

Producción de juveniles de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* (Echinodermata: Echinoidea) en Baja California, México

Salas-Garza, A., E. Carpizo-Ituarte, G. Parés-Sierra, R. Martínez-López
& R. Quintana-Rodríguez

Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Universidad Autónoma de Baja California, Apdo. Postal 453, Km 103, Carretera Tijuana-Ensenada, Unidad Universitaria Ensenada, B.C. México; asalas@uabc.mx; ecarpizo@uabc.mx; gsierra@uabc.mx; rquintana@agcenter.lsu.edu

Recibido 14-VI-2004. Corregido 09-XII-2004. Aceptado 17-V-2005.

Abstract: Juvenile production of the red sea urchin *Strongylocentrotus franciscanus* (Echinodermata: Echinoidea) in Baja California, Mexico. The red sea urchin *Strongylocentrotus franciscanus* (Agassiz 1863) is harvested commercially in Baja California, Mexico, since 1970; however, in the last ten years the capture per unit effort (CPUE) has decreased from 310 kg/fishing unit/day to 120 kg/fishing unit/day. For this reason, actions were taken to develop a culture technology allowing massive production of juveniles for re-stocking natural populations or for growing them commercially. We summarize some of the basic studies and main achievements in this effort. In Baja California, considerably faster larval development (~21 days) has been attained than in the US northwest coast (62 days). Spawning of red sea urchins was routinely induced with KCl while egg fertilization was performed using a 100 000-sperm/ml solution. Six microalgae species were tested and *Rhodomonas* sp. produced the best larval development. The mean survival rate at the end of the larval period was 25%, but results varied widely with batch. From the feed ratios tested, best results were obtained using 7 000 cel/ml during the first week of larval development, followed by 10 000 cel/ml during the second and 15 000 cel/ml during the third week. KCl proved the most consistent metamorphic inducer, regularly yielding metamorphosis percentages higher than 90%. Metamorphosis was considered complete when the functional jaw that juveniles use for first benthic feeding appeared (as soon as 20 days after induction). With this method several thousands of red sea urchin juveniles were produced. They reached up to 1.5 mm in size during the first 50 days of culture after metamorphosis, showing the great potential for mass production of this species in the laboratory. Rev. Biol. Trop. 53(Suppl. 3): 345-355. Epub 2006 Jan 30.

Key words: Red sea urchin, metamorphosis, larval development, KCl, *Strongylocentrotus franciscanus*.

La distribución geográfica del erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* (Agassiz, 1863) comprende desde Alaska, EUA hasta Isla de Cedros, en Baja California, México (Ebert 1968). Esta especie se encuentra en sustratos rocosos desde la zona intermareal hasta 50 m de profundidad, en lugares con corrientes moderadamente fuertes, aunque algunos organismos se han encontrado hasta los 125 m (Kato y Schroeter 1985). Los erizos se alimentan principalmente de algas verdes, rojas y pardas. En su estado adulto consumen principalmente el alga parda *Macrocystis pyrifera* comúnmente conocida como “Kelp”

(Tegner y Dayton 1977, Vadas 1977, Dayton y Tegner 1984), la cual es muy abundante en la región. En Baja California, México, la pesquería del erizo rojo se inició a principios de los años setenta y representa la actividad de pesca ribereña más importante. En ella se emplean aproximadamente 1 900 personas y genera más de 5 millones de dólares (EUA) por temporada de pesca, según datos de la SEMARNAT (Palleiro-Nayar *et al.* 2003). La producción máxima en la década de los 80's rebasó las 6 000 toneladas de peso fresco total (incluye todo el erizo); sin embargo, en la actualidad la pesquería está regida por normativas y la cuota

de captura puede variar cada año. En 1980, en las cuatro zonas de pesca en Baja California, la densidad varió entre 6.4 y 8.0 erizos/m² y en el 2002 entre 0.8 y 1.9 erizos/m² (Salgado-Rogel *et al.* 2003).

En 1988, la captura por unidad de esfuerzo (CPUE) registró por equipo de pesca una cantidad de 350 kg/equipo/día. A pesar de las normativas existentes a partir de 1987, la CPUE ha disminuido sensiblemente y llegó a ser menor a 103 kg/equipo/día en la temporada 2001-2002. Por ello se ha considerado a esta pesquería en deterioro. En los últimos años la captura es de aproximadamente 1 900 ton (Palleiro-Nayar *et al.* 2003). La problemática de este recurso motivó a investigadores del Instituto de Investigaciones Oceanológicas (IIO) de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC), México, a realizar investigaciones cuyo objetivo principal fue el desarrollo de biotecnologías para el cultivo del recurso. Las investigaciones realizadas en el Laboratorio de Biología del Desarrollo de Organismos Marinos han abordado aspectos importantes para la producción de juveniles de erizo en el laboratorio, como condiciones óptimas para la fertilización de gametos, sistemas de cultivo, alimentación y manejo de larvas, así como estudios sobre técnicas confiables de inducción a la metamorfosis y la aplicación de distintos inductores para promover la misma, ya que es una de las etapas más críticas durante el desarrollo del erizo. Asimismo, se han probado con éxito en erizos de tan solo 2 mm, algunas dietas formuladas que se comercializan para otros animales y que son de bajo costo. El presente trabajo, presenta en forma resumida, los resultados en el desarrollo de las técnicas acuaculturales para la obtención de juveniles de erizo rojo *S. franciscanus* en condiciones de laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolecta de reproductores: Organismos adultos de erizo rojo de mar *Strongylocentrotus franciscanus* son recolectados en forma regular en la costa de Baja California durante los

meses de octubre a marzo, que corresponden al periodo de otoño invierno en el hemisferio Norte. Los organismos se colectaron por medio de buceo autónomo o en colaboración con las organizaciones locales que se dedican a explotar el recurso.

Los reproductores fueron transportados en húmedo al laboratorio, en donde se mantuvieron en tanques circulares de 200 l, con aireación y flujo de agua constante de 1 l/min, para luego ser utilizados para desoves periódicos durante la temporada.

Inducción al desove: Los desoves fueron inducidos en adultos mayores de 8.0 cm, mediante una inyección salina de cloruro de potasio (KCl) a una concentración de 0.55 M en la parte oral del erizo introduciendo la aguja entre la mandíbula y la testa (Hinegardner 1975, Strathmann 1987). Se aplicaron 2-3 ml dependiendo del tamaño del reproductor. Los organismos inyectados se colocaron con la parte oral hacia arriba, en recipientes con agua de mar filtrada hasta 1 µm e irradiada con luz UV. Les tomó a los organismos de uno a dos minutos para iniciar la expulsión de gametos, que por medio de su coloración se puede precisar el sexo. Los óvulos son de un color amarillo y granuloso en apariencia, en contraste con los espermatozoides que se observan de color blanquecino. Normalmente, se realizan pruebas de fertilización con el producto del desove antes de proceder a realizar una fertilización masiva. Estas pruebas se realizan en portaobjetos, en donde se verifica la presencia de la membrana de fertilización como criterio de fertilización. La verificación fue necesaria, ya que la inducción al desove con KCl provoca contracciones musculares que promueven la expulsión de los gametos sin que necesariamente estos se encuentren maduros. Los óvulos viables se filtraron a través de un tamiz de 160 µm de luz de malla.

Fertilización: En los inicios de la experiencia para desarrollar el cultivo de *S. franciscanus* en el IIO-UABC, se realizó un experimento para evaluar la concentración de

espermatozoides adecuada durante la fertilización. Se utilizó un diseño central compuesto de segundo grado (Montgomery 1976). El diseño experimental consistió de cuatro puntos factoriales, cuatro puntos axiales o estrella y cinco puntos centrales para las concentraciones de óvulos y espermatozoides y las diferencias estadísticas entre tratamientos se estimaron utilizando Análisis de Varianza (ANOVA). El experimento se realizó en frascos de vidrio de 100 ml de capacidad, donde se trabajó con un volumen de 80 ml de agua de mar filtrada hasta 1 μm e irradiada con luz ultravioleta (UV). Las concentraciones experimentales de óvulos se obtuvieron con diluciones en agua de mar, de la solución concentrada de óvulos. Una vez obtenida la concentración requerida, se vació directamente a la unidad experimental hasta obtener el volumen de 80 ml. Las concentraciones de espermatozoides se obtuvieron de la solución concentrada, con ayuda de un hematocitómetro de 0.1 mm de profundidad. De esta solución se tomaron las alícuotas correspondientes a las diferentes concentraciones de espermatozoides, las cuales se agregaron directamente a cada una de las unidades experimentales que contenían los óvulos, y se efectuó la fertilización. Las concentraciones de espermatozoides que se utilizaron en el experimento fueron desde 10 hasta 5×10^6 espermatozoides/ml y de óvulos desde 10 hasta 1 000 óvulos/ml. Las condiciones experimentales se presentan en el Cuadro 1.

Después de 15 min de iniciado el contacto de los gametos, se enjuagaron los óvulos en un tamiz de 22 μm , para eliminar el exceso de espermatozoides. El experimento se mantuvo en un cuarto frío a una temperatura controlada de 14 $^{\circ}\text{C}$. La evaluación del porcentaje de fertilización se realizó 48 horas después. Se agregaron cinco gotas de formalina a cada unidad experimental para detener el desarrollo larvario y facilitar el conteo. Se homogenizó cada contenido con una pipeta Pasteur y se tomaron tres muestras independientes hasta completar 100 organismos, en las cuales se registró el número de larvas normales, anormales y óvulos sin fertilizar.

CUADRO 1

Relación de concentraciones de espermatozoide/óvulo utilizadas para evaluar el efecto de la concentración de espermatozoides en la fertilización de óvulos del erizo rojo Strongylocentrotus franciscanus. Cada fila en el cuadro representa una combinación espermatozoide/óvulo que se probó para evaluar el efecto de la concentración de espermatozoides. Las combinaciones espermatozoide/óvulo se determinaron con base en un diseño de superficies de respuesta, en donde las primeras cuatro combinaciones y las cuatro últimas representan valores factoriales, y las cinco combinaciones intermedias que se repiten representan valores centrales de acuerdo al modelo.

TABLE 1

Proportion sperm/ovocyte used to test the effect of sperm concentration on fertilization of ovocytes of the red sea urchin Strongylocentrotus franciscanus. Each column represents the sperm/oocyte used to test the effect of sperm concentration. The sperm/oocyte combinations were determined based on a response-surface experimental design, where the first and last four combinations represents the factorial values and the repetitive five intermediate combinations represent central values according to the model.

Espermas/ml	Óvulos/ml
731 958	138
731 958	852
4 268 032	138
4 268 032	852
2 449 995	495
2 449 995	495
2 449 995	495
2 449 995	495
2 499 995	495
2 499 995	495
5 000 000	495
10	495
2 449 995	1 000
2 449 995	10

Desarrollo larvario: El desarrollo larvario del erizo rojo *S. franciscanus* se documentó en las condiciones locales del laboratorio de Biología del Desarrollo del IIO-UABC (Cuadro 2). El desarrollo se realizó durante el invierno a

CUADRO 2

Desarrollo larvario del erizo rojo Strongylocentrotus franciscanus alimentado con diferentes microalgas a una ración de 5 000 cel/ml

TABLE 2

Larval development of the red sea urchin Strongylocentrotus franciscanus fed with different microalgae at a 5 0000 cell/ml ratio)

Réplicas	Larvas/ml	Microalga	Estadio de Desarrollo	Días de cultivo	Sobrevivencia (%)
3	0.5	<i>Chaetoceros</i> sp.	Equinopluteus 4 brazos	7	0
3	0.5	<i>Isochrysis galbana</i> y <i>Monochrysis</i> sp.	Equinopluteus 6 brazos	10	0
3	0.5	<i>Chaetoceros</i> sp., <i>Isochrysis galbana</i> <i>Monochrysis</i> sp.	Equinopluteus 6 brazos	10	0
3	0.5	<i>Tetraselmis</i> sp.	Equinopluteus 4 brazos	7	0
3	0.5	<i>Dunaliella</i> sp. y <i>Monochrysis</i> sp.	Equinopluteus 6 brazos	12	0
3	0.5	<i>Rhodomonas</i> sp.	Larva competente	21	12

temperaturas que oscilaron entre 16 y 18 °C. La variación de temperatura fue consecuencia de las oscilaciones diurnas que experimentaron los recipientes de cultivo en el laboratorio.

A lo largo de los últimos 10 años se han probado densidades de larva durante el cultivo que oscilaron entre 0.5 y 3.2 larvas/ml como se muestra en el Cuadro 3. El cultivo masivo de larvas se llevó a cabo en recipientes cónicos de fibra de vidrio con 45-100 l de capacidad, con un tubo de aireación al centro (Fig. 1). Estos recipientes son una modificación implementada en el laboratorio por A. Salas-Garza como resultado de observaciones en los métodos de cultivo utilizados en Chile. El aire que se proporciona al recipiente permite mantener las larvas en suspensión, ya que tienden a depositarse en el fondo. El agua de mar utilizada durante el cultivo larvario se filtra hasta 1 µm a través de filtros tipo Cuno® y es irradiada con luz UV. El trabajo rutinario durante la fase larvaria incluye recambios de agua del 50% cada tercer día y 100% cada 7 días.

Evaluación de microalgas como alimento de larvas: Con el objetivo de evaluar la calidad de diferentes microalgas como fuente de alimento para las larvas de *S. franciscanus*, se probaron en recipientes de 18 l y por triplicado; *Chaetoceros* sp., *Isochrysis galbana*, *Dunaliella* sp., *Monochrysis* sp. y *Rhodomonas* sp. Cultivos monoespecíficos de estas microalgas con el medio F/2 de Guillard, fueron proporcionados por el laboratorio de producción de microalgas del IIO-UABC. Cuando se utilizaron dietas mixtas se suministraron proporcionalmente con relación al número de células. La densidad microalgal fue de 5000 cel/ml diarias hasta que las larvas alcanzaron el estadio de competencia. Las condiciones experimentales para cada condición de alimento se resumen en el Cuadro 3. La evaluación de la sobrevivencia de las larvas para cada tratamiento se realizó semanalmente. Se filtró el agua de cada recipiente a través de una serie de tamices de 70, 160 y 300 µm de luz de malla, de acuerdo con el tamaño de la larva. El concentrado de



Fig. 1. Tanques cónicos de 45 l (A) utilizados para el cultivo de larvas de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus*. Se puede apreciar el tubo de PVC de ¼ de pulgada (B) que provee de aireación al tanque, y en la parte superior la llave de paso que permite regular el flujo de aire (C).

Fig. 1. Forty five liter conic tanks (A) used for culturing the larvae of the red sea urchin *Strongylocentrotus franciscanus*. The PVC ¼ inch tube (B) in the picture provide air to the culture and the valve at the top of the tube (C), allows for the regulation of the amount of air.

larva se homogenizó y se tomaron al menos 5 muestras de volumen conocido para extrapolar el promedio al volumen total y determinar el número de larvas en cada ocasión.

Una vez seleccionada *Rhodomonas* sp. como alimento se procedió a realizar un experimento para proporcionar por triplicado y en recipientes de 18 l, tres raciones alimenticias; 2 500 cel/ml, 5 000 cel/ml y 7 500 cel/ml y evaluar la sobrevivencia de las larvas. Posteriormente, se incrementaron las raciones en un experimento igual. Las concentraciones de *Rhodomonas* sp. en la primera semana fueron de 5 000 cel/ml, la segunda de 10 000 cel/ml y la última de 15 000 cel/ml.

Inducción a la metamorfosis: Una vez que las larvas de *S. franciscanus* alcanzan el estadio de competencia, se utilizan diversos inductores artificiales y naturales para promover la metamorfosis. Los utilizados hasta el momento con esta especie son películas de diatomeas bentónicas, y el KCl. Los experimentos se llevaron a cabo en cajas de pozos múltiples (Falcon, Non-Tissue Culture Treated Plate. Multiwell-polystyrene, No. Cat. 351146) o cubetas plásticas de 2 l de capacidad, en donde se pusieron a prueba un rango de concentraciones de los compuestos inductores. La evaluación de estos experimentos se realizó a las 24 horas cuantificando la presencia de postlarvas. Éstas, son fácilmente distinguibles por la presencia característica de la morfología juvenil, que se destaca por la testa incipiente, la presencia de espinas y pies ambulacrales (Carpizo-Ituarte *et al.* 2002).

Crecimiento de postlarvas y juveniles:

La densidad inicial de postlarvas de erizo inicial en el tanque de cultivo es de 0.5-1.0 /cm². Se mantienen en tanques de fibra de vidrio con fondo en “V” de poca pendiente, de 1 m (ancho) x 2.5 m (largo) x 0.2 m (profundidad), con un volumen de 150 l. Los tanques son inoculados previamente con diatomeas bentónicas que sirven de alimento para los juveniles. El tanque se mantiene con agua filtrada a 1 µm, aireación y luz permanente. Las películas de diatomeas forman una capa homogénea para el momento en que los erizos pueden alimentarse. Cada semana se realiza un cambio de agua del 100% y una limpieza con agua filtrada a 1 µm e irradiada con UV, con baja presión. Los erizos que se desprenden son recuperados con un tamiz en la salida de agua del tanque.

Por otra parte, para determinar el tiempo de metamorfosis que transcurre desde su inducción hasta que su mandíbula emerge y es funcional, y el erizo se considera un juvenil, se seleccionaron al azar cada tercer día 20 erizos y se observaron en un microscopio compuesto para determinar si la membrana aún estaba presente o ya la mandíbula estaba expuesta.

CUADRO 3

Condiciones experimentales del cultivo de larvas del erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* a densidades de 1.6 y 3.2 larvas/ml. Las condiciones experimentales se realizaron por triplicado en tanques de 45 l de capacidad

TABLE 3

Experimental conditions for culturing larvae of the red sea urchin *Strongylocentrotus franciscanus* at densities of 1.6 and 3.2 larvae/ml. Experimental conditions included three replicates/treatment

Variable	Condición del cultivo	
No. inicial de larvas/ml	3.2	1.6
Suministro de alimento	diario	diario
Ración alimenticia 1 ^{era} semana	5 000	5 000
Ración alimenticia 3 ^{era} semana	10 000	10 000
Recambio de agua	cada 3 ^{er} día	cada 3 ^{er} día

Después de un mes, se deja un flujo abierto continuo a través de un filtro de 30 – 50 µm de manera que se renueve el agua del tanque al menos 4-5 veces al día. Si el pastoreo de los erizos es grande se pueden incorporar nutrientes al sistema y suspender el flujo por unas horas o reducirlo por 24 horas pero manteniendo la aireación, y así promover el crecimiento microalgal.

RESULTADOS

Desove y fertilización: Se obtuvieron altos porcentajes de fertilización, mayores al 90% en intervalos de óvulos desde 138 hasta 852 óvulos/ml y espermatozoides de 7.3×10^5 a $4,3 \times 10^6$ por mililitro. En el segundo experimento se evaluó únicamente el efecto de la concentración de espermatozoides en el porcentaje de fertilización. Se probaron de 10^4 hasta 10^7 espermatozoides/ml (Fig. 2). El porcentaje de fertilización aumentó de manera directa con la concentración de espermatozoides hasta obtener valores muy cercanos al 100% a partir de

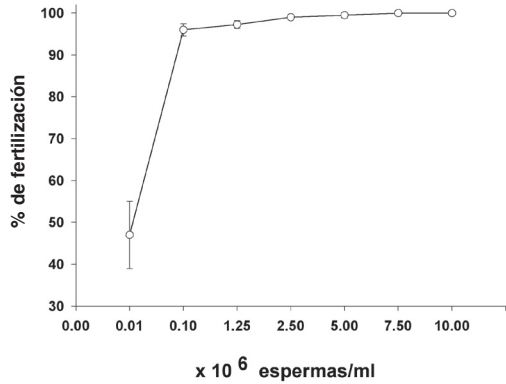


Fig. 2. Porcentaje de fertilización de ovocitos de *Strongylocentrotus franciscanus* en función de la concentración de espermatozoides. Cada punto representa el promedio de tres replicas ± error estándar.

Fig. 2. Percentage of fertilization of oocytes of *Strongylocentrotus franciscanus* as a function of sperm concentration. Each point represents the average of three replicates ± standard error.

concentraciones de 50 000 espermatozoides/ml sin aparecer larvas anormales.

Desarrollo larvario: Las larvas de *S. franciscanus* alcanzaron el desarrollo larvario completo hasta llegar al estadio de competencia en un periodo de 18 a 21 días. Al iniciar la tercera semana, la larva tiene ocho brazos, y es cuando se observó la presencia y desarrollo del rudimento juvenil. El estadio de competencia de la larva puede ser identificado por la presencia de cuatro pies ambulacrales que se prolongan del cuerpo de la larva y pueden adherirse al sustrato. La larva presentó un comportamiento alternado de nadar y explorar el sustrato. Además se observa la ocupación completa del rudimento en el cuerpo de la larva (sin incluir los brazos).

Alimentación larvaria: El régimen alimenticio con la mayor concentración de microalgas fue el que proporcionó la mayor sobrevivencia larvaria, equivalente al 26% al término de los 21 días de desarrollo larvario. Éste regimen alimenticio, inició con

7 000 cel/ml, luego a 10 000 cel/ml durante la segunda semana y 15 000 cel/ml en la tercera y última semana (Fig. 3) (Cuadro 4). Con el régimen de concentraciones microalgales intermedias, el cual inició con 5 000 cel/ml, se obtuvo una sobrevivencia larval del 19%. Por último, un régimen con concentraciones microalgales más bajas, proporcionó valores de sobrevivencia larval del 12%.

Durante el desarrollo larvario, se realizaron recambios de agua del 50-70% cada dos días y se lavaron los tanques de cultivo semanalmente. Sin embargo se ha observado que al iniciarse la tercer semana de cultivo, cuando la larva tiene ocho brazos, los tanques de cultivo se ensucian más y se observa la acumulación de materia orgánica en el fondo y las paredes del tanque, por lo que los cambios de agua son del 70 al 90% diariamente y se lavan dos veces durante este tiempo.

Sobrevivencia larvaria: Durante todo el cultivo a una densidad de 1.6 larvas/ml, el porcentaje de sobrevivencia durante el desarrollo larvario presentó las valores mas altos y al término del desarrollo, a los 21 días, la sobrevivencia fue de 14.6% (Fig. 4). Este porcentaje de supervivencia fue significativamente diferente al 5.6% (ANOVA, $p < 0.05$), que resultó ser el menor obtenido con la densidad larval mayor.

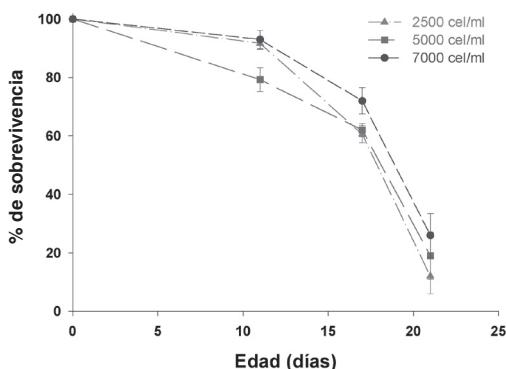


Fig. 3. Sobrevivencia de larvas de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* alimentadas con diferentes raciones de *Rhodomonas* sp. Cada punto representa el promedio de tres replicas \pm error estándar.

Fig. 3. Survival of larvae of the red sea urchin *Strongylocentrotus franciscanus* fed with different ratios of *Rhodomonas* sp. Each point represents the average of three replicates \pm standard error.

Inducción a la metamorfosis: La inducción a la metamorfosis se llevó a cabo con diatomeas bentónicas y KCl. Los mejores resultados se han obtenido de manera permanente con KCl. Más del 90% de la larva es inducida a la metamorfosis a una concentración de 1×10^{-1} M de KCl y una exposición de 15 min, después de la

CUADRO 4

Condiciones experimentales del cultivo de larvas de erizo rojo Strongylocentrotus franciscanus a las cuales se les suministraron tres raciones de Rhodomonas sp. Las condiciones experimentales se realizaron por triplicado

TABLE 4

Experimental conditions for culturing of larvae of the red sea urchin Strongylocentrotus franciscanus fed with three ratios of Rhodomonas sp. Experimental conditions included three replicates/treatment

Variable	Condiciones del cultivo		
Ración de alimento 1ª semana de cultivo	3 000 cel/ml	5 000 cel/ml	7 000 cel/ml
Ración de alimento 3ª semana de cultivo	6 000 cel/ml	10 000 cel/ml	14 000 cel/ml
Suministro de alimento	diario	diario	diario
No. inicial larvas/ml	1.4	1.4	1.4
Recambio de agua	Cada 3er día	Cada 3er día	Cada 3er día

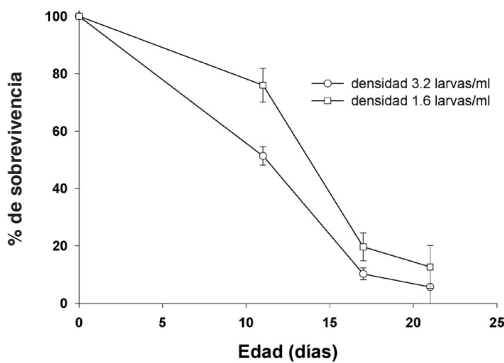


Fig. 4. Sobrevivencia de larvas de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* durante el periodo larvario, cultivadas a dos densidades. Cada punto representa el promedio de tres réplicas \pm error estándar.

Fig. 4. Survival of the larvae of the red sea urchin *Strongylocentrotus franciscanus* during the larval period cultured at two different densities. Each point represents the average of three replicates \pm standard error.

cual, las larvas son transferidas a agua de mar filtrada en donde completaron la metamorfosis.

Los primeros juveniles con mandíbula funcional se observaron a los siete días después de inducida la metamorfosis. Sin embargo, después de 20 días solamente el 70% había concluido la metamorfosis con una mandíbula funcional. Se puede observar una membrana epitelial pigmentada en la parte oral que recubre temporalmente su boca y por donde emergerá la mandíbula del juvenil. Cuando su mandíbula es funcional, el juvenil inicia su alimentación bentónica, que consiste principalmente en diatomeas bentónicas y las bacterias asociadas.

Cultivo de poslarvas y juveniles: El cultivo de postlarvas se ha realizado en tanques de fibra de vidrio y se están implementando sistemas de placas como se utilizan en el cultivo de poslarvas de abulón. Próximamente se evaluará la eficiencia con esta técnica de producción, que es la que se aplica actualmente en la producción de juveniles de erizo en Japón y Chile,

como lo reportan Bustos y Olave (2001) para este último país.

Con la metodología descrita, se han logrado producir en el laboratorio de Biología del Desarrollo de Organismos Marinos del IIO-UABC varios miles de juveniles del erizo *S. franciscanus*, los cuales en 50 días han alcanzado una longitud promedio de 1.5 mm y se han mantenido por más de un año, generando información sobre su crecimiento en condiciones de laboratorio.

DISCUSIÓN

La concentración de espermatozoides fue el factor de mayor efecto en el porcentaje de fertilización. Levitan *et al.* (1991) reportan que el porcentaje de fertilización disminuyó de un 100% a casi un 30% cuando la concentración varió de 1×10^5 espermatozoides/ml hasta 1×10^3 espermatozoides/ml. Pennington (1985) encontró que en *S. droebachiensis*, solo en suspensiones densas mayores a 1×10^6 espermatozoides/ml se obtuvieron altos porcentajes de fertilización y ésta disminuyó gradualmente al disminuir la concentración de espermatozoides. La concentración óptima de óvulo/espermatozoides para la fertilización de *S. franciscanus* se considera de 1:50 000-100 000 (Quintana 1999). Algunas veces al ocurrir la penetración de más de un espermatozoide en un óvulo, este último es incapaz de desarrollar una blástula normal, sin embargo, en esta especie se pueden utilizar concentraciones de espermatozoides hasta 10 veces mayores, (de 1×10^6 hasta 1×10^7) sin problemas de poliespermia.

El tiempo de desarrollo larvario de 18-21 días que requiere *S. franciscanus* en Baja California, representa una ventaja para la acuicultura y la biotecnología de producción de juveniles, ya que el tiempo es considerablemente menor al alcanzado en latitudes mayores en California, 40 días a una temperatura de 12°C (Cameron y Schroeder 1980) y 31 días a 13-15°C (Miller y Emler 1999), pero equivalente a lo reportado por Rogers-Bennett *et al.* (1994) que es de 23 días. El tiempo de

desarrollo es importante porque el cultivo requiere de espacio, agua, alimento y mantenimiento, por lo que se hace más costosa la producción de juveniles.

La larva durante su desarrollo llega prácticamente a duplicar su tamaño y debido al incremento en su número de brazos parece ser más eficiente en su alimentación. El suministrar la microalga *Rhodomonas* sp. como único alimento proporciona buenos resultados y facilita su mantenimiento en comparación al suministro de dos especies de microalgas. Estudios iniciales sobre la razón de filtración de las larvas de *S. franciscanus* mostraron que la mayor parte de las microalgas proporcionadas se consumen durante las primeras 4 hrs (Reyes-Rosales 2002). Actualmente se trabaja en el laboratorio de manera rutinaria con los cultivos de larvas durante 18 días a una temperatura de 19°C, suministrando las concentraciones más altas de alimento a base de *Rhodomonas* sp. Las concentraciones utilizadas corresponden a cantidades de 7 000 cel/ml durante la primera semana de cultivo y hasta 15 000 cel/ml durante la tercera semana (Cuadro 4).

Durante los años de experiencia, se han logrado sobrevivencias hasta del 80% al término de la segunda semana de cultivo larvario, sin embargo la mayor mortalidad ocurre durante la última semana, la cual es la más crítica para las larvas. El mantenimiento debe de ser más intenso y el manejo más cuidadoso. Actualmente a una densidad inicial de 2 larvas/ml, se han logrado sobrevivencias al final del desarrollo larvario hasta del 40-50%, sin embargo la sobrevivencia promedio es del 20%, la cual se considera todavía baja. En Chile, con *Loxechinus albus* se ha logrado una sobrevivencia promedio del 40% a escala comercial en tanques de 1000 litros (Bustos y Olave 2001). Sin embargo, al parecer la larva de esa especie es buena nadadora, y por lo tanto resulta menos probable que se contamine con las bacterias que se generan en el fondo del recipiente de cultivo, producto de la degradación de las larvas muertas y los restos de alimento. Además, las temperaturas de cultivo en Chile son menores y con esto se reducen las posibilidades de

infección. Las larvas de *S. franciscanus* no se mantienen nadando en la columna de agua; particularmente durante la última semana de desarrollo permanecen cerca del fondo ya que el rudimento está muy desarrollado e incorpora un gran peso a la larva y dificulta su flotación. Desde el inicio de su cultivo se le proporciona una aireación constante proveniente del fondo del tanque, lo cual les facilita que se mantengan en la columna de agua.

La inducción a la metamorfosis mediante la utilización del KCl resultó ser el método más confiable y confirma la gran utilidad que ha tendido el KCl como método artificial para inducir a la metamorfosis a gran variedad de larvas de diferentes grupos de invertebrados marinos entre los que se incluyen anélidos (poliquetos) (Yool *et al.* 1986, Carpizo-Ituarte y Hadfield 1998), gasterópodos (Baloun y Morse 1984, Yool *et al.* 1986, Todd *et al.* 1991, Hadfield *et al.* 2000) un braquiópodo (Freeman 1993), briozoarios (Wendt y Woollacott 1995) y diversos equinodermos (Cameron *et al.* 1989, Pearce y Scheibling 1994, Carpizo-Ituarte *et al.* 2002). La respuesta es sincrónica en casi toda la larva de erizo (Carpizo-Ituarte *et al.* 2002). La sincronía favorece el manejo de la postlarva, ya que en un tiempo muy corto se obtiene una respuesta casi simultánea de las larvas inducidas y se favorece un crecimiento homogéneo de las postlarvas. En contraste con diatomeas bentónicas la respuesta es más variable y más lenta, en ocasiones puede tardar hasta tres días para que haya una respuesta de la larva.

El erizo recién metamorfozado adquiere su apariencia juvenil en unas cuantas horas y de 24 a 48 horas la mayor parte de la población inducida a la metamorfosis presenta la forma característica del adulto. Lo anterior corresponde con lo descrito por Miller y Emler (1999) quienes mencionan que durante el proceso de metamorfosis el erizo en 24-48 horas se presenta como un pequeño erizo adulto, con menor número y tipo de espinas en su parte dorsal y el resto de la testa. Por otra parte Rogers-Bennett *et al.* (1994) reportan que fue hasta 80 días después de haber iniciado la metamorfosis que emergió la mandíbula; sin embargo, la mayoría

de los organismos ya habían muerto antes de lograr tener una mandíbula funcional capaz de raspar el sustrato. Lo anterior difiere de los resultados del presente trabajo, en donde en 20 días el 70% de los organismos ya presentaban una mandíbula funcional y una alta sobrevivencia.

Aunque se han tenido avances significativos en el desarrollo de la biotecnología para la producción de juveniles, aún es necesario mejorar las tasas de sobrevivencia en el cultivo de las larvas, principalmente durante la última semana del desarrollo larvario. De igual forma, es necesario mejorar las condiciones del cultivo de las poslarvas, así como conocer mejor su bioenergética para poder entender el proceso de metamorfosis en el cual la mortalidad sigue siendo crítica. Actualmente se llevan a cabo en el mismo laboratorio, experimentos para entender los mecanismos que regulan la inducción a la metamorfosis. La biotecnología de producción permitirá una producción masiva de juveniles de erizo y será el punto de partida para establecer programas de repoblación de bancos sobreexplotados y proyectos de cultivo de erizo. Avances muy similares se han obtenido en el Laboratorio de Biología del Desarrollo del IIO-UABC con el erizo morado *S. purpuratus* y con *Lytechinus pictus*, esta última especie sin importancia comercial en Baja California.

AGRADECIMIENTOS

Los Autores agradecen al grupo de estudiantes y personal técnico del Laboratorio de Biología del Desarrollo del IIO de la UABC durante el cuidado y producción de larvas de erizo rojo.

RESUMEN

El erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* (Agassiz, 1863) es un recurso que se captura comercialmente en Baja California, México desde 1970, sin embargo la captura por unidad de esfuerzo (CPUE) a disminuido de 310 kg a 120 kg/equipo/día, en los últimos diez años. Por esta razón se han realizado estudios para desarrollar una biotecnología que permita producir juveniles a escala

masiva, para implementar programas de repoblación y cultivos comerciales. Se presentan algunos de los estudios básicos que muestran una parte de los avances logrados en este campo. El desarrollo larvario del erizo rojo en Baja California, tiene un desarrollo considerablemente más rápido, de 21 días, en comparación con los estados del Noroeste de los E.U.A., donde se reportan hasta 62 días. Su desove se induce con KCl de manera rutinaria y su fertilización a una proporción de 100 000 espermatozoides/ml. De seis microalgas evaluadas como alimento, *Rhodomonas* sp. proporcionó un desarrollo completo de las larvas y una sobrevivencia promedio del 25% al final de su desarrollo, sin embargo existe una gran variabilidad en este resultado. De las raciones alimenticias probadas, mejores resultados se obtuvieron al suministrar 7 000 cel/ml la primera semana, 10 000 cel/ml la segunda y 15 000 cel/ml la tercera. De los inductores a la metamorfosis fue el KCL el que proporcionó los mayores porcentajes de metamorfosis, y estos fueron superiores al 90%. La metamorfosis se completó en aproximadamente 20 días a partir de la inducción, la cual concluyó cuando la mandíbula era funcional y los juveniles iniciaron su primera alimentación como parte de su vida bentónica. Con esta metodología se ha logrado producir varios miles de juveniles de erizo rojo, que en experiencias iniciales han alcanzado hasta 1.5 mm durante los primeros 50 días de cultivo postmetamorfosis, mostrando su factibilidad de producción masiva.

Palabras claves: Erizo de mar rojo, metamorfosis, desarrollo larvario, KCL, *Strongylocentrotus franciscanus*.

REFERENCIAS

- Baloun, A.J. & D.E. Morse. 1984. Ionic control of settlement and metamorphosis in larval *Haliotis rufescens* (Gastropoda). Biol. Bull. 167: 124-138
- Bustos, E. & S. Olave. 2001. Manual: Sea Urchin Culture (*Loxechinus albus*). Project "Diversification of Aquaculture in the X Region" FONDEF D96 I 1101 Aquaculture Division. Instituto de Fomento Pesquero. 23 p.
- Cameron, R.A. & S.C. Schroeter. 1980. Sea urchin recruitment; effect of substrate selection on juveniles distribution. Mar. Ecol. Prog. Ser. 2:243-247.
- Cameron, R.A., Tosteson T.R. & Hensley V. 1989. The control of sea urchin metamorphosis: ionic effects. Dev. Growth Differ. 31: 589-594.
- Carpizo-Ituarte E. & M.G. Hadfield. 1998. Stimulation of metamorphosis in the polychaete *Hydroides elegans*, Haswell. Biol. Bull. 194: 14-24.
- Carpizo-Ituarte, E., A. Salas-Garza & G. Parés-Sierra. 2002. Inducción de la metamorfosis con KCl en tres

- especies de erizos de mar y sus implicaciones en la producción de juveniles. *Cien. Mar.* 28: 157-166.
- Dayton, P.K. & M.J. Tegner. 1984. The importance of scale in community ecology: a kelp forest example with terrestrial analogs, p. 457-481. *In* W.O Price (ed.). *A New Ecology: Novel approaches to interactive systems*. Wiley, Nueva York.
- Ebert, T.A. 1968. Growth rates of the sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus* related to food availability and spine abrasion. *Ecology* 49: 1075-1091.
- Freeman, G. 1993. Metamorphosis in the brachiopod *Terebratalia*: evidence for a role of calcium channel function and the dissociation of shell formation from settlement. *Biol. Bull.* 184: 15-24.
- Hadfield, M.G., E.A. Meleshkevitch & D.Y. Boudko. 2000. The apical sensory organ of a gastropod veliger is a receptor for settlement cues. *Biol. Bull.* 198: 67-76.
- Hinegardner, R. 1975. Care and Handling of sea urchin eggs, embryos and adults (principally north american species), p. 10-25. *In* G. Czihak (ed.). *The Sea Urchin Embryo, biochemistry and morphogenesis*. Springer-Verlag, Berlin.
- Kato, S. & C. Schroeter. 1985. Biology of the sea urchin *Strongylocentrotus franciscanus* and its fishery in California. *Mar. Fish. Rev.* 47: 1-20
- Levitán, D.R., M.A. Sewell & F.S. Chia. 1991. Kinetics of fertilization in the sea Urchin *Strongylocentrotus franciscanus*: Interaction of gamete dilution, age, and contact time. *Biol. Bull.* 181:371-378.
- Miller, B.A. & R.B. Emler. 1999 Development of newly metamorphosed juvenile sea urchins (*Strongylocentrotus franciscanus* and *S. purpuratus*): morphology, the effects of temperature and larval food ration, and a method of determining age. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 235: 67-90.
- Montgomery, D.C. 1976. *Design and Analysis of Experiments*. Wiley, Nueva York 418 p.
- Palleiro-Nayar, J., M.L. Salgado-Rogel, D. Aguilar-Montero & M. Romero-Martínez. 2003. Análisis de la pesquería del erizo rojo (*Strongylocentrotus franciscanus*) en la costa noroccidental de Baja California, México. *J. INPesc* 1: 40-45.
- Pearce, C.M. & R.E. Scheibling 1994. Induction of metamorphosis of larval echinoids (*Strongylocentrotus droebachiensis* and *Echinarachnius parma*) by potassium chloride (KCl). *Invert. Rep. Dev.* 26: 213-220.
- Pennington, J.T. 1985. The ecology of fertilization of echinoid Eggs: the consequences of sperm dilution, adult aggregation and synchronous spawning. *Biol. Bull.* 169: 417-430.
- Quintana-Rodríguez, R. 1999. Relación óvulo:espermatozoides en la fertilización de gametos de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* (Agassiz, 1863). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, Baja California. 31 p.
- Reyes-Rosales, A. 2002. Tasa de Pastoreo en estadios larvarios de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* con la microalga *Rhodomonas* sp. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California. 82 p.
- Rogers-Bennett, L., H.C. Fasteneau, T. Hibbard-Robbins, Z. Kain & C.M. Dewees. 1994. Culturing red sea urchins for experimental outplanting in Northern California. Department of Wildlife, Fish and Conservation Biology University of California, Davis and Bodega Marine Laboratory University of California. Final Report. 10 p.
- Salgado-Rogel, M. L., J. Palleiro-Nayar, D. Aguilar-Montero, M. Romero-Martínez & F. J. Martínez-García. 2003. Estudio comparativo de la abundancia de erizo rojo (*Strongylocentrotus franciscanus*) en la costa noroccidental de la Península de Baja California. *J. INPesc* 1: 46-53.
- Strathmann, M.F., 1987. *Reproduction and Development of Marine Invertebrates of the Northern Pacific Coast*. University of Washington, Seattle. 670 p.
- Tegner, J.M. & K.P. Dayton. 1977. Sea urchin recruitment patterns and implications of commercial fishing. *Science* 196: 324-326.
- Todd, C.D., M.G. Bentley & J.N. Havenhand. 1991. Larval metamorphosis of the opisthobranch mollusk *Adalaria proxima* (Gastropoda: Nudibranchia): the effects of chlorine and elevated potassium ion concentration. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 71: 53-72.
- Vadas, L.R. 1977. Preferential feeding: An optimization strategy in sea urchins. *Ecol. Monogr.* 47: 337-371.
- Wendt, D.E. & R.M. Woollacott. 1995. Induction of larval settlement by KCl in three species of *Bugula* (Bryozoa). *Invert. Biol.* 114: 345-351.
- Yool, A.J., S.M. Grau, M.G. Hadfield, R.A. Jensen, D.A. Markell & D.E. Morse. 1986. Excess potassium induces larval metamorphosis in four marine invertebrate species. *Biol. Bull.* 170: 255-266.

