad con solamente el 0.37 % de las larvas en la primera evaluación.(Tabla II). Para la segunda evaluación (día 14) no se encontró diferencia entre los tratamientos T1 y T2, pero si se encontró diferencia de ambos con el T3 .

En la última evaluación (día 22) se encontró diferencia significativa entre los tres tratamientos presentando la mayor sobrevivencia el T3 con el 9.6 % (36,500 larvas). El T1 presentó una mortalidad del 100% (Figuras 7 y 8, Tabla II).

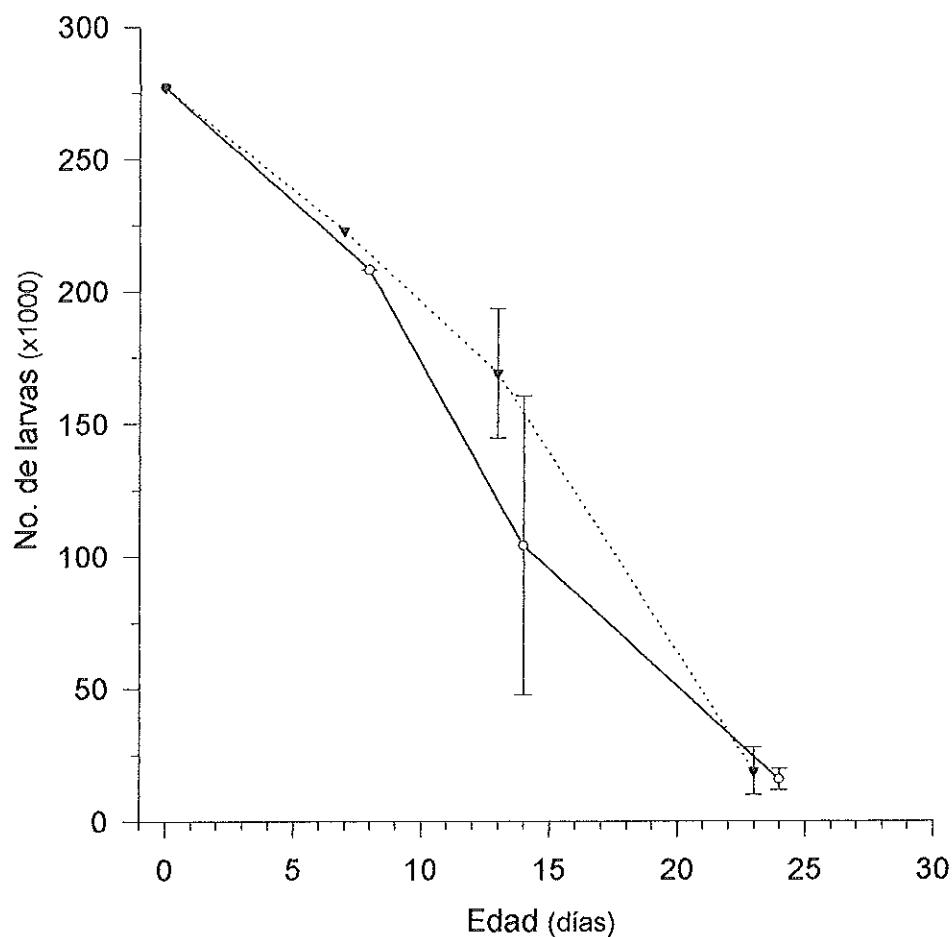


FIGURA 3.- Supervivencia de las larvas de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* al evaluar el efecto del medio de cultivo usado para cultivar la microalga *Rhodomonas* sp. utilizada como alimento. El T1 (●) alimentado con microalgas cultivadas con medio F/2 de Guillard y el T2 (▽) con un fertilizante agrícola. Las barras verticales representan la desviación estándar, ($\alpha=0.05$). (Los muestreos fueron realizados en la misma fecha pero se muestran desfasados para evitar traslape.)

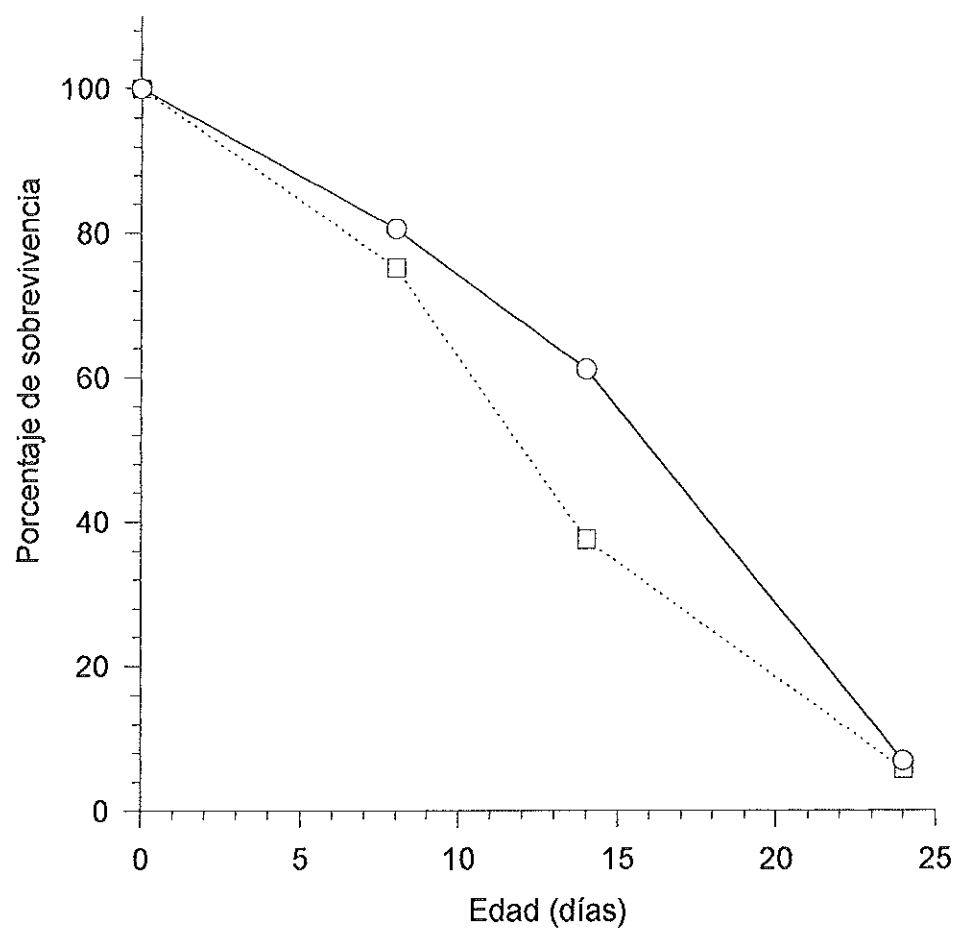


Figura 4.- Sobrevivencia en porcentaje de las larvas de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* al evaluar el efecto del medio de cultivo usado para cultivar la microalga *Rhodomonas* sp. utilizada como alimento. El T1 (□) alimentado con microalgas cultivadas con medio F/2 de Guillard y el T2 (○) con un fertilizante agrícola.

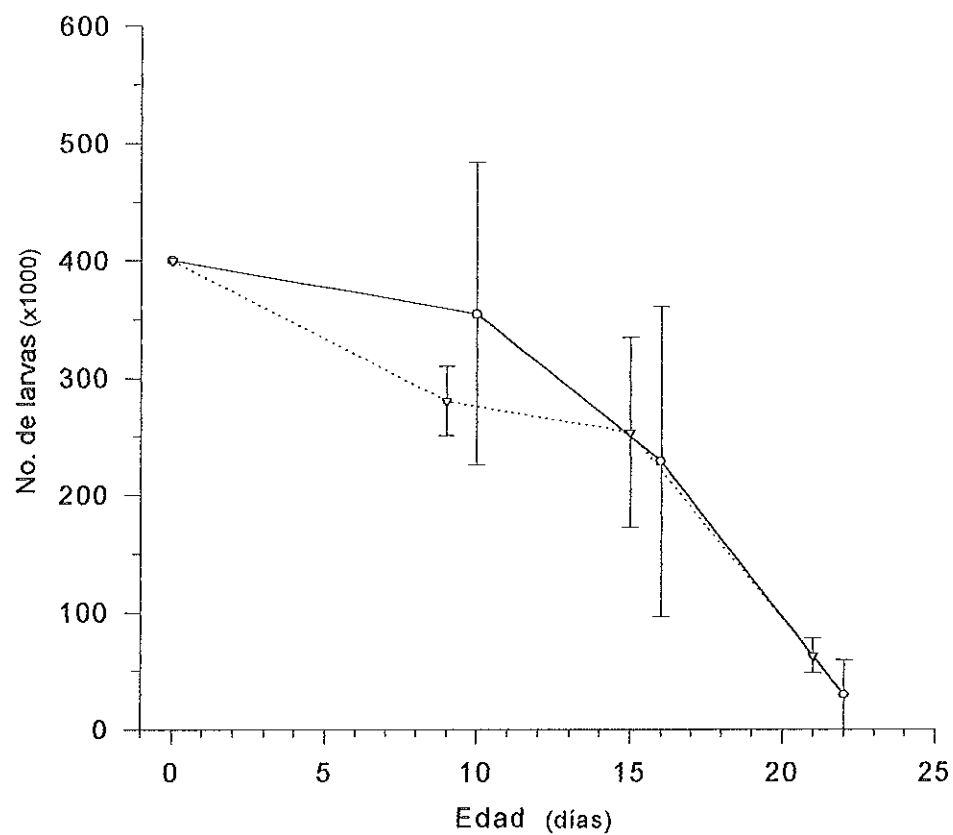


FIGURA 5.- Supervivencia de las larvas de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* como efecto de la periodicidad en el suministro de alimento. El T1 (●) fue alimentado diariamente con 2500 cel/ml y el T2(▽) se alimentó con 5000 cel/ml cada dos días. Las barras verticales representan la desviación estándar ($\alpha=0.05$). (Los muestreos fueron realizados en la misma fecha pero se muestran desfasados para evitar traslape.)

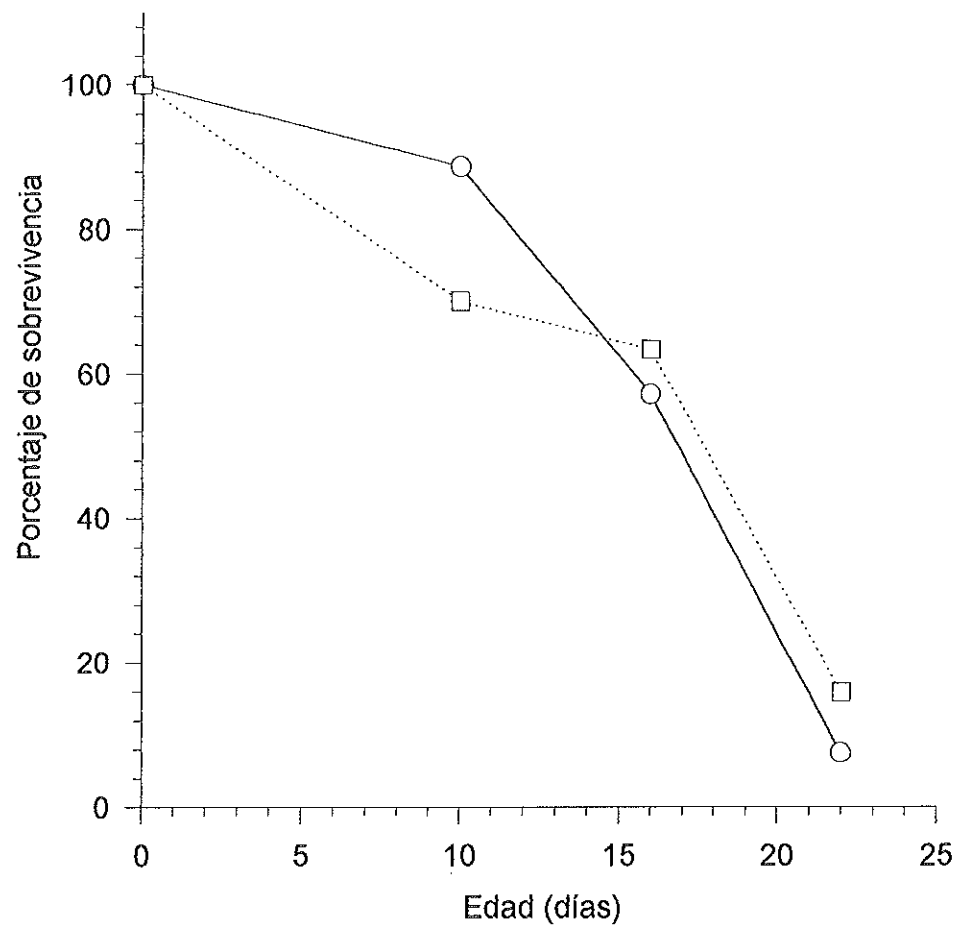


Figura 6.- Sobrevivencia en porcentaje de las larvas de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* como efecto de la periodicidad en el suministro de alimento. El T1 (●) fue alimentado diariamente con 25000 cel/ml y el T2 (□) se alimentó con 5000 cel/ml cada dos días.

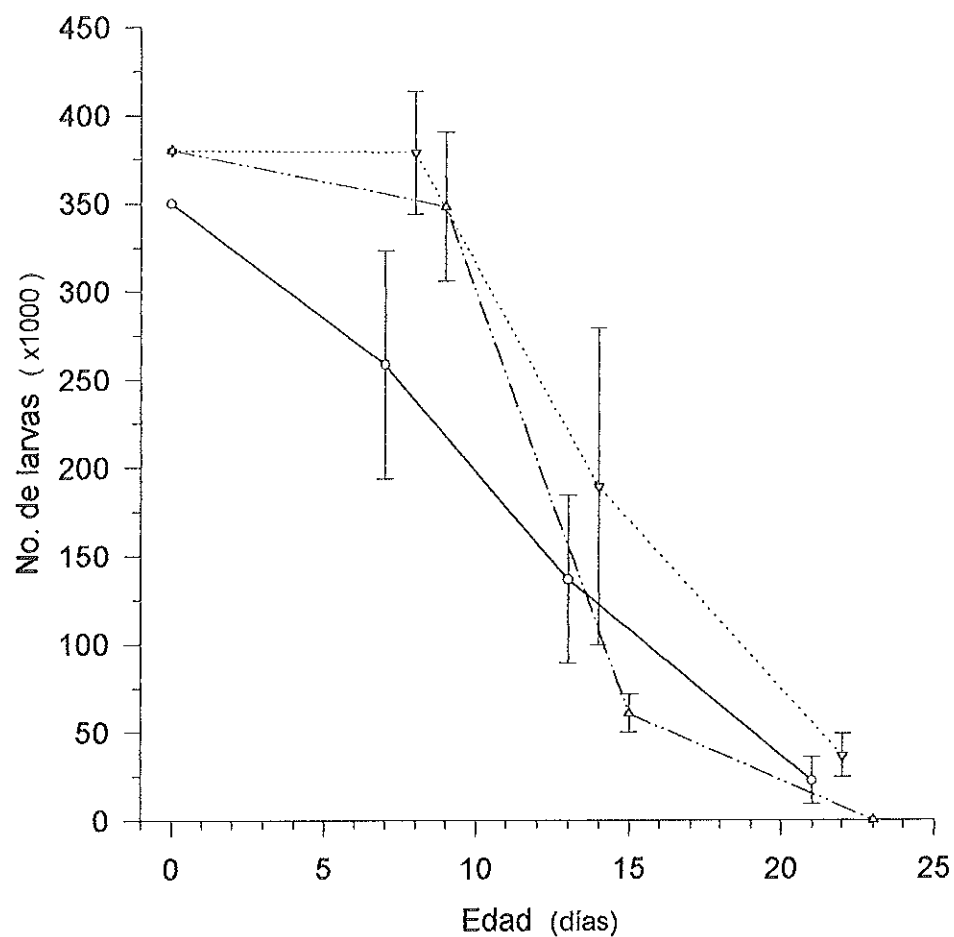


FIGURA 7.- Supervivencia de las larvas de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* como resultado de la ración alimenticia. El T1 (Δ) se alimentó con 3000 cel/ml, el T2 ($\circ$) fue alimentado con 5000 cel/ml y el T3 (∇) con 7000 cel/ml. Las barras verticales representan la desviación estándar ($\alpha=0.05$). (Los muestreos fueron realizados en la misma fecha pero se muestran desfasados para evitar traslape.)

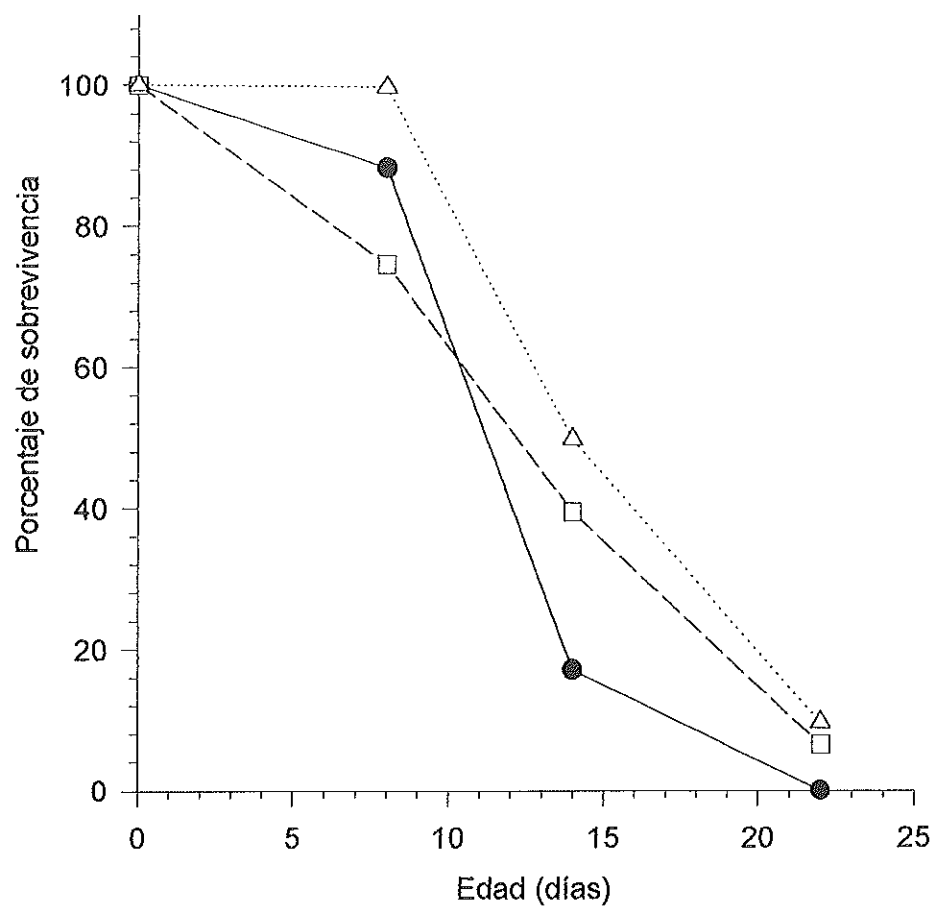


Figura 8.- Supervivencia en porcentaje de las larvas de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* como resultado de la ración alimenticia. El T1 (●) se alimentó con 3000 células por mililitro, el T2 (□) con 5000 células por mililitro y el T3 (Δ) con 7000 células por mililitro.

6. DISCUSIÓN

6.1 Parámetros fisicoquímicos

En los experimentos de este trabajo, el pH y el oxígeno mantuvieron un comportamiento estable, por lo que se considera que favorecieron en todos los experimentos el desarrollo del cultivo y la sobrevivencia de las larvas.

La temperatura fue determinante para la duración del periodo larvario (hasta iniciar la metamorfosis), que para este trabajo se alcanzó de 21 - 24 días después de la fertilización, a una temperatura de 15 a 18° C. Lo anterior fue similar al tiempo reportado por Martínez (1994) para la misma zona.

6.2 Desarrollo larvario

En ninguno de los experimentos se observó un retraso en el desarrollo de las larvas. Lo único que afectó la duración del periodo larvario fue la temperatura, que en la época de primavera fue ligeramente mayor, y el periodo larvario más corto. Lo anterior concuerda con lo obtenido por González *et al* (1987), con larvas de *Loxechinus albus* que trabajo con dos regímenes de temperatura 10 - 12 °C y 16 - 19 °C, y encontró que a mayor temperatura, es menor la duración del período larvario hasta la metamorfosis; pero menciona que el tamaño máximo alcanzado por las larvas es menor a temperaturas mayores y Martínez que considera que la temperatura es el principal factor que controla la duración de los diferentes estadios larvarios, y reporta que la metamorfosis de las larvas de erizo rojo ocurre entre 23 y 28 días a una temperatura de 16 - 18 ° C.

6.3 Densidad de cultivo.

Las mejores sobrevivencias se obtuvieron con la densidad larvaria más baja (1.6 larvas/ml) y se pudo observar que una densidad alta ($>$ de 3 larvas/ml), resulta perjudicial para la sobrevivencia de las larvas. Esto es fácilmente apreciable en la alta mortalidad que se presentó en el tratamiento 1 (T1) que fué mayor al 94% .

Aunque en ambos tratamientos se presentaron altas mortalidades, la cantidad de larvas muertas con la densidad más alta (T1) fue significativamente mayor que para el T2, ya que éste inició con menor número de larvas (50% menos). Estas altas mortalidades demuestran que una densidad alta tiene un efecto perjudicial en la sobrevivencia de las larvas, posiblemente debido a que se presenta un incremento en la competencia por espacio y alimento. También se puede presentar un aumento en la concentración de los desechos metabólicos (Martínez, 1994), efecto que en los experimentos realizados no se consideró como causa de la alta mortalidad larvaria.

Estos resultados contrastan con los obtenidos por Martínez (1994), que trabajó con larvas de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* con densidades de 2 y 4 larvas por mililitro y Bustos *et al* (1991) con larvas de *Loxechinus albus* y densidades de 0.25, 0.5 y 1 larva por mililitro, quienes no encontraron efecto de la densidad en los cultivos. A este respecto Martínez (1994), menciona que una alta variabilidad en sus réplicas pudo haber enmascarado el efecto, pero señala que obtuvo un mayor número de larvas sobrevivientes en los tratamientos con densidad larvaria baja (2 larvas/ml), por lo que recomienda la utilización de densidades bajas de cultivo. Lo anterior puede deberse a que las densidades utilizadas fueron bajas y se encontraban por debajo de los límites críticos, aunque menciona que si existe un efecto sobre el tamaño de los juveniles que iniciaron su metamorfosis. Por otro lado Buckle *et al* (1978), trabajó con larvas de *Loxechinus albus*, y realizó cultivos con densidades altas (7 larvas/ml), pero no logró la metamorfosis de las larvas.

Otros autores han sugerido que densidades de 1 larva por mililitro y 0.1 larvas por mililitro son los máximos adecuados para cultivos de las larvas de erizo rojo (Hinegardner, 1975 y Strathmann, 1987, respectivamente). Estos trabajos antes mencionados fueron realizados a una escala muy pequeña, por lo que las densidades que soportaban los sistemas de cultivo eran más bajas. Sin embargo en cultivos a escala comercial, Hagen (1996), menciona que en Japón se utilizan densidades iniciales de 1.5 larvas por mililitro.

Por lo anterior y los resultados obtenidos en este trabajo, se recomienda la utilización de densidades de cultivo bajas para obtener mayores sobrevivencias. Sin embargo, para minimizar los costos de producción lo ideal sería poder utilizar la mayor densidad de cultivo sin que se presenten los efectos negativos.

6.4 Efecto del medio empleado para cultivar la microalga *Rhodomonas* sp utilizada como alimento

No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, lo que nos puede indicar que no existieron diferencias en la aceptación de las microalgas. Tampoco se manifestó un retraso en el desarrollo de las larvas, por lo que se podría pensar que no hubo diferencias en la calidad del alimento.

Las demandas existentes de alimento y los altos costos involucrados en su producción, hacen necesaria la búsqueda de nuevas fuentes de nutrimentos para el cultivo de microalgas utilizadas para la alimentación de organismos. Una alternativa la constituyen los fertilizantes agrícolas como única fuente de nitrógeno.

Al respecto, Dunstan y Menzel (1971) demostraron que el agua de mar enriquecida con fertilizantes tanto orgánicos como inorgánicos genera una adecuada producción de alimento para las larvas y adultos de bivalvos.

Herrera (1988) y Jiménez (1991), desarrollaron cultivos masivos de *Tetraselmis suecica* e *Isochrysis tahitiana* respectivamente, utilizando como fuente de nitrógeno diferentes fertilizantes agrícolas y no encontraron diferencia en la densidad poblacional, ni en el crecimiento de las microalgas con respecto a las cultivadas con el medio F/2 de Guillard y los fertilizantes.

En trabajos realizados para cultivar la microalga *Pavlova lutheri*, Ocampo (1990) utilizó tres fuentes de nitrógeno : dos fertilizantes y el medio F/2 de Guillard, para la alimentación de las larvas de *Mytilus edulis*. Obtuvo una sobrevivencia total mayor al 87%, y no existieron diferencias entre los tratamientos. Moreno (1991), utilizó fertilizantes agrícolas para cultivar la microalga *Pavlova lutheri* para alimentar mejillones *Mytilus galloprovincialis* en su etapa de maternidad, y observó que el mejor crecimiento de semilla se registró con microalgas cultivadas con fertilizantes.

Los fertilizantes agrícolas también han sido utilizados para producir alimento para larvas de crustáceos. Pérez (1992), manifestó que para las larvas de *Panaeus vannamei* en la etapa de postlarva I no presentan diferencias en la sobrevivencia al alimentarlas con *Chaetoceros gracilis* cultivadas con fertilizante agrícola, y menciona que éstos son una alternativa viable en el cultivo de microalgas para la alimentación de camarones.

Por lo anterior y los resultados obtenidos en este trabajo se puede concluir que con la microalga *Rhodomonas* sp. tampoco se presenten diferencias. Lo que nos indica que puede ser cultivada con cualquiera de los medios (F/2 de Guillard ó con fertilizante agrícola) y garantizar los requerimientos nutricionales de las larvas.

En cuanto a los costos de producción los fertilizantes agrícolas representan un gran ahorro en comparación con la utilización del método tradicional F/2 de Guillard. Diversos autores concuerdan en señalar que el ahorro es importante.

Wilburn (1990), estima que los costos de producción con los fertilizantes agrícolas se reducen hasta en un 99 %, Jiménez (1991) encontró un ahorro del 90 % y Herrera (1988), calculó un costo 32 veces menor con un fertilizante agrícola respecto al medio F/2 de

Guillard. Lo que resultaría muy ventajoso, ya que se reducirían de forma importante los costos de producción.

6.5 Periodicidad en el suministro de alimento.

La mejor sobrevivencia se obtuvo con el T2, en el cual se proporcionó el alimento cada dos días. En este experimento se tuvieron las desviaciones estándar mas altas de todo el trabajo lo cual podría explicar porqué no se encontraron diferencias significativas en la primera y segunda evaluación (Figura 5). En la última evaluación se obtuvieron diferencias significativas con mayor sobrevivencia del T2, que presentó el doble (15.85 %) que el T1 (7.45 %), lo que nos indica que suministrar el alimento cada dos días proporciona mejores resultados.

Los resultados obtenidos concuerdan con los de González *et al* (1987), que reporta buenos resultados con este modo de suministrar el alimento. Sin embargo, al pasar al estadio de pluteus 8B, en lugar de duplicar el alimento y continuar suministrándolo cada dos días, cambian a alimentar con la misma ración pero diariamente. Por otra parte Saito *et al* (1989), trabajó con larvas de *Strongylocentrotus intermedius*, y recomienda alimentar las larvas diariamente con 5000 células por mililitro hasta el estadio pluteus 4B y aumentar 5000 células para cada estadio subsecuente.

Bustos *et al* (1991) alimentó las larvas de *Loxechinus albus* diariamente con una ración de 40000 células por mililitro y obtuvo una sobrevivencia aproximada al 30 %. Por estas razones se podría esperar que con en el T1, que se alimentó diariamente se presentaran mejores sobrevivencias, lo cual no sucedió, esto posiblemente se debió a que la cantidad de alimento suministrada no fué suficiente para cubrir las necesidades nutricionales de las larvas.

En los trabajos presentados por los autores antes mencionados, se utilizan densidades menores, así como una menor cantidad de larvas por tanque y una cantidad de alimento mayor a la utilizada en este trabajo.

Por lo anterior se recomienda la realización de estudios similares al presente, pero aumentando la cantidad de alimento para que esta no sea considerada como un factor que afecta en la sobrevivencia larval, como se puede ver en el E4, y así determinar el régimen adecuado de alimentación.

6.6 Efecto de la ración alimenticia.

Las raciones utilizadas en el experimento no cubrieron las necesidades de las larvas, ya que no se obtuvieron los resultados esperados, lo anterior pudo deberse a que las raciones recomendadas por otros autores como Strathmann (1987), de 3000 cel/ml y Martínez (1994), de 5000 cel/ml fueron utilizadas en experimentos a una escala menor (menor a 15 litros) y al ser utilizadas en un experimento a escala piloto comercial, no se obtuvieron los resultados esperados.

González *et al* (1987), menciona que una ración alimenticia adecuada, así como una microalga que satisfaga las necesidades nutricionales es fundamental para el buen desarrollo de las larvas. Por ello, las diferencias significativas obtenidas al final del experimento pueden ser atribuibles a una falta de alimento. En el presente trabajo con la ración más baja de 3000 cel/ml (T1), se obtuvo al final una mortalidad total.

Esto posiblemente debido a que la falta de alimento ocasionó un debilitamiento en las larvas y trajo con ello la alta mortalidad. Esto nos indica que dicha ración en un cultivo piloto comercial no es suficiente para cubrir las necesidades de las larvas y lograr que completen su desarrollo.

Por lo tanto la ración de 5000 cel/ ml aunque ha sido recomendada por otros autores como Saito (1989), Martínez (1994) y Hagen (1996), no dio los resultados esperados. Esto

posiblemente se debió a que el trabajo realizado por Martínez (1994), fue a una escala más pequeña. Saito *et al* (1985), también utiliza raciones de 5000 células por mililitro hasta el estadio pluteus 4B, pero aumenta 5000 células por mililitro para cada estadio siguiente. Esto nos indica que la larva conforme avanza en su desarrollo va requiriendo mayor cantidad de alimento.

En un cultivo piloto comercial, Hagen (1996), reporta que se inicia igualmente con una ración de 5000 cel/ml, pero se aumenta para cada estadio posterior a pluteus 4B, hasta llegar a una ración aproximada de 33000 cel/ml hacia el final del desarrollo. Por ello se considera que es de suma importancia proporcionar la cantidad adecuada de alimento para cada estadio, para así cubrir los requerimientos de las larvas durante su desarrollo.

Con el T3 que correspondió a una ración de 7000 cel/ml se obtuvieron mejores resultados, y se presentaron buenas sobrevivencias en las primeras etapas del desarrollo, y ya que terminó con solamente el 9.6% de sobrevivencia, se considera que como ración inicial sí cubre los requerimientos de las larvas, pero es necesario aumentarla conforme estas avanzan en su desarrollo. Al tener sobrevivencias altas (en las primeras etapas de desarrollo), la cantidad de larvas no disminuye por lo que el requerimiento de alimento por tanque es mayor.

Para los tratamientos T2 y T3 se recomienda aumentar la ración para cada estadio posterior al pluteus 4B, para evitar que falte alimento para las larvas y garantizar una mayor sobrevivencia y una mejor producción de juveniles de erizo rojo en un cultivo.

Existen trabajos en los que se recomienda la utilización de una ración inicial de 20000 cel/ml y aumentar esta ración para cada estadio siguiente a pluteus 4B. De acuerdo a lo obtenido en este trabajo y lo reportado por otros autores esta ración es muy alta e innecesaria.

En un panorama general las condiciones más adecuadas para el cultivo de larvas de erizo rojo de acuerdo con los resultados obtenidos de este trabajo serían :

- a) Utilizar una densidad baja (que para el presente trabajo fue de 1.6 larvas/ml) recomendación que concuerda con la mayoría de los autores. Martinez, 1994; Strathmann, 1987; Hinegardner, 1975.
- b) Una alimentación con la microalga *Rhodomonas* sp. cultivada con fertilizante agrícola como fuente de nitrógeno, lo que reduciría de forma importante los costos de producción.
- c) Suministrar el alimento a las larvas cada dos días, lo que contrasta con las metodologías utilizadas por Bustos (1991) y Saito (1993), quienes obtienen buenos resultados proporcionando alimentación diariamente. Debido a que se considera que la cantidad de alimento fue un factor que afectó de forma negativa para la sobrevivencia de los cultivos posiblemente el efecto de la periodicidad del alimento pudo no haber sido bien apreciado.
- d) Por último se recomienda dar una ración inicial de 7000 cel/ml y aumentar ésta para cada estadio siguiente a pluteus 4B.

CONCLUSIONES

- El periodo larvario tuvo una duración de entre 21 y 24 días a una temperatura de 15° - 18° C.
- Una densidad inicial baja de 1.6 larvas por mililitro favorece el buen desarrollo y la sobrevivencia.
- Los fertilizantes agrícolas utilizados como fuente de nitrógeno para la producción de las microalga *Rhodomonas* sp. usada como alimento de las larvas de erizo rojo y es una alternativa viable y más económica que el medio F/2 de Guillard.
- El suministro de alimento cada dos días con una ración de 5000 células por mililitro proporciona mejores resultados que el suministro de alimento diario con la mitad de la ración.
- Una ración alimenticia inicial de 7000 células por mililitro mostró ser la más adecuada para alimentar las larvas de erizo rojo en un cultivo piloto comercial.
- Los datos obtenidos sugieren que el suministro de alimento cada dos días con una ración inicial de 7000 células por mililitro proporciona los mejores resultados para alimentar las larvas de erizo rojo en un cultivo piloto comercial.

LITERATURA CITADA

- Bardach , J. E., J.H. Ryther; W.O. McLarney. 1986. Acuicultura: Crianza y Cultivo de Organismos Marinos y de Agua Dulce". AGT Editor, S.A. México, D.F. 741 pp.
- Bernard, F.R. 1977. "Fishery and Reproductive cycle of the red sea urchin, *Strongylocentrotus franciscanus*, in British Columbia". J. Fish. Res. Board. Can. **34**: 604-610.
- Brandon, J.L.; y F.J. Rokop, 1985. "Life Between the tides". American Southwestern Publishing Co. of San Diego, U.S.A. 228pp.
- Buckle, L.F; Ch. Guisado; E. Tarifeno; A. Zuleta; L. Cordova y C. Serrano. 1978. "Biological studies on the chilean sea urchin *Loxechinus albus* (Molina) (ECHINODERMATA:ECHINOIDEA) IV. Maduration Cycle and Seasonal Biochemical Changes in the gonad". Ciencias Marina, **5(1)**:1-18.
- Bustos R. Eduardo; C. Godoy; S.Olave y R. Troncoso. 1991. "Desarrollo de técnicas de Producción de Semillas y Repoblamiento de Recursos Bentónicos, Parte 1. Investigaciones en el erizo chileno *Loxechinus albus* (Molina,1972)". Instituto de Fomento Pesquero, Chile, PNUD. Impresos XIMPAUSER. pp 1 - 60.
- Cameron, R.A., y S.C. Schroeter. 1980. "Sea urchin recruitment: effect of substrate selection on juvenil distribution". Mar. Ecol. Prog. Ser. **2**: 243-247.
- Dunstan, W.M. y Menzel, W.D. 1971. "Continues cultures of natural populations of phytoplankton in dilute treated sewage effluent. Linnol . Oceanogr. **16(4)**:623-632.

- Palleiro-Nayar, J.S. 1982. "Estimación de la densidad y crecimiento del erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* (Agassiz) para la zona de Santo Tomás, Baja California, México". Tesis de Licenciatura, ESCM-UABC, Ensenada, B.C., México. 68 pp.
- Palleiro-Nayar, J.S. 1994. "Pesquería del erizo rojo en Baja California, temporada 92-93". en: Memorias del X Simposium Internacional de Biología Marina". 13-17 Junio 1994; Ensenada, B. C., México. Universidad Autónoma de Baja California, Southern California marine Institute y Universidad Autónoma de Baja California Sur. 161 pp.
- Pérez-Castañeda, R. 1992. "Sobrevivencia y metamorfosis larval de *Penaeus vannamei* (BOONE) alimentando con *Chaetoceros gracilis* producida con fertilizantes agrícolas. Tesis de Licenciatura., FCM-UABC, Ensenada, B.C., México. 32 pp.
- Ricketts, E.F., J. Calvin; J. W. Hedgpeth. 1968. "Between Pacific Tides". 4a. ed. Stanford University Press, Stanford. 614 pp.
- Saito, K.; K. Yamashita; K. Tajima; A. Obara; Y. Nishihama; M. Sawasaki; K. Kawamata; K. Kawamura. 1989. "Manual of Artificial Seed production of sea Urchin, *Strongylocentrotus intermedius*. Hokkaido Institute of Mariculture. Shikabe, Hokkaido, Japan. 56-80 pp.
- Stephens, R.E. 1972. "Studies on the development of the sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* I. Ecology and Normal Development". Biol. Bull. 142: 132-144.
- Strathmann, M.F. 1987. "Phylum Echinodermata, class Echinoidea", en : Reproduction and Development of Marine Invertebrates of the Northern Pacific Coast". University of Washington Press. Seattle, Washington. 670 pp.

TABLA VI .- Análisis de Varianza del experimento 4, para determinar el efecto de la ración alimenticia (T1 alimentado con 5000 cel/ml y T2 alimentado con 7000 cel/ml) en el cultivo de las larvas de erizo rojo *Stongylocentrotus franciscanus*

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA CUADRATICA	F CALCULADA
08 Días	1	722402E5	722402E5	26.791
14 Días	1	138232E5	138232E5	2.6797
22 Días	1	994050E3	994050E3	6.059

- Emlet, R.B.; L.R. McEduard; R.R. Strathmann. 1987. "Echinoderm larval ecology viewed from the egg", en : "Echinoderm studies". Vol. II (M. Jangoux y J.M. Lawrence, eds.) A.A. Balkema, Rotterdam. pp55-136.
- Farias-Sanchez, J.A. 1980. "Observaciones preliminares de una poblacion de erizos *Strongylocentrotus franciscanus* (Echinodermata, Echinoidea) en Baja California". Tesis de Licenciatura, ESCM-UABC. Ensenada, B.C. México. 94 pp.
- González, L.P.; J.C. Castilla y Ch. Guisado. 1987. Effect on the larval diet and rearing temperature on metamorphosis and juvenile survival of the edible sea urchin *Loxechinus albus* (Molina, 1972) (Echinoidea: Echinodae)". J. Shellfish Research. 6(2):109-115.
- González, M.L., M.C. Pérez, D.A. López y C.A. Pino. 1993. "Effect of algal diet on the energy available for growth of juvenile sea urchin *Loxechinus albus* (Molina 1972)". Aquaculture, 115(1993)87-95
- Hagen, N.T. 1996. "Echinoculture: from fishery enhancement to closed cycle cultivation". World Acuaculture. pp 6-19.
- Herrera-Treviño, J.R. 1988. "El fertilizante agrícola como alternativa en cultivos externos para la producción masiva de *Tetraselemis suecica* (KLYN) Butch. Tesis de Licenciatura, FCM-UABC. Ensenada, B.C., México. 50pp.
- Hinegardner, R.T. 1969. "Growth and development of the laboratory cultured sea urchin". Biology Bulletin. 137:465-475.
- 1975 "Morphology and genetics of sea urchin development". Amer. Zool. 15:679-689.

- Hyman, L. H. 1955. "The invertebrates : Echinodermata". Vol. IV. McGrawhill Book Co., New York. 763pp.
- Jimenez-Mercado, A. 1991. "Evaluación de mezclas de fertilizantes agrícolas inorganicos para el cultivo masivo de *Isochrysis var galbana aff thaitiana* Green, (Clon T-ISO). Tesis de Licenciatura. FCM-UABC. Ensenada, B.C., México. 105 pp.
- Kato, S., y C. Schroeter. 1985. "Biology of the red sea urchin, *Strongylocentrotus franciscanus* and its fishery in california". Mar. Fish. Rev. 47(3): 1-20.
- Martinez-López, R.E. 1994. "Descripción del desarrollo larvario en el erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* (ECHINOIDEA: ECHINODERMATA), y efectos de la densidad, ración alimenticia y cambios de agua". Tesis de Licenciatura, FCM-UABC. Ensenada, B.C., México. 52 pp.
- Miller, R.M. 1989. "Comercial culture of the giant red sea urchin *Strongylocentrotus franciscanus* in Hawaii". Abstract, 1989, Annual Meeting; National Shellfishes Assosiation. Seattle, Washington. 414 pp.
- Moreno-Arellano, R.A. 1991. "Evaluación de la microalga *Pavlova (Monochrysis) lutheri*, cultivada con fertilizantes agrícolas en la alimentación del mejillón *Mytilus gallorovincialis* en la etapa de maternidad". Tesis de Licenciatura. FCM-UABC, Ensenada, B.C., México. 39 pp.
- Mottet, M.G. 1976. "The fishery biology of sea urchins in the family Strongylocentrotidae". Wash. Dep. Fish. Tech. Rep. 20: 1-66.
- Ocampo-Aranda, F.J. 1990. "Efecto de la microalga *Monochrysis lutheri* cultivada con fertilizantes agrícolas en el crecimiento y la sobrevivencia de larvas y post-larvas del mejillon *Mytilus edulis* (L)". Tesis de Licenciatura . FCM-UABC, Ensenada, B.C., México. 42 pp.

- Palleiro-Nayar, J.S. 1982. "Estimación de la densidad y crecimiento del erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* (Agassiz) para la zona de Santo Tomás, Baja California, México". Tesis de Licenciatura, ESCM-UABC, Ensenada, B.C., México. 68 pp.
- Palleiro-Nayar, J.S. 1994. "Pesquería del erizo rojo en Baja California, temporada 92-93". en: Memorias del X Simposium Internacional de Biología Marina". 13-17 Junio 1994; Ensenada, B. C., México. Universidad Autónoma de Baja California, Southern California marine Institute y Universidad Autónoma de Baja California Sur. 161 pp.
- Pérez-Castañeda, R. 1992. "Sobrevivencia y metamorfosis larval de *Pemnaeus vannamei* (BOONE) alimentando con *Chaetoceros gracilis* producida con fertilizantes agrícolas. Tesis de Licenciatura, FCM-UABC, Ensenada, B.C., México. 32 pp.
- Ricketts, E.F., J. Calvin: J. W. Hedgpeth. 1968. "Between Pacific Tides". 4a. ed. Stanford University Press, Stanford. 614 pp.
- Saito, K.; K. Yamashita; K. Tajima; A. Obara; Y. Nishihama; M. Sawasaki; K. Kawamata; K. Kawamura. 1989. "Manual of Artificial Seed production of sea Urchin, *Strongylocentrotus intermedius*. Hokkaido Institute of Mariculture. Shikabe, Hokkaido, Japan. 56-80 pp.
- Stephens, R.E. 1972. "Studies on the development of the sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* I. Ecology and Normal Development". Biol. Bull. 142: 132-144.
- Strathmann, M.F. 1987. "Phylum Echinodermata, class Echinoidea", en : Reproduction and Development of Marine Invertebrates of the Northern Pacific Coast". University of Washington Press. Seattle, Washington. 670 pp.

- Strathmann, R.R. 1971. "The feeding behavior of planktotrophic echinoderm larvae: mechanisms, regulation and rates of suspension-feeding". J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 6:109-160
- Strathmann, R.R. 1975. "Larval feeding in echinoderms". Am. Zool. 15: 717-730.
- Strathmann, R.R. 1978. "Larval settlement in echinoderms". en : Settlement and metamorphosis of Marine Invertebrates larvae". (F.S.Chia y M. Rice, eds.) Elsevier/ North Holland; Amsterdam. pp 235-246.
- Smith, R.I. y J.T. Carlton. 1975. "Lights Manual Intertidal Invertebrates of the Central California Coasts". 3a. ed. University of California Press. 710 pp.
- Tegner, M.J., y P.K. Dayton. 1977. "Sea urchin recruitment patterns and implications of commercial fishing". Science 196: 324-326.
- Wilburn-Gonzalez, J.G. 1990. "Cultivo masivo de *Pavlova lutheri* (DROOP) Green, con fertilizantes agrícolas como fuente de nitrógeno y bióxido de carbono". Tesis de Licenciatura , FCM-UABC, Ensenada, B.C., México. 50 pp.
- Zuñiga-Cortes, A. 1994. "Desove, fertilización y desarrollo larval del erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus*". Memorias de Servicio Social. FCM-UABC, Ensenada, B.C., México. 25 pp.

ANEXO

TABLA III.- Análisis de Varianza del experimento 1, para determinar el efecto de dos densidades cultivo (T1 con 3.2 larvas/ml y T2 con 1.6 larvas /ml) de larvas de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus*.

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA CUADRATICA	F CALCULADA
10 Días	1	762612E5	762612E5	11.102
17 Días	1	195312E5	195312E5	1.169
21 Días	1	8979E5	8979E5	9.138

TABLA IV .- Análisis de Varianza del experimento 2, para determinar el efecto del medio de cultivo (T1 medio F/2 de Guillard y T2 medio preparado con un fertilizante agrícola) para la microalga *Rhodomonas* sp. utilizada como alimento en un cultivo de las larvas de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus*.

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA CUADRATICA	F CALCULADA
8 Días	-	-	-	-
14 Días	1	212552E5	212552E5	11.207
21 Días	1	512E5	512E5	1.080

TABLA V .- Análisis de Varianza del experimento 3, para determinar el efecto de la forma de proporcionar el alimento (T1 alimentando diariamente y T2 alimentando cada dos días) en un cultivo de larvas de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus*.

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA CUADRATICA	F CALCULADA
10 Días	1	278258E5	278258E5	1.665
16 Días	1	302580E5	302580E5	0.2524
22 Días	1	56448E5	56448E5	9.957

TABLA VI .- Análisis de Varianza del experimento 4, para determinar el efecto de la ración alimenticia (T1 alimentado con 5000 cel/ml y T2 alimentado con 7000 cel/ml) en el cultivo de las larvas de erizo rojo *Stongylocentrotus franciscamus*

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA CUADRATICA	F CALCULADA
08 Días	1	722402E5	722402E5	26.791
14 Días	1	138232E5	138232E5	2.6797
22 Días	1	994050E3	994050E3	6.059