

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA



FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

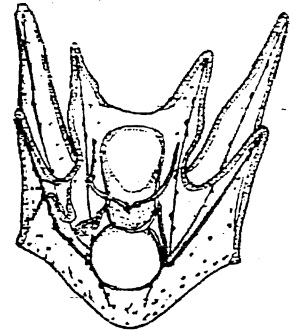
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS

“DESCRIPCIÓN DEL DESARROLLO LARVARIO EN EL ERIZO *Strongylocentrotus franciscanus* (ECHINOIDEA: ECHINODERMATA), Y EFECTOS DE LA DENSIDAD, RACIÓN ALIMENTICIA Y CAMBIOS DE AGUA”



TÉSIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
OCEANÓLOGO
PRESENTA:

ROBERTO ESTEBAN MARTÍNEZ LÓPEZ



ENSENADA, B. C. NOVIEMBRE DE 1994

RESÚMEN

Debido al interés económico que presenta la extracción del erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* en Baja California, México; y al problema que enfrenta el recurso por la declinación de los stocks naturales debido a la sobreexplotación, es necesario implantar ciertas medidas, como la obtención de juveniles en el laboratorio para repoblamiento y el desarrollo de sistemas de cultivo que incrementen la producción y colaboren a la continuidad del erizo rojo en nuestras costas. Con el fin de realizar la descripción del desarrollo larvario para éste organismo bajo las condiciones de temperatura locales, y sentar las bases para el desarrollo de una biotecnia de cultivo, se realizaron cultivos larvarios para determinar el efecto en la sobrevivencia larvaria de la densidad de cultivo, ración alimenticia y manejo de los recambios de agua. Los organismos reproductores colectados en Punta Morro, B. C; fueron inducidos a desovar por el método químico de KCl. Las gametas fueron fertilizadas y se cultivaron desde la fase larvaria de *prisma* hasta la *pluteus* competente a metamorfosis utilizando dos densidades de cultivo iniciales, de 2 y 4 larvas/ml; dos raciones alimenticias iniciales de 5 000 y 10 000 células/ml y dos manejos diferentes en los recambios de agua (diariamente y cada tercer día). Las larvas competentes fueron inducidas a la metamorfosis con un sustrato cubierto por una película de diatomeas bentónicas. La temperatura de cultivo varió entre 16-19°C, lo cual permitió que la duración del desarrollo larvario se redujera a un período entre 23-28 días, después del cual se obtuvieron postlarvas con un diámetro aproximado de 450µm. Después de 32 días de la metamorfosis, los juveniles alcanzaron un diámetro máximo de 13 mm, y 20 mm tres meses y medio después de la metamorfosis. A los seis meses postmetamorfosis, los juveniles alcanzaron los 30 mm como máximo. Las mayores tasas de sobrevivencia se obtuvieron en los experimentos cultivados a una densidad baja (2 larvas/ml). Los tratamientos con ración alimenticia inicial de 5 000 células/ml, tuvieron mejores tasas de sobrevivencia, recomendandose por ello su utilización en un cultivo larvario. El manejo en los recambios de agua no registró efectos en las sobrevivencias evaluadas, por lo que sería recomendable que los recambios de agua se realicen cada tercer día, disminuyendo de esta manera el deterioro de las larvas y la mortalidad por el excesivo manejo de las mismas. Una película de diatomeas bentónicas fué un buen inductor a la metamorfosis de larvas competentes del erizo rojo *S. franciscanus*.

DESCRIPCIÓN DEL DESARROLLO LARVARIO EN EL ERIZO
Strongylocentrotus franciscanus (ECHINOIDEA:ECHINODERMATA), Y
EFECTOS DE LA DENSIDAD, RACIÓN ALIMENTICIA Y CAMBIOS DE AGUA.

TÉSIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

OCEANÓLOGO

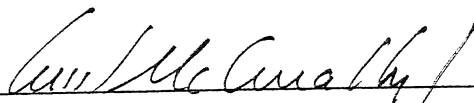
PRESENTA

ROBERTO ESTEBAN MARTÍNEZ LÓPEZ

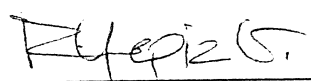
APROBADA POR:



C.M.C. ALFREDO SALAS GARZA
Presidente del jurado



Ocean. LEWIS S. McANALLY SALAS
Sinodal propietario



Ocean. RAÚL YÉPIZ VELÁZQUEZ
Sinodal propietario

ENSENADA, B. C. NOVIEMBRE DE 1994.

DEDICATORIA

A MIS PADRES

Esteban Martínez Velázquez y Silvia López de Martínez

Porque ellos han sido mis guías y apoyo para lograr llegar a la meta anhelada,
además de darme lo mas importante, el ser...
...POR TODO GRACIAS.

A MIS HERMANOS

Gaby, Adrian, Edwin y Omar

Porque han compartido mi vida y son los que me conocen mejor, gracias por su apoyo
y ayudar a superarme.

A PATTY

Porque en tí encontré apoyo en muchos momentos difíciles y eres parte de mí.....
TE AMO

**....A TODOS USTEDES SIEMPRE LOS TENDRÉ PRESENTES CON MUCHO
CARIÑO.**

AGRADECIMIENTOS

Son muchas las cosas que tengo que agradecer al C.M.C. Alfredo Salas Garza, pues no solo ha sabido ser amigo, sino que ha tenido el tiempo para asesorarme y transmitirme su experiencia brindandome oportunidades para mejorar mi trabajo de tesis, ah! y gracias por permitirme participar en el simposium.

Al oceanólogo Lewis McAnally Salas por enriquecer el contenido del trabajo con sus sugerencias y por su apoyo en el laboratorio y algunas cuestiones de los programas y scanners.

Quiero agradecer al oceanólogo Raúl Yépiz Velázquez por sus sugerencias en el escrito, el interés para que se terminara a la mayor brevedad y por transmitirme conocimientos en mi formación dentro de las aulas.

De manera especial quiero recordar al M.C. Eugenio Carpizo Ituarte, el cual me transmitió conocimientos durante el tiempo que trabajamos en el laboratorio, las pláticas que tuve con el fueron de gran ayuda al despertar en mí el interés por la embriología de los invertebrados, moldeando la idea de la presente tesis.

Al oceanólogo Enrique Valenzuela quiero agradecerle su trabajo y sugerencias durante la producción de microalgas para las larvas de erizo.

Al Instituto de Investigaciones Oceanológicas por el apoyo dentro del proyecto “Métodos Alternativos Para la Producción Masiva de Semillas de Abulón *Haliotis* spp”, y por permitirme utilizar el laboratorio de moluscos para mis experimentos.

A mis tíos Yolanda López y Pedro Gómez, quienes me tendieron la mano siempre que lo necesite, siendo un apoyo confiable en todo momento.

Por último, y no por ser menos importantes, a todos los que conformaron mi familia en Ensenada y que más de una docena de ocasiones no me dejaron morir solo. A Gabriel (fungi) que más que un amigo, es un hermano para mí; a Jorge (...lito), Carlos (topín), Francisco (tex), Aramis (chineeese food), Enrique (morgan), Salomé (flais), Gissel (Gigi), Francisco Moreno (don pimpo), Angel (pelón), Pablo (pablidú), Alejandro (COPS), a los BIOPECOS, a los de la Jurídica de Ingresos (SHCP) y al Rully, a quién solo le he causado molestias. A todos ellos MUCHÍSIMAS GRACIAS!, ah! y a todos aquellos que preguntaban que si ya mero, hoy les puedo decir que YA.

No podía faltar mi eterno agradecimiento al *alma mater* que me formó, la Universidad Autónoma de Baja California en las aulas de la Facultad de Ciencias Marinas.

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESÚMEN	i
APROBACIÓN	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABLAS	ix
1. INTRODUCCIÓN.	1
2. ANTECEDENTES.	3
3. OBJETIVOS.	6
4. MATERIALES Y MÉTODO.	6
4.1. Obtención de reproductores:	6
4.2. Inducción al desove:	7
4.3. Fertilización:	8
4.4. Diseño experimental y cultivo de larvas:	8
4.6. Evaluaciones:	11
4.6.1. <i>Descripción del desarrollo larvario:</i>	11
4.6.2. <i>Conteo de las larvas:</i>	11
4.6.3. <i>Medición de las larvas:</i>	12
4.7. Análisis estadísticos:	12
5 RESULTADOS.	14
5.1. Desoves y experimentos preliminares:	14
5.2. Desarrollo larvario:	14
5.2.1. <i>Estadio de competencia al asentamiento y metamorfosis.</i>	21
5.2.2. <i>Postlarvas y juveniles.</i>	23

5.3. Factores fisicoquímicos:	25
5.4. Efecto de la densidad de cultivo:	25
5.5. Efecto de la ración alimenticia:	28
5.6. Efecto por el manejo en los recambios de agua:	29
6. DISCUSIÓN.	36
6.1. Desoves y experimentos preliminares:	36
6.2. Desarrollo larvario:	37
6.3. Factores fisicoquímicos:	40
6.4. Efecto de la densidad de cultivo:	41
6.5. Efecto de la ración alimenticia:	42
6.6. Efecto por el manejo en los recambios de agua:	43
7. CONCLUSIONES.	46
LITERATURA CITADA	47
ANEXO	52

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Variación en las capturas del erizo rojo <i>Strongylocentrotus franciscanus</i> , para el periodo de 1972-1992, en las costas de Baja California, México. _____	3
FIGURA 2. Localización del área de colecta de los reproductores dentro de la Bahía de Todos Santos. _____	8
FIGURA 3. Medidas reportadas para las larvas del erizo rojo <i>S. franciscanus</i> . _____	12
FIGURA 4. Ovocitos maduros sin fertilizar. _____	17
FIGURA 5. Huevos fertilizados (5 minutos). _____	18
FIGURA 6. Estadio de 2 células (2:30 hrs después de la fertilización). _____	18
FIGURA 7. Estadios de 4 y 8 células (3 hrs y 4:15 hrs después de la fertilización, respectivamente). _____	19
FIGURA 8. Estadio de blástula temprana (9 hrs después de la fertilización). _____	19
FIGURA 9. Estadio de gástrula temprana (21-22 hrs después de la fertilización). _____	20
FIGURA 10. Larva pluteus de 4 brazos (4 días después de la fertilización). _____	20
FIGURA 11. Larva pluteus de 6 brazos (7 días después de la fertilización). _____	21
FIGURA 12. Larva pluteus de 8 brazos (14-18 días después de la fertilización). _____	22
FIGURA 13. Juvenil del erizo rojo <i>Strongylocentrotus franciscanus</i> recién metamorfozido (23-28 días después de la fertilización). _____	23
FIGURA 14. Juvenil del erizo rojo <i>Strongylocentrotus franciscanus</i> recién metamorfozido (23-28 días después de la fertilización). _____	24
FIGURA 15. Juvenil del erizo rojo <i>Strongylocentrotus franciscanus</i> sobre <i>Macrocytis pyrifera</i> (dos semanas después de la metamorfosis). _____	24
FIGURA 16. Longitud promedio de los diferentes estadios a partir del huevo de <i>S. franciscanus</i> , cultivado entre 16-19°C, y el tiempo de duración en cada fase. _____	26
FIGURA 17. Tasa Instantánea de Supervivencia (A) y Tasa Neta de Supervivencia (B) calculadas en los cultivos larvarios de <i>S. franciscanus</i> , con una ración alimenticia inicial de 5 000 células/ml y recambios de agua diarios (E1); para medir el efecto que la densidad larvaria tiene en la supervivencia. _____	31

FIGURA 18. Tasa Instantánea de Supervivencia (A) y Tasa Neta de Supervivencia (B) calculadas en los cultivos larvarios de *S. franciscanus*, con una ración alimenticia inicial de 10 000 células/ml y recambios de agua diarios (E2); para medir el efecto que la densidad larvaria tiene en la supervivencia. _____ 32

FIGURA 19. Tasa Instantánea de Supervivencia (A) y Tasa Neta de Supervivencia (B) calculadas en los cultivos larvarios de *S. franciscanus*, a una densidad inicial de 2 larvas/ml y recambios de agua diarios (E3); para medir el efecto que la ración de alimento tiene en la supervivencia. _____ 33

FIGURA 20. Tasa Instantánea de Supervivencia (A) y Tasa Neta de Supervivencia (B) calculadas en los cultivos larvarios de *S. franciscanus*, a una densidad inicial de 4 larvas/ml y recambios de agua diarios (E4); para medir el efecto que la ración de alimento tiene en la supervivencia. _____ 34

FIGURA 21. Tasa Instantánea de Supervivencia (A) y Tasa Neta de Supervivencia (B) calculadas en los cultivos larvarios de *S. franciscanus*, a una densidad inicial de 2 larvas/ml y con una ración alimenticia inicial de 5 000 células/ml (E5), para medir el efecto que el manejo en los recambios de agua tiene en la supervivencia. _____ 35

LISTA DE TABLAS

- TABLA I. Descripción de los tratamientos experimentales utilizados para conocer los efectos de la densidad de cultivo (E1 y E2), ración alimenticia (E3 y E4) y forma de los recambios de agua (E5); sobre la Tasa Instantánea de Supervivencia (TIS) y la Tasa Neta de Supervivencia (TNS) de la larva de *Strongylocentrotus franciscanus*. _____ 10
- TABLA II. Diferentes estadios del desarrollo larvario en el erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus*, en un cultivo entre 16 y 19°C, y alimentado con *Rhodomonas* sp. _____ 16
- TABLA III. Tasa Instantánea de Supervivencia (TIS) y Tasa Neta de Supervivencia (TNS), para para determinar el efecto de la densidad de cultivo. La ración alimenticia inicial fué de 5 000 células/ml y los recambios de agua se hicieron diariamente. _____ 27
- TABLA IV. Tasa Instantánea de Supervivencia (TIS) y Tasa Neta de Supervivencia (TNS), para para determinar el efecto de la densidad de cultivo. La ración alimenticia inicial fué de 10 000 células/ml y los recambios de agua se hicieron diariamente. _____ 28
- TABLA V. Tasa Instantánea de Supervivencia (TIS) y Tasa Neta de Supervivencia (TNS), para para determinar el efecto de la ración alimenticia. La densidad de larvas inicial fué de 2 larvas/ml y los recambios de agua se hicieron diariamente. _____ 29
- TABLA VI. Tasa Instantánea de Supervivencia (TIS) y Tasa Neta de Supervivencia (TNS), para para determinar el efecto de la ración alimenticia. La densidad de larvas inicial fué de 4 larvas/ml y los recambios de agua se hicieron diariamente. _____ 29
- TABLA VII. Tasa Instantánea de Supervivencia (TIS) y Tasa Neta de Supervivencia (TNS), para para determinar el efecto de los cambios de agua. La densidad de larvas inicial fué de 2 larvas/ml y la ración alimenticia proporcionada de 5 000 células/ml. _____ 30
- TABLA VIII. Desarrollo larvario del erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus*, con diferentes tiempos de duración hasta la metamorfosis cómo efecto de la temperatura de cultivo. _____ 37
- TABLA IX. Efecto de la temperatura sobre el tiempo de desarrollo larvario en el erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus*, _____ 40
- TABLA X. Condiciones recomendadas en un cultivo larvario, que se obtienen a partir de los efectos observados en éste trabajo de la densidad de cultivo, dosis de alimento y manejo de los recambios de agua sobre la supervivencia. _____ 43

1. INTRODUCCIÓN.

El erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* (A. Agassiz, 1863) vive a lo largo de las costas rocosas de Norteamérica, desde Alaska (Estados Unidos), hasta Isla de Cedros en la costa occidental de Baja California (Smith y Carlton, 1975), encontrándose también en las costas de Japón (Ricketts *et. al*, 1968). Suele habitar desde la zona intermareal hasta profundidades que sobrepasan los 90 m; son organismos que frecuentemente presentan una testa con 10 cm de diámetro cubierta de espinas que alcanzan hasta los 5 cm de longitud o más. La coloración va de rojo a café rojizo (Brandon y Rokop, 1985) y algunas veces purpura oscuro. Las gónadas del erizo rojo crecen durante el invierno, y algunos organismos están maduros en la parte central de California 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 más temprana, y algunos desoves se han registrado en invierno.

La importancia que éstos organismos presentan se debe principalmente a el delicado sabor de sus gónadas, que lo hace un producto muy apetecible para los comensales en oriente, comparándose a el paté o al caviar (Smith y Carlton, 1975; Brandon y Rokop, 1985). Aparte de ser el erizo un recurso alimenticio, las estructuras externas (testa y espinas) también pueden ser industrializadas. En busca de satisfacer la demanda de su población y proteger su recurso de la sobreexplotación, Japón ha tenido que recurrir a la importación de la gónada de erizo (Farías-Sánchez, 1980; Pérez-Cárdenas, 1984). Entre los países que exportan la gónada de erizo al Japón se encuentran Canadá, Estados Unidos y México (Sato, 1979; en Farías-Sánchez, 1980; Malagrino-Lumare, 1972); éste último ha mantenido una pesquería activa desde hace 20 años en Baja California.

Después de varios intentos, es hasta 1972 cuando un grupo de pescadores asesorados por personal japonés, decide iniciar la pesquería del erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* en Baja California a nivel comercial para satisfacer la demanda de aquel país (Farías-Sánchez, 1980) convirtiéndose en una actividad muy importante en el área debido a los beneficios que trae consigo, tales como la

generación de 2 mil empleos directos y captación de entre 4 y 6 millones de dólares por temporada (Romero-Orozco, 1982; Palleiro-Nayar *et. al*, 1993¹). A pesar de las grandes fluctuaciones que las capturas han sufrido durante el tiempo (Palleiro-Nayar, 1982), en la década de los 70 se mantuvieron en el orden de las 4 mil toneladas en peso bruto por año (320 toneladas de gónada por año). En 1981, las capturas disminuyeron considerablemente, debido a los efectos del evento "El Niño", que también en 1983 afectó a los mantos de *Macrocystis pyrifera*, principal alimento del erizo. En 1992 se manifestó un decremento importante de las capturas (figura 1) y de la Captura Por Unidad de Esfuerzo (CPUE), que persistió en 1993, estimando un decremento del 62% en tan solo cuatro años (1988=309 kg erizo entero/marea, 1992=120 kg erizo entero/marea); lo cual indica una disminución del recurso que pone en peligro su pesquería (Palleiro-Nayar, 1994). La pesquería del erizo rojo se lleva a cabo en las costas de Baja California, dividiendo el área en cuatro zonas, que van desde los islotes Coronado hasta Punta San Carlos. La zona más productiva va de El Socorro a Punta Escarpada; definida como zona IV (Palleiro-Nayar *et. al, op. cit.*). Debido al aumento en las capturas del erizo para explotarlo e industrializarlo, se han hecho estudios destinados a mantener un control sobre las capturas, protección de algunas poblaciones y delucidar el contenido bioquímico de las diferentes partes del erizo (Farías-Sánchez, 1980; Palleiro-Nayar, 1982; Romero-Orozco, 1982; Vázquez-Solórzano, 1983; Ramos-Manzilla, 1985; Ruiz-Anaya *et. al*, 1987).

En el año de 1987, México centró sus esfuerzos en implementar medidas regulatorias para proteger este recurso, se instrumentaron medidas sobre la pesquería del erizo, tales como la talla mínima de captura en 80 mm de diámetro de la testa (ya reportada por Pérez-Cárdenas en 1984 y Ruiz-Anaya *et. al*, 1987), y una temporada de veda de febrero a julio .

Al buscar otras alternativas de producción de erizo en Baja California, se ha puesto especial atención en la acuicultura, que si bien es verdad que no reemplazará a la pesca (Bardach *et. al*, 1986), ésta puede ser un apoyo para el recurso, ayudando

¹ "El CRIP, brazo técnico de la Secretaría de Pesca". EL MEXICANO, sábado 9 de octubre de 1993.

a la recuperación de las poblaciones naturales del erizo; mediante la producción de semillas para repoblamiento y de juveniles para engorda.

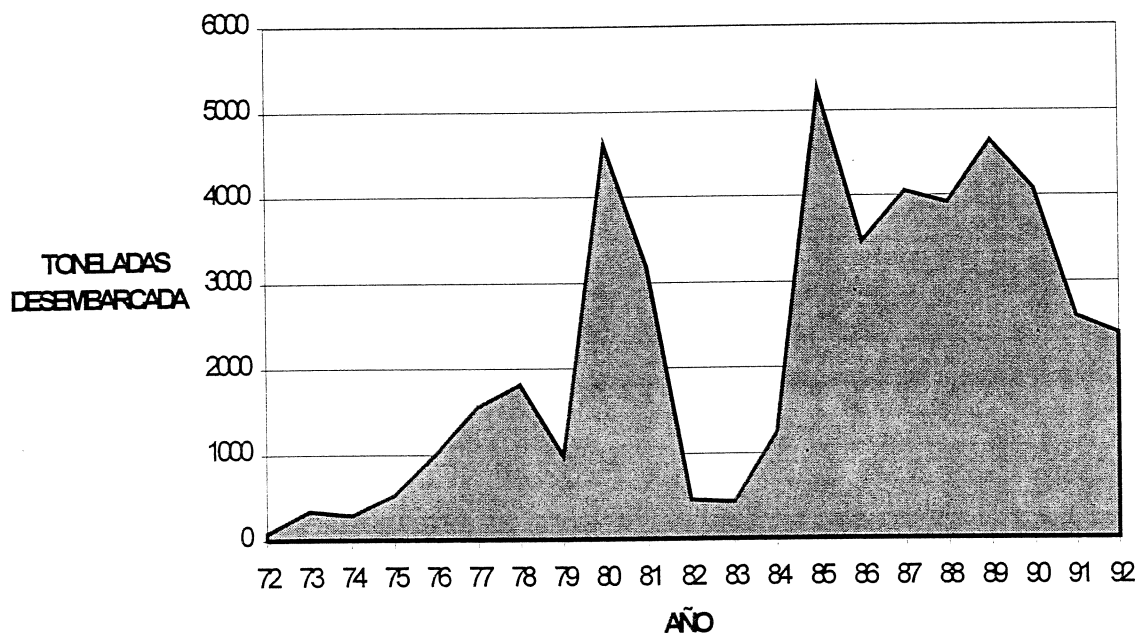


FIGURA 1. Variación en las capturas del erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus*, para el periodo de 1972-1992, en las costas de Baja California, México.

Al crecer la demanda de erizo, las capturas se incrementaron sin un control adecuado, poniendo en peligro el futuro del recurso. A partir de 1992, la ley obliga a los permisionarios y concesionarios a realizar programas de conservación, reproducción y repoblamiento de especies explotadas como el erizo rojo; así como a la creación de laboratorios para estos fines (artículos 34-V y 45-III de la ley de pesca²).

Pero cuando se piensa en el cultivo de algún organismo deben conocerse tanto aspectos biológicos, como efectos de algunas variables físicas sobre el desarrollo normal (Bardach *et. al*, 1986). Debido a que la temperatura determina la duración del desarrollo larvario, sería benéfico para un proyecto en el cultivo de erizo, que éste se

² Diario Oficial de la Federación del día 21 de julio de 1992.

desarrollara en una latitud en la que dicho factor hiciera menos costosa la producción (disminuyendo el período de desarrollo).

2. ANTECEDENTES.

Los erizos han sido utilizados para diversos tipos de estudio por ser fáciles de obtener y desovar. El estudio con embriones de esta especie han jugado un papel importante dentro de los aspectos que dan respuesta a las dudas sobre el desarrollo animal desde hace más de un siglo (Monroy, 1986).

Se han llevado a cabo cultivos larvarios a diferentes temperaturas en algunos países, encontrando que la equinopluteus de *Strongylocentrotus franciscanus* cultivada con una dieta mixta completa su desarrollo en aproximadamente 35 días a una temperatura de 10°C (Strathmann, 1971; Emler *et. al*, 1987); y a 7-13°C entre 51-151 días (Strathmann, 1978). Al utilizar como alimento *Rhodomonas lens*, la metamorfosis se sucede 40 días después de la fertilización en un cultivo a 12°C, (la mayoría después de los 50 días; Cameron y Schroeter, 1980), y en Santa Barbara, California, las larvas han alcanzado la metamorfosis en 37 días a una temperatura entre 16-17°C (Strathmann, 1987).

Hinegardner (1969) considera que lo más importante en laboratorio, es dar a las larvas el alimento adecuado y controlar la densidad de cultivo. La máxima densidad larvaria en un cultivo, puede cambiar con el estadio de desarrollo. Hinegardner en 1975, determina que una larva por mililitro representa un máximo adecuado para la maduración de las larvas, pudiendo utilizar hasta 0.1 larva/ml.

Strathmann (1987) reporta que los primeros estadios larvarios de algunos equinodermos pueden ser cultivados en sistemas estáticos a densidades de 0.01-0.02 ml. de huevos por cada 1 ml de agua. Para posteriores estadios larvarios, las densidades iniciales pueden ser no mayores a 0.003-0.01 ml. larvas/ml de agua de mar; mientras que los estadios larvarios tardíos no pueden exceder a 0.1 larva/ml (Strathmann, 1987; Strathmann *et. al*, 1992), para obtener bajos porcentajes de mortalidad.

Cameron y Hinegardner (1974) trabajaron con dos especies de erizo incubando larvas a densidad baja (0.066 larvas/ml) y alimentandolas con *Rhodomonas* sp. y *Dunaliella tertiolecta*, llegando hasta la metamorfosis.

En 1986, estudios realizados por Guisado y colaboradores, determinan que aunque la densidad larvaria no es un parámetro que afecte significativamente la sobrevivencia y crecimiento de *Loxechinus albus*, los efectos de una corriente de agua al utilizar una densidad de 0.05 larva/ml y de 0.265 larva/ml, resulta con una alta tasa de sobrevivencia y de larvas metamorfizadas.

Para *S. purpuratus* se han hecho cultivos larvarios a pequeña escala con densidades bajas, lo cual refuerza la idea de que las bajas densidades de cultivo en larvas de equinoideos es esencial para alcanzar buenas tasas de sobrevivencia (Hinegardner, 1969; Burke, 1978 en Strathmann, 1987; Burke, 1980 y 1982).

En Baja California la temperatura promedio del agua es de 17°C (13- 20°C), la cual es mayor que en aquellos sitios donde se han cultivado larvas de erizo rojo, por lo que se espera que el período de desarrollo larvario sea más corto bajo condiciones semi- controladas (temperatura ambiente entre 16-19°C), y se complete el desarrollo normal hasta la metamorfosis en un período menor a 35 días, que es el más bajo reportado (Strathmann, 1971 y 1978; Cameron y Schroeter, 1980; Emllet *et. al*, 1987; Rowley en Strathmann, 1987). Esto implicaría menores gastos en ésta etapa de la producción de semilla, debido a la reducción en mantenimiento de laboratorio, producción de alimento, etc.

En un cultivo de larvas a bajas densidades se evita la competencia por espacio y alimento entre éstas, así como el efecto por la acumulación de desechos metabólicos; sin embargo, se trata de utilizar una densidad máxima a la cual los costos en laboratorio disminuyan y no se presenten ninguno de los mencionados factores, buscando una tasa de sobrevivencia y crecimiento, que hagan redituable esta actividad.

Para poder desarrollar una biotecnia de producción de semilla de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus*, es necesario generar información básica acerca del desarrollo larvario, su alimentación, raciones alimenticias, manejo, sistemas de cultivo,

inductores a la metamorfosis, sustratos de cultivo, sistemas para el cultivo de juveniles, etc; y en una segunda etapa, la obtención de juveniles a escala piloto comercial.

3. OBJETIVOS.

- ◆ Describir el desarrollo larvario *in vivo* del erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* (A. Agassiz, 1863), comparando el tiempo de duración de los diferentes estadios a temperatura ambiente (16-19°C), con los obtenidos en otros sitios.
- ◆ Determinar el efecto que la densidad de cultivo, ración alimenticia y manejo de los cambios de agua, presentan en un cultivo larvario sobre las tasas de sobrevivencia, instantánea (**TIS**) y neta (**TNS**) del erizo rojo *S. franciscanus*.

4. MATERIALES Y MÉTODO.

4.1. Obtención de reproductores:

La Bahía de Todos Santos cuenta con varios sitios en los que se presenta el erizo rojo. Por el fácil acceso, los reproductores se obtuvieron en un área rocosa que se encuentra en la parte sur de Punta Morro, a un costado de la UABC campus Ensenada (figura 2). Los organismos fueron colectados por medio de buceo libre y en condiciones de marea baja y se trasladaron al laboratorio donde se colocaron en tanques con flujo continuo de agua y aereación, y se alimentaron con *Macrocystis pyrifera* y *Egregia menziesii*, hasta su utilización en el desove.

4.2. Inducción al desove:

Como el sexo de los organismos no puede ser diferenciado externamente, se desovó a los organismos en recipientes de vidrio individuales de 250 ml. Cada uno de los erizos fué inyectado inicialmente con 1.5 ml de una solución salina de KCl a una concentración de 0.55 M, insertando la aguja a través de la región perioral (peristoma) dentro del celoma, hacia las placas ambulacrales que es dónde se localizan las gónadas. La cantidad de sustancia inyectada dependió de la respuesta que el organismo presentara en los primeros 5 minutos (Stephens, 1972; Hinegardner, 1975; Strathmann, 1987). Cuando el desove se completó sobre los vasos de precipitado con agua de mar filtrada (1 μm .) y pasada por lámparas ultravioleta, se juntaron todos los ovocitos y espermatozoides por separado. Como los ovocitos completan la meiosis antes de ser expulsados, fueron fertilizados inmediatamente después de que todos los organismos completaron el desove.

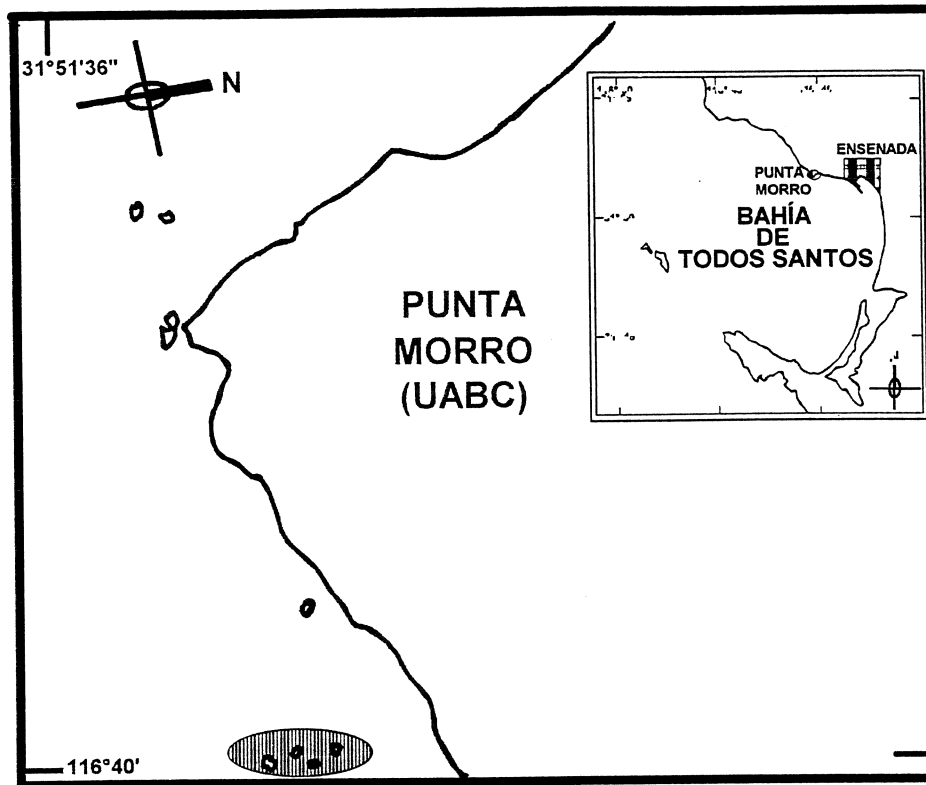


FIGURA 2. Localización del área de colecta de los reproductores dentro de la Bahía de Todos Santos.

4.3. Fertilización:

Un mililitro de una suspensión densa de espermatozoides fué mezclado con 10 ml de una solución densa de ovocitos en 200 ml de agua de mar. Cuando los huevecillos completaron la fertilización (observado por el levantamiento de la membrana de fertilización después de 10 minutos aproximadamente) se procedió a lavarlos repetidamente (al menos tres veces) a través de un támara de 48 μm con agua de mar filtrada (1 μm), para eliminar el exceso de esperma (Stephens, 1972). Posteriormente los huevos fueron colocados en dos cubetas de 15 l de capacidad sin aireación, hasta las 48 horas, para iniciar los experimentos.

4.4. Diseño experimental y cultivo de larvas:

Se utilizó un modelo de un factor fijo, analizando por separado cada una de las variables independientes: a) densidad de larvas, b) ración de alimento, y c) tiempo del cambio de agua del cultivo. Se trabajó con tres réplicas y el acomodo de los recipientes experimentales así como la toma de muestras, fué siempre aleatoria. El modelo se representa de la siguiente manera:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

donde:

Y_{ij} = Tasas Instantánea (TIS) y Neta (TNS) de sobrevivencia en la j-ésima réplica del i-ésimo factor.

μ = Media general de todas las observaciones.

τ_i = Efecto del i-ésimo factor A.

β_j = Efecto del nivel j-ésimo del factor B.

ε_{ij} = Error asociado con la k-ésima observación en el j-ésimo nivel de B, del i-ésimo factor A.

A = Cualquiera de las variables probadas en la proporción menor.

B = Las variables en la proporción mayor.

A los dos días, cuando los huevos eclosionaron y alcanzaron el estadio de prisma (donde ya se observa la boca desarrollada), se iniciaron los experimentos. En todos los casos los recambios de agua se hicieron diariamente si no se indica lo contrario.

Se llevaron a cabo cinco experimentos por triplicado en cubetas con capacidad de 15 l. El diseño experimental de los tratamientos fué el siguiente (tabla I):

Los experimentos **E1** y **E2** para determinar el efecto de la densidad en la sobrevivencia larvaria se basan en dos tratamientos. En el **E1** la ración alimenticia inicial es de 5 000 células/ml y en el **E2** de 10 000 células/ml. El tratamiento **T1** en

ambos experimentos fué puesto a una densidad inicial de 2 larvas/ml y el T2 a 4 larvas/ml.

Para determinar el efecto de la ración alimenticia en el cultivo de larvas se montaron dos experimentos, E3 y E4, cuya densidad de cultivo fué de 2 larvas/ml y 4 larvas/ml, respectivamente. Los tratamientos para ambos experimentos fueron con una ración alimenticia de 5 000 células/ml (T1) y de 10 000 células/ml (T2).

Se montó un experimento, E5, cuya variable fué la periodicidad en los cambios de agua. La densidad inicial fué de 2 larvas/ml y la ración alimenticia de 5 000 células/ml para ambos tratamientos. En el T1 el cambio de agua se realizó cada tercer día, y en el T2 se hizo diariamente.

TABLA I. Descripción de los tratamientos experimentales utilizados para conocer los efectos de la densidad de cultivo (E1 y E2), ración alimenticia (E3 y E4) y forma de los recambios de agua (E5); sobre la Tasa Instantánea de Supervivencia (TIS) y la Tasa Neta de Supervivencia (TNS) de la larva de *Strongylocentrotus franciscanus*.

VARIABLE	E1		E2		E3		E4	
	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2
Densidad de cultivo. (# larvas/ml)	2	4	2	4	2	2	4	4
Ración alimenticia (# células/ml)	5 000	5 000	10 000	10 000	5 000	10 000	5 000	10 000
Recambio de agua.	Diario	Diario	Diario	Diario	Diario	Diario	Diario	Diario

VARIABLE	E5	
	T1	T2
Densidad de cultivo. (# larvas/ml)	2	2
Ración alimenticia (# células/ml)	5 000	5 000
Recambio de agua.	Cada tercer día	Diario

Para todas las cubetas de los experimentos fué suministrada aireación continua, y el alimento proporcionado en todos los tratamientos fué a base de la microalga *Rhodomonas* sp. incrementándose la dosis en un 50% para cada estadio subsecuente

al inicial (Cameron y Hinegardner, 1974; Rassoulzadegan *et. al*, 1984). Las cubetas fueron colocadas y distribuidas homogéneamente de forma aleatoria en el área experimental para amortiguar efecto de iluminación y otros factores externos sobre los cultivos. La temperatura no fué controlada y en los recambios de agua se utilizó agua de mar filtrada (1µm) y pasada por luz ultravioleta (UV).

El pH y el oxígeno disuelto fueron medidos cada 7 días durante las evaluaciones del experimento antes y después de los recambios de agua, tanto en la superficie como en el fondo de las cubetas (tabla III), también se hicieron las mismas mediciones en una cubeta con agua solamente (blanco), la cual se llenaba para las mediciones únicamente.

4.6. Evaluaciones:

Las larvas fueron medidas y contadas en tres ocasiones realizadas a los 9, 16 y 23 días después de haberse montado los experimentos. La descripción de cambios morfológicos que se presentaron durante el desarrollo larvario fué basada en observaciones diarias de las larvas en los diferentes experimentos.

4.6.1. Descripción del desarrollo larvario:

Desde el momento de la obtención de las gametas se procedió a la observación de éstas a través de un microscopio compuesto para poder seguir los cambios morfológicos sucedidos en los embriones y larvas hasta llegar a la metamorfosis y asentamiento. Se determinaron tanto el tiempo de duración en cada estadio, como los cambios que caracterizan a cada uno de ellos.

4.6.2. Conteo de las larvas:

Se concentraron las larvas de cada cubeta en un volúmen conocido y homogenizando el contenido, se tomó 1 ml de la solución colocandose sobre una cámara de conteo (Redwick Rafter de 1 ml de cap). A través de un microscopio

compuesto se evaluaron al menos tres muestras, dependiendo de la variabilidad de los conteos.

4.6.3. Medición de las larvas:

Para medir el tamaño de las larvas se utilizaron dos parámetros que son el ancho mayor de la larva y la altura máxima (ver figura 3); utilizando para ello un microscopio compuesto con una reglilla calibrada. Las larvas fueron colocadas sobre una cámara de conteo (Redwick Rafter de 1 ml de cap) y vistas a través del microscopio para sacar la medida directa. El tamaño reportado para la larva fué el largo promedio de la larva en cada estadio, el cual es el parámetro más representativo en cuanto al crecimiento larvario. Debido a que el desarrollo y crecimiento no es homogéneo, se determinó la talla cuando más del 50% de los embriones o larvas llegaron al estadio inmediato superior.

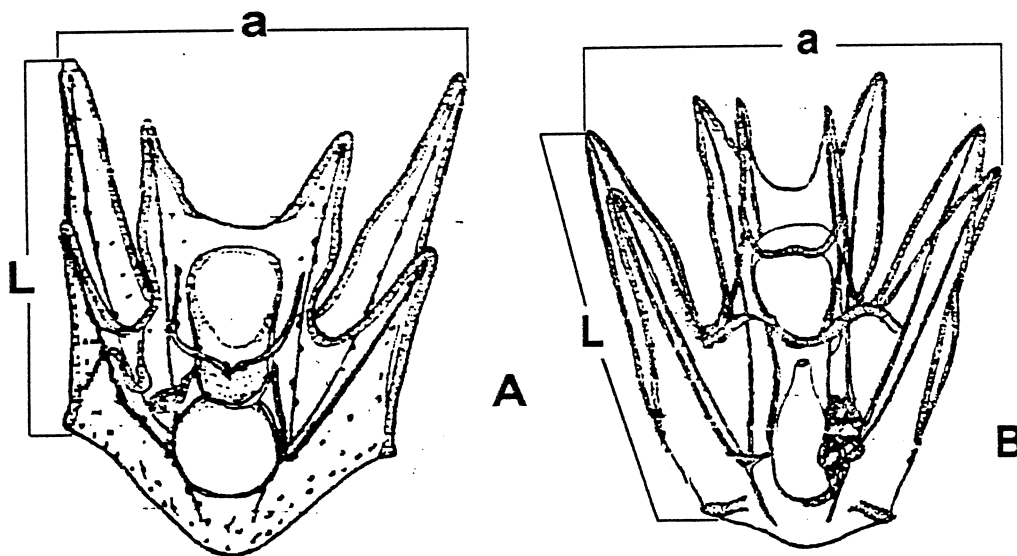


FIGURA 3. Medidas reportadas para las larvas del erizo rojo *S. franciscanus* (larva pluteus de seis brazos A; y pluteus en ocho brazos B). Longitud distal máxima de brazos posteriores (L) y abertura máxima de la larva (a).

4.7. Análisis estadísticos:

Con base en los conteos de las larvas en cada evaluación fueron calculadas la tasa instantánea de sobrevivencia (TIS) y la tasa neta de sobrevivencia (TNS), mismas que se representan de la siguiente manera:

$$TNS=N_t/N_0$$

y...

$$TIS=N_t/N_{t-1}$$

donde:

N_t = Número de larvas en alguna de las evaluaciones.

N_{t-1} = Número de larvas en la evaluación anterior.

N_0 = Número inicial de larvas (30 000 ó 60 000, según el caso).

A las tasas de sobrevivencia de las variables independientes que se analizaron se les aplicó un análisis de normalidad (Kolmogorov-Smirnov), y posteriormente se sometieron a una prueba de homogeneidad de varianzas (Bartlett) que determinó la utilización de un Análisis de Varianza (ANOVA) paramétrico de una vía, y en los casos donde se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$), se les aplicó un análisis a posteriori de Tukey. Todos los análisis estadísticos fueron realizados en el paquete estadístico STATGRAPHICS (versión 6.0), a un nivel de confianza del 95%. ($\alpha = 0.05$).

Para determinar algún efecto de las variables independientes sobre el tamaño de las larvas en los experimentos, se aplicó un Análisis de varianza no paramétrico (Kruskal-Wallis) a las tallas obtenidas.

5 RESULTADOS.

5.1. Desoves y experimentos preliminares:

Desde el mes de octubre de 1993 se realizaron una serie de experimentos en los que se probaron raciones alimenticias, densidades diferentes de cultivo, métodos de desove y fertilización, debido a la falta de información de este tipo para el cultivo larvario en Baja California.

De los experimentos preliminares se obtuvo información importante para el conocimiento del erizo rojo en nuestras costas. Se encontró que la comunidad de erizos utilizados como reproductores, presentó durante los desoves en el mes de febrero de 1994 la máxima cantidad de ovocitos maduros (entre 9 y 9.5 millones de ovocitos/hembra), mientras que el esperma arrojado en el período de octubre de 1993 a junio de 1994 mostró actividad, aunque variando en cuanto a la cantidad de este.

En cuanto a las dietas probadas, solo *Dunaliella tertiolecta* y *Monochrysis lutherii* tuvieron aceptación por parte de las larvas, además de alcanzar un desarrollo hasta fases preliminares a la metamorfosis. En base a los resultados encontrados con las anteriores especies, se trajo una microalga llamada *Rhodomonas* sp utilizada en larvas de otros equinoideos con cierto éxito. Dicha especie fué base para completar el desarrollo larvario (tabla II) y poder describirlo en esta investigación.

Las densidades de cultivo en las que se alcanzaron desarrollos mas avanzados fueron las menores a 2 larvas/ml.

Los experimentos preliminares aportaron información básica que determinó las características de los tratamientos experimentales desarrollados en el mes de febrero y abril (tablas III a VII), cuyos resultados se reportan en el presente trabajo.

5.2. Desarrollo larvario:

Los ovocitos no presentaron una forma esférica perfecta (figura 4), y su diámetro aproximado fué de $110\mu\text{m}$ antes de la fertilización (tabla II). Aproximadamente entre 5 y 10 minutos después de la fertilización, se observó la aparición de la membrana de fertilización (figura 5). Desde el momento en que la membrana de fertilización fué visible, transcurrió un tiempo siempre mayor a 2:30 hrs hasta que las divisiones celulares sucedieron (figuras 6 y 7). El diámetro del huevo fertilizado se mantuvo en $140\mu\text{m}$ (incluyendo la membrana de fertilización), hasta el estadio de mórula. La primera división celular se llevó a cabo a las 2:30 horas (figura 6), y después el tiempo entre las subsecuentes divisiones celulares fué mas corto. Aproximadamente a las 3 horas después de la fertilización se completó la segunda división celular y algunos huevos comenzaron la tercera (figura 7), Durante la tercera división se observó la diferenciación en la división de los macromeros que produjeron células de un tamaño menor, ésta fase se completó a las 4 horas postfertilización. Las cuarta y quinta división celular fueron claras hacia las 5 y 5:30 horas, respectivamente. Las siguientes divisiones no fueron distinguidas claramente y aproximadamente a las 7 horas después de la fertilización se alcanzó el estadio de mórula, que mantuvo aún el diámetro de $140\mu\text{m}$. El diámetro aumentó a $150\mu\text{m}$ para el estadio de blástula (9 horas postfertilización), y permaneció sin cambio hasta el comienzo de la invaginación en la fase temprana de la gástrula (20-22 hrs postfertilización, figura 9). El estadio de gástrula terminó con la eclosión del huevo, aproximadamente de 40 a 48 hrs después de la fertilización. Los estadios de blástula y gástrula mostraron ser estructuras ciliadas, lo que les permite cierta movilidad. En la fase temprana de la gástrula, incluso se observa una rotación sobre su propio eje polar, lo que es posible que facilite el inicio de la invaginación del cuerpo que dá origen al arquenterón y forma el sistema digestivo antes que se completara la fase de prisma. Según lo describen Burke y Chia (1980), el sistema digestivo se forma a partir de un tubo que sufre dos constricciones llamadas esfínters que lo dividen en tres sacos antes de la eclosión (el esófago, estómago e intestino), momento en el que se forma la boca. La formación del sistema digestivo

larvario fué acompañado por la aparición de dos estructuras que sostienen el cuerpo antes de la eclosión; estas estructuras de calcita, con matriz orgánica y trirradiadas llamadas espículas, son secretadas por el mesénquima (Okazaki, 1975; Emlet, 1982 en Strathmann, 1987).

Aproximadamente entre 40 y 45 horas después de la fertilización ocurrió la eclosión, dando origen a una fase larvaria denominada *prisma*, que como describe Strathmann (1971; *et al*, 1992), posee ya un sistema digestivo funcional completo (con boca y ano) y un sistema ciliar que cubre todos los bordes con una función de dar movilidad y capacidad de alimentación a la larva.

TABLA II. Diferentes estadios del desarrollo larvario en el erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus*, en un cultivo entre 16 y 19°C, y alimentado con *Rhodomonas* sp.

ESTADIO	TIEMPO	LONGITUD (μm)
Ovocito	0 hrs	110
Huevo	10 min	140
1a división	2:30 hrs	140
2a división	3:30 hrs	140
3a división	4:30 hrs	140
Blástula	9 hrs	150
Gástrula	20-22 hrs	150
Eclosión	40-48 hrs	230
Pluteus 4-B	4 d	416
Pluteus 6-B	7 d	545
Pluteus 8-B	14-18 d	630
Máxima pluteus	22 d	730
Rudimento máx.	22-24 d	550
Juvenil	23-28 d	450

A partir de la fase *prisma*, la temperatura en el cultivo se mantuvo entre 16°C y 19°C. El estadio *prisma* presentó un tamaño promedio de 230 μm . La larva se comienza a alimentar tres días después de la fertilización. Poco después la larva proyectó 4 brazos (2 en posición post-oral y 2 anterolaterales, figura 10) soportados por un arco dorsal calcificado al igual que otras espículas que forman un esqueleto, soportan el cuerpo larvario. En este estadio el cuerpo de la larva presentó células

dispersas con una pigmentación característica de la especie, de un color rojizo a púrpura y que permaneció hasta los últimos estadios larvarios. La larva pluteus de 4 brazos midió en promedio $416\mu\text{m}$. Hacia los 10 ó 12 días después de la fertilización, el cuerpo larvario ahora más ancho (figura 11), proyectó otro par de brazos en posición posterodorsal y este estadio, denominado pluteus de 6 brazos, midió en promedio $545\mu\text{m}$ (longitud distal de los brazos postorales).

Para los 16-17 días, la larva se desarrolló a pluteus de 8 brazos con la aparición de otro par de brazos en posición preoral (figura 12); en este estadio la longitud promedio fué de $609\mu\text{m}$. La larva empezó a manifestar una serie de cambios encaminados a prepararse para llegar a una fase de competencia al asentamiento y metamorfosis

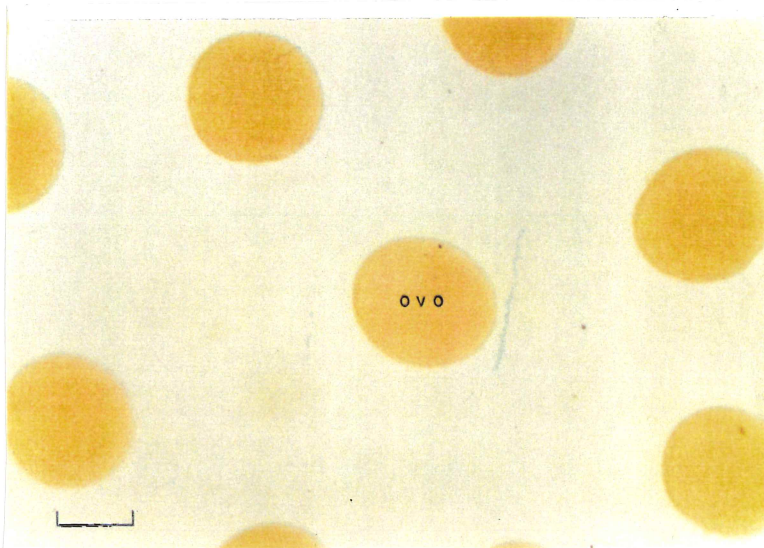


FIGURA 4. Ovocitos maduros sin fertilizar. La barra representa $58\mu\text{m}$.

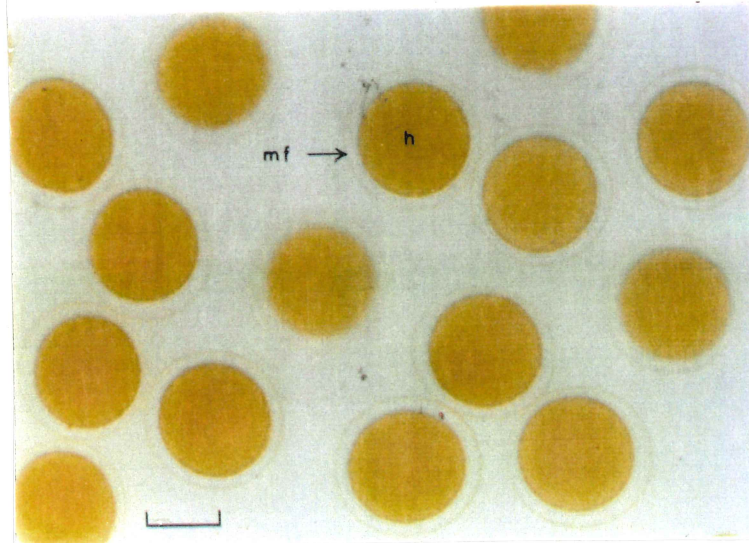


FIGURA 5. Huevos fertilizados (5 minutos). La barra representa 93 μ m. (h=huevo, mf=membrana de fertilización).

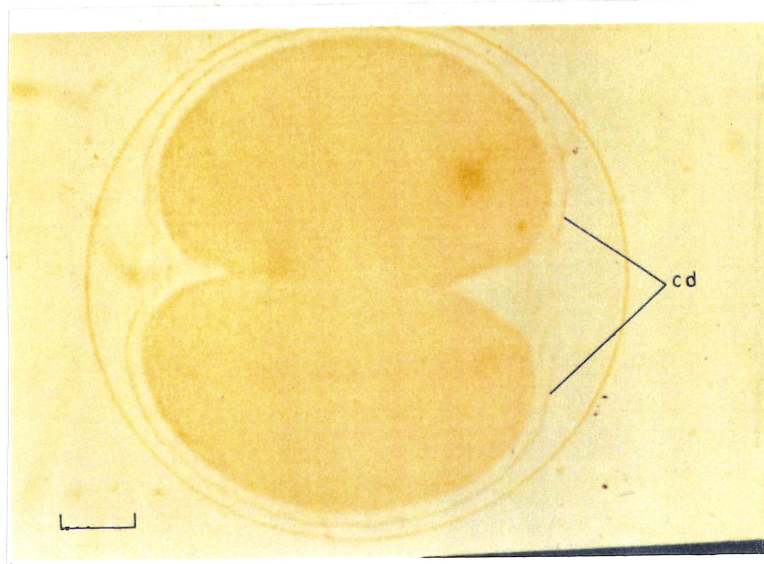


FIGURA 6. Estado de 2 células (2:30 hrs después de la fertilización). La barra representa 20 μ m. (cd=división celular).

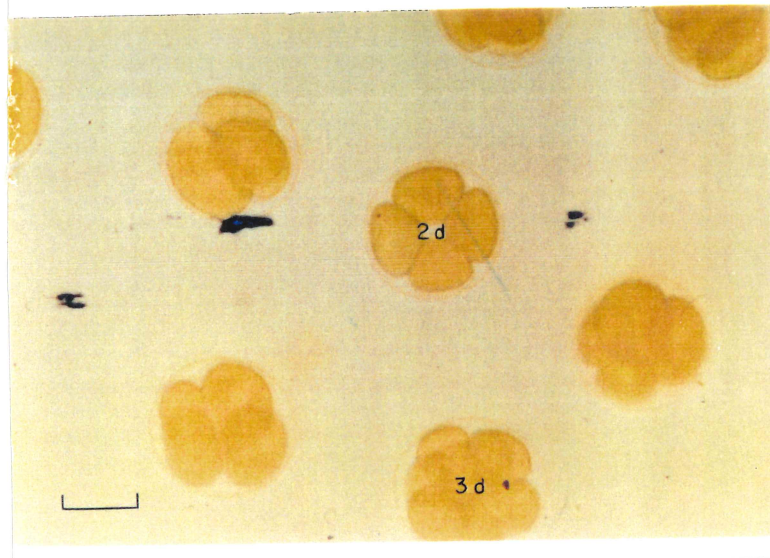


FIGURA 7. Estadios de 4 y 8 células (3 hrs y 4:15 hrs después de la fertilización, respectivamente). La barra representa 74 μ m. (2d=segunda división celular, 3d=tercera división celular).

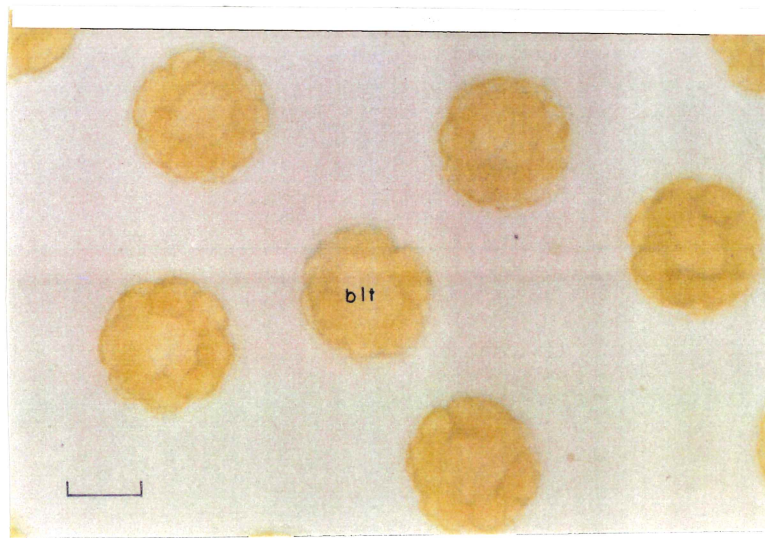


FIGURA 8. Estadio de blástula temprana (9 hrs después de la fertilización). La barra representa 79 μ m.

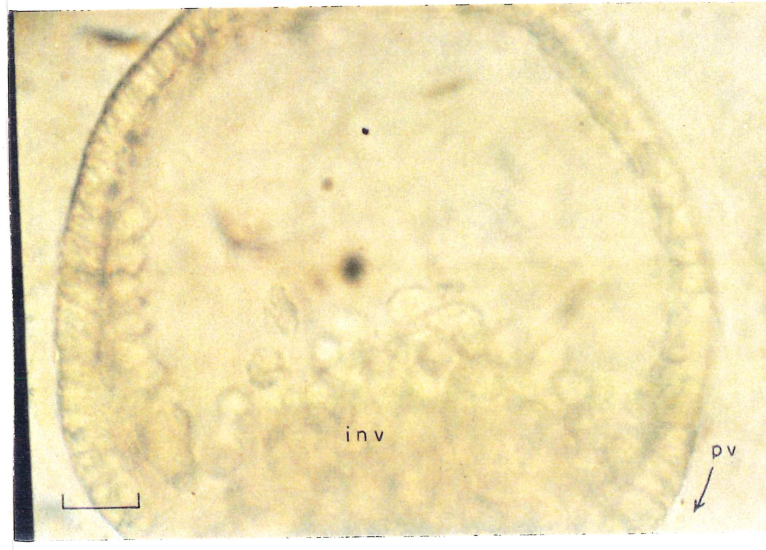


FIGURA 9. Estadio de gástrula temprana (21-22 hrs después de la fertilización). La barra representa 16.5 μ m. (inv=comienzo de la invaginación del arquenterón, pv=polo vegetal).

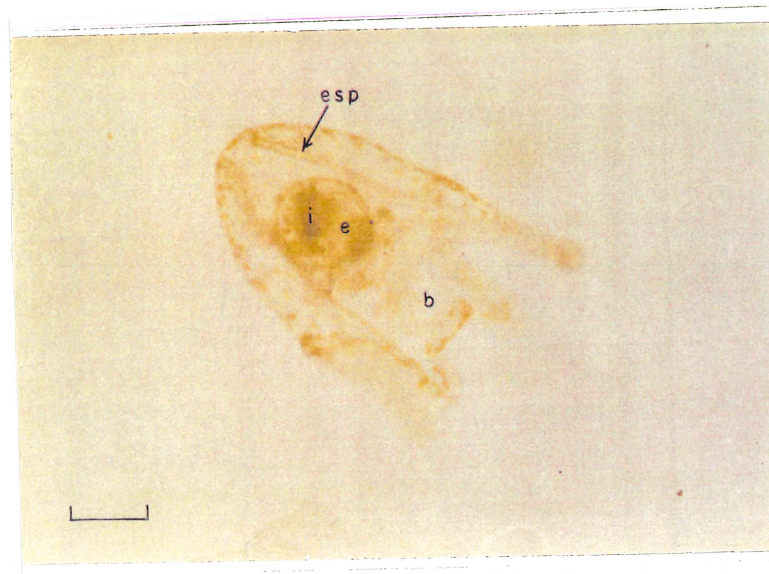


FIGURA 10. Larva pluteus de 4 brazos (4 días después de la fertilización). La barra representa 83 μ m. (esp=espículas, i=intestino, e=estómago, b=boca).

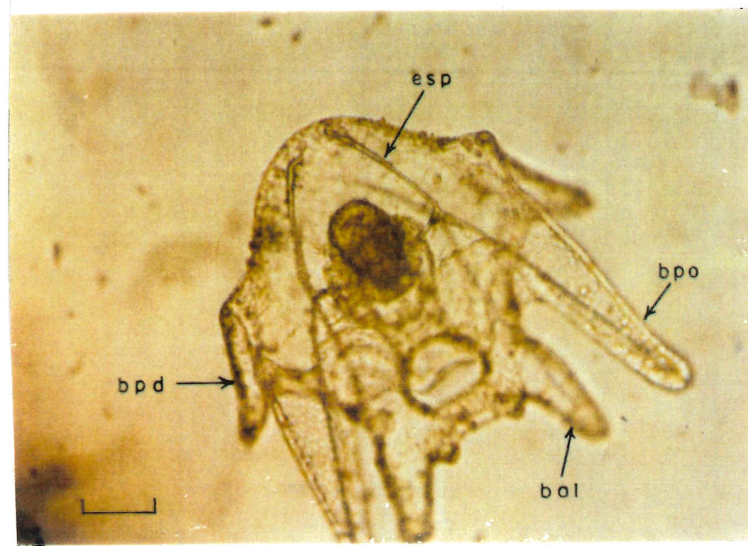


FIGURA 11. Larva pluteus de 6 brazos (7 días después de la fertilización). La barra representa 88 μ m. (esp=espícula, bpo=brazos postorales, bpd=brazos posterodorsales, bal=brazos anterolaterales).

5.2.1. *Estadio de competencia al asentamiento y metamorfosis.*

El primer cambio morfológico observado en la larva para prepararse a la metamorfosis fué el crecimiento del saco celómico en el lado izquierdo a través de una invaginación, éste saco dió origen posteriormente a el rudimento juvenil o equinoideo. Al crecer el rudimento hasta alcanzar a ocupar la mayor parte del vestíbulo (figura 12), se observaron otros cambios en la larva, tales como la formación de dos largas bandas de cilios en la base de los brazos post-orales y posterodorsales, llamadas epaulettes (figura 12) y que tienen una función motriz, ésto es característico en las larvas de strongylocentrotidos. La pluteus tardía de 8 brazos presentó entonces cinco pies tubulares primarios con los que explora el sustrato. Otro aspecto de la larva competente fué la presencia de pedicelaria funcional (figura 12). Los últimos cambios estructurales fueron acompañados por cambios en el comportamiento larval, tales cómo el decremento en la actividad natatoria, intercalando su actividad exploratoria bentónica con algunos pequeños saltos a la columna de agua. El tamaño promedio durante el estadio pluteus de 8 brazos tardía (larva competente a metamorfosis) fué de

675 μm con un máximo alcanzado de 730 μm (tabla II y figura 12). Cuando la larva recibió el suficiente estímulo del medio para disparar los eventos del asentamiento y metamorfosis, en éste caso por parte del sustrato (película de diatomeas bentónicas en las cubetas), los tejidos larvarios comenzaron a reabsorberse hacia la superficie del rudimento juvenil mostrando un decremento de talla al perder los brazos y quedar solo una masa globosa que dá origen al juvenil; durante esta fase el diámetro promedio fué de 550 μm (ver tabla II).

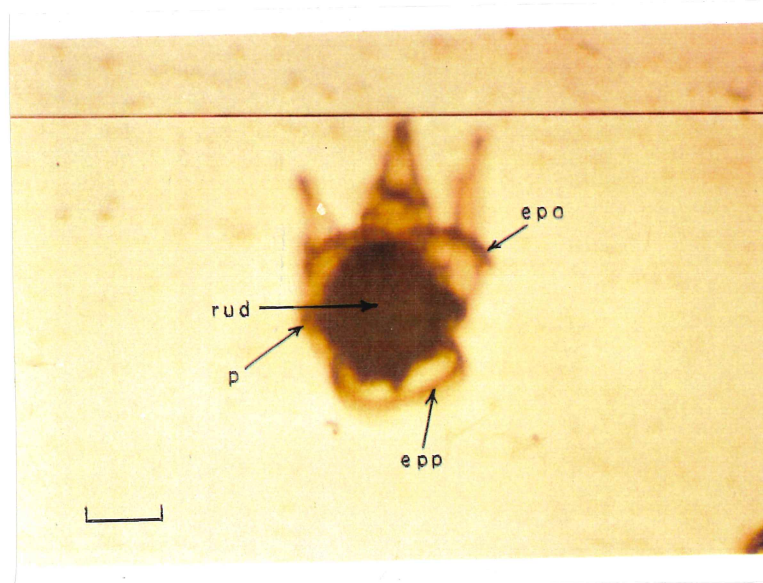


FIGURA 12. Larva pluteus de 8 brazos (14-18 días después de la fertilización). La barra representa 198.5 μm). (rud=rudimento juvenil o equinoideo, epa=epaulettes anteriores, epp=epaulettes posteriores, p=pedicelaria).

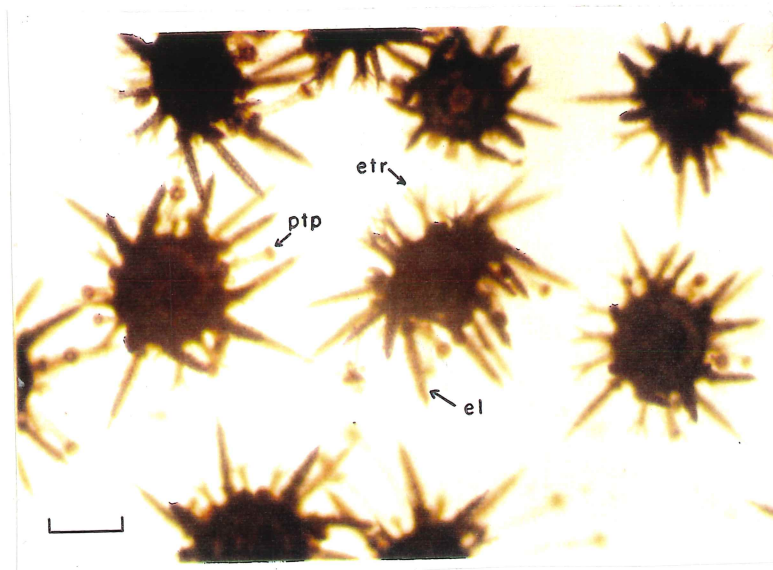


FIGURA 13. Juvenil del erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* recién metamorfozado (23-28 días después de la fertilización). La barra representa 210 μ m. (ptp=pies tubulares primarios, etf=espinas trifurcadas en la cara aboral, el=espinas lanceoladas en la región oral).

5.2.2. Postlarvas y juveniles.

Después de 23 días de la fertilización se observó a los primeros juveniles metamorfozados, siendo hasta los 28 días cuando todas las larvas sobrevivientes se transformaron en pequeños erizos de aproximadamente 450 μ m de diámetro (solo la testa). Al aparecer las espinas de los juveniles, se observó una diferenciación en cuanto a la forma de éstas; mientras un tipo fueron lanceoladas y dispersas homogéneamente, otro tipo fueron trifurcadas y solo se encontraron en la cara aboral del juvenil (figura 13 y 14). Más tarde las espinas del juvenil fueron remplazadas por las espinas del adulto. Después de la tercera semana, fueron proporcionadas macroalgas a los juveniles del erizo rojo de tal manera que se alimentaran simultáneamente de la película de diatomeas y de las macroalgas (*Macrocystis pyrifera* y *Egregia menziesii*, figura 15)

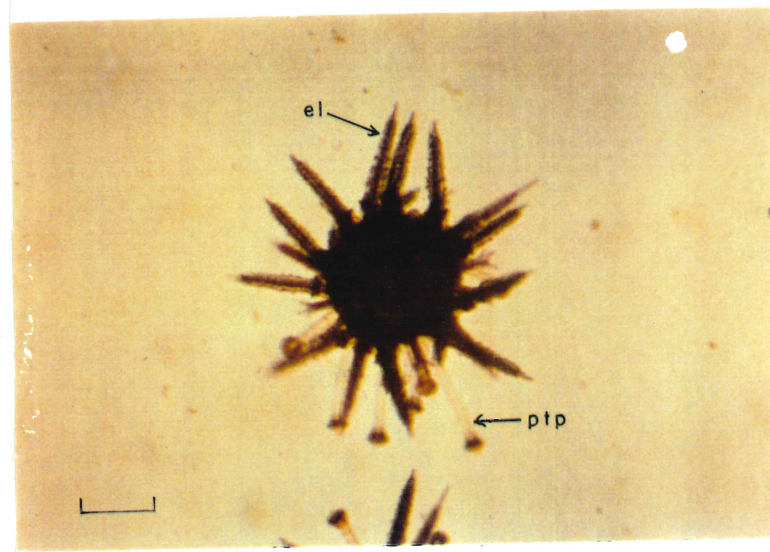


FIGURA 14. Juvenil del erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* recién metamorfizado (23-28 días después de la fertilización). La barra representa 225 μ m. (ptp=pies tubulares primarios, el=espinas lanceoladas en la cara oral).

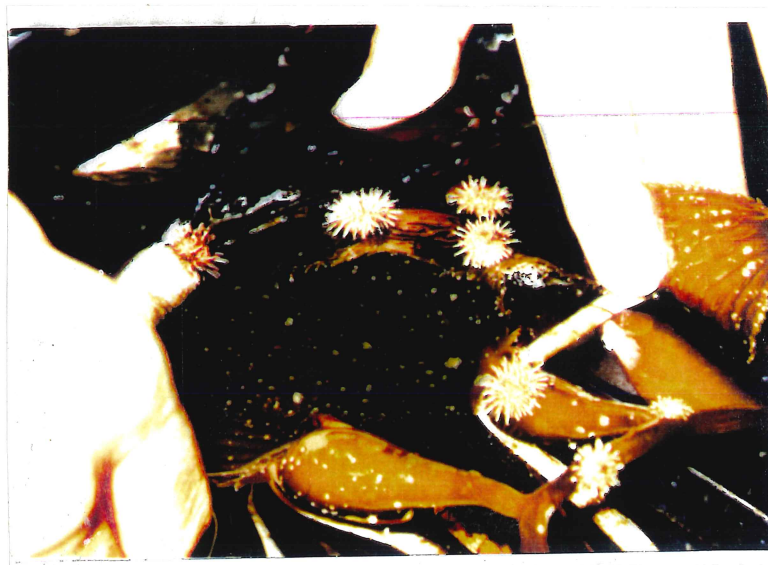


FIGURA 15. Juvenil del erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* sobre *Macrocytis pyrifera* (dos semanas después de la metamorfosis).

A los 60 días después de la fertilización y 32 después de la metamorfosis, el juvenil presentó un diámetro máximo de 13 mm. Debido a que en ninguna fase del desarrollo el crecimiento es homogéneo, se reportaron los tamaños cuando más del 50% de las larvas o juveniles se encuentran en el estadio inmediato superior. Los juveniles alcanzaron un diámetro máximo de la testa de 20 mm a los tres meses y medio postmetamorfosis, presentaron una pigmentación rojiza como los adultos. A los seis meses el diámetro máximo de la testa fué de 30 mm.

5.3. Factores fisicoquímicos:

El oxígeno varió entre 7.6 y 7.8 ppm en todos los experimentos para antes del recambio de agua en todas las cubetas, tanto para el fondo como para la superficie; siendo de 8.0 ppm los valores después de los recambios de agua en todos los casos. En el blanco, el nivel de oxígeno siempre fué de 8.2 ppm.

El pH se mantuvo en 8.1 en todas las mediciones de los experimentos, antes y después del recambio de agua, mientras que para el testigo fué de 8.2.

5.4. Efecto de la densidad de cultivo:

Hay que mencionar cierta variabilidad que se presentó entre las réplicas por lo cual, en algunos casos no se encontraron diferencias estadísticas y no se destacó algún efecto de las variables en la sobrevivencia, y aunque este problema podría haberse previsto al incrementar el número de réplicas (evitando efectos cubiertos), el número de recipientes hubiera aumentado, lo que no fué posible por limitaciones en la infraestructura del laboratorio. Por lo anterior en algunos casos se reforzaron las sugerencias de manejo en los cultivos, con estudios realizados por otros autores.

Debido a que no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) para las tallas en las diferentes fases de desarrollo embrionario y larvario, se reportan sólo las tallas

promedio para cada estadio (tabla II y figura 16) y en el caso de las postlarvas se reportan las tallas máximas alcanzadas.

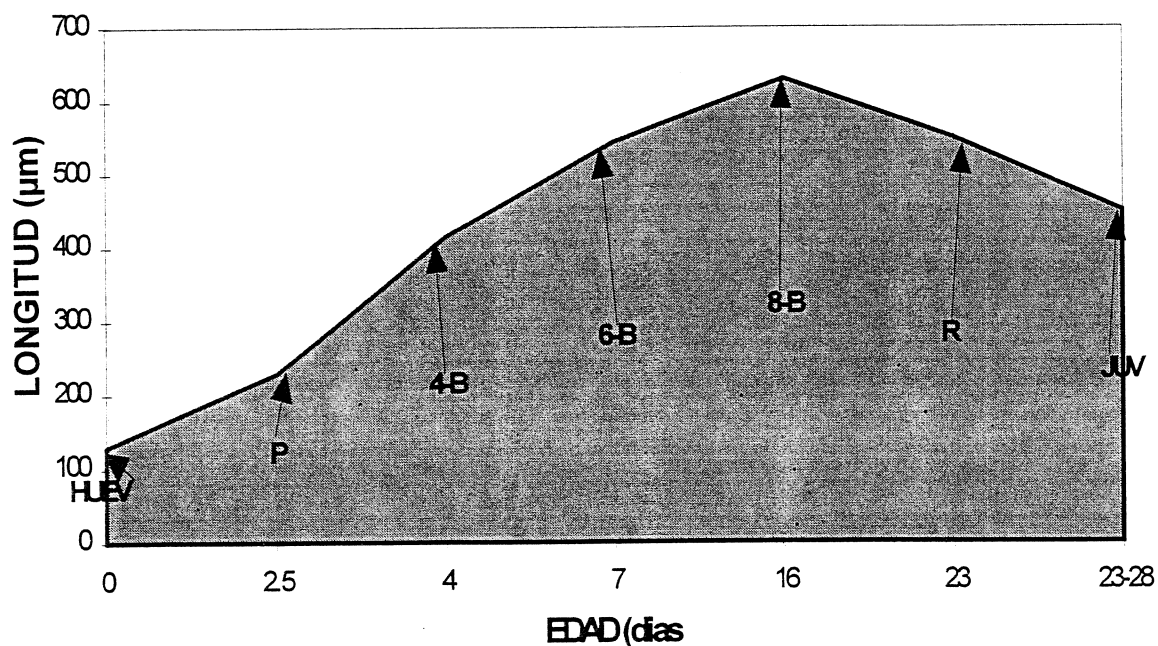


FIGURA 16. Longitud promedio de los diferentes estadios a partir del huevo de *S. franciscanus*, cultivado entre 16-19°C, y el tiempo de duración en cada fase. P=prisma, 4-B=pluteus cuatro brazos, 6-B=pluteus seis brazos, 8-B=pluteus ocho brazos, RJ=rudimento juvenil, y JUV=juvenil.

En el muestreo del noveno día (primera evaluación) se encontraron diferencias significativas ($P=0.0063$) en las tasas de sobrevivencia (TIS y TNS) de los experimentos en los que se evaluó el efecto de la densidad de cultivo.

Las mayores tasas de sobrevivencia se obtuvieron en los tratamientos con la menor densidad inicial de larvas (2 larvas/ml), siendo de 0.4351 para el T1 del E1 y de 0.4555 para el T1 del E2 (tablas III y IV, figuras 17 y 18). El tratamiento T2 del experimento E1 presentó una tasa de sobrevivencia de 0.1648, mientras que para el tratamiento T2 del experimento E2 fué de 0.1203.

A pesar de que no se presentaron diferencias ($P>0.05$) en la segunda evaluación (día 16), se observa un mayor número de larvas sobrevivientes en los tratamientos con una densidad inicial de 2 larvas/ml.

En la tercera evaluación (día 23, ver figura 18B), la **TNS** presentó también diferencia significativa ($P=0.035$) y nuevamente los tratamientos con una densidad inicial de 2 larvas/ml presentaron las mayores tasas de sobrevivencia, reflejándose en el número de larvas sobrevivientes (**T1** del **E1** con 467 larvas y **T1** del **E2** con 527), comparado con los tratamientos a una densidad inicial de 4 larvas/ml (**T2** del **E1** con 555 larvas y **T2** del **E2** con 255, tabla IV).

TABLA III. Tasa Instantánea de Sobrevivencia (TIS) y Tasa Neta de Sobrevivencia (TNS), para determinar el efecto de la densidad de cultivo. La ración alimenticia inicial fué de 5 000 células/ml y los recambios de agua se hicieron diariamente. Los tratamientos con diferencia significativa se representan con asteriscos (*).

EVALUACIONES	EXPERIMENTO 1 (TIS)		EXPERIMENTO 1 (TNS)	
	T1	T2	T1	T2
	Densidad baja	Densidad alta	Densidad baja	Densidad alta
Inicial	1.0	1.0	1.0	1.0
2 días	30 000 larvas	60 000 larvas	30 000 larvas	60 000 larvas
1a evaluación	0.4351	0.1648	0.4351	0.1648
9 días	13 053 larvas	9 888 larvas	13 053 larvas	9 888 larvas
2a evaluación	0.07	0.0766	0.0304	0.0126
16 días	914 larvas	757 larvas	914 larvas	757 larvas
3a evaluación	0.5112	0.7334	0.0155	0.0092
23 días	467 larvas	555 larvas	467 larvas	555 larvas

TABLA IV. Tasa Instantánea de Supervivencia (TIS) y Tasa Neta de Supervivencia (TNS), para determinar el efecto de la densidad de cultivo. La ración alimenticia inicial fué de 10 000 células/ml y los recambios de agua se hicieron diariamente. Los tratamientos con diferencia significativa se representan con asteriscos (*).

	EXPERIMENTO 2 (TIS)		EXPERIMENTO 2 (TNS)	
	T1	T2	T1	T2
EVALUACIONES	Densidad baja	Densidad alta	Densidad baja	Densidad alta
Inicial	1.0	1.0	1.0	1.0
2 días	30 000 larvas	60 000 larvas	30 000 larvas	60 000 larvas
1a evaluación	0.4555**	0.1203**	0.4555**	0.1203**
9 días	13 665 larvas	7 218 larvas	13 665 larvas	7 218 larvas
2a evaluación	0.05	0.0766	0.0227	0.0092
16 días	683 larvas	553 larvas	683 larvas	553 larvas
3a evaluación	0.7708**	0.4605**	0.01756**	0.0042**
23 días	527 larvas	255 larvas	527 larvas	255 larvas

5.5. Efecto de la ración alimenticia:

En la primera evaluación (día 9), se encontró una diferencia significativa ($P=0.0063$) para las tasas de supervivencia.

Se presentaron las mayores supervivencias en los tratamientos con una ración inicial de 5 000 células/ml (figuras 19 y 20, tablas V y VI), correspondiendo a 0.4351 para el tratamiento T1 del experimento E3 y 0.1648 para el T1 del E4. Para la segunda evaluación a los 16 días, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de los experimentos ($P>0.05$).

En la evaluación final (día 23) se encontraron diferencias ($P=0.0035$) en las tasas de supervivencia TNS, que definieron un comportamiento igual al observado en la primera evaluación, encontrando valores de 0.0155 y 0.0092 para los tratamientos con una ración de 5 000 células/ml, correspondiendo el primer valor, al cultivo con una densidad larvaria menor (T1 del E3) y el segundo al experimento con una densidad de 4 larvas/ml (T1 del E4).

TABLA V. Tasa Instantánea de Supervivencia (TIS) y Tasa Neta de Supervivencia (TNS), para determinar el efecto de la ración alimenticia. La densidad de larvas inicial fué de 2 larvas/ml y los recambios de agua se hicieron diariamente. Los tratamientos con diferencia significativa se representan con asteriscos (*).

	EXPERIMENTO 3 (TIS)		EXPERIMENTO 3 (TNS)	
	T1	T2	T1	T2
EVALUACIONES	Ración baja	Ración alta	Ración baja	Ración alta
Inicial 2 días	1.0 30 000 larvas	1.0 30 000 larvas	1.0 30 000 larvas	1.0 30 000 larvas
1a evaluación 9 días	0.4351 13 053 larvas	0.4555** 13 665 larvas	0.4351 13 053 larvas	0.4555** 13 665 larvas
2a evaluación 16 días	0.07 914 larvas	0.05 683 larvas	0.0304 914 larvas	0.0227 683 larvas
3a evaluación 23 días	0.5112 467 larvas	0.7708** 527 larvas	0.0155 467 larvas	0.01756 527 larvas

TABLA VI. Tasa Instantánea de Supervivencia (TIS) y Tasa Neta de Supervivencia (TNS), para determinar el efecto de la ración alimenticia. La densidad de larvas inicial fué de 4 larvas/ml y los recambios de agua se hicieron diariamente. Los tratamientos con diferencia significativa se representan con asteriscos (*).

	EXPERIMENTO 4 (TIS)		EXPERIMENTO 4 (TNS)	
	T1	T2	T1	T2
EVALUACIONES	Ración baja	Ración alta	Ración baja	Ración alta
Inicial 2 días	1.0 60 000 larvas	1.0 60 000 larvas	1.0 60 000 larvas	1.0 60 000 larvas
1a evaluación 9 días	0.1648 9 888 larvas	0.1203** 7 218 larvas	0.1648 9 888 larvas	0.1203** 7 218 larvas
2a evaluación 16 días	0.0766 757 larvas	0.0766 553 larvas	0.0126 757 larvas	0.0092 553 larvas
3a evaluación 23 días	0.7334 555 larvas	0.4605** 255 larvas	0.0092 555 larvas	0.0042** 255 larvas

5.6. Efecto por el manejo en los recambios de agua:

No se presentaron diferencias significativas ($P>0.05$) entre los tratamientos del experimento para determinar el efecto de los recambios de agua (tabla VII, figura 21). Aunque la TNS es ligeramente mayor hacia el noveno día de cultivo en el tratamiento con los recambios de agua diarios (T2).

Para las siguientes fases del quinto experimento (E5), el comportamiento se invierte, aumentando las tasas de sobrevivencia del tratamiento con recambios de agua cada tercer día (T1); además de que las larvas mostraron una mejor apariencia en cuanto a su forma, pues en el experimento con los recambios de agua diarios, las larvas mostraron un aspecto de deterioro, reflejado en el cuerpo opaco, la deformidad del mismo y la proyección de las espículas fuera del cuerpo larvario.

TABLA VII. Tasa Instantánea de Sobrevivencia (TIS) y Tasa Neta de Sobrevivencia (TNS), para para determinar el efecto de los cambios de agua. La densidad de larvas inicial fué de 2 larvas/ml y la ración alimenticia proporcionada de 5 000 células/ml. Los tratamientos con diferencia significativa se representan con asteriscos (*).

	EXPERIMENTO 5 (TIS)		EXPERIMENTO 5 (TNS)	
	T1	T2	T1	T2
EVALUACIONES	Cambio cada tercer día	Cambio diario	Cambio cada tercer día	Cambio diario
Inicial 2 días	1.0 30 000 larvas	1.0 30 000 larvas	1.0 30 000 larvas	1.0 30 000 larvas
1a evaluación 9 días	0.374 11 220 larvas	0.4351 13 053 larvas	0.374 11 220 larvas	0.4351 13 053 larvas
2a evaluación 16 días	0.1266 1 420 larvas	0.07 914 larvas	0.0473 1 420 larvas	0.0304 914 larvas
3a evaluación 23 días	0.6618 940 larvas	0.5112 467 larvas	0.0313 940 larvas	0.0155 467 larvas

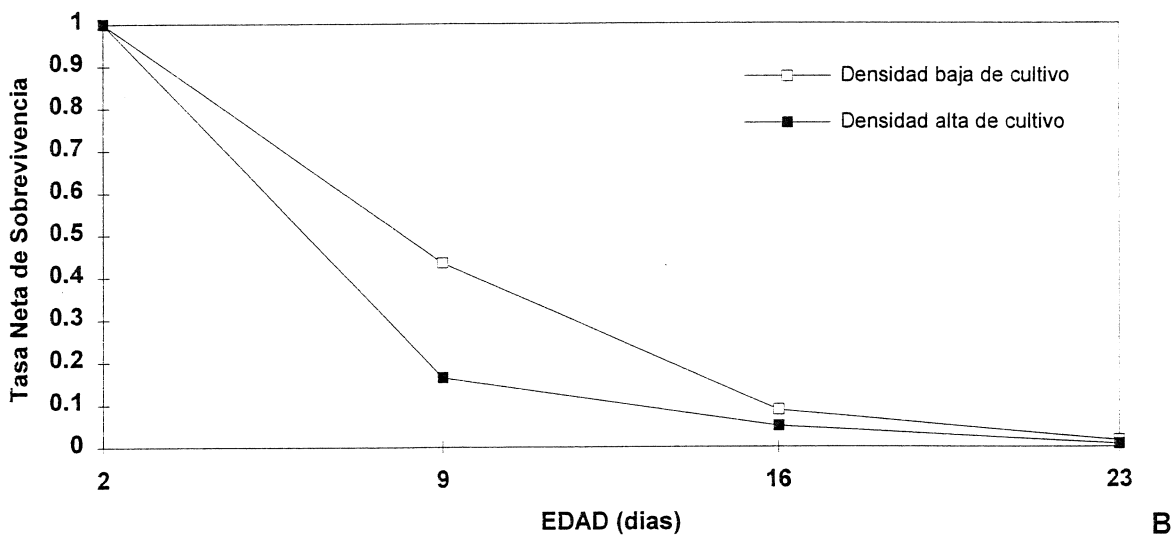
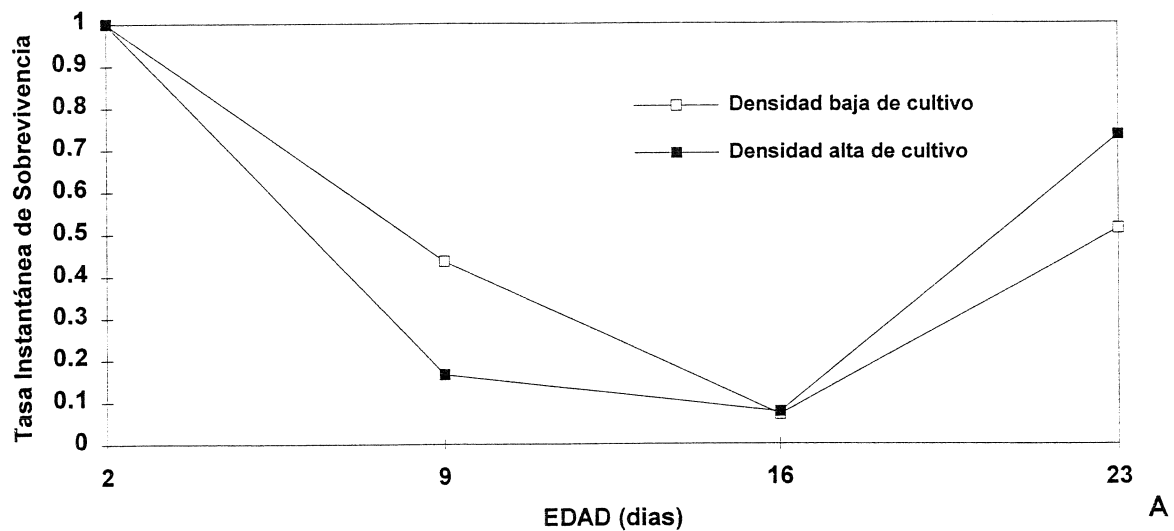


FIGURA 17. Tasa Instantánea de Supervivencia (A) y Tasa Neta de Supervivencia (B) calculadas en los cultivos larvarios de *S. franciscanus*, con una ración alimenticia inicial de 5 000 células/ml y recambios de agua diarios (E1); para medir el efecto que la densidad larvaria tiene en la supervivencia. T1=Densidad baja=2 larvas/ml, y T2=Densidad alta=4 larvas/ml.

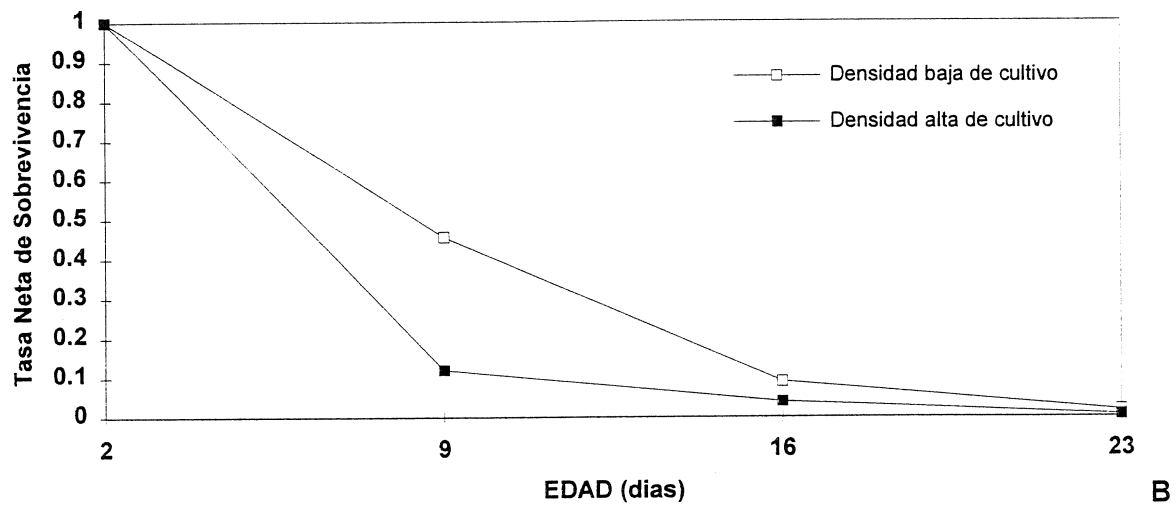
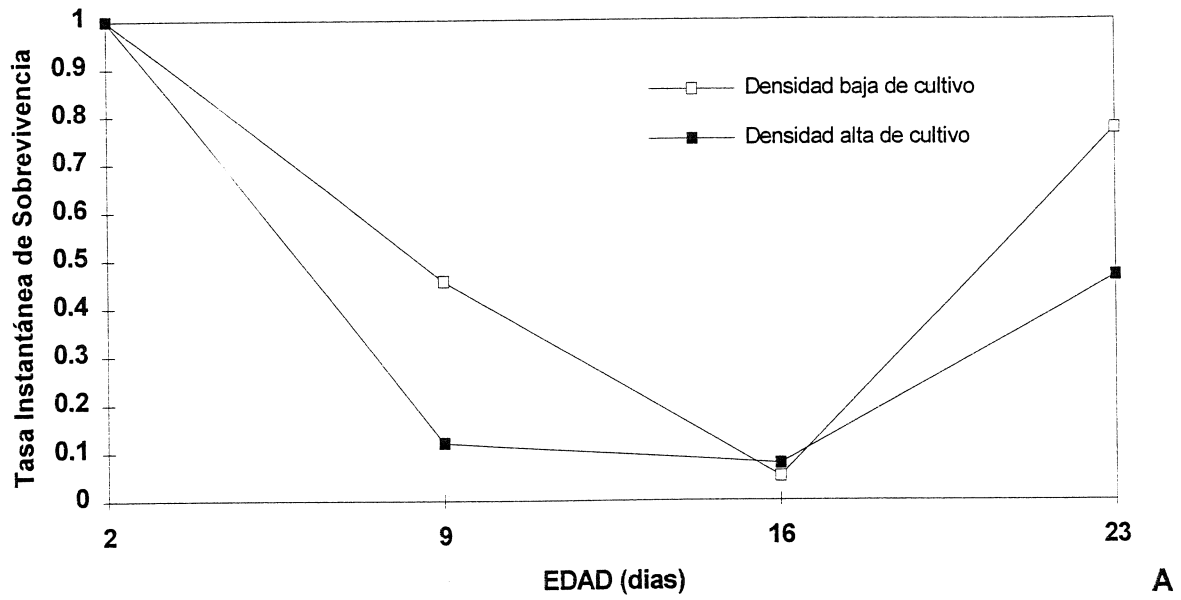


FIGURA 18. Tasa Instantánea de Supervivencia (A) y Tasa Neta de Supervivencia (B) calculadas en los cultivos larvarios de *S. franciscanus*, con una ración alimenticia inicial de 10 000 células/ml y recambios de agua diarios (E2); para medir el efecto que la densidad larvaria tiene en la supervivencia. T1=Densidad baja=2 larvas/ml, y T2=densidad alta=4 larvas/ml.

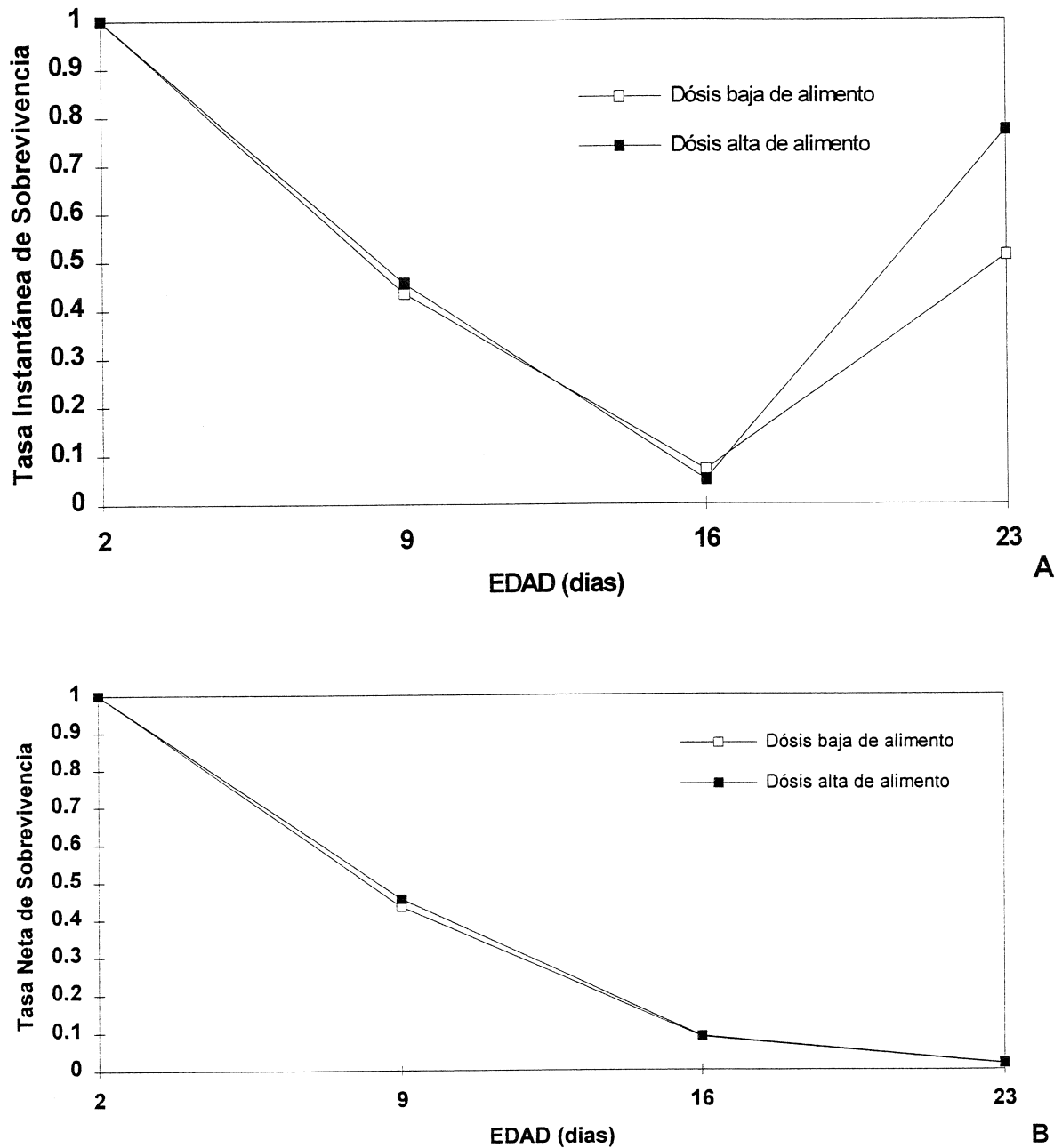


FIGURA 19. Tasa Instantánea de Supervivencia (A) y Tasa Neta de Supervivencia (B) calculadas en los cultivos larvarios de *S. franciscanus*, a una densidad inicial de 2 larvas/ml y recambios de agua diarios (E3); para medir el efecto que la ración de alimento tiene en la supervivencia. T1=Dosis baja de alimento=5 000 células/ml, y T2=dosis alta=10 000 células/ml.

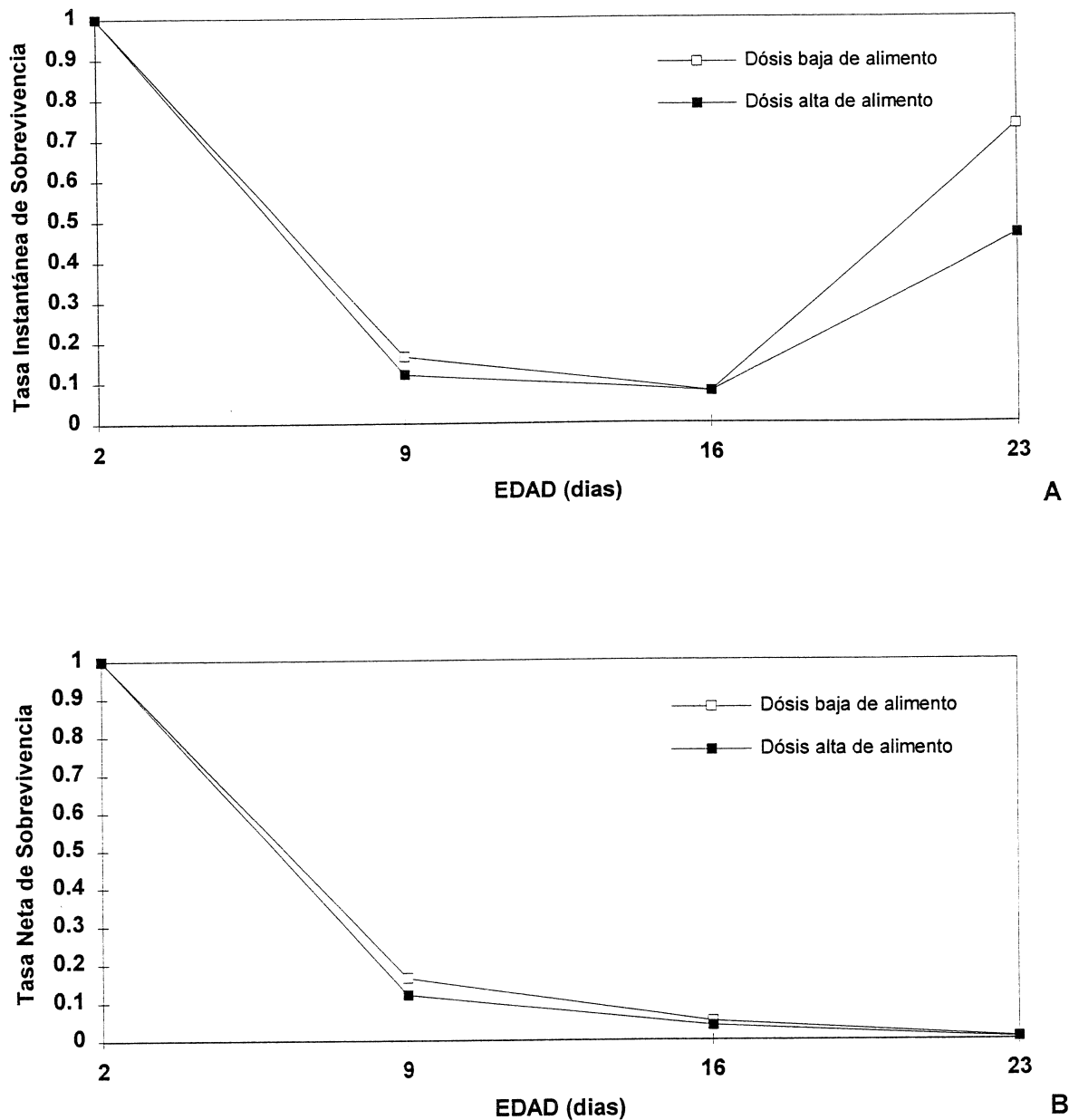


FIGURA 20. Tasa Instantánea de Supervivencia (A) y Tasa Neta de Supervivencia (B) calculadas en los cultivos larvarios de *S. franciscanus*, a una densidad inicial de 4 larvas/ml y recambios de agua diarios (E4); para medir el efecto que la ración de alimento tiene en la supervivencia. T1=Dosis baja de alimento=5 000 células/ml, y T2=dosis alta=10 000 células/ml.

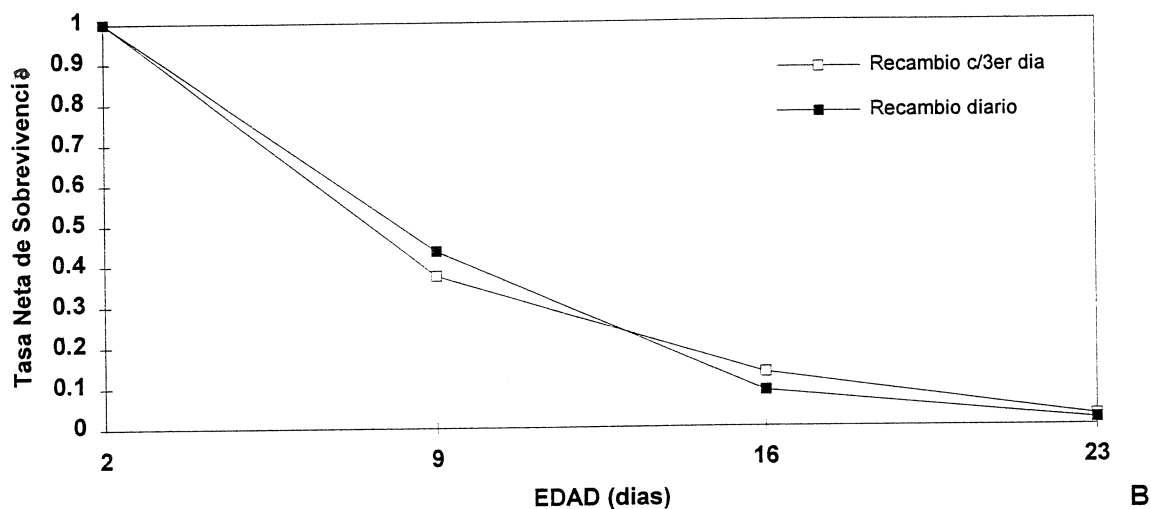
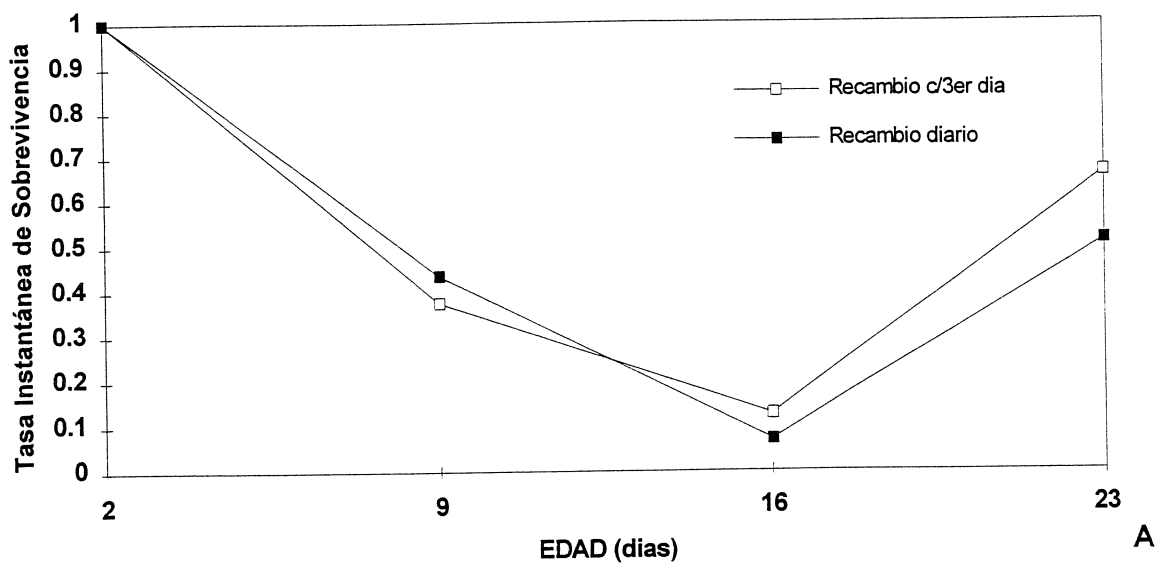


FIGURA 21. Tasa Instantánea de Supervivencia (A) y Tasa Neta de Supervivencia (B) calculadas en los cultivos larvarios de *S. franciscanus*, a una densidad inicial de 2 larvas/ml y con una ración alimenticia inicial de 5 000 células/ml (E5), para medir el efecto que el manejo en los recambios de agua tiene en la supervivencia. T1=Recambio c/3er día y T2=recambio diario, se refieren a la frecuencia en el recambio de agua del cultivo.

6. DISCUSIÓN.

6.1. Desoves y experimentos preliminares:

Durante el período de estudio, las hembras manifestaron variaciones tanto en la cantidad de gametas arrojadas como en el porcentaje de ovocitos maduros, durante los desoves. Los machos presentaron esperma activo en todos los desoves realizados. Debido a que el KCl utilizado como inductor del desove es un químico que causa contracciones musculares en el organismo, provoca que este arroje las gametas de una manera indiferente en cuanto al estado de maduración en los ovocitos. inclusive desovando en algunas ocasiones una porción de gametas inmaduras;

En los experimentos preliminares llevados a cabo, aunque no se alcanzó la metamorfosis en ninguno de ellos, se obtuvieron los mayores alcances en el desarrollo (hasta obtener larvas pluteus de 8 brazos) en aquellos que fueron realizados con bajas densidades larvianas. Algunos efectos se observaron sobre el cultivo en los experimentos con altas densidades de larvas, tales como: un retraso en el desarrollo de las larvas, aumento de desechos orgánicos y la abundancia de bacterias y protozoarios que provocan un aumento en la mortalidad de las larvas, entre otros.

Los ovocitos obtenidos en varios desoves realizados en los meses de mayo y junio, fueron en su mayoría arrojados empaquetados, lo que significó un número reducido de gametas maduras. Esto fué debido posiblemente a que el período de maduración y desove naturales ya habían transcurrido en el área donde se obtuvieron los reproductores, y las gónadas se encontraban en la fase de reabsorción, al igual que Urias-González (1994) encontró en una comunidad de erizo rojo cercana al sitio en que colectamos a los reproductores, para el mismo período del año.

Durante el período de experimentos preliminares, las especies de microalgas que presentaron un poco de éxito cómo complementarias fueron: *Monochrysis lutherii* y *Dunaliella tertiolecta*, lo cual ha sido encontrado también en estudios reportados con anterioridad para otros equinoideos (Hinegardner, 1969; Miller, 1989).

6.2. Desarrollo larvario:

Algo muy interesante fué la relación que tiene el grado de madurez en los ovocitos con el período de tiempo que tardó en elevarse la membrana de fertilización. Cuando se obtuvieron los máximos desoves con gametas en buenas condiciones, el tiempo en que se levantó la membrana no excedió los 5 min; pero cuando los desoves arrojaron un bajo número de gametas, a veces empaquetadas; dicho tiempo llegó a ser de hasta 15 min, presentando un bajo éxito de fertilización e incluso una mala fertilización.

Cómo sucede en el medio natural, dependiendo de la ubicación geográfica en el que se encuentra la especie (Strathmann, 1979), el aspecto de la temperatura es muy importante, ya que controla los ciclos de maduración y los periodos de desove, pues no es sino hasta que la temperatura es más estable cuando se asegura una exitosa finalización del desarrollo larvario en medio natural (Bückle *et. al*, 1978; Johnson, 1930 y Sakairi *et. al*, 1989). En laboratorio también se ha demostrado la importancia que tiene la temperatura como reguladora de la duración de fases en el desarrollo de cultivos larvarios de erizo rojo (tabla VIII).

TABLA VIII. Desarrollo larvario del erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus*, con diferentes tiempos de duración hasta la metamorfosis cómo efecto de la temperatura de cultivo.

FUENTE	TEMPERATURA °C	METAMORFOSIS (días)
Emler <i>et. al</i> , 1987	10	35
Cameron y Schroeter, 1980	12	40-50
R. Strathmann, 1978	7-13	62-131
Johnson, 1930	12-17	>62
Rowley; en M. Strathmann, 1987	16-17	37
Este estudio, 1994	16-19	23-28

En los casos en que las gametas fueron desovadas dentro de paquetes, el desarrollo se detuvo en las primeras divisiones celulares, a pesar de haber sido fertilizadas aparentemente de forma normal. Probablemente lo anterior sea producto

del estado inmaduro de los ovocitos que los hace poco viables para que se desarrollen.

Durante la etapa en que la larva es competente a metamorfosis suceden diversos cambios morfológicos, de los cuales la aparición de pedicelaria funcional sobre el cuerpo larvario es muy importante para la identificación de la larva en el plancton, pues esta característica sólo la presentan las larvas de ésta especie (Strathmann, 1987). Esto es de gran importancia, pues en la realización de arrastres en medio natural podemos identificar en base a la abundancia de estas larvas, tanto el período de reproducción y asentamiento, como la dispersión larvaria y los sitios potenciales para la captación de semilla para engordarla en laboratorio.

En el presente trabajo la película de diatomeas bentónicas utilizada como estímulo para la metamorfosis, proporcionó resultados aceptables en las larvas, aunque no pudo cuantificarse dicho éxito debido a que no se quiso arriesgar a las postlarvas a un exceso de manipuleo, inmediatamente después de la metamorfosis, y la abundancia de microalgas bentónicas que disminuyó la visibilidad de las postlarvas. A pesar del resultado que presentó la película de diatomeas como inductor de la metamorfosis, es necesario hacer trabajos en relación a la fijación de microalgas y bacterias sobre sustratos diferentes con el fin de inducir el asentamiento y metamorfosis en superficies que simulen al máximo las condiciones naturales, y determinar de esta manera la función que tienen algunos compuestos orgánicos que poseen en medio natural algunos organismos como los adultos de equinoideos, algunas bacterias y las algas coralinas (Cameron y Hinegardner, 1974; Cameron y Schroeter, 1980; Chengyi, 1985; y Kitamura *et. al*, 1993) que estimulan el asentamiento y la metamorfosis. Burke (1980) determina que cuando la larva es competente a metamorfosis solo necesita un estímulo del medio para asentarse y proceder a los cambios que lo llevaran a ser un juvenil; dicha señal se capta por medio del sistema nervioso podial.

Después de tres semanas de haber ocurrido la metamorfosis se comenzó a alimentar a los juveniles con algunas macroalgas, simultáneamente con las diatomeas bentónicas, debido a que las diatomeas no satisfacen totalmente los requerimientos de

los futuros adultos. Se les comenzó a alimentar de algunas macroalgas como *Macrocystis pyrifera* y *Egregia menziesii* que pudieran cumplir con los requerimientos inmediatos de las postlarvas, como son la formación de las espinas para el adulto, la testa y algunos órganos internos (Cameron y Hinegardner, 1978) además del incremento en el crecimiento. Miller (1989) llevó a cabo el cambio de dieta cuando los juveniles tenían tallas de 15 mm de diámetro; en el presente trabajo el cambio de dieta se realizó cuando los juveniles alcanzaron una talla aproximada de 3 mm, sin tener una razón en especial, solo estimular el cambio de dieta en forma gradual. El crecimiento se incrementa de una manera importante cuando el aporte de alimento es continuo, llevando algunas especies de equinoideos a madurar entre 1 año (*S. purpuratus*, Shaw, 1987) y 1.5 años (*Paracentrotus miliaris*, Fridberger *et. al*, 1979). Bustos y colaboradores (1991) encuentran un efecto de la temperatura sobre la duración del desarrollo larvario y la tasa de crecimiento en juveniles de *Loxechinus albus*.

Para *Strongylocentrotus franciscanus* se ha determinado que el tiempo en el que alcanza su madurez sexual es entre 1 y 2 años después de la metamorfosis; y alcanza una talla de 90-100 mm entre 4 y 5 años, con una tasa de crecimiento anual entre 13 y 25 mm (Kato y Schroeter, 1985). Miller (1989) obtuvo un crecimiento anual de 40 mm a 14°C, alcanzando los 100 mm en aproximadamente 2.5 años. Las tasas de crecimiento observadas en las postlarvas obtenidas en este trabajo es de 10 mm por mes en promedio, por lo cual asumiendo que esta tasa se mantuviera, teóricamente los juveniles pudieran alcanzar la talla comercial (80 mm) en menos de 1 año, lo cual representa una gran importancia debido a el potencial de cultivo del recurso

En el presente estudio las temperaturas fueron mayores que las reportadas en otros trabajos, lo que determinó a la temperatura cómo el principal factor que reguló la duración del desarrollo larvario (tabla IX).

La temperatura mantuvo una relación inversa con la duración del período larvario en el cultivo, tal como lo han demostrado algunos trabajos realizados para *S. franciscanus* en toda la costa de Norteamérica, siendo el presente el primero para las costas de Baja California.

TABLA IX. Efecto de la temperatura sobre el tiempo de desarrollo larvario en el erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus*, comparados en dos trabajos realizados en diferentes latitudes geográficas.

ESTADIO	Johnson, 1930 y Strathmann, 1987.	Este trabajo, 1994
Inseminación	0.0 HRS	0.0 HRS
1a. División cel.	2:30	2:30
2a. División cel.	3:30	3
3a. División cel.	4:30	4:15
4a. División cel.	6:30	4:45
5a. División cel.	--	5:15
Blástula	--	9
Gástrula	22	21-22
Prisma	--	40-48
Pluteus 4-B.	7 DÍAS	4 DÍAS
Pluteus 6-B.	17	7
Pluteus 8-B.	22	14-18
Pluteus con rud.	28	20
Máxima pluteus	47	22
Rudimento juvenil	62	23
Juvenil	>62	23-28
TEMP. DE CULTIVO	T°C:12-13°C	T°C:16-19°C

6.3. Factores fisicoquímicos:

En el presente trabajo, a pesar de que los factores fisicoquímicos como el pH y el oxígeno mantuvieron una estabilidad en el medio de cultivo, permitiendo un sano desarrollo de las larvas; los niveles de éstos bajaron en aquellos experimentos que presentaron un período de recambio de agua más largo que en los que se hizo de forma diaria (tabla III). De la misma forma se comportaron en algunos de los experimentos que tuvieron una carga de larvas mayor. Sin embargo, estos pequeños descensos (rango de 0.1-0.2 grados) en los niveles del pH y el oxígeno disuelto no son suficientes para considerarlas como variables nocivas para el buen desarrollo del cultivo y la sobrevivencia de las larvas, en este caso; aunque es un indicio de que en una escala mayor de cultivo, digamos, piloto comercial, son variables que pueden mostrar un efecto muy importante en el desarrollo del cultivo.

6.4. Efecto de la densidad de cultivo:

En general las mejores tasas de sobrevivencia se presentaron en aquellos experimentos con una densidad inicial de 2 larvas/ml (T1 de los experimentos E1 y E2), siendo respaldados por el número de larvas sobrevivientes (tablas III y IV); razón por la cual se puede hacer la recomendación de utilizar una baja densidad de larvas inicialmente en los cultivos larvarios (tabla X). Las tasas de sobrevivencia y el número de larvas en cada evaluación demuestran que la excesiva cantidad de larvas tiene un efecto perjudicial en el desarrollo de las mismas. Lo anterior podría representar, además de un incremento en la competencia larvaria por espacio y un aumento en la cantidad de desechos metabólicos, un reflejo de la necesidad de aumentar la ración alimenticia de las larvas, el cual podría realizarse para las fases intermedias de desarrollo (desde pluteus 6-brazos); o también podría adicionarse algún tipo de microalgas que complemente los requerimientos de las larvas.

Los resultados encontrados no coinciden con los obtenidos en algunos estudios anteriormente realizados para otros equinoideos en los que no se encontró efecto de la densidad de cultivo en la sobrevivencia larvaria (Bustos *et. al*, 1991). pero algo interesante fué que la densidad de cultivo presentó un efecto sobre las tallas alcanzadas en los juveniles recién metamorfizados, lo cual es importante si se prueban diferentes artes de colecta de semilla en los que su selectividad se base en el tamaño de los juveniles. Hinegardner (1969) y Strathmann (1987), reportaron cierto éxito en cultivos larvarios manejados a densidades de 0.01 larva/ml y 0.1 larva/ml, respectivamente; y aunque los volúmenes manejados en los experimentos son menores a los utilizados en el presente estudio, todos los estudios coinciden en la utilización de densidades bajas en los cultivos larvarios.

6.5. Efecto de la ración alimenticia:

Las tasas de sobrevivencia presentaron diferencias significativas en las pruebas estadísticas (tablas V y VI), encontrándose un efecto de la ración alimenticia sobre estas. La cantidad de larvas sobrevivientes en cada una de las evaluaciones determina un buen desarrollo al aportar inicialmente 5 000 células/ml y aumentar la ración en los siguientes estadios larvarios. Lo anterior puede ser un manejo adecuado de las raciones alimenticias, que asegure ser efectivo en un sistema de producción y reduce los costos al utilizar solo la mitad de alimento.

Para sentar las bases de una técnica de cultivo, se puede recomendar un manejo adecuado durante el desarrollo de las larvas, de la siguiente manera: comenzar alimentando con bajas cantidades de alimento (5 000 células/ml) en los primeros estadios larvarios (prisma y pluteus 4-B) e incrementarlo al doble para el siguiente estadio (pluteus 6-B) y conservando ésta dosis hasta el final del período larvario. Debido a que la sobrevivencia esta dada por las condiciones naturales del medio (temperatura, bacterias, amonio, etc) y la cantidad de alimento disponible en el mismo; son factores que deben tomarse en cuenta para llevar a cabo un cultivo de larvas, sobre todo si éste va a ser decisivo en el desarrollo de una biotecnia de cultivo a gran escala; pues cuando la temperatura se incrementa, las condiciones del metabolismo larvario se aceleran, y en este caso la ración alimenticia debe ser suficiente para satisfacer los requerimientos demandados.

Algunos trabajos que se han realizado con equinoideos utilizando bajas cantidades de alimento (3 000 células/ml) han tenido buenos resultados. Además de una ración alimenticia adecuada, las características de la especie de microalga a utilizar deben cubrir las necesidades nutricionales de las larvas y el tamaño de esta debe ser el adecuado (González *et. al*, 1987 y Bustos *et. al*, 1991).

Strathmann (1987), recomienda para *S. franciscanus* una ración de 3 00 células/ml utilizando *Rhodomonas* sp como alimento, y una densidad larvaria menor a 1 larva/ml.

TABLA X. Condiciones recomendadas en un cultivo larvario, que se obtienen a partir de los efectos observados en éste trabajo de la densidad de cultivo, dosis de alimento y manejo de los recambios de agua sobre la sobrevivencia.

ESTADIOS	DENSIDAD (# larvas/ml)	DÓSIS DE ALIMENTO (# células/ml)
PRISMA	2	5 000*
PLUTEUS 4-B	2	5 000*
PLUTEUS 6-B	2	10 000*
PLUTEUS 8-B	4	10 000**
JUV. RECIÉN MET.	SOBREV.	PELÍCULA DE DIATOMEAS***
JUV. DESPUÉS DE UNA SEMANA METAMORF.	SOBREV.	DIATOMEAS Y MACROALGAS***

* Recambio de agua cada tercer día

** Recambio de agua cada tercer día (sin lavar cubetas).

*** Recambio de agua cada semana.

6.6. Efecto por el manejo en los recambios de agua:

A pesar de que no se obtuvieron diferencias significativas en las tasas de sobrevivencia de los tratamientos en el experimento **E5**, el mayor número de larvas sobrevivientes en las últimas fases de desarrollo fueron encontradas en el tratamiento con los recambios de agua cada tercer día. El número de réplicas para el experimento fué menor al adecuado, enmascarando posiblemente el efecto por el manejo de los recambios de agua en la sobrevivencia, además de la variabilidad que se presentó en las réplicas. El efecto del manejo en los recambios de agua también se reflejó en el deterioro de las larvas debido al excesivo manipuleo de las mismas.

En la segunda evaluación a los dieciséis días de cultivo, el número total de larvas sobrevivientes en el tratamiento con recambios de agua cada tercer día (**T1**) es un 30% mayor (1 420 larvas) que en el tratamiento con los recambios de agua diarios (**T2**, 914 larvas); y en la evaluación final (a los 23 días), el número total de larvas sobrevivientes en el primer tratamiento, es el doble que aquel en el que los recambios de agua se hicieron diariamente (940 larvas contra 467). Mientras mas espaciados se hicieron los recambios de agua, disminuyó el deterioro de las larvas, reflejandose en un decremento de la mortalidad en el cultivo.

Cómo uno de los objetivos de los recambios de agua es la eliminación de los metabolitos y toxinas presentes en un medio de cultivo, algunos autores han utilizado un sistema continuo en el que el recambio se hace lentamente de manera ininterrumpida, aunque una desventaja es la pérdida de alimento (Bustos *et. al*, 1991). Por lo anterior se deben realizar estudios que permitan dar alternativas en el mejoramiento de la forma de los recambios de agua, una de dichas alternativas es la utilización de sistemas continuos y la limpieza periódica del fondo para eliminar el exceso de alimento y larvas muertas. En otros trabajos los períodos de los recambios de agua se alargan hasta una semana (González *et. al*, 1987). Sin embargo ésta opción resulta poco aplicable en Baja California, debido a que las condiciones son diferentes, siendo la temperatura más elevada que en los lugares dónde se utilizan recambios de agua más espaciados (British Columbia, Washington, Japón, Chile, etc), lo que se traduce en una descomposición acelerada de los metabolitos, siendo un sustrato para la proliferación de bacterias en el cultivo y la utilización alternativa de antibióticos se traduce en un incremento de los costos de producción.

En base a la información generada en el presente trabajo sobre las densidades de cultivo, ración alimenticia y el manejo de los recambios de agua en un cultivo larvario, es posible sugerir las características que determinan buenas condiciones de cultivo y que aumentarán la sobrevivencia de las larvas (tabla X).

Al tener una buena técnica en el cultivo de larvas que aporte un buen número de juveniles, ayuda a la continuidad de estudios posteriores, así como la diversificación de las formas de producción de erizo, que satisfaga la creciente demanda internacional de éste producto.

Algunos estudios que necesitan un aporte constante de juveniles son sobre todo de maduración, repoblamiento, engorda, etc. A pesar de haber generado información valiosa para el desarrollo de una biotecnia de cultivo larvario, se necesita de mayor investigación en algunos aspectos que eleven las tasas de sobrevivencia.

Este trabajo además de ser una base para el desarrollo de una biotecnia de cultivo para el erizo rojo, tiene otra importante aportación del conocimiento faunístico

en Norteamérica. Trabajos sobre desarrollo larvario y condiciones de cultivo para *Strongylocentrotus franciscanus* ya han sido realizados en las costas de British Columbia (Canadá); Oregon, Washington y California (Estados Unidos), faltando información para el límite geográfico hacia el sur en la distribución de éste organismo. Esta investigación es el primer trabajo de su tipo para el erizo rojo en México, lo cual complementa el conocimiento de la especie en Baja California y establece algunos principios para atacar el problema que éste recurso afronta en relación a su intensa captura. A pesar de que las administraciones de pesquerías locales destinan recursos hacia planes de trasplante, consideramos que **no** es esa la solución del problema, habiendo asuntos que merecen primordial atención como lo es la producción de juveniles, que a través de un programa de repoblamiento, ayuden a la recuperación de las poblaciones naturales y no sólo que se trasladen adultos de un lugar dónde no se extraen por sus características, a otro sitio dónde serán extraídos al alcanzar la madurez.

7. CONCLUSIONES.

◆ Se caracteriza a la temperatura como el principal factor que controla la duración de los diferentes estadios larvarios, alcanzando la metamorfosis en un período entre 23-28 días a una temperatura de cultivo de 16-19°C, siendo el menor reportado hasta hoy en laboratorio para *S. franciscanus*.

◆ La utilización de la microalga *Rhodomonas* sp. como alimento, asegura el contenido nutricional para un desarrollo normal de las larvas hasta alcanzar la metamorfosis, aunque es necesaria la realización de pruebas sobre dietas mixtas utilizando otras microalgas que se mencionan como complementarias para tratar de mejorar las tasas de sobrevivencia.

◆ La película de diatomeas bentónicas fué una buena señal para la inducción a la metamorfosis de las larvas competentes del erizo rojo.

◆ Las densidades iniciales de 2 larvas/ml favorecen el buen desarrollo y la sobrevivencia de las larvas.

◆ Una ración alimenticia inicial de 5 000 células/ml, muestra ser adecuada para que el desarrollo larvario sea completado y favorece a la sobrevivencia larvaria.

◆ El manejo en los recambios de agua no presentaron efectos en la sobrevivencia de las larvas, por lo que una manera de reducir el manejo, es realizar los recambios de agua cada tercer día.

◆ El crecimiento de los juveniles producidos en laboratorio fué bueno, alcanzando en promedio una talla de 450 μm inmediatamente después de la metamorfosis, a los 32 días un máximo de 13 mm; para los tres meses y medio 20 mm, y a los seis meses 30 mm.

LITERATURA CITADA

- Bardach, J. E., J. H. Ryther; W. O. McLarney. 1986. "Acuacultura: Crianza y Cultivo de Organismos Marinos y de Agua Dulce". AGT Editor, S.A. México, D.F. 741 pp.
- Brandon, J. L; y F. J. Rokop. 1985. "Life Between the Tides". American Southwest Publishing Company of San Diego, U.S.A. 228 pp.
- Bücker, L. F; Ch. Guisado; E. Tarifeño; A. Zuleta; L. Cordova y C. Serrano. 1978. "Biological studies on the chilean sea urchin *Loxechinus albus* (Molina) (ECHINODERMATA:ECHINOIDEA) IV. Maturation Cycle and Seasonal Biochemical Changes in the Gonad". *Ciencias Marinas*, **5(1)**:1-18.
- Burke, R. 1980. "Podial sensory receptors and the induction of metamorphosis in echinoids". *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **47**:223-234.
- 1982. "Echinoid metamorphosis: retraction and resorption of larval tissues", en: "Proc. International Echinoderm Conference". (J. M. Lawrence, ed.). A.A. Balkema, Rotterdam. pp. 513-518.
- ; F. S. Chia. 1980. "Morphogenesis of the digestive tract of the pluteus larva of *Strongylocentrotus purpuratus*: sphincter formation". *Int. Jour. Inv. Repr.*, **2**:1-12.
- Bustos-R, Eduardo; C. Godoy; S. Olave y R. Troncoso. 1991. "Desarrollo de Técnicas de Producción de Semillas y Repoblamiento de Recursos Bentónicos, Parte I. Investigaciones en el erizo chileno *Loxechinus albus* (Molina, 1782)". Instituto de Fomento Pesquero, Chile. PNUD. Impresos XIMPAUSER. pp. 1-60.
- Cameron, R. A., y R. T. Hinegardner. 1974. "Initiation of metamorphosis in laboratory cultured sea urchin". *Biol. Bull.* **146**:335-342.
- ; ---. 1978. "Early events in sea urchin metamorphosis, description and analysis". *J. Morph.* **157**:21-32.
- Cameron, R. A., y S. C. Schroeter. 1980. "Sea urchin recruitment: effect of substrate selection on juvenile distribution". *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **2**:243-247.
- Chengyi, L. 1985. "A preliminary study on the artificial rearing of the larvae and juveniles of the sea urchin *Hemicentrotus pulcherrimus*". *Jour. Shandong Coll. Ocean*, **4**:81.

- Emlet, R. B., L. R. McEdward; 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. pp. 55-136.
- Farías-Sánchez, J. A. 1980. "Observaciones Preliminares de Una Población de Erizos *Strongylocentrotus franciscanus* (Echinodermata, Echinoidea) en Baja California". Tesis de Licenciatura, ESCM-UABC. Ensenada, B.C., México. 94 pp.
- Fridberger, A; T. Fridberger y L-G. Lundin. 1979. "Cultivation of the sea urchins of the different species under strict artificial conditions". *Zoon*, **7**:149-151.
- 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, 1782) (ECHINOIDEA, ECHINIDAE)". *J. Shellfish Research*, **6(2)**:109-115.
- Guisado, C., V. Alcázar; J. C. Castilla. 1986. "Avances en el cultivo de larvas del erizo *Loxechinus albus* (Molina, 1782) en criaderos de ambiente controlado" (Resúmen), en: "Producción de Larvas y Juveniles de Especies Marinas". Taller Internacional sobre Producción de Larvas y Juveniles de Especies Marinas. Universidad del Norte, Coquimbo (Chile). pp. 113-114.
- Hinegardner, R. T. 1969. "Growth and development of the laboratory cultured sea urchin". *Biol. Bull.* **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. McGraw Hill Book Co., New York. 763 pp.
- Johnson, M. W. 1930. "Notes on the larval development of *Strongylocentrotus franciscanus*". *Publs. Puget Sound. Mar. Biol. Stn*, **7**:401-411.
- 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.

- Kitamura, H; S. Kitahara y H. B. Koh. 1993. "The induction of the larval settlement and metamorphosis of two sea urchins, *Pseudocentrotus depressus* and *Anthocidaris crassispina*, by free fatty acids extracted from the coralliniferous alga *Corallina pilylifera*". *Marine Biology*, **115**:387-392.
- Malagrino-Lumare, G. 1972. "Extracción y Preservación de las Gónadas de Erizo". Tesis de Licenciatura, ESCM-UABC. Ensenada, B.C., México. 79 pp.
- Michel, H. B. 1984. "Culture of *Lytechinus variegatus* (LAMARCK) (ECHINODERMATA:ECHINOIDEA) from egg to young adult". *Bull. of Mar. Sci.*, **34(2)**:312-314.
- Miller, R. M. 1989. "Commercial culture of the giant red sea urchin *Strongylocentrotus franciscanus* in Hawaii". Abstracts, 1989 Annual Meeting; National Shellfisheries Association. Seattle, Wash. pp. 414, 415.
- Monroy, A. 1986. "A centennial debt of developmental biology to the sea urchin". *Biol. Bull.* **171**:509-519.
- Okazaki, K. 1975. "Spicule formation by isolated micromeres of the sea urchin embryo". *Amer. Zool.*, **15**:567-581.
- 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.
- 1994. "Pesquería del erizo rojo en B. C. Temporada 92-93". En: "Memorias del X Simposium Internacional de Biología Marina". 13-17 de junio 1994; Ensenada, Baja California, México. Universidad Autónoma de Baja California, Southern California Marine Institute y Universidad Autónoma de Baja California Sur. 161 pp.
- Pérez-Cárdenas, E. 1984. "Comparación de las Medias de Talla y Peso para una Captura de Erizo *Strongylocentrotus franciscanus* de la Zona de Popotla y de la Isla Todos Santos, en Baja California, en el Mes de Julio de 1984". Informe del curso de titulación "Ecología de Peces". ESCM-UABC. Ensenada, B.C., México. 31 pp.

- Ramos-Manzilla, M. T. 1985. "Relaciones Interespecíficas del Erizo Rojo *Strongylocentrotus franciscanus* (Agassiz, 1863) en la Comunidad de un Manto de Algas Pardas (*Macrocystis pyrifera*) en la zona de Xatay, Baja California, México". Informe del curso de titulación: "Recursos Bióticos y su Manejo Integral". ESCB-UABC. Ensenada, B.C., México. 26 pp.
- Rassoulzadegan, F., L. Fenaux; R. Strathmann. 1984. "Effect of flavor and size on selection of food by suspension-feeding plutei". *Limnol. Oceanogr.* **29**:357-361.
- Ricketts, E. F., J. Calvin; J. W. Hedgpeth. 1968. "Between Pacific Tides". 4a. ed. Stanford University Press, Stanford. 614 pp.
- Romero-Orozco, E. J. 1982. "Comparaciones en la Estructura de una Población de Erizo Rojo *Strongylocentrotus franciscanus* en Santo Tomás, B.C., México". Tesis de Licenciatura, ESCM-UABC. Ensenada, B.C., México. 57 pp.
- Ruiz-Anaya, A., D. Herrera-Salinas; J. Castro-Longoria. 1987. "Análisis Anual Histológico y Productividad Orgánica Gonadal en el Ciclo Reproductivo del Erizo Rojo *Strongylocentrotus franciscanus* (Agassiz, 1863) (Echinodermata:Echinoidea) en Punta San Miguel, Ensenada, B.C.". Tesis de Licenciatura. ESC-UABC. Ensenada, B.C., México. 123 pp.
- Sakairi, K; M. Yamamoto; K. Ohtsu y M. Yoshida. 1989. "Environmental control of gonadal maturation in laboratory-reared sea urchin *Anthocidaris crassispina* and *Hemicentrotus pulcherrimus*". *Biol. Sci.* **6**:721-730.
- Shaw, W. N. 1987. "Sea urchin culture". *Aquaculture Magazine* MAY/JUN, pp. 60-61.
- Smith, R. I., y J. T. Carlton. (eds.) 1975. "Light's Manual Intertidal Invertebrates of the Central California Coasts". 3a. ed. University California Press. 710 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. (ed.) 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.
- 1975. "Larval feeding in echinoderms". *Am. Zool.* **15**:717-730.
- 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.
- . 1979. "Echinoid larvae from the northeast Pacific (with a key and comment on an unusual type of planktotrophic development)". *Can. J. Zool.* **57**:610-616.
- ; L. Fenaux; M. F. Strathmann. 1992. "Heterochronic developmental plasticity in larval sea urchins and its implications for evolution of nonfeeding larvae". *Evolution*, **46(4)**:972-986.
- Urias-González, L. 1994. "Análisis Gonadal a Nivel Histológico del Erizo Rojo *Strongylocentrotus franciscanus*, en la zona II, Santo Tomás, Baja California, México". Tesis de licenciatura. FCM-UABC. Ensenada, B. C; México. 71 pp.
- Vázquez-Solórzano, E. 1983. "Estimación de la Densidad en una Población de Erizo de Mar *Strongylocentrotus franciscanus* (Agassiz, 1863) en Xatay, Baja California, México, en Enero de 1983". Tesis de Licenciatura. ESCM-UABC. Ensenada, B. C; México. 54 pp.

ANEXO

Tabla de contingencia mostrando las comparaciones estadísticas (prueba a posteriori de Tukey) para los tratamientos cuya variable fué la densidad de cultivo con una ración alimenticia inicial de 10 000 células/ml (E2) ; estos datos pertenecen a la evaluación del día nueve de cultivo. Arriba a la derecha se presentan los resultados de la TIS, y abajo a la izquierda los de la TNS.

	T1	T2
T1	-----	0.0063
T2	0.0063	-----

Tabla de contingencia mostrando las comparaciones estadísticas (prueba a posteriori de Tukey) para los tratamientos cuya variable fué la densidad de cultivo con una ración alimenticia inicial de 10 000 células/ml (E2) ; estos datos pertenecen a la evaluación del día veintitrés de cultivo. Arriba a la derecha se presentan los resultados de la TIS, y abajo a la izquierda los de la TNS.

	T1	T2
T1	-----	0.0035
T2	0.0035	-----

Tabla de contingencia mostrando las comparaciones estadísticas (prueba a posteriori de Tukey) para los tratamientos cuya variable fué la ración alimenticia con una densidad de 2 larvas/ml (E3) ; estos datos pertenecen a la evaluación del día nueve de cultivo. Arriba a la derecha se presentan los resultados de la TIS, y abajo a la izquierda los de la TNS.

	T1	T2
T1	-----	0.0063
T2	0.0063	-----

Tabla de contingencia mostrando las comparaciones estadísticas (prueba a posteriori de Tukey) para los tratamientos cuya variable fué la ración alimenticia con una densidad de 4 larvas/ml (E4) ; estos datos pertenecen a la evaluación del día nueve de cultivo. Arriba a la derecha se presentan los resultados de la TIS, y abajo a la izquierda los de la TNS.

	T1	T2
T1	-----	0.0063
T2	0.0063	-----

Tabla de contingencia mostrando las comparaciones estadísticas (prueba a posteriori de Tukey) para los tratamientos cuya variable fué la ración alimenticia con una densidad de 4 larvas/ml (E4); estos datos pertenecen a la evaluación del día veintitrés de cultivo. Arriba a la derecha se presentan los resultados de la TIS, y abajo a la izquierda los de la TNS.

	T1	T2
T1	-----	0.0035
T2	0.0035	-----