



UNIVERSIDAD ESTATAL
PENÍNSULA DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
CARRERA DE BIOLOGÍA

**EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DE REPRODUCCIÓN
INDUCIDA EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO DEL
ERIZO DE MAR *Echinometra vanbrunti* EN EL
LABORATORIO SEMACUA S.A. SANTA ELENA –
ECUADOR**

TRABAJO DE INTEGRACIÓN
CURRICULAR

Previo a la obtención del título de:

BIÓLOGO

AUTOR:

BERNABÉ RODRÍGUEZ MAURICIO JOEL

TUTOR:

AC. SONNYA MENDOZA LOMBANA, Ph.D.

LA LIBERTAD – ECUADOR

2025

UNIVERSIDAD ESTATAL
PENÍNSULA DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
CARRERA DE BIOLOGÍA

EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DE REPRODUCCIÓN
INDUCIDA EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO DEL
ERIZO DE MAR *Echinometra vanbrunti* EN EL
LABORATORIO SEMACUA S.A, SANTA ELENA –
ECUADOR

TRABAJO DE INTEGRACIÓN
CURRICULAR

Previo a la obtención del título de:

BIÓLOGO

AUTOR:

BERNABÉ RODRÍGUEZ MAURICIO JOEL

TUTOR:

AC. SONNYA MENDOZA LOMBANA, Ph.D.

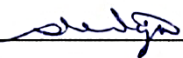
LA LIBERTAD – ECUADOR

2025

DECLARACIÓN DEL DOCENTE TUTOR

En mi calidad de Docente Tutor del Trabajo de Integración Curricular, “**Evaluación De los efectos de reproducción inducida en el desarrollo embrionario del erizo de mar *Echinometra vanbrunti* en el laboratorio SEMACUA S.A, Santa Elena – Ecuador**”, elaborado por el estudiante **Bernabé Rodríguez Mauricio Joel**, de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Península de Santa Elena, previo a la obtención del título de Biólogo, me permito declarar que luego de haber dirigido su desarrollo y estructura final del trabajo, este cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por la cual, apruebo en todas sus partes, encontrándose apto para la evaluación del docente especialista.

Atentamente



Ac. Sonny Mendoza Lombana, Ph.D.

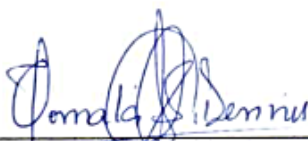
DOCENTE TUTOR

C.I.: 0912802816

DECLARACIÓN DEL DOCENTE DE ÁREA

En mi calidad de Docente Especialista, del Trabajo de Integración Curricular “Evaluación de los efectos de reproducción inducida en el desarrollo embrionario del erizo de mar *Echinometra vanbrunti* en el laboratorio SEMACUA S.A, Santa Elena – Ecuador”, elaborado por **Bernabé Rodríguez Mauricio**, estudiante de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Península de Santa Elena, previo a la obtención del título de Biólogo, me permito declarar que luego de haber evaluado el desarrollo y estructura final del trabajo, éste cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por la cual, declaro que se encuentra apto para su sustentación.

Atentamente



Blga. Dennis Gisella Tomala Solano, M.Sc.
DOCENTE DE ÁREA
C.I. 0922584982

DEDICATORIA

A mi madre, quien estuvo conmigo en todas las situaciones que conllevaron este proceso de aprendizaje, a sus sabios consejos, el apoyo económico y motivacional que pudo brindarme durante todo este tiempo.

A mis hermanos, mi sobrino y mis abuelos, quienes están orgullosos de mi trayecto profesional, y que el camino que estoy construyendo sea más alto gracias a ellos.

A mi tío, quien a pesar de no estar presente en vida siempre mostró una gran admiración hacia la profesión, que en su memoria quedé que pude lograr culminar mi carrera profesional incorporándome finalmente como biólogo, tal como el solía llamarme siempre.

A mi pareja sentimental, quien estuvo apoyándome incondicionalmente desde el inicio de la carrera y no dejarme vencer por las circunstancias. A mis compañeros, lo que pude formar una buena amistad esperando encontrármelos nuevamente en un futuro como buenos profesionales.

AGRADECIMIENTO

A las autoridades y personal Académico de la Universidad Estatal Península de Santa Elena por liderar el proceso de formación profesional. En particular a la Dra. Sonnya Mendoza Lombana, tutor de tesis que gracias a su apoyo, seguimiento e ideas profesionales oriento el presente trabajo.

De la misma forma, quiero agradecer al Ing. Jorge Espinoza gerente del laboratorio Semacua SA. quien amablemente nos dió la apertura y uso de sus instalaciones, el cual representó una gran ayuda para llevar a cabo esta investigación.

Así mismo, a la empresa DULODER S.A. y NOVAGESTIÓN quienes me brindaron de su ayuda con amabilidad y profesionalismo para concretar nuestros resultados. También, quedo agradecido con la Blga. Ana Balseca y la Blga Dennise Tomala quienes dieron la iniciativa a esta investigación, y me incentivaron al estudio de los erizos de mar, siendo una pieza clave en este trabajo.

Finalmente, y no menos importante, a mis compañeros futuros colegas biólogos Juan de los Santos, Ambar Castillo, Luis Arauz, Eduardo Espinoza y Daniel Aguilar quienes me ayudaron en varias ocasiones a las salidas de campo, por su tiempo y su cooperación, les quedo totalmente agradecido.

TRIBUNAL DE GRADO

Trabajo de Integración Curricular presentado por **BERNABÉ RODRÍGUEZ MAURICIO JOEL** como requisito parcial para la obtención del grado de Biólogo/a de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

Trabajo de Integración Curricular **APROBADO** el: 10 de Diciembre del 2024



Ing. Jimmy Agustín Villón Moreno, Mgtr.
DIRECTOR/A DE CARRERA
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



Blga. Dennis Gisella Tomalá Solano Mgtr.
PROFESOR DE ÁREA
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Ac. Sonnya Patricia Mendoza Lombana. Ph.D.
DOCENTE TUTOR
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Blgo. Richard Gonzalo Duque Marín, Mgtr.
DOCENTE GUÍA DE LA UIC II
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Lcdo. Pascual Alejandro Roca Silvestre, Mgtr.
SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL

DECLARACIÓN EXPRESA

Yo. MAURICIO JOEL BERNABÉ RODRIGUEZ

Declaro que:

El proyecto titulado “Evaluación de los efectos de reproducción inducida en el desarrollo embrionario del erizo de mar *Echinometra vanbrunti* en el laboratorio SEMACUA S.A., Santa Elena – Ecuador”, ha sido realizado de acuerdo con los términos acordados para el acceso al laboratorio e instalaciones utilizadas para la investigación, además del debido permiso por autoridades nacionales como el Ministerio Del Ambiente Agua y Transición Ecológica (MAATE) quienes dieron paso al uso del material biológico.

La responsabilidad de esta investigación, tal como se presenta en el documento me corresponde a mí, mientras que el patrimonio intelectual asociado pertenece a la Universidad Estatal Península de Santa Elena.



Bernabe Rodriguez Mauricio

CI: 2450842501

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	1
GLOSARIO	3
ABREVIATURAS	5
1. INTRODUCCIÓN	6
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
3. JUSTIFICACIÓN	12
4. OBJETIVOS	15
4.1. Objetivo general	15
4.2. Objetivos específicos	15
5. HIPÓTESIS	15
6. MARCO TEORICO.....	16
6.1. Filo Echinodermata	16
6.2. <i>Echinometra vanbrunti</i>	17
6.2.1. Clasificación Taxonómica.....	18
6.3. Biología del erizo de mar	19
6.3.1. Morfología	20
6.3.2. Locomoción.....	23
6.3.3. Sistema ambulacral	23

6.3.4.	Ciclo de vida	24
6.3.5.	Ciclo reproductivo.....	25
6.3.6.	Fases embrionarias	28
6.3.7.	Alimentación	29
6.4.	<i>Ulva lactuca</i>	30
6.4.1.	Aporte nutricional	31
6.5.	Alimento balanceado.....	33
6.5.1.	Aporte nutricional	33
6.6.	Importancia ecológica del erizo de mar	34
6.7.	Marco Legal	35
7.	MARCO METODOLÓGICO.....	38
7.1.	Área de estudio.....	38
7.2.	Obtención De Material Biológico	39
7.3.	Traslado de organismos.....	39
7.3.1.	Traslado de erizos de mar (<i>Echinometra vanbrunti</i>).....	39
7.3.2.	Traslado de macroalga (<i>Ulva lactuca</i>)	40
7.4.	Sistema de cultivo	41
7.4.1.	Grupo dieta N (Alimento Natural)	42
7.4.2.	Grupo dieta B (Alimento Balanceado).....	43
7.4.3.	Grupo dieta C (Alimento combinado: Balanceado y natural).....	43

7.4.4.	Parámetros fisicoquímicos	43
7.4.5.	Recambios y sifoneo	44
7.5.	Alimentación	45
7.5.1.	Dieta balanceada	46
7.5.2.	Dieta Natural	47
7.6.	Inducción al desove.....	47
7.6.1.	Método de Inducción: Aplicación de choques térmicos	48
7.6.2.	Método de inducción: Inyección vía Peristomal.....	49
7.6.3.	Extracción de gametos	49
7.6.4.	Incubación	51
7.7.	Instrumentos de recolección de datos	51
7.7.1.	Mediciones biométricas en reproductores.....	51
7.7.2.	Conteo poblacional y medición de ovocitos	52
7.7.3.	Medición de parámetros fisicoquímicos del agua.....	54
7.7.4.	Análisis de calidad de agua por espectrofotometría.....	55
7.8.	Análisis estadísticos	57
8.	RESULTADOS.....	58
8.1.	Medición de variaciones biométricas en reproductores	58
8.1.1.	Determinación de talla (mm) en tratamientos realizados.....	60
8.1.2.	Determinación de peso (g) en tratamientos realizados	66

8.1.3.	Mortalidad obtenida	72
8.2.	Evaluación del desarrollo embrionario en respuesta a los tratamientos	74
8.2.1.	Tasa de crecimiento en embriones	75
8.2.2.	Densidad poblacional de embriones	78
8.2.3.	Comparación de métodos: Choques térmicos vs inyección vía peristomal.....	83
8.2.4.	Pérdida de peso Post-desove en dos métodos de inducción.....	85
8.3.	Elaboración de Protocolo De Parámetros Fisicoquímicos	88
8.3.1.	Registro de Parámetros fisicoquímicos en tratamientos realizados.	88
8.3.2.	Influencia de parámetros con la mortalidad	100
8.3.3.	Elaboración de Protocolo de los Parámetros Fisicoquímicos para mantenimiento de reproductores de <i>Echinometra vanbrunti</i>	105
9.	DICUSIONES, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	107
9.1.	Discusiones	107
9.2.	Conclusiones	111
9.3.	Recomendaciones.....	113
10.	BIBLIOGRAFÍA	115
11.	ANEXOS	127

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición proximal de la Ulva lactuca.	32
Tabla 2. Porcentaje nutricional del alimento balanceado.....	34
Tabla 3. Parámetros permisibles para el cultivo de organismos acuáticos.	44
Tabla 4. Ración diaria de alimentos para sistema de cultivo.	45
Tabla 5. Composición de balanceado extruido en 1 kg.	46
Tabla 6. Comparativa de tamaño de ovocitos obtenidos en diferentes tratamientos	76
Tabla 7. Comparación pérdida de peso en machos y hembras post-desove en dos métodos de inducción.....	86
Tabla 8. Parámetros fisicoquímicos recomendados para el mantenimiento de E. vanbrunti en reproductores.....	106

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Erizo de mar de las rocas <i>Echinometra vanbrunti</i>	18
Figura 2. Ejemplar de erizo de mar en hemisferio oral y aboral.....	20
Figura 3. Morfología externa e interna del Erizo de mar.....	22
Figura 4. Ciclo reproductivo del erizo de mar.	27
Figura 5. Ejemplar de Macroalga <i>Ulva lactuca</i>	31
Figura 6. Sitio de Investigación y extracción de organismos.	38
Figura 7. Extracción de material biológico Erizos de mar.....	40
Figura 8. Extracción de material biológico Macroalga <i>Ulva lactuca</i>	41
Figura 9. Sistema de cultivo y distribución de tanques.....	42
Figura 10. Extracción y combinación de gametos.	50
Figura 11. Medición de ovocitos en software ImageJ.	53
Figura 12. Tasa de crecimiento mensual de talla en reproductores.	59
Figura 13. <i>Tasa de crecimiento mensual de Peso en reproductores</i>	60
Figura 14. <i>Crecimiento total de talla en reproductores</i>	61
Figura 15. <i>Caja de bigotes del crecimiento de talla en reproductores - Dieta N.</i>	63
Figura 16. <i>Caja de bigotes del crecimiento de talla en reproductores - Dieta B.</i>	64

Figura 17. <i>Caja de bigotes del crecimiento de talla en reproductores - Dieta C.</i>	65
Figura 18. Crecimiento total de peso en reproductores.	67
Figura 19. <i>Caja de bigotes del crecimiento de peso en reproductores - Dieta N.</i>	68
Figura 20. Caja de bigotes del crecimiento de peso en reproductores - Dieta B.	70
Figura 21. <i>Caja de bigotes del crecimiento de peso en reproductores - Dieta C.</i>	71
Figura 22. Mortalidad obtenida del sistema de cultivo de marzo a julio.	72
Figura 23. Numero de organismos resultantes durante la fase de experimentación.	73
Figura 24. Fases del desarrollo embrionario del erizo de mar <i>Echinometra vanbrunti</i>	74
Figura 25. Tamaño de ovocitos durante el desarrollo embrionario con relación al tiempo.....	77
Figura 26. Densidad poblacional de ovocitos fertilizados en tres grupos de tratamientos.....	79
Figura 27. Densidad de ovocitos fertilizados en dieta natural.	80
Figura 28. Densidad de ovocitos fertilizados en dieta balanceada.	81

Figura 29. Densidad de ovocitos fertilizados en dieta combinada.....	82
Figura 30. Densidad de ovocitos en dos métodos de inducción.	84
Figura 31. <i>Pérdida de peso post-desove mediante dos métodos de inducción. ...</i>	87
Figura 32. <i>Registro mensual de temperatura entre marzo a julio.</i>	89
Figura 33. <i>Registro mensual de oxígeno entre marzo a julio.</i>	90
Figura 34. <i>Registro mensual de pH entre marzo a julio.</i>	92
Figura 35. <i>Registro mensual de amonio entre marzo a julio.</i>	93
Figura 36. <i>Registro mensual de nitrito entre marzo a julio.</i>	95
Figura 37. <i>Registro mensual de nitrato entre marzo a julio.</i>	96
Figura 38. <i>Registro mensual de Total amoniaco nitrogenado (TAN) entre marzo a julio.</i>	98
Figura 39. <i>Registro mensual del porcentaje de amonio no ionizado entre marzo a julio.</i>	99
Figura 40. Gráfica de análisis de componentes principales de dieta N.....	101
Figura 41. Gráfica de análisis de componentes principales de dieta B.....	102
Figura 42. Gráfica de análisis de componentes principales de dieta C.....	104

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Extracción de muestras de reproductores <i>E. vanbrunti</i>	127
Anexo 2. Obtención de alimento vivo <i>Ulva lactuca</i>	127
Anexo 3. Alimento balanceado peletizado.....	128
Anexo 4. Sistema de cultivo implementado.....	128
Anexo 5. Mantenimiento y alimentación de organismos.....	129
Anexo 6. Toma de parametros y sifoneos.....	129
Anexo 7. Mediciones biometricas.....	130
Anexo 8. Preparación de la temperatura del agua para la inducción por choques térmicos.....	130
Anexo 9. Obtención de gametos femeninos y masculinos.....	131
Anexo 10. Monitoreo de embriones.....	131
Anexo 11. Fases del desarrollo embrionario.....	132
Anexo 12. Conteo densidad poblacional.....	132
Anexo 13. Medición de embriones.....	133
Anexo 14. Medición de parámetros por espectrometría.....	133
Anexo 15. Porcentaje de amoniaco no ionizado en solución acuosa por valor de pH y temperatura.....	134

RESUMEN

La acuicultura es esencial para la producción alimentaria y conservación marina, destacando en Ecuador el potencial de los erizos de mar para diversificar la industria y fortalecer la economía. La sobreexplotación y degradación ambiental están disminuyendo las poblaciones de erizos en la actualidad, lo que resalta la urgencia de desarrollar técnicas de reproducción en cautiverio para su conservación. Por ende, el presente estudio se enfocó en evaluar los efectos de dietas experimentales y choques térmicos en *Echinometra vanbrunti*, analizando crecimiento y supervivencia embrionaria. La investigación realizada en SEMACUA S.A. entre marzo y julio inicia mediante la recolección de organismos (*E. vanbrunti* y *U. lactuca*) y distribución de tratamientos de dietas: natural, balanceada y combinada. Los resultados de las pruebas indican un mayor crecimiento en talla para dieta combinada y mayor crecimiento en peso para dieta combinada y balanceada. La dieta combinada tuvo menor mortalidad (8%), mientras que las dietas balanceada y natural presentaron mortalidades del 10% y 12%, respectivamente. La viabilidad embrionaria fue superior en las dietas combinada y dieta balanceada (TS: 15.61%) en comparación con la natural (TS: 11.75%). Los parámetros ambientales se mantuvieron estables a excepción de los dos primeros meses donde se mostró mayor mortalidad que se relacionó con el aumento de TAN, amonio y nitratos, y los choques térmicos resultaron menos invasivos que la inyección vía peristomal, logrando una mayor densidad embrionaria y tasa de fertilidad para la dieta combinada y balanceada.

Palabras clave: *Echinometra vanbrunti*, choques térmicos, dieta combinada, parámetros, desarrollo embrionario.

ABSTRACT

Aquaculture is essential for food production and marine conservation, with Ecuador highlighting the potential of sea urchins to diversify the industry and strengthen the economy. Overexploitation and environmental degradation are currently reducing sea urchin populations, emphasizing the urgency of developing captive breeding techniques for their conservation. Therefore, this study focused on evaluating the effects of experimental diets and thermal shocks on *Echinometra vanbrunti*, analyzing growth and embryonic survival. The research, conducted at SEMACUA S.A. between March and July, began with the collection of organisms (*E. vanbrunti* and *U. lactuca*) and the distribution of diet treatments: natural, balanced, and combined. The results indicated greater size growth for the combined diet and higher weight growth for the combined and balanced diets. The combined diet showed the lowest mortality (8%), while the balanced and natural diets had mortalities of 10% and 12%, respectively. Embryonic viability was higher in the combined and balanced diets (TS: 15.61%) compared to the natural diet (TS: 11.75%). Environmental parameters remained stable except during the first two months, which showed higher mortality linked to increased TAN, ammonium, and nitrates. Thermal shocks were less invasive than peristomal injection, achieving higher embryonic density and fertility rates for the combined and balanced diets.

Keywords: *Echinometra vanbrunti*, thermal shocks, combined diet, parameters, embryonic development.

GLOSARIO

Actividades antropogénicas. - Actividades realizadas por los seres humanos que afectan el medio ambiente, como la industria, la agricultura y la urbanización.

Ex situ. - Procedimiento o estudio realizado fuera del entorno natural del organismo, generalmente en un laboratorio o en condiciones controladas.

Variables biométricas. - Parámetros medibles en organismos vivos que incluyen dimensiones corporales, peso, y otras características físicas relevantes para estudios biológicos.

Tasa de crecimiento. - Velocidad a la que un organismo incrementa su tamaño o masa en un periodo determinado.

Diámetro de testa. - Medida del diámetro de la capa protectora o concha en algunos organismos, utilizada para evaluaciones de tamaño y crecimiento.

Reproducción inducida. - Proceso mediante el cual se estimula la reproducción de un organismo a través de métodos artificiales o condiciones específicas.

Incubación. - Período en el cual los huevos o embriones se mantienen en condiciones controladas para asegurar su desarrollo adecuado.

Desarrollo embrionario. - Serie de etapas que atraviesa un embrión desde la fertilización hasta alcanzar una etapa de desarrollo más avanzada.

Espectrofotometría. - Técnica de laboratorio que mide la cantidad de luz absorbida por una sustancia para analizar su concentración o composición.

Gametos. - Células reproductoras haploides (como el óvulo y el espermatozoide) que participan en la fertilización para formar un organismo.

Fecundación. - Proceso de unión entre un óvulo y un espermatozoide que da origen a un embrión.

Larva Pluteus. - Etapa larval de ciertos equinodermos, caracterizada por su forma alargada y presencia de brazos que facilitan la movilidad en el agua.

ImageJ. - Software de análisis de imágenes utilizado en investigaciones científicas para medir, contar y analizar características en imágenes digitales.

Calibrador de Vernier. - Herramienta de precisión utilizada para medir dimensiones internas, externas y profundidades con gran exactitud.

Post-Desove. - Estado de un organismo después de liberar sus gametos o productos reproductivos, etapa en la que generalmente se observan cambios fisiológicos.

ABREVIATURAS

pH: Potencial Hidrogeno

NO₃⁻: Nitrato

NH₄⁺: Amonio

NO₂⁻: Nitrito

KCl: Cloruro de Potasio

Mg/l: Miligramos por litro

°C: Grados Celsius

%TC: Porcentaje de tasa de crecimiento mensual

%TS: Tasa de supervivencia

Dieta C: Dieta combinada

Dieta B: Dieta balanceada

Dieta N: Dieta natural

Cel/ml: Células por mililitros

µm: Micras

PP: Pérdida de peso

1. INTRODUCCIÓN

La acuicultura es una de las actividades con mayor demanda en el sector económico y en la seguridad alimentaria a nivel mundial. A través del uso de recursos marinos, esta actividad permite la producción y conservación de organismos acuáticos bajo un sistema de cultivo, mediante la comprensión de los procesos biológicos en una amplia gama de especies, tales como peces, moluscos, crustáceos y algas, con la finalidad de contribuir a la diversificación de diferentes fuentes de proteína. De esta forma, esta actividad ha mostrado una notable importancia en la seguridad alimentaria global durante los últimos años (FAO, 2022).

En los últimos años, el consumo de erizos de mar a nivel mundial ha experimentado un notable crecimiento, impulsado por su alto valor nutricional derivado de las gónadas que alberga este organismo en su interior. Según FAO (2019) y Marzuqa (2016) Japón lidera el consumo y venta del erizo de mar a nivel mundial, seguido de cerca por Corea del Sur, China, Chile, Perú, Rusia y España. De esta forma, el continente asiático se destaca como el continente más prominente en la acuicultura, gracias a la diversidad de especies acuáticas que sus países pueden criar para fines comerciales y consumo local.

En Europa, a través de la técnica de inyección vía peristomal para adultos reproductores y el método de batea para engorde de especímenes, España se ha posicionado como uno de los principales países dedicados a la producción del erizo de mar (Parrondo et al., 2023). En Latinoamérica, el mercado del erizo de mar se ha consolidado principalmente en países como Estados Unidos, México, Canadá y Chile. Siendo impulsado por una variedad de especies originarias como *Arbacia dufresnii*, *Arbacia stellata*, *Loxechinus albus*, *Strongylocentrotus purpuratus*, *Echinometra vanbrunti* y *Tripneustes depressus*, los cuales han demostrado ser valiosos debido a su aporte nutricional compuesto de proteínas, carbohidratos, ácidos grasos, colágeno y vitaminas (Rubilar, 2020).

En Ecuador, *Echinometra vanbrunti* se distribuye en las aguas costeras del Pacífico, particularmente en las Islas Galápagos y en la región del Golfo de Guayaquil. Esta especie de erizo de mar se distribuye principalmente en zonas intermareales poco profundos, habitando en arrecifes de coral, rocas y fondos arenosos (Tigua, 2021). Sin embargo, en los últimos años estos grupos de animales han experimentado una disminución en sus poblaciones tanto en la costa del Pacífico como en la costa ecuatoriana debido a cambios en el medio acuático y a las actividades antropogénicas, siendo un desafío prominente para las especies que habitan en el lugar (Orellana, 2022).

A nivel nacional, la acuicultura ha mostrado un mayor interés comercial en especies tradicionales como crustáceos, peces y moluscos. Sin embargo, aunque la diversificación de esta actividad con otros grupos taxonómicos no se ha promovido correctamente dentro del país, contamos con otras especies que pueden representar un importante atractivo comercial, tales como los erizos de mar que representan una gran demanda en mercados asiáticos y europeos por las gónadas que estos organismos albergan en su interior, lo que podría diversificar significativamente la industria acuícola en el Ecuador (Sánchez et al., 2020).

La reproducción inducida en erizos de mar se ha estudiado en detalle, y en la actualidad existen tres procesos de inducción: la aplicación de KCl en la zona aboral a través de inyecciones (Madrid, 2023), la aplicación de choques térmicos (Díaz & Carpizo, 2011) y la agitación manual, que también se ha demostrado efectiva para inducir la reproducción. Según un estudio de Sonnenholzner (2018), el método más adecuado para la reproducción inducida es el de choques térmicos, ya que presenta una menor tasa de mortalidad tanto en adultos como durante el desarrollo embrionario-larval.

El presente estudio fue enfocado en el mejoramiento de la salud, la supervivencia en la fase reproductiva y el desarrollo embrionario mediante la aplicación del método de inducción por choques térmicos y la aplicación de una dieta experimental con el objetivo de acelerar la madurez sexual de los erizos, así como aumentar la supervivencia y fecundación de los ovocitos.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A nivel mundial, la sobreexplotación de los recursos marinos y la degradación del medio ambiente marino han llevado a la disminución de las poblaciones de muchas especies acuáticas, incluyendo los erizos de mar (Tambutti & Gómez, 2022). Esta anomalía genera una preocupación a los investigadores e incentiva a las prácticas de conservación y manejo sostenible de estas especies, considerando además, la necesidad de implementar nuevas técnicas de reproducción asistida en cautiverio que puedan complementar a la repoblación, conservación y producción de este tipo de organismos acuáticos.

En las zonas costeras de América Latina, las actividades de pesca y acuicultura son una fuente económica fundamental. Sin embargo, la falta de control, la pesquería ilegal y el uso indebido de recursos han conllevado a la degradación y sobreexplotación de los ecosistemas marinos. Esto ha impactado negativamente en la disponibilidad de recursos para la alimentación y reproducción de las especies marinas, incluyendo los erizos de mar (Tambutti & Gómez, 2022). Por otro lado, el cultivo de erizos es una práctica que se realiza en varios países costeros europeos, asiáticos y pocos de América latina representando una fuente de ingresos económicos para la industria alimenticia y pesquera, por lo que se debe promover la aplicación de técnicas de inducción para la producción de larvas mediante el

mejoramiento de la tasa reproductiva y desarrollo embrionario (Sonnenholzner, 2021).

El erizo de mar *Echinometra vanbrunti* al igual que otras especies de equinodermos son considerados de gran importancia económica y ecológica (Luna, 2015). Sin embargo, su población se encuentra disminuyendo y por ende su ciclo reproductivo está siendo alterado siendo uno de los factores relevantes es la alimentación y temperaturas ambientales a las que están expuestos (Tigua, 2021; Orellana, 2022). Actualmente, no se cuenta con estudios enfocados a evaluar la eficacia del desarrollo embrionario a partir de la aplicación de una dieta específica y choques térmicos en la reproducción del erizo de mar *Echinometra vanbrunti*. Por lo tanto, existe una necesidad urgente de investigar estas variables para mejorar y preservar su población en el país.

De acuerdo con lo mencionado anteriormente, el estudio de la evaluación de los efectos en la reproducción ex situ del erizos de mar cuenta con la finalidad de definir un método de inducción efectivo bajo la funcionabilidad de las variables temperaturas y alimento para promover la reproducción de esta especie como mejora del periodo reproductivo y la salud en el desarrollo embrionario de la especie *Echinometra vanbrunti*, dicho estudio proveerá información útil para la conservación y la producción de esta especie.

3. JUSTIFICACIÓN

El erizo de mar *Echinometra vanbrunti* es una especie potencial apta para la acuicultura y a pesar de que esta especie se encuentra disminuyendo en la costa del pacífico cuenta características de gran tamaño y alta tasa de reproducción y crecimiento (Sonnenholzner, 2018). Por ende, el implementar una técnica de inducción mejorada en relación a los abastecimientos nutricionales proporcionados por el alimento se convierte en una necesidad que se debe abarcar de forma inmediata para la conservación de la especie en cultivos acuícolas.

La implementación de dieta experimental representa una opción de alimento en erizos de mar adulto el cual pretende abastecer los requerimientos nutricionales para la maduración sexual. Debido a esto, para comprender mejor la funcionabilidad es importante dar un seguimiento a las medidas biométricas en respuesta a la dieta experimental para determinar si el tipo de alimento utilizado beneficia el desarrollo de estos erizos durante su periodo reproductivo, lo que puede conducir a una alimentación más eficiente, contribuyendo así a la producción de larvas en cautiverio como medio sostenible (Catoira, 2016).

A través del seguimiento y evaluación de las fases del desarrollo embrionario del erizo de mar es posible comprender la eficiencia del uso de técnicas de inducción

aplicadas bajo el suministro de alimentos. Asimismo, el uso de indicadores de fertilidad y de salud, tales como la medición del diámetro de ovocitos y el conteo de la densidad poblacional, permiten conocer el crecimiento y la supervivencia de ovocitos en relación al tiempo. Estas mediciones revelan la tasa de éxito de la producción de larvas permitiendo comprender la efectividad de procedimientos utilizados.

Un sistema de cultivo debe constar con condiciones óptimas y adecuadas para el desarrollo de especies marinas, en especial para el mantenimiento de reproductores como la especie *Echinometra vanbrunti*. De esta forma, el análisis de los parámetros fisicoquímicos del agua permite dar una mayor comprensión en la influencia en la supervivencia de reproductores. A través del monitoreo constante de estos parámetros, es posible identificar con precisión las condiciones que ejercen una influencia significativa en los procesos reproductivos. Esto es crucial ya que, a partir de esto, se pueden desarrollar prácticas más efectivas y sostenibles (Catoira, 2012).

De acuerdo con la FAO (2020), el aumento de la demanda de erizos de mar a nivel mundial ha generado un incremento en su producción acuícola, lo que representa una oportunidad económica para la industria alimenticia y pesquera. Por lo tanto, el objetivo de este estudio es evaluar el efecto de la maduración sexual inducida

mediante la aplicación de dieta experimental durante el ciclo reproductivo y por el método de inducción al desove por choques térmicos en el erizo de mar *Echinometra vanbrunti* para valorar así la efectividad del proceso, con el fin de establecer prácticas de manejo óptimas para la acuicultura o supervivencia de esta especie.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Evaluar en *Echinometra vanbrunti* los efectos en maduración sexual inducida por aplicación de dieta experimental y choques térmicos determinando la tasa de crecimiento y supervivencia en el desarrollo embrionario.

4.2. Objetivos específicos

- Analizar la dieta experimental en el periodo reproductivo mediante las variables biométricas.
- Evaluar la tasa de crecimiento y supervivencia del desarrollo embrionario en relación al tiempo
- Establecer un protocolo de los factores físico-químicos considerando la influencia en el proceso reproductivo.

5. HIPÓTESIS

H1: La aplicación de dieta experimental y choque térmico influye en el desarrollo embrionario del erizo de mar *Echinometra vanbrunti*

6. MARCO TEORICO

6.1. Filo Echinodermata

Los equinodermos son un grupo diverso de organismos marinos que se caracterizan por su simetría pentarradial y un sistema ambulacral que funciona a través de presión hidráulica y contracciones musculares. Estos organismos presentan una amplia distribución en todos los océanos tanto en regiones tropicales como polares principalmente en las zonas costeras tanto en aguas profundas y poco profundas

El filo Echinodermata, abarca organismos como los deuteróstomos marinos bentónicos. Se caracterizan por la presencia de un esqueleto interno conformado por osículos calcáreos y su forma pentarradial, que lo distingue de los demás grupos de animales marinos. El filo comprende aproximadamente 7 mil especies vivas con 12 mil especies extintas en la actualidad, con una historia que remonta en el periodo Cámbrico, siendo uno de los grupos más representativos del registro fósil.

Se acuerdo con Benítez et al. (2020), el filo Echinodermata se compone de 5 clases principales, tales como la Asteroidea que es el grupo de las estrellas de mar; Echinodermata con los erizos y dólares de mar; Holothuroidea con los pepinos de mar; Crinoidea con los crinoideos y lirios de mar; Ophiuroidea correspondiendo a

las ofiuras. La mayoría de los equinodermos son dioicos, presentando sexos separados, y pueden llevar a cabo tanto fecundación interna como externa. Algunas especies desarrollan larvas pelágicas que maduran hasta alcanzar la sexualidad (Benítez et al., 2022).

6.2. *Echinometra vanbrunti*

Echinometra vanbrunti, comúnmente conocido como el erizo de mar de las rocas, es una especie de equinodermo perteneciente al orden Echinoida y la familia Echinometridae del filo Echinodermata. Este erizo de mar es una especie bentónica que se encuentra comúnmente en arrecifes rocosos y áreas intermareales de las costas tropicales con profundidades hasta 3 metros, donde normalmente se adhiere al sustrato rocoso.

El *Echinometra vanbrunti* se distribuye por el océano pacífico y las Islas Galápagos, cuenta con un caparazón rígido y espinoso, con espinas cortas y densamente distribuidas. El erizo de mar es característico de poseer un cuerpo redondeado con varias tonalidades, desde marrón oscuro hasta negro, funcionando como un excelente camuflaje entre las rocas y sustratos del ecosistema marino (Figura 1).

Estos organismos son herbívoros, ya que se alimentan principalmente de algas y detritos que habitan en las superficies rocosas. Su presencia es fundamental, ya que ayudan al equilibrio del ecosistema permitiendo el control y crecimiento de algas contribuyendo al ciclo de nutrientes.

Figura 1.

Erizo de mar de las rocas Echinometra vanbrunti.



Nota: La figura muestra la especie *E. vanbrunti* en su medio natural. Extraído de Sanna (2021)

6.2.1. Clasificación Taxonómica

Reino: Animalia

Filo: Echinodermata

Clase: Echinoidea

Orden: Camarodonta

Familia: Echinometridae

Género: *Echinometra*

Especie: *vanbrunti* (A. Agassiz, 1863)

6.3. Biología del erizo de mar

El erizo de mar *Echinometra vanbrunti* presenta una biología adaptada al hábitat marino, ya que consta de un caparazón redondo calcáreo recubierto de espinas que exhiben en su medio natural. Poseen un sistema ambulacral que permiten la locomoción, adhesión y captura del alimento. Esta especie, al igual que otros equinodermos, cuenta con una reproducción externa, es decir que se reproducen mediante la liberación de gametos al agua y estos huevos se fecundan en el medio marino. Los individuos juveniles emergen de este proceso y atraviesan un período larval pelágico antes de establecerse en el fondo marino (Arroyo & Lechuga, 2020).

Su alimentación se basa principalmente en algas y materia orgánica, con un papel clave en el control del crecimiento algal y la circulación de nutrientes en los ecosistemas costeros. Además, *E. vanbrunti* desempeña un papel ecológico crucial como presa para diversos depredadores marinos, lo que influye en su comportamiento y distribución (Lewis & Hunt, 2020)

6.3.1. Morfología

El erizo de mar *Echinometra vanbrunti*, también conocido como erizo de espinas negras o erizo marino de las rocas, presenta una morfología típica de los equinodermos, adaptada para la vida en el medio marino bentónico. De acuerdo con Conejeros Vargas et al. (2022), su cuerpo es de forma redondeada y aplanada, con un diámetro que oscila entre 5 y 8 centímetros, está protegido por un test calcáreo articulado que proporciona soporte y defensa contra depredadores potenciales, además de que posee dos hemisferios: oral y aboral (Figura 2).

Figura 2.

Ejemplar de erizo de mar en hemisferio oral y aboral.



Nota: En los erizos de mar, el hemisferio oral se encuentra en la parte inferior e incluye la boca y el sistema masticador conocido como "Linterna de Aristóteles", mientras que el hemisferio aboral, cubierto de espinas que facilitan el movimiento y protección, incluye el madreporito y el ano.
Modificado de Rojas, 2007

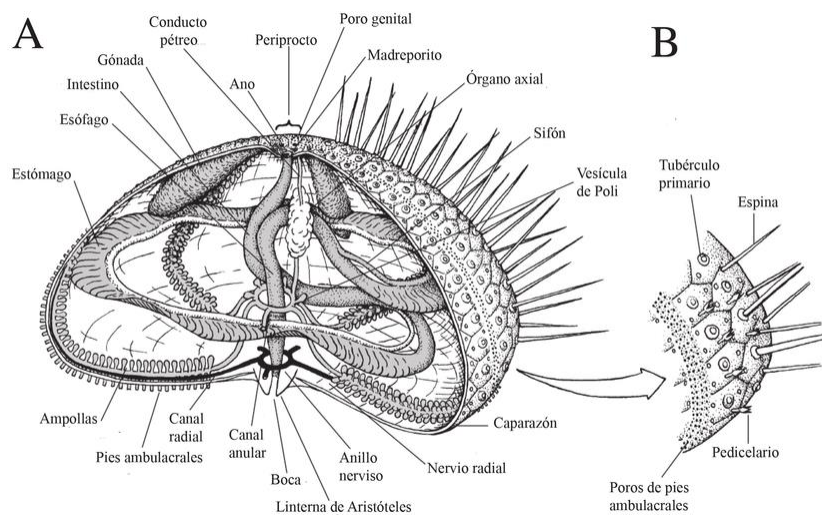
Una de las principales características de esta especie es la linterna de Aristóteles, misma que cumple la función de masticar y triturar alimentos del medio natural. Esta estructura, se compone por cinco placas dentales que permiten la captura del alimento para luego ser ingerido. Las adaptaciones anatómicas de los erizos de mar reflejan la importancia de estos organismos en el nicho ecológico, ya que permiten el equilibrio y la dinámica el ecosistema bentónico (Escárcega et al., 2019).

Juárez et al. (2015) menciona que el erizo de mar se compone de varias estructuras tanto internas como externas, debido a que su cuerpo se encuentra ampliamente protegido por un esqueleto calcáreo denominada “testa”, que puede poseer formas “esféricas” para los erizos con formas regulares y “aplanado” para especies de erizos con formas irregulares. La testa cuenta con 20 columnas de placa, siendo 5 pares de ambulacros y 5 interambulacros. Por lo consiguiente, poseen 10 placas en el sistema apical, 5 placas con poros genitales y 5 oculares con orificios especializados para los pies ambulacrales (Corpas, 2023). Adicionalmente, cuentan con un sistema vascular acuífero importante para la locomoción y respiración, este sistema cuenta con el madreporito compuesta por ampollas que permiten la regulación de la presión y el ingreso del agua (Lewis & Hunt, 2020). En el hemisferio oral del organismo, se encuentra la boca por donde ingresa el alimento que es masticado posteriormente por la linterna de Aristóteles (Mattaliano, 2020)

Dentro del sistema digestivo, se encuentra el esófago, estómago y el intestino que da cavidad al proceso de digestión y absorción de nutrientes provenientes del alimento ingerido. En la región posterior, se encuentra el periprocto, que incluye el ano y el poro genital, por donde se expulsan los gametos durante la reproducción. Las gónadas, donde se producen los gametos, se encuentran en el interior del cuerpo. El sistema locomotor está compuesto por pies ambulacrales, equipados con ventosas, y un canal radial que se extiende desde la región oral hasta la región aboral, distribuyendo nutrientes y eliminando desecho (ver Figura 3).

Figura 3.

Morfología externa e interna del Erizo de mar.



Nota: La figura muestra la morfología interna (A), el cual se compone por intestino, estómago, esófago, ampollas, gónadas, conducto pétreo, órgano axial, sifón, canal anular, anillo nervioso, nervio radial y vesícula. Además, de la morfología externa (B) compuesta por caparazón, espinas, pedicelarios, pies ambulacrales, ano, poro genital, periprocto, boca y linterna de Aristóteles. Extraído de Domínguez, 2022.

6.3.2. Locomoción

El desplazamiento o locomoción del erizo de mar lo realiza mediante el uso del sistema ambulacral compuesto por los pies ambulacrales que se encuentran cerca de la parte oral. Estos pies, se encuentran equipados por ventosas en los extremos y se expanden desde los canales del sistema ambulacral y tienen la capacidad de adherirse a las superficies o sustratos del fondo marino. El erizo de mar utiliza una combinación de contracciones musculares para mover sus pies ambulacrales y desplazarse en la dirección deseada. Además, puede utilizar las espinas de su caparazón para ayudarse en la locomoción, utilizando movimientos ondulatorios del cuerpo para avanzar. Esta capacidad de movimiento le permite al erizo de mar explorar su entorno en busca de alimento, refugio y compañeros reproductivos (Mattaliano, 2020; Gaspar, 2015).

6.3.3. Sistema ambulacral

Según McClanahan & Muthiga (2021), *Echinometra vanbrunti* cuenta con un sistema ambulacral conformado por pies ambulacrales siendo un componente fundamental para su anatomía y locomoción. Estas estructuras se presentan en forma tubular que se extienden a partir de los canales del sistema ambulacral y cuentan con ventosas en los extremos distales, los cuales le permiten la adhesión al sustrato, así como el desplazamiento a lo largo del fondo marino. Estas estructuras

de locomoción se organizan en series tanto de ambulacros e interambulacros delimitados por surcos. Este sistema, incluye además un canal radia que aborda longitudinalmente a lo largo del cuerpo con el fin de interconectar las ambulacros con la boca y el ano, sirviendo de transporte de nutrientes, agua y desechos.

6.3.4. Ciclo de vida

Este proceso comienza a partir de la fecundación de los ovocitos de sus reproductores, en el cual una vez que son liberados de estos ovocitos comienzan una nueva vida. En su medio natural, a partir de las 24 horas de fecundación da lugar a la larva, en el cual estos organismos forman parte del plancton marino alimentándose del microorganismo como fitoplancton y demás partículas suspendidas en el agua siendo su principal fuente de alimento (Mattaliano, 2020, Pp. 15)

6.3.5. Ciclo reproductivo

Los equinodermos del género Echinometra se reproducen de forma sexual, especialmente en los erizos de mar y otros organismos del grupo mantienen una fecundación externa. Presentan ciclo de vida complejos que comprenden varias etapas de desarrollo y reproducción. Los erizos de mar poseen sexos separados y no presentan dimorfismo sexual, cuentan con esqueleto calcáreo cubierto de espinas (Mendoza, 2018).

En la maduración sexual del erizo, las células germinales son las encargadas de la formación de nuevos erizos de mar, por medio de la producción de gametos bajo la influencia de hormonas. En el caso de los machos, las gónadas producen espermatozoides, mientras que, en el caso de las hembras producen óvulos. Este proceso de formación de ovocitos da inicio nuevamente al ciclo de vida del erizo de mar, y se encuentra influenciado por el incremento de temperatura del agua y la disponibilidad del alimento. Una vez que el erizo de mar lleva a cabo la liberación de gametos, el proceso es sincronizado con el resto de los individuos de la misma especie, con la finalidad de maximizar la tasa de fertilización. En muchos casos, esta liberación masiva de gametos ocurre durante eventos de desove sincronizado, en los que grandes grupos de erizos liberan sus gametos simultáneamente. El estímulo para este comportamiento puede incluir cambios en la temperatura del agua, mareas, y la fase lunar (Vives et al., 2021).

A través de la temporada de reproducción, que varía según la especie y las condiciones ambientales, los erizos liberan gametos sexuales en el agua, donde ocurre la fertilización externa. Los espermatozoides y óvulos se encuentran en la columna de agua, donde se produce la unión de los gametos (McClanahan & Muthiga, 2020)

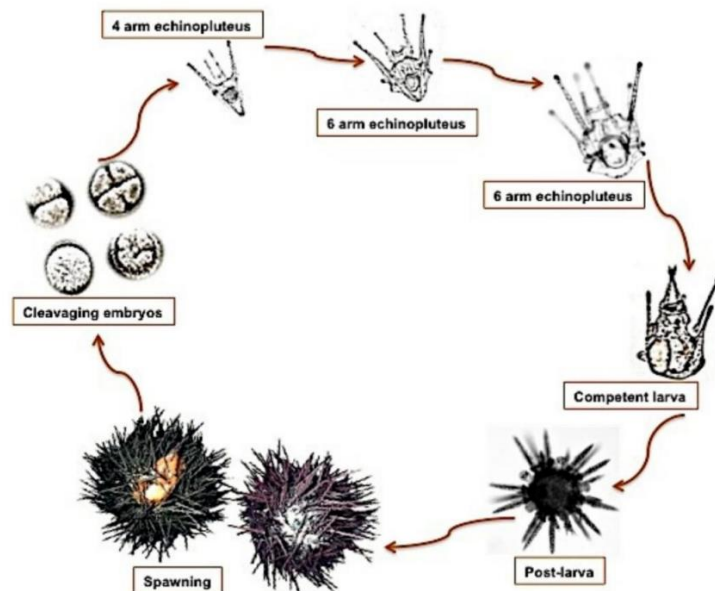
Después de la fertilización, se forma un cigoto que eventualmente se convierte en una larva pluteus, una etapa característica en el desarrollo de muchos equinodermos. Esta larva pluteus es pelágica y se alimenta de fitoplancton mientras se desarrolla en el agua durante un período de tiempo variable. Posteriormente, la larva sufre un proceso de metamorfosis convirtiéndose en una larva de transición denominada “larva brachiolaria”. Esta se sitúa en el fondo del mar para culminar su desarrollo y convertirse en juvenil, siendo la forma más parecida al erizo de mar adulto (Reyes et al., 2015).

A partir del crecimiento, los juveniles desarrollan su esqueleto y mejoran su morfología adulta. Sin embargo, una vez que alcanzan su etapa de adultos con madurez sexual ellos pueden reproducirse nuevamente mediante la liberación de gametos en temporadas cálidas (McClanahan & Muthiga, 2021). Este periodo reproductivo se repite a lo largo de la vida del erizo, contribuyendo así a la continuación de la especie. Este proceso completo, desde la fertilización hasta la

reproducción adulta, representa el ciclo de vida completo de los equinodermos, que desempeñan un papel crucial en los ecosistemas marinos, tal como se muestra en la Figura 4.

Figura 4.

Ciclo reproductivo del erizo de mar.



Nota: El ciclo de vida del erizo de mar comienza con la fecundación de los embriones, que luego avanzan a las etapas de larva, juvenil y finalmente a adulto reproductor, reiniciando así el ciclo.

Extraído de Mattaliano (2020).

6.3.6. Fases embrionarias

Cigoto. – Es el resultado de la fecundación de los gametos masculinos y femeninos donde se da lugar a una célula fertilizada del óvulo por el espermatozoide. Presenta una envoltura vitelina que protege al embrión durante las primeras etapas de desarrollo (Ancin et al., 2021).

División 2 células. – La primera división mitótica del cigoto, dando lugar a dos células hijas. Posteriormente, la división celular continúa dándose conforme pasa el tiempo hasta la siguiente fase. Este proceso es rápido y simétrico, asegurando que cada célula hija reciba una cantidad igual de material genético.

Blástula 64 células. – Fase en la que el embrión se convierte en una blástula alcanzando 64 células, una estructura esférica con una cavidad central llamada blastocele, rodeada por una monocapa de células. En esta etapa, las células comienzan a diferenciarse en función de su posición formando cilios rígidos en el polo animal del embrión (Briseño et al., 2024).

Gastrulación. – Proceso mediante el cual la blástula se invagina, formando una estructura tridimensional con tres capas germinales (ectodermo, mesodermo,

endodermo). Estas capas darán lugar a los tejidos y órganos del erizo de mar (Muñoz, 2020).

Eclosión. – El embrión se desprende de la envoltura vitelina y entra en una etapa de vida libre. Este proceso es crucial para la transición del desarrollo embrionario a la vida larval (Castellano, 2015).

Larva plúteus. – Esta fase del erizo de mar se caracteriza por poseer estructura de brazos ciliados que utilizan para la alimentación y locomoción. La larva es capaz de realizar el nado y la captura del fitoplancton, siendo su principal fuente de alimento durante esta etapa (Millares, 2024)

6.3.7. Alimentación

Los requerimientos nutricionales de los equinodermos varían según la especie, pero muchos son herbívoros, omnívoros o detritívoros. Por ejemplo, algunos erizos de mar se alimentan de algas y materia orgánica que encuentran en el fondo marino, mientras que otros pueden ser carnívoros o depredadores de organismos más pequeños (Martelli et al., 2024).

6.4. *Ulva lactuca*

Ulva lactuca, comúnmente conocida como lechuga de mar, es una especie de alga verde perteneciente a la familia Ulvophyceae y al orden Ulvales. Se encuentra frecuentemente en el mesolitoral costero y el sublitoral. Esta especie forma parte de las algas marinas, que constituyen aproximadamente el 13% de las especies de clorofíceas en todo el mundo (Espinoza & Hernández, 2021)

Es un alga verde unicelular, macroscópica, que se encuentra en aguas saladas alrededor del mundo. Se caracteriza por tener un cuerpo plano y membranoso, con forma de hoja que puede variar en tamaño y forma dependiendo de las condiciones ambientales (ver Figura 5). *Ulva lactuca* es una especie eurihalina, lo que significa que puede tolerar una amplia gama de salinidades en el agua. Además, es conocida por su capacidad para crecer rápidamente y colonizar áreas con altos niveles de nutrientes, siendo considerada una especie oportunista que sirve como fuente de alimento para otras especies (Cruz, 2019).

Ulva lactuca es capaz de tolerar extremas condiciones ambientales y altos niveles de contaminación, sin embargo, su presencia se reconoce como un bioindicador ante la contaminación del agua. Además, la especie tiene como capacidad llevar a

cabo la purificación del agua mediante el proceso de filtración, siendo de gran importancia para la salud del ecosistema marino (Domínguez & Loret, 2019)

Figura 5.

Ejemplar de Macroalga Ulva lactuca



Nota: La figura muestra la especie de *U. lactuca*, ejemplar que crece en las plataformas rocosas, siendo un alimento indispensable para varios organismos marinos. Extraído de Liu et al. (2020)

6.4.1. Aporte nutricional

La especie de macroalga *Ulva lactuca* cuenta con un aporte nutricional para una amplia variedad de especies marinas. De acuerdo con Sumarriva et al. (2019), *U. lactuca* cuenta con una composición diversa y equilibrada, en el cual los carbohidratos constituyen la mayor parte de su contenido con un 44,70%, siendo una fuente de energía indispensable para los erizos de mar. En su composición, también resaltan los niveles de proteína con un 27.38% esencial para el crecimiento,

desarrollo y reparación de tejidos, así como la formación de espinas y el caparazón (ver Tabla 1).

Tabla 1.

Composición proximal de la Ulva lactuca.

Parámetro	Composición
Proteína	27.38%
Fibra	3.37%
Lípidos	0.48%
Carbohidrato	44.70%
Cenizas	24.07%
Energía	3408.8 cal/g

Nota: Los valores mostrados fueron extraídos de Sumarriva Bustinza et al., 2019

Tal como lo menciona Pincay (2023) las cenizas aportan minerales esenciales como calcio, magnesio y potasio, que son vitales para mantener la salud ósea, el equilibrio electrolítico y otras funciones fisiológicas en los erizos de mar, siendo estas representadas con un 24,07% en el alga *Ulva lactuca*. Además, la macroalga proporciona fibra en un 3,37%, promoviendo la salud digestiva al regular el tránsito intestinal y facilitar la absorción de nutrientes. Por lo consiguiente, aunque en menor proporción *Ulva lactuca* posee una cantidad mínima de Lípidos del 0,48% que proporciona energía concentrada y ácidos grasos para correcto funcionamiento a nivel celular.

6.5. Alimento balanceado

En las prácticas de la acuicultura, el uso del alimento balanceado es crucial para el mantenimiento de organismos vivos en cautiverio, ya que tiene como finalidad complementar los aportes nutricionales que los organismos adquieren de su medio natural promoviendo un desarrollo óptimo y crecimiento saludable. En el caso de los erizos de mar Vizcarra (2017) sugiere una fórmula complementaria, dicha formulación ha mostrado resultados favorables en el desarrollo de los mismos. Este alimento balanceado es elaborado en base a componentes como Harina de maíz, harina de trigo, harina de soya, harina de algas, harina de pescado, aceite de pescado, sales minerales y vitamina C (ver Tabla 5).

6.5.1. Aporte nutricional

La composición nutricional del alimento balanceado (Tabla 5) para erizos de mar fue analizado mediante los métodos KJENDHAL y NIR para determinar su composición nutricional, el cual incluye un 27,33% de proteínas, que son esenciales para el crecimiento y la reparación de tejidos, así como un 7,81% de lípidos que proporciona energía concentrada para sus funciones metabólicas. De la misma forma, la humedad constituye un 12,33% que contribuye a la textura y palatabilidad del alimento, mientras que el 9,67% corresponden a las cenizas, las cuales aportan minerales esenciales para la salud ósea y el equilibrio electrolítico, tal como se muestra en la tabla 2.

Tabla 2.

Porcentaje nutricional del alimento balanceado.

Composición	Porcentaje %
Proteína	27.33
Lípidos	7.81
Humedad	12.33
Carbohidratos	42.86
Cenizas	9.67

Nota: El análisis nutricional fue realizado en el laboratorio DULODER S.A (ver anexo)

El alimento balanceado está diseñado especialmente para satisfacer las necesidades nutricionales del erizo de mar, proporcionando además, una combinación equilibrada de nutrientes que promueven el crecimiento, desarrollo y bienestar. El uso adecuado de proteínas, grasas, humedad y cenizas garantiza el suministro de nutrientes esenciales en cantidades adecuadas para un perfecto funcionamiento fisiológico del animal, simulando su medio natural.

6.6. Importancia ecológica del erizo de mar

Los invertebrados marinos cumplen un rol de importancia en el ecosistema marino, siendo especies fundamentales para el mantenimiento y equilibrio de la cadena trófica y en el ciclo de nutrientes. Su presencia juega un papel importante en el lecho marino como bioindicador en la salud del ecosistema. Los equinodermos, además son esenciales para la oxigenación del agua, así como la descomposición

de materia orgánica y la estabilización de sustrato, que mediante su movimiento y actividades promueven la reutilización de nutrientes manteniendo en buen estado la salud del ecosistema (Reyes et al., 2024).

6.7. Marco Legal

De acuerdo con el Registro Oficial No. 449. de la Constitución De La Republica Del Ecuador (2008) sobre el patrimonio natural y ecosistemas, da a conocer en el capítulo II:

BIODIVERSIDAD Y RECURSOS NATURALES.

- El **artículo 404** enfatiza la singularidad y el valor inestimable del patrimonio natural de Ecuador, que abarca formaciones físicas, biológicas y geológicas de gran relevancia desde enfoques ambientales, científicos, culturales y paisajísticos. Para asegurar la protección, conservación, recuperación y promoción de este patrimonio, se implementarán los principios y garantías establecidos en la Constitución.
- El **artículo 405** establece que del SNAP (Sistema Nacional de Áreas Protegidas) tiene como finalidad la conservación de la diversidad biológica y la cantidad de procesos ecológico. Este sistema está formado con

subsistemas que rigen bajo la supervisión de entes reguladores como el estado. Además, que este tiene como fin asignar los recursos financieros asegurando la sostenibilidad del sistema fomentando la participación de comunidades y pueblos indígenas Asimismo, se prohíbe que entidades o individuos extranjeros adquieran tierras o concesiones en áreas de seguridad nacional o protegidas, conforme a lo estipulado por la ley.

- Por otro lado, el **artículo 406** establece que el Estado será responsable de regular acciones orientadas a la conservación y al uso sostenible de ecosistemas vulnerables y en riesgo, entre ellos los páramos, humedales, manglares, boques húmedos tropicales secos y húmedos, incluyendo ecosistemas marinos y costeros. Esto abarcará tanto la gestión para la restauración de estos ecosistemas como la aplicación de restricciones sobre la propiedad de tierras en dichas áreas.

De acuerdo con la Ley Orgánica del Desarrollo de la Acuicultura y Pesca (2020) mediante el registro Oficial Numero 187 suplemento Capitulo II se centra en la sostenibilidad para el uso de recursos hidrobiológicos. Dentro del mismo, se mencionan las disposiciones fundamentales para la protección y el uso responsable de recursos marinos.

SOSTENIBILIDAD EN EL APROVECHAMIENTO DE LOS RECURSOS HIDROBIOLÓGICOS

- El **Artículo 8** está dirigido a la conservación de las especies estableciendo que las autoridades responsables y las entidades públicas elaboren un plan Nacional de Ordenamiento para la Acuicultura y Pesca. Este plan definirá políticas y estrategias orientadas al desarrollo sostenible de los sectores acuícola y pesquero. Asimismo, se indica que la Autoridad Ambiental Nacional demarcará áreas de protección de especies luego de realizar un estudio técnico, social y ambiental que lo justifique.

- El **Artículo 9** aborda el uso sostenible de los recursos hidrobiológicos en aguas bajo jurisdicción nacional. Dispone que las normativas implementadas por el Estado para asegurar este uso sostenible también serán aplicadas en el área contigua a la zona económica exclusiva. El objetivo es proteger especies de peces migratorios y transzonales, junto con otros recursos marinos que están relacionados o dependen de estas especies. También se contempla la preservación de especies que forman parte de la cadena trófica en la zona económica exclusiva.

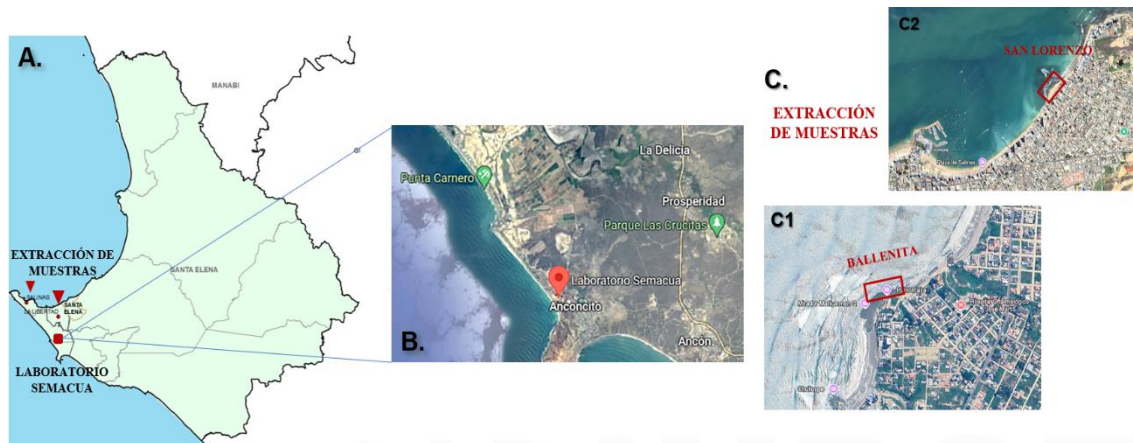
7. MACO METODOLÓGICO

7.1. Área de estudio

La presente investigación se realizó en el laboratorio SEMACUA S.A. que se encuentra ubicado en la parroquia Antoncito, en la península de Santa Elena, Ecuador, en las coordenadas 2°18'41.2"S 80°53'43.2"W (Figura 6B). Además del sitio de recolección de muestras que se dieron en Plataforma Rocosa de Ballenita en las coordenadas 2°12'22.4"S 80°52'54.2"W para la extracción de *E. vanbrunti* (Figura 6C1); y la plataforma rocosa de la playa de San Lorenzo en Salinas en 2°12'11.1"S 80°57'31.2"W para la extracción de *U. lactuca* (Figura 6C2).

Figura 6.

Sitio de Investigación y extracción de organismos.



Nota: A) Provincia Santa Elena – Laboratorio SEMACUA y Sitio de Recolección de muestras B) Anconcito - Ubicación del Laboratorio SEMACUA SA. C) Sitio de Recolección de *E. vanbrunti* (c1) (Ballenita) y *Ulva lactuca* (c2) (San Lorenzo). Modificado de MAATE, 2021; GOOGLE HEART, 2024.

7.2. Obtención De Material Biológico

La extracción de organismos de su medio natural se llevó a cabo bajo el permiso otorgado por el Ministerio del ambiente con el código: **MAATE-ARSFC-2024-0341** (ver anexo). El cual aplica tanto para los erizos de mar *Echinometra vanbrunti* y la macroalga *Ulva lactuca*. De tal forma, que *E. vanbrunti* es extraído de la plataforma rocosa de Ballenita con ayuda de equipo de extracción con organismos de la talla estimada de 4 a 7 cm de diámetro con un total de 72 especímenes requeridos (Vives et al., 2021; Bustos & Olave, 2001). Así mismo, la especie de macroalga requerida con una biomasa total de 877.5 gramos de *Ulva lactuca* para el estudio de 5 meses, los cuales fueron extraídos 175.5 g/mes, con una recolección dada cada dos semanas en la zona rocosa de la playa San Lorenzo.

7.3. Traslado de organismos

7.3.1. Traslado de erizos de mar (*Echinometra vanbrunti*)

De acuerdo con la metodología aplicada por Sonnenholzner (2018) y Catoira (2007) para llevar a cabo el traslado de organismos se implementa el uso de recipientes grandes en el cual se añade hielo y agua de mar manteniendo temperaturas de 18°C. Una vez realizado esto, los organismos recolectados son trasladados del mar a bolsas plásticas con cremallera individualmente dentro de la hielera. Esto con el fin de reducir la actividad metabólica y celular de los erizos de mar hasta que estos lleguen finalmente a su destino (ver Figura 7).

Figura 7.

Traslado de material biológico Erizos de mar.



Nota: Recolección de reproductores de 4 a 7 cm diámetro en la plataforma rocosa de ballenita.

7.3.2. Traslado de macroalga (*Ulva lactuca*)

De la misma forma, se realizó el mismo protocolo de traslado de muestras en la especie de macroalga *Ulva lactuca*, procurando extraer dichas muestras con el disco de adhesión, para evitar que esta se deteriore más rápido. Los organismos fueron trasladados en un recipiente de plástico a temperatura ambiente dentro de fundas herméticas, tal como se muestra en la Figura 8. Posteriormente, estos ejemplares fueron colocados en una gaveta de plástico a temperaturas de 23 a 25°C y siendo utilizados continuamente para la alimentación de los erizos de mar (Catoira, 2007).

Figura 8.

Traslado de material biológico Macroalga Ulva lactuca.



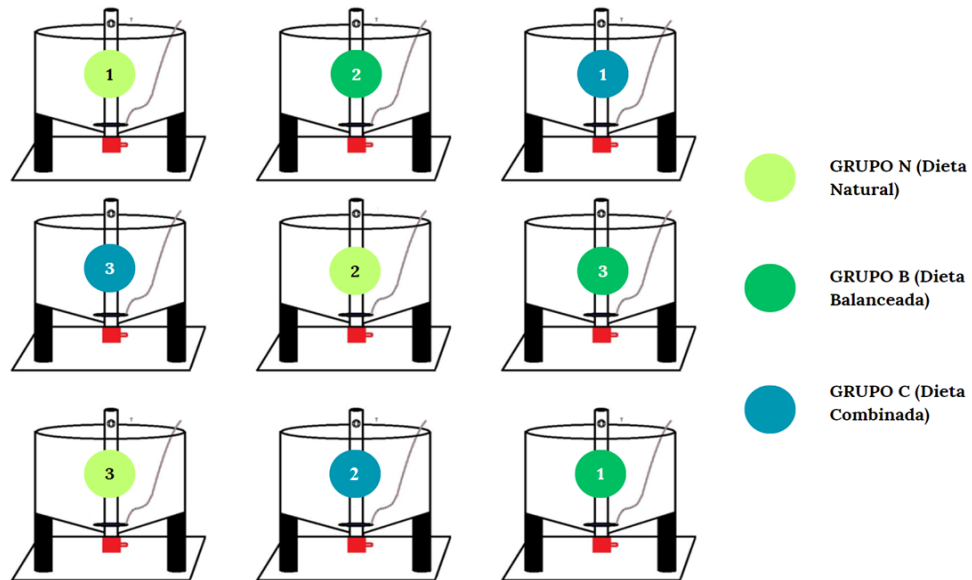
Nota: Recolección de alga marina en la plataforma rocosa de San Lorenzo, Salinas.

7.4. Sistema de cultivo

Los organismos recolectados fueron clasificados según su tamaño en diferentes grupos de alimentación. Según lo indicado por Sonnenholzner (2018), los erizos de mar requieren 50 litros de agua para mantenerse en cautiverio; en tanques con un volumen de 500 litros, permite albergar 10 individuos por cada uno de ellos. Sin embargo, dado que estos eran adultos reproductores, se optó por colocar 8 organismos por tanque, con aireación constante y sin exposición a luz directa. Cada grupo contó con 24 individuos, distribuidos aleatoriamente entre los tanques (Cerezo et al., 2022) (ver Figura 9).

Figura 9.

Sistema de cultivo y distribución de tanques.



Nota: Grupos de estudio bajo control de dietas distribuidos aleatoriamente.

7.4.1. Grupo dieta N (Alimento Natural)

Denominado también como grupo control. Este grupo respalda los resultados de forma referencial con el fin de ser una comparativa en los resultados obtenidos de los tratamientos experimentales sin recibir ningún tipo de tratamiento simulando las condiciones normales. Para este estudio se utilizó la especie de macroalga “*Ulva lactuca*”.

7.4.2. Grupo dieta B (Alimento Balanceado)

En este grupo se aplicará únicamente una dieta balanceada, misma que fue modificada de Vizcarra (2017), tal como se muestra en la tabla 5. Esta dieta busca proporcionar los nutrientes necesarios para que un organismo se desarrolle de manera adecuada, especialmente en organismos reproductores para la maduración sexual.

7.4.3. Grupo dieta C (Alimento combinado: Balanceado y natural)

El presente grupo consta del uso de una dieta complementaria basada en la combinación de alimento natural y balanceado. Esta dieta busca complementar como una mayor fuente de nutrientes a los erizos de mar, siendo estos provenientes tanto del medio natural y de un alimento elaborado.

7.4.4. Parámetros fisicoquímicos

Durante la fase de mantenimiento de estos organismos se consideró tomar en cuenta los parámetros físicos y químicos del agua, tales como: temperatura, oxígeno, pH, amonio, nitrito y nitrato, siendo estos factores los más comunes utilizados en la acuicultura. Los rangos de temperatura y oxígeno fueron aplicados de acuerdo con los parámetros de Mattaliano (2020) para erizos de mar reproductores. Asimismo, Álvarez et al. (2015) y Casanova & Betancourt (2010), mencionan que para el

mantenimiento de organismos acuáticos se deben emplear rangos establecidos evitando que la salud de los organismos llegue a un estado crítico, tal como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3.

Parámetros permisibles para el cultivo de organismos acuáticos.

Parámetros fisicoquímicos	Rangos permisibles
Temperatura	17-30°C
Oxígeno	5-6 mg/l
Salinidad	35 ppt
pH	6,5-8,5
Amonio (NH ₄ ⁺)	0,01-0,25 mg/l
Nitritos (NO ₂ ⁻)	0,001-0,100 mg/l
Nitratos (NO ₃ ⁻)	2,0 – 10,0 mg/l
TAN	0,5 mg/l
%Amonio no ionizado	<0,6

Nota: Los factores físicos son recomendados para erizos de mar entre 4 a 8 cm de longitud. Los factores químicos corresponden a niveles óptimos en agua de mar para un buen desarrollo de organismos acuáticos. Rangos extraídos de Mattaliano, 2020; Álvarez et al., 2015; Casanova & Betancourt, 2010; De la Rosa & Velázquez, 2023; Sandiñas & Pérez, 2004.

7.4.5. Recambios y sifoneo

Dentro del sistema de cultivo se llevó a cabo un recambio del 75% del agua de los tanques cada 2 días con ayuda del sifoneo para extraer la materia orgánica

concentrada en la base del tanque, considerando además los niveles de nitrito y nitrato (Álvarez et al., 2012).

7.5. Alimentación

De acuerdo con Vizcarra (2017) la ración diaria de alimento es de 0,3 a 0,5 g por erizos de mar de 40 a 50 mm de diámetro (ver tabla 4). Así mismo el suministro de alga *Ulva lactuca* se mantiene de 3 g por tanque, proporcionando recambios del alimento cada 2 días (Álvarez et al., 2012).

Tabla 4.

Ración diaria de alimentos para sistema de cultivo.

	Dieta Natural	Dieta Balanceada	Dieta Combinada
Balanceado	-	0,3 – 0,5 g/día	0,15 – 0,25 g/día
Ulva lactuca	0,3 – 0,5g/día	-	0,15 – 0,25 g/día

Nota: La tabla muestra la cantidad de alimento recomendada por cada individuo en tanques de 500 litros. Los recambios se realizaron cada 48 horas y los sifoneo cada 24h.

7.5.1. Dieta balanceada

Para evaluar los efectos de una dieta experimental en los resultados de desove de erizos de mar adultos reproductores, se utilizará una dieta modificada basada en los componentes propuestos por Vizcarra (2017). Esta dieta tiene como objetivo ofrecer diversos nutrientes que pueden favorecer la maduración sexual de los erizos de mar, el cual fue elaborada en proporciones correctas mediante una mezcla homogénea con un pellet de 5 mm de diámetro mediante el uso de un cedazo metálico 3/16 (ver Tabla 2 y 5).

Tabla 5.

Composición de balanceado extruido en 1 kg.

Componentes	Peso (g)
Harina de maíz	288
Harina de trigo	270
Harina de soya	115
Harina de alga	100
Harina de krill	100
Harina de pescado	75
Aceite de pescado	24
Gelatina	10
Premix Vit-Min camarón	13
Toxo MX (EC-AGRI) 25T GI	1
Fylax Fo HCL (EC-AGRI) 1000 GI	1
Vitamina C	3

Nota: La tabla muestra la composición del amiento balanceado que se dará uso en el presente estudio de investigación en erizos de mar. Modificado de Vizcarra, 2017

La dieta se aplicó cada 2 días en los tanques de cultivo, tanto en los grupos: DIETA B (alimento balanceado) y DIETA C (alimento combinado). Para esto es importante tomar en cuenta realizar la respectiva limpieza de los tanques una vez que se empiece a aplicar la dieta, debido de que la acumulación de materia orgánica puede resultar desfavorable para el mantenimiento de estos seres vivos.

7.5.2. Dieta Natural

Para llevar a cabo la comparativa del alimento que complementa a la maduración inducida de *E. vanbrunti* se utilizara la macroalga *Ulva lactuca*, el cual proporciona los requerimientos tanto para el grupo N (Alimento natural) y el grupo C (dieta combinada). Su aplicación se llevará a cabo durante el mismo periodo cada dos días.

7.6. Inducción al desove

Una vez finalizada la fase de adaptación de los organismos en un sistema de cultivo en cautiverio durante dos semanas, se llevó a cabo el proceso de inducción. Para estas pruebas se analizó los choques térmicos en comparativa de cada tratamiento de dieta aplicado mediante las variables de tiempo, tasa de supervivencia, tasa de crecimiento y densidad poblacional, para comprender la influencia de la dieta.

7.6.1. Método de Inducción: Aplicación de choques térmicos

Las temperaturas altas, demuestran un acondicionamiento gonádico adecuado para la inducción al desove, este proceso consiste en el incremento de la temperatura de los recipientes entre 4-5°C en un ambiente oscuro sin aireación para luego individualmente aplicar los choques de temperatura de cálido a frío con ayuda de hielo, de tal forma que las condiciones de temperatura variaron cada 20 a 30 minutos en la siguiente secuencia: 31°C caliente – 18°C frío – 31°C caliente (Robles et al., 2020; Fernández et al., 2021).

Adicionalmente, se realizó una prueba extra con los organismos del grupo de dieta que mostraron mejores crecimiento en peso y talla a partir del tercer mes, en el cual dicha práctica consiste en corroborar los resultados obtenidos de técnica de “choques térmicos” con el método tradicional “inyección de KCl vía peristomal” que es comúnmente utilizada en esta especie de erizo de mar comparando variables como tasa de supervivencia, tiempo y densidad poblacional, además de la liberación de gametos en cada técnica mediante la pérdida de peso post-desove.

7.6.2. Método de inducción: Inyección vía Peristomal

Para solventar las prácticas de desove con choques térmicos, se empleó además una comparativa con el uso de la técnica tradicional de inyección vía peristomal con nuevos organismos extraídos de cada grupo experimental correspondiente implicando el uso de 12 organismos (6 individuos por cada método) siendo 6 hembras y 6 machos, considerando las variables tiempo, supervivencia y densidad poblacional, realizando una comparativa adicional de ambos métodos. Para provocar el desove en organismos adultos, se administrará una inyección intracelómica de 1 a 2 ml de KCl a una concentración de 0.05 M a través de la membrana peristomal. Después de la inyección, los individuos se posicionarán de forma aboral en recipientes individuales, lo que facilitará la recolección controlada de los gametos (Madrid, 2023).

7.6.3. Extracción de gametos

La extracción de gametos es un proceso esencial en la reproducción asistida de organismos marinos, que requiere manipulación cuidadosa para asegurar su viabilidad. Utilizando recipientes previamente esterilizados se colocan los erizos de mar boca abajo para la recolección de gametos. El esperma masculino se diluye 0.2 ml en 10 ml de agua de mar filtrada y esterilizada, y se extraen 2 ml de esta solución para garantizar la concentración adecuada. Los gametos femeninos se extraen sin

diluciones adicionales, utilizando 0.2 ml para la fecundación. Con una proporción de 10:1 (Macho: Hembra), los gametos se agregan al recipiente de cultivo, creando un ambiente óptimo para la fertilización (ver Figura 10) (Mendes et al., 2019; Ayerve et al., 2017).

Figura 10.

Extracción y combinación de gametos.



Nota: Inducción al desove mediante choques térmicos y mantenimiento de ovocitos a 25°C. Los erizos de mar son organismos acuáticos que no presentan dimorfismos sexuales, siendo el color de sus gametos la única vía de distinción del sexo. El color blanco es el semen expulsado por el macho, mientras que los óvulos con coloración naranja o marrón son provenientes de la hembra (Álvarez, 2017).

7.6.4. Incubación

De acuerdo con Bustos & Olave (2001) & Catoira (2007), el proceso de incubación comienza con la fecundación de los ovocitos. Una vez que se mezclan los gametos de ambos sexos, se transfieren a un beaker de 1 litro de agua de mar filtrada y estéril cubierto con papel aluminio. Cuando los embriones alcanzan la fase de Larvas, se trasladan a peceras de vidrio (25x30 cm) con agua de mar filtrada para que continúen su desarrollo embrionario a una temperatura de 25°C.

7.7. Instrumentos de recolección de datos

7.7.1. Mediciones biométricas en reproductores

Las medidas de peso y talla fueron consideradas una vez que se dió inicio a la fase experimental durante los meses de marzo a julio, sin considerar las mediciones de estas variables en la fase de adaptación del mes de febrero. En la fase experimental se obtuvieron los datos proporcionados mediante la aplicación de dietas en tres grupos de estudio, las cuales se clasificaron de la siguiente forma: dieta natural, dieta balanceada y dieta combinada. Por lo tanto, la toma de datos de talla y peso de los erizos de mar fueron realizados cada 7 días utilizando un calibrador de vernier para la talla y una balanza digital para el peso del organismo. De acuerdo con GIDEA (2017), el cálculo de la tasa de crecimiento se debe realizar bajo la fórmula:

$$\text{Tasa de crecimiento en talla \%} = \frac{T_2 - T_1}{T_1} * 100$$

7.7.2. **Conteo poblacional y medición de ovocitos**

En el conteo de los ovocitos se utilizó la Cámara de conteo de Neubauer para comprender la densidad de los mismos, llevando a cabo monitoreos durante cada fase del desarrollo embrionario a partir de la fecundación hasta prisma. Esto además, permitió conocer la supervivencia final de los organismos en un volumen determinado (Gallego & Pérez, 2021).

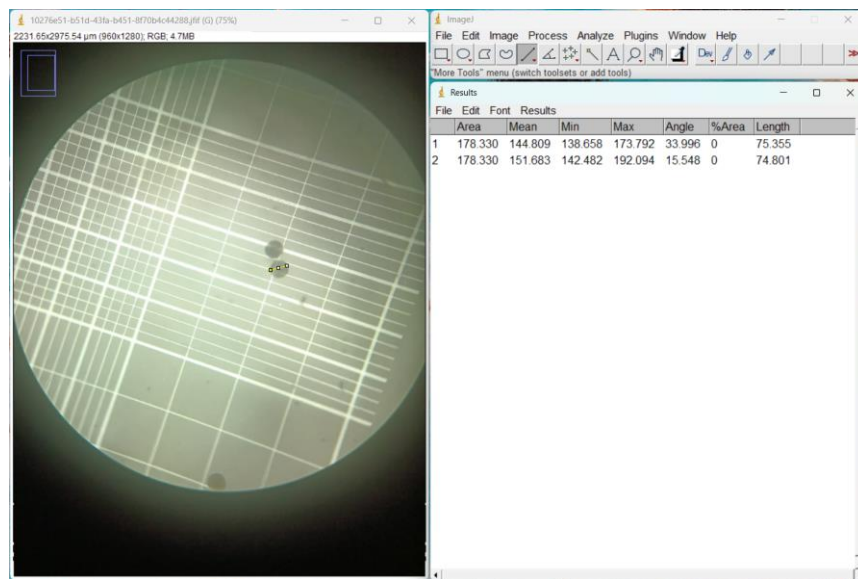
Los ovocitos fueron obtenidos mediante la fertilización, combinando gametos masculinos y femeninos. Posteriormente, se realizó la medición de los ovocitos utilizando el software especializado "ImageJ", que permitió monitorear las dimensiones en cada etapa del desarrollo embrionario, expresadas en micras en aumentos de 4x y 40x (Lianis et al., 2022).

Según Alarcón (S.f.), para medir en micras, el primer paso es calibrar la imagen utilizando una escala de referencia conocida, como un patrón de calibración con marcadores de distancia establecidos. A través de la función "Analyze > Set Scale" de ImageJ, se especifica la distancia conocida en micras, lo que permite que el software realice conversiones precisas. En este caso, se utilizó de referencia las

medidas de un hemocitómetro (ver Figura 11). Una vez calibrada la imagen, se mide la distancia deseada utilizando la herramienta de línea de ImageJ. Al trazar la línea sobre la imagen, el software proporciona automáticamente la longitud en micras, asegurando mediciones precisas y confiables en la observación microscópica.

Figura 11.

Medición de ovocitos en software ImageJ.



Nota: Medición de ovocitos en fase de división 8 células en aumento 10x.

7.7.3. Medición de parámetros fisicoquímicos del agua

Durante el periodo de estudio se llevó a cabo el control de parámetros como temperatura, oxígeno, pH, amonio, nitrito y nitrato, los mismos que fueron analizados mediante instrumentos de medición utilizados en acuicultura. En el caso de la temperatura y oxígeno, los datos fueron obtenidos mediante un YSI Pro1030 para el registro correspondiente de la misma. Por otro lado, los niveles de pH fueron tomados mediante un medidor de pH Hanna HI 98107, mientras que los niveles de amonio, nitrito y nitrato fueron evaluados mediante el método de espectrofotometría YSI 9300.

Adicionalmente, se realizó el cálculo respectivo para TAN y % Niveles de toxicidad. De acuerdo Sardiñas & Pérez (2004) y De la Rosa & Velázquez (2023), para el cálculo de parámetros como TAN (Total de amonio nitrogenado) se empleó la siguiente formula:

$$TAN = NO_3^- + NH_4^+$$

Así mismo, para el cálculo del porcentaje de niveles de toxicidad se consideraron los niveles de pH y temperatura mediante el uso de la tabla de amoniaco denominada “Porcentaje de amoniaco no ionizado en solución acuosa por valor de pH y temperatura” (ver anexo 15).

7.7.4. Análisis de calidad de agua por espectrofotometría

De acuerdo con el manual descrito por YSI incorporated (2010) para el cálculo y medición de parámetros químicos de agua como amonio nitrito y nitrato por espectrofotometría se deben aplicar los siguientes procedimientos:

- **Amonio (NH_4^+).** – El procedimiento para medir amonio en muestras de agua de mar comienza con el llenado de un tubo de ensayo con 10 ml de la muestra. Se añade una cucharada del reactivo de acondicionamiento YSI y se mezcla bien para disolverlo. Luego, se incorporan y trituran una tableta de Ammonia No 1 y una de Ammonia No 2, asegurando su adecuada disolución. Posteriormente, la mezcla se deja reposar durante 10 minutos para permitir el desarrollo del color característico. Finalmente, se mide la concentración de amonio con un fotómetro, seleccionando el modo Phot 4 para expresar el resultado en mg/l de NH_4 . **Método:** Hach 8155.
- **Nitritos (NO_2^-).** – Para el análisis de la medición del nitrito, se inicia con el proceso de filtrado de la muestra para una solución limpia. Posteriormente, se coloca la muestra en un tubo de ensayo de 10 ml de la muestra y se añade una tableta de Nitriphot No 1 triturada y mezclada, luego se añade una tableta de Nitriphot No 2 repitiendo el proceso de trituración. Después de añadir los reactivos, se deja reposar la mezcla durante exactamente dos

minutos para permitir el desarrollo del color característico del nitrito. Finalmente, se selecciona Phot 43 en el fotómetro y se registra la lectura en mg/l de NaNO_2 . **Método:** Hach 8705

- **Nitrato (NO_3^-).** – Para la medición de nitrato en muestras de agua, se inicia el proceso filtrando la muestra si es necesario, de modo que se obtenga una solución clara. Posteriormente, se llena un tubo de ensayo con 1 ml de la muestra filtrada y se completa el volumen hasta 10 ml utilizando agua desionizada. Se incorpora una tableta de Nitratest en el tubo de ensayo, la cual debe ser triturada y mezclada cuidadosamente hasta su completa disolución dejando reposar la mezcla durante un periodo de 10 minutos para la atenuación del color. Finalmente, se procede a seleccionar Phot 23 en el fotómetro para medir el nitrato expresado en mg/l de N, o Phot 63 si se desea la lectura en mg/l de NO_3 . **Método:** Hach 8171.

7.8. Análisis estadísticos

El análisis de datos se llevó a cabo mediante el uso de software estadísticos como *Rstudio* versión 2022.12.0+353 para la elaboración de gráficas Boxplot de peso y tallas en reproductores; *Past 4.03* para el análisis de varianza de un factor en comparativa a tres grupos de diferentes tratamientos y Excel para gráficas de tendencias en crecimientos del desarrollo embrionario y parámetros de calidad de agua. Además del uso de *Statgraphic Centurion Versión 19.6.04* para la elaboración de gráfica de correlaciones entre parámetros fisicoquímicos y la supervivencia de reproductores.

La prueba ANOVA (Análisis de Varianza) es una herramienta que se utiliza para comparar las diferencias entre las medias de tres o más grupos o tratamientos para determinar si existen diferencias significativas tanto en la tasa de crecimiento de peso y talla en reproductores, así como también en la tasa de crecimiento y supervivencia del desarrollo embrionario del erizo de mar en relación con el tiempo, optando por un nivel de significancia del 0.05. Posteriormente, se utiliza la prueba de Tukey para identificar cuáles grupos son significativamente diferentes entre sí (Dagnino, 2014)

8. RESULTADOS

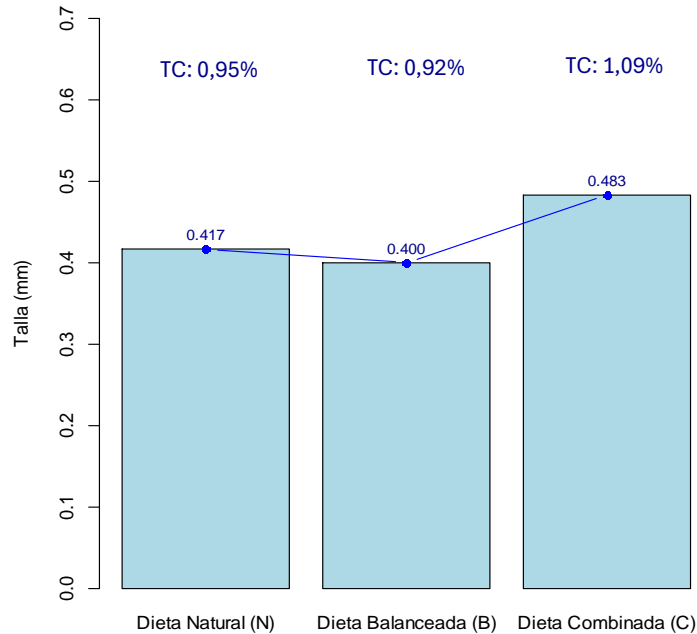
8.1. Medición de variaciones biométricas en reproductores

Durante el periodo de investigación del mes de marzo al mes de Julio se obtuvieron los datos de la tasa de crecimiento mensual (%TC) y crecimiento neto de los organismos, la misma que se evaluó mediante las variables biométricas de los erizos de mar, que corresponden al peso y la talla de los reproductores.

En la figura 12 se muestra el crecimiento progresivo mensual de los reproductores, dando a conocer que el grupo denominado “dieta combinada” mostró un mayor alcance de crecimiento en talla de $0,483\pm 0,10$ mm/mes (TC: 1,09%), con un crecimiento neto de $2,415\pm 0,51$ mm durante los 5 meses de estudio. Mientras que, en la Figura también muestra una similitud de crecimiento en talla mensual entre los grupos dieta natural ($0,417\pm 0,08$ mm/mes; TC: 0,95%) y dieta balanceada ($0,400\pm 0,08$ mm/mes; TC: 0,92%), con un crecimiento neto de $2,085\pm 0,42$ mm y $2,0\pm 0,45$ mm respectivamente.

Figura 12.

Tasa de crecimiento mensual de talla en reproductores.

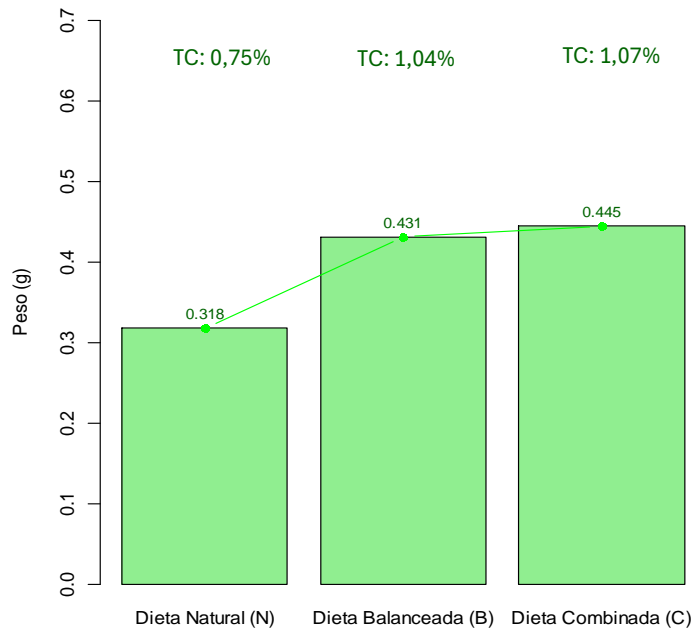


Nota: Comparación de las medias y tasa de crecimiento (TC) de las tallas obtenidas de marzo a julio.

En la figura 13 se observa el peso obtenido de forma mensual, en el que se denota un mayor incremento en el grupo dieta combinada de $0,445 \pm 0,04$ g/mes (TC: 1.07%) con un crecimiento en peso total de $2,275 \pm 0,24$ g en 5 meses. Seguido del grupo de dieta balanceada de $0,431 \pm 0,05$ g/mes (TC: 1.04%). Mientras que, en el caso del grupo de dieta natural ($0,318 \pm 0,11$ g/mes; TC: 0.75%) se mostró un crecimiento menor al de los demás grupos, en el que se demuestra que el grupo combinado tiene un mayor alcance de crecimiento en peso, seguido de la dieta balanceada que mostro un incremento similar al combinado y mayor a la dieta natural.

Figura 13.

Tasa de crecimiento mensual de Peso en reproductores.



Nota: Comparación de las medias y tasa de crecimiento (TC) del peso obtenidas de marzo a julio.

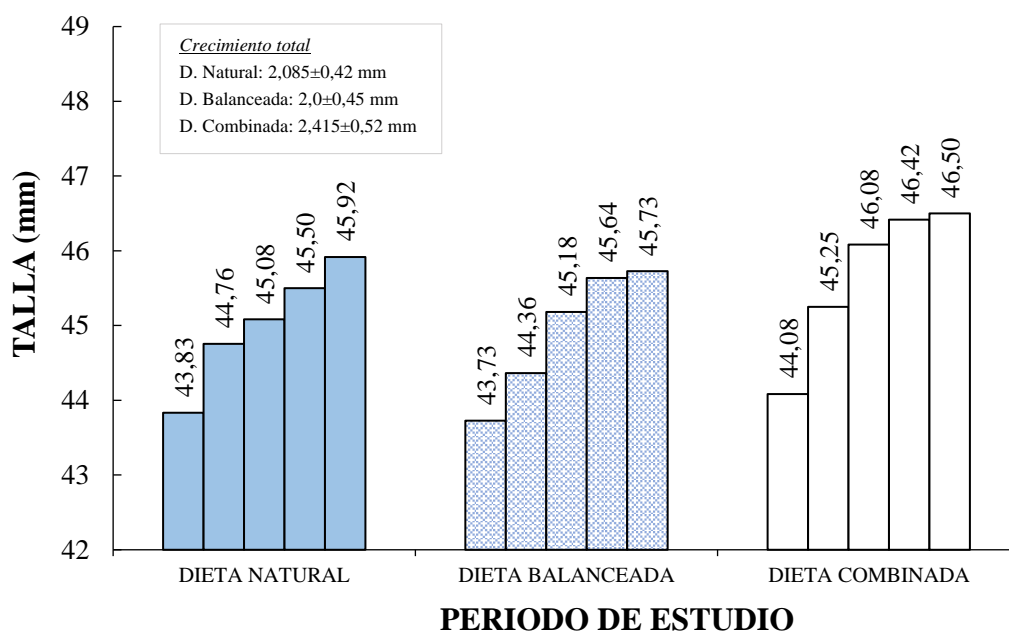
8.1.1. Determinación de talla (mm) en tratamientos realizados

Bajo las condiciones de cautiverio, los reproductores mantuvieron un crecimiento moderado de talla en los 3 grupos de dieta desde el mes de marzo a julio, donde se determinó que los grupos cuentan con una distribución normal (P(normal): N: 0,814; B: 0,433; C: 0,251), y mediante ANOVA se reconoce que no existen diferencias significativas entre las medias de los grupos ($F = 1.011$, $p = 0.3929$). La varianza entre los grupos es mínima ($ICC = 0.0021$), y el omega cuadrado ($\omega^2 = 0.0014$) confirma que menos del 0.15% de la variabilidad se debe a diferencias entre ellos.

Sin embargo, en la imagen observamos que la dieta combinada tuvo un crecimiento constante alcanzando una mayor talla de $2,415\pm 0,52$ mm (TC: 1,09%) durante los 5 meses de estudio, seguido de la dieta natural de $2,085\pm 0,42$ mm (TC: 0,95%) y la dieta balanceada de $2,0\pm 0,45$ mm en total (TC: 0,92%), las cuales no mostraron diferencias significativas mayores entre las dos con un crecimiento progresivo en las tallas (ver figura 14).

Figura 14.

Crecimiento total de talla en reproductores.



Nota: Registro mensual del diámetro de testa (mm) de marzo a julio bajo tres grupos de dietas.

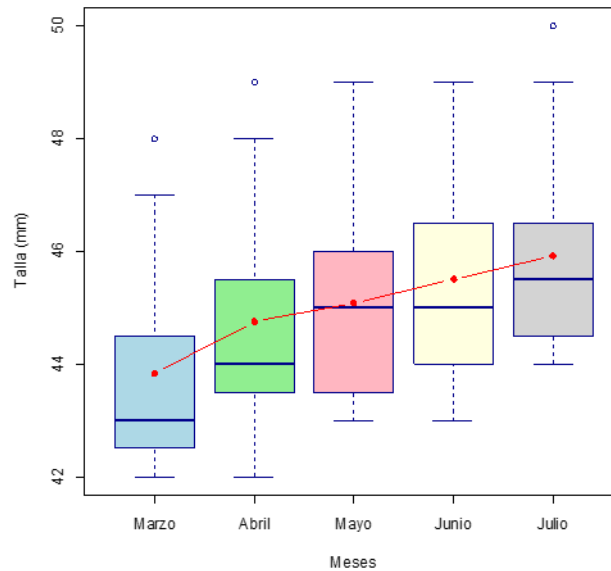
8.1.1.1. Talla - Dieta Natural

En la figura 15 se observa las tallas de los reproductores evaluados bajo las condiciones de dieta natural durante el período de marzo a julio, en el que los datos reflejan un aumento progresivo en los valores máximos, mínimos, media y mediana. Durante marzo, la mediana es de 43 mm con una media de 43,83 mm, con rangos mínimos de 42 mm y máximos de 48 mm. En abril, la mediana incrementa a 44 mm con una media que incrementa de igual forma a 44,76 mm y media de 45,50 mm, sin variaciones en los rangos y mínimos.

Para el mes de mayo, la mediana aumenta a 45 mm con una media de 45,08 mm con mínimos de 43 mm y máximos de 49 mm, con una variación mínima entre los máximos y mínimos entre los rangos. En el mes de junio, la mediana se mantiene a 45 mm, con la media de 45,50 mm sin variaciones en los rangos. Finalmente, en julio, la mediana alcanza 45.50 mm, la media llega a 45,92 mm y el mínimo aumenta a 44 mm, con los máximos aumentando en 50 mm. Este mes evidencia el mayor incremento en la mediana y la media, destacando una tendencia continua de crecimiento en los valores observados a lo largo del tiempo.

Figura 15.

Caja de bigotes del crecimiento de talla en reproductores - Dieta N.



Nota: Distribución de talla obtenidas del diámetro de testa (mm) mensualmente entre marzo a julio bajo la aplicación de alimento natural *U. lactuca*.

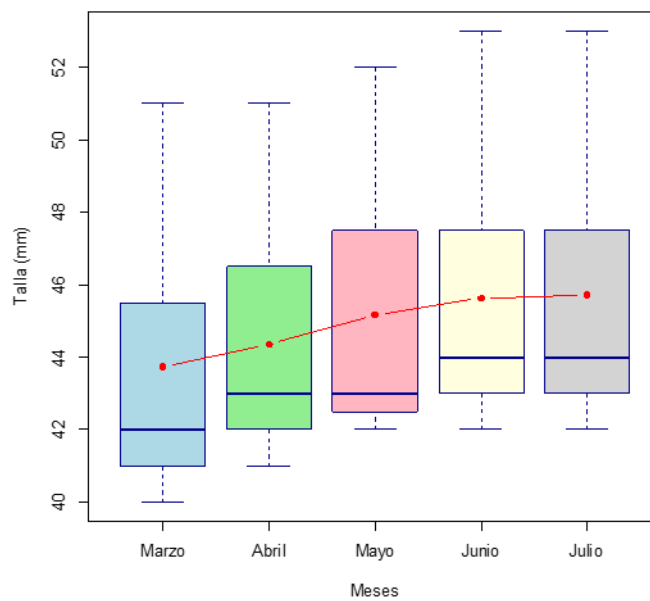
8.1.1.2. Talla - Dieta balanceada

En la figura 16 de cajas y bigotes para los datos de dieta balanceada, se observa un incremento mensual en los valores. En marzo, la mediana y la media tienen valores iniciales de 42 mm y 43,73 mm respectivamente con una distribución mínima de 40 mm y máxima de 51 mm. En abril, la mediana aumenta a 43 mm y la media sube a 44,36 mm (mín: 41 mm; máx: 51 mm), indicando un crecimiento en los valores centrales. En mayo, la mediana se mantiene en 43 mm y la media incrementa a 45,18 mm (mín: 42 mm; máx: 52 mm), reflejando una tendencia clara hacia valores más altos.

En junio, la mediana incrementa en 44 mm y la media crece a 45,64 mm (mín: 42 mm; máx: 53 mm), con el máximo aumentando. Finalmente, en julio, la mediana se mantiene en 44 mm (mín: 42 mm; máx: 53 mm) y la media llega a 45,73 mm (mín: 42 mm; máx: 53 mm), mostrando el mayor incremento en la media y reflejando una tendencia continua de crecimiento en los valores observados.

Figura 16.

Caja de bigotes del crecimiento de talla en reproductores - Dieta B.



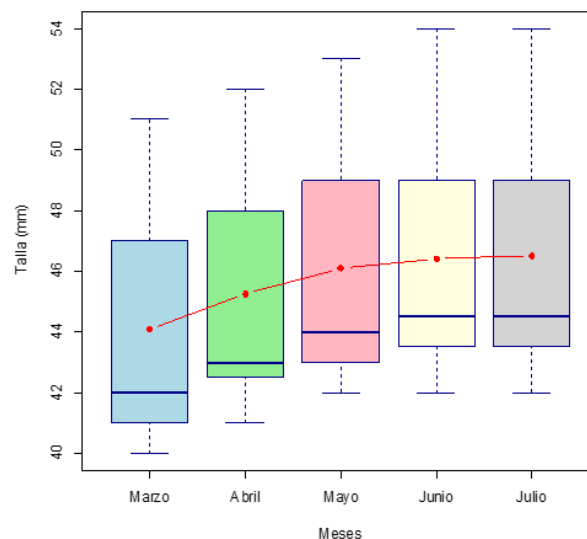
Nota: Distribución de talla obtenidas del diámetro de testa (mm) mensualmente entre marzo a julio bajo la aplicación de alimento balanceado.

8.1.1.3. Talla - Dieta combinada.

Durante el mes de marzo, la distribución de tallas iniciales corresponde a 42 mm con una media de 44,08 mm con rangos mínimos de 40 mm y máximos 51 mm. En abril, la mediana aumenta a 43 mm y la media igual a 45,25 mm (mínimo de 41 mm y máximo de 52 mm). Para mayo, la mediana y la media incrementan a 44 mm y 46,08 mm reflejando una tendencia en crecimiento. En junio, la mediana incrementa crece en 44,5 mm y la media a 46,42 mm, con un aumento en el rango máximo de 46,50 mm. Finalmente, para el mes de julio la mediana alcanza un máximo de 44,5 mm y la media de 46,50 con rangos mínimos de 42 mm y máximos de 54 mm (ver grafica 6)

Figura 17.

Caja de bigotes del crecimiento de talla en reproductores - Dieta C.



Nota: Distribución de talla obtenidas del diámetro de testa (mm) mensualmente entre marzo a julio bajo la aplicación de *U. lactuca* y alimento balanceado.

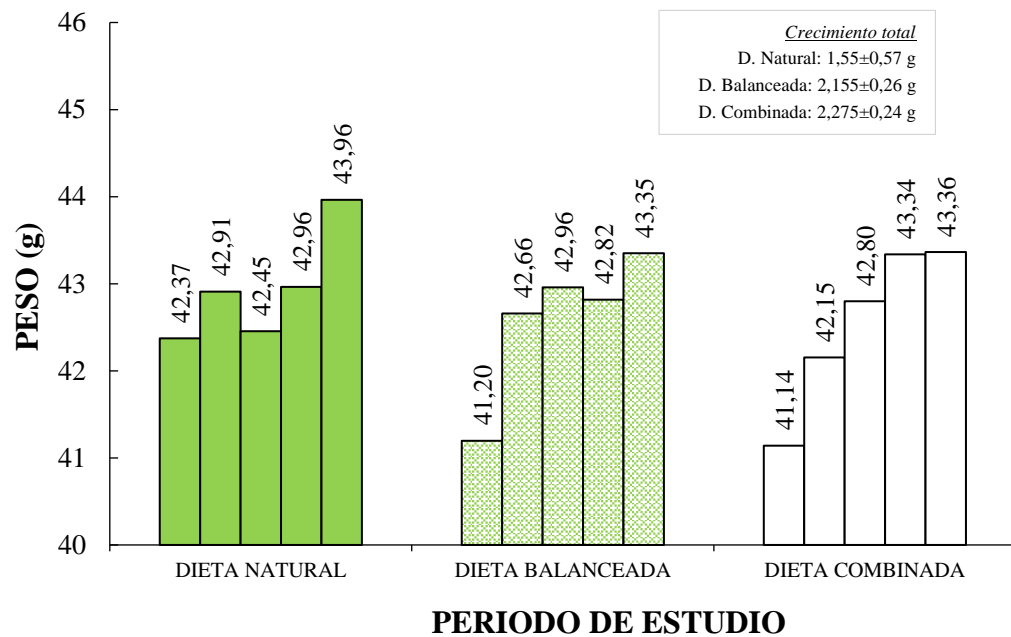
8.1.2. Determinación de peso (g) en tratamientos realizados

Al igual que la talla, el peso es otro factor relevante al momento de evaluar el crecimiento del erizo de mar. Con un conjunto de datos paramétricos (Valores P(normal): N: 0,8223; B: 0,1057; C: 0,374), se llevó a cabo el uso de la prueba ANOVA, el cual indica que no existe diferencias significativas entre los grupos ($F = 0.3207$, $p = 0.7316$), y la varianza entre ellos es irrelevante ($ICC = -0.1572$, $\omega^2 = 0$).

De acuerdo a los datos registrados, se obtuvo un crecimiento y decrecimiento del peso en todos los grupos de estudio durante los 5 meses, por lo tanto para determinar el crecimiento total de cada grupo consideramos el resultado final en comparativa de la inicial. En el cual, se determina que los grupos que tuvieron mayor crecimiento total de marzo a julio en peso fueron la dieta combinada ($2,275 \pm 0,24$ g; TC: 1.07%) y balanceada ($2,155 \pm 0,26$ g; TC: 1.04%) quienes mostraron un peso significativo al finalizar la investigación. Por otro lado, la dieta natural mostro un menor crecimiento en peso de $1,55 \pm 0,57$ g totales (TC: 0.75%) (ver figura 18).

Figura 18.

Crecimiento total de peso en reproductores.



Nota: Registro mensual del peso (g) obtenido entre marzo a julio bajo tres grupos de dietas.

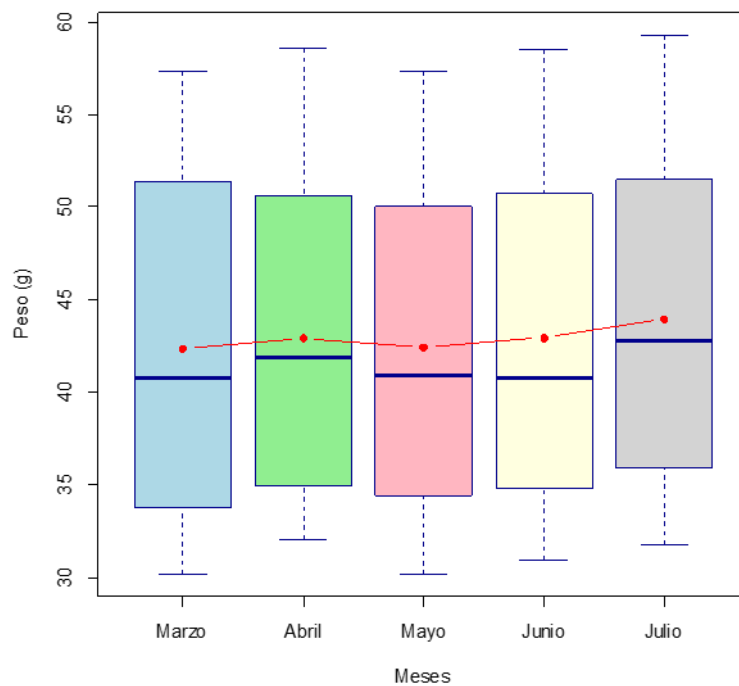
8.1.2.1. Peso – Dieta natural.

La figura 19 muestra mediante cajas y bigotes el crecimiento y decrecimiento del peso en el erizo de mar del grupo de dieta natural. El crecimiento del peso registrado en el grupo de dieta natural dio a conocer que en el mes de marzo la distribución de los datos iniciales (máx: 57,3g; min: 30,2g) corresponden a una media 41,9g y mediana de 40,8g. Luego, en el mes de abril se puede observar un crecimiento de +0,54g en la media (42,91g), con una mediana que de igual forma crece a 41,9g (máx: 58,6g; min: 32,1g).

Posteriormente, en el mes de mayo se observa una disminución del peso $-0,45g$ en la media ($42,45g$) con una mediana ($40,9g$) que decrece de igual forma con la distribución de los datos (máx: $57,3g$; min: $30,2g$). Sin embargo, en el mes de junio el peso vuelve a incrementar $+0,51g$ en la media ($42,96$), con una mediana $40,8g$ (máx: $58,5g$; min: $31g$). Finalmente, en julio se mantiene el crecimiento $+1g$ con una media final de $43,96g$ y una mediana de $42,84g$ con rangos finales: máx: $59,3g$ y min: $31,8g$ (figura 19).

Figura 19.

Caja de bigotes del crecimiento de peso en reproductores - Dieta N.



Nota: Distribución del peso mensual obtenido entre marzo a julio bajo la aplicación de *U. lactuca*.

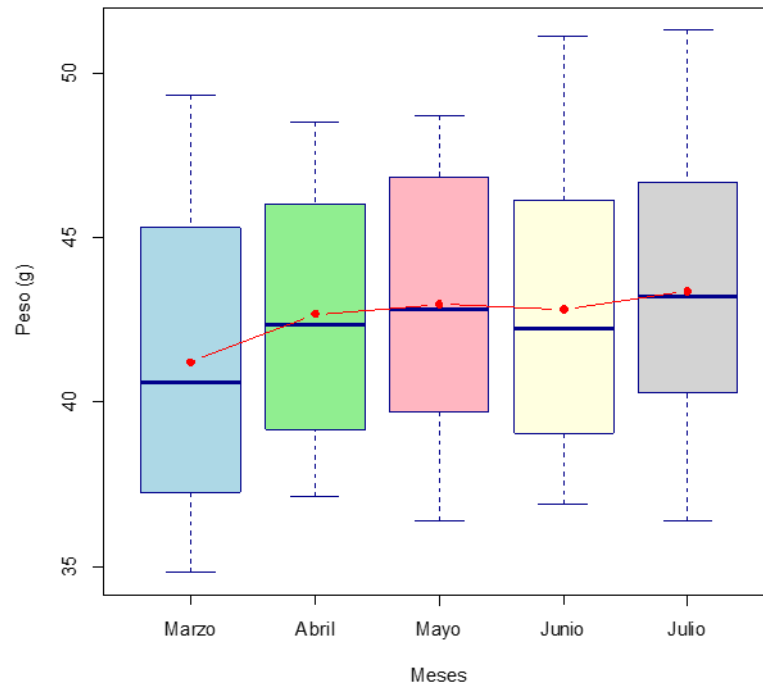
8.1.2.2. Peso – Dieta balanceada

En la figura 20 mediante cajas y bigotes se muestra el crecimiento del peso de los erizos de mar durante los meses de marzo a julio. En el cual, se observa en el mes de marzo la distribución de los datos iniciales (máx: 49,3g; min: 34,8g) donde la media y mediana corresponden a 41,20g y 40,6g. Posteriormente, en el mes de abril se nota un ligero crecimiento de +1,46g en la media (42,66g), con una mediana (42,4g) y rangos mínimos (37,1g) en aumento, mientras que los rangos máximos disminuyeron a 48,5g.

En el mes de mayo, se mantiene el incremento del peso con +0,30g en la media (42,96g) y una mediana de 42,8g (máx: 48,7g; min: 36,4g). Sin embargo, en el mes de junio existe una disminución de los valores con una media de 42,82g y mediana de 42,3g (máx: 51,1g; min: 36,9g), siendo este mes de pérdida de peso de -0,14g. Finalmente, en el mes de julio los valores de peso crecen nuevamente +0,53g en la media (43,35g), con una mediana en aumento (43,2) y rangos finales (máx: 51,3g; min: 36,4g) en crecimiento (ver figura 20).

Figura 20.

Caja de bigotes del crecimiento de peso en reproductores - Dieta B.



Nota: Distribución del peso mensual obtenido entre marzo a julio bajo la aplicación de alimento balanceado.

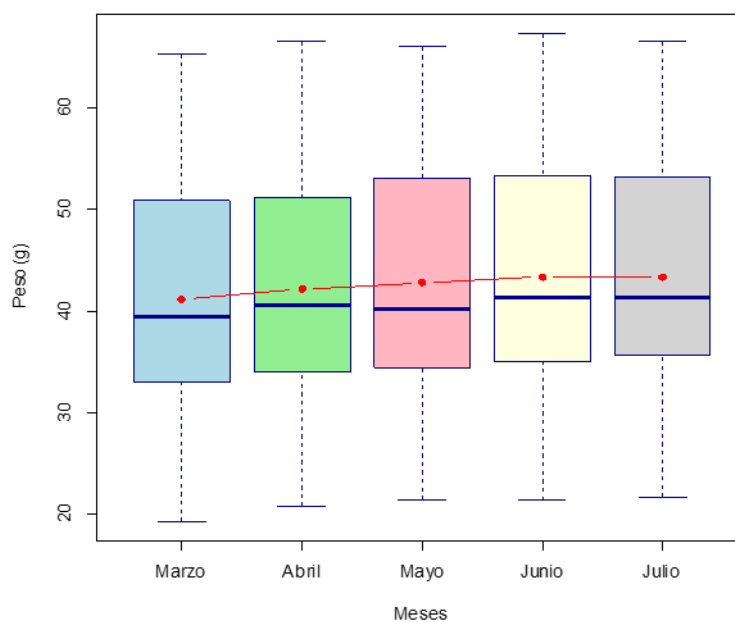
8.1.2.3. Peso – Dieta combinada

En la figura 21 observamos la tendencia del incremento del peso en la dieta combinada donde se puede apreciar un crecimiento continuo desde marzo hasta julio. Por lo que, en el mes de marzo se registró una media de 41,14g y mediana con una distribución de datos iniciales (máx: 65,2g; min: 19,3g). Asimismo, el mes de abril mostró un crecimiento de +1,01g en la media (42,15g) con una mediana (40,5g) con un incremento de datos (máx: 66,5g; min 21,4g).

En el mes de mayo, se observa un crecimiento menor de $+0,65g$ en la media (42,80) con una mediana que disminuye a 40,19g (máx: 66g; min: 21,4g). En junio se obtuvo un crecimiento de $+0,54g$ con una media (43,34g) y una mediana (41,3g). Finalmente, en julio el crecimiento fue menor de $+0,03g$ con una media final de 43,36g y mediana de 41,36g, con una distribución mayor (máx: 66,5g; min: 21,76g).

Figura 21.

Caja de bigotes del crecimiento de peso en reproductores - Dieta C.



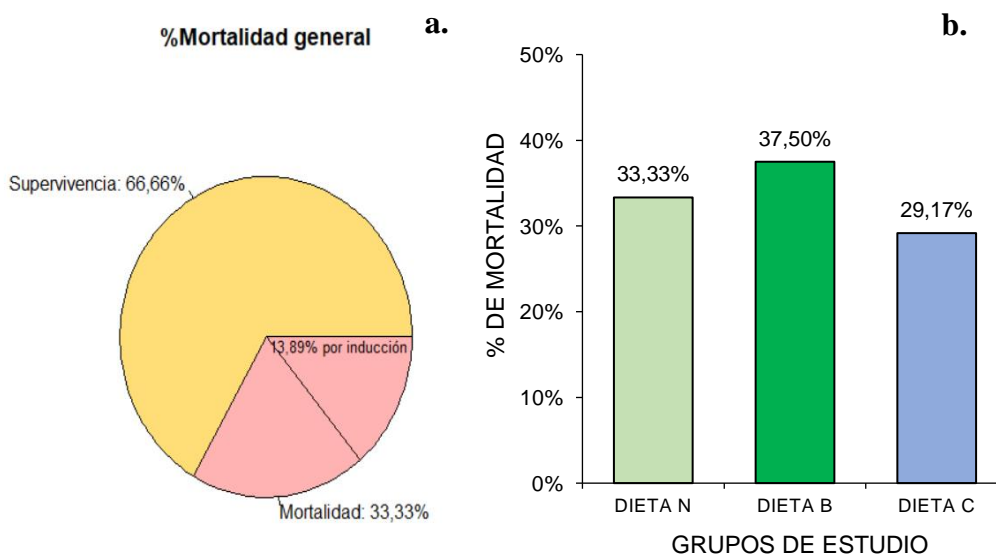
Nota: Distribución del peso mensual obtenido entre marzo a julio bajo la aplicación de *U. lactuca* y alimento balanceado.

8.1.3. Mortalidad obtenida

En la figura 22a se presenta el porcentaje total de organismos utilizados en el sistema de cultivo durante el periodo de investigación comprendido entre los meses de marzo y julio. En un inicio, el estudio contó de un total de 24 organismos para cada grupo experimental abarcando un total de 72 individuos para los 3 grupos. Durante la experimentación, se registró una reducción general del 33,33% que representa una mortalidad de 24 organismos. En base a esto, es importante destacar que del 33,33% de mortalidad obtenida, tan solo el 13,89% de la misma corresponden a las pruebas experimentales, siendo un total de 10 organismos afectados por las prácticas de inducción, mientras que el 19,44% restante de la mortalidad son a causa del mantenimiento y adaptación a la dieta.

Figura 22.

Mortalidad obtenida del sistema de cultivo de marzo a julio.

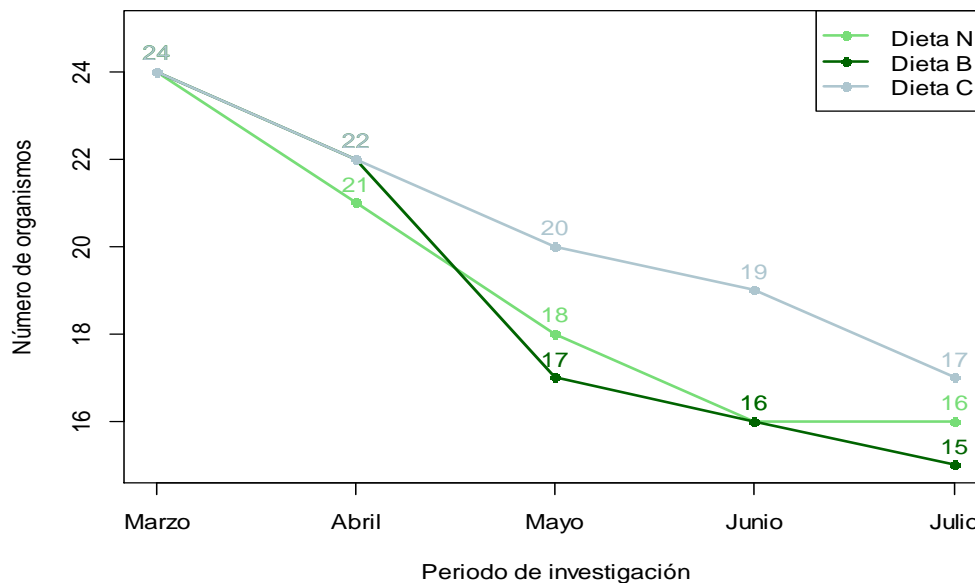


Nota: Figuras de mortalidad a). Mortalidad general; b). Porcentaje de mortalidad por dietas.

En cuanto al nivel de dietas, la dieta N registro una pérdida de 8 organismos representando un 33,3% de la mortalidad por grupo, mientras que la dieta B tuvo una pérdida de 9 organismos siendo el 37,5% de muertes. Finalmente, la dieta C tuvo una mortalidad del 29,17% siendo el grupo con menor perdida de organismos con 7 individuos descendidos (ver figura 22b y 23). De estos grupos, tan solo la dieta C muestra una mayor supervivencia con 17 erizos de mar, mientras que los demás grupos muestran disparidad por los cambios de alimentación en reproductores.

Figura 23.

Numero de organismos resultantes durante la fase de experimentación.



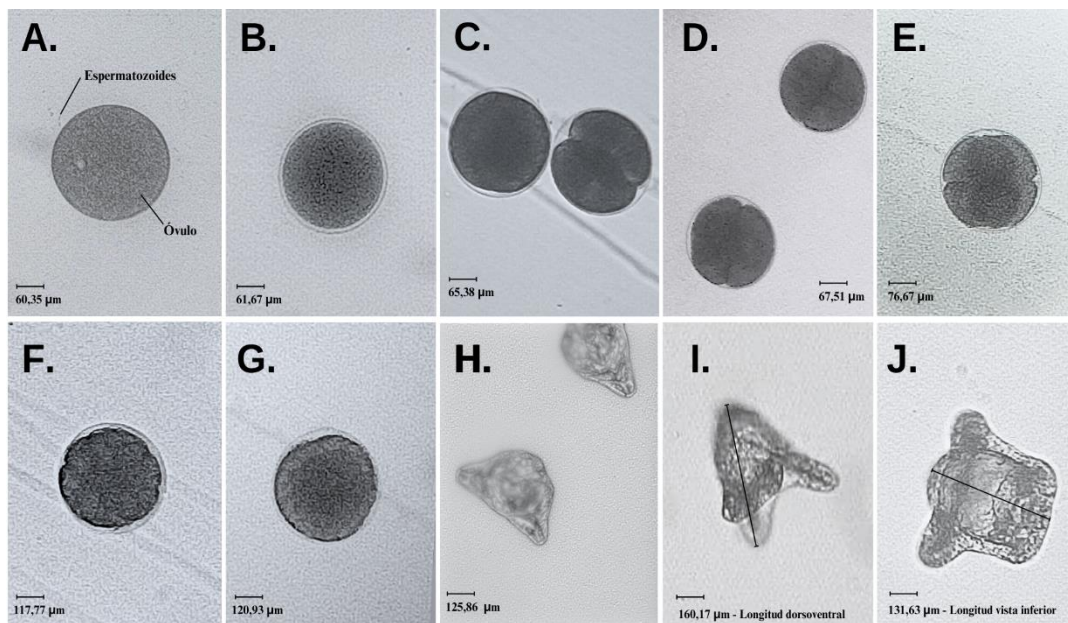
Nota: La Figura muestra la reducción de organismos (mortalidad) obtenido durante la fase experimental (marzo a julio) bajo la aplicación de diferentes dietas.

8.2. Evaluación del desarrollo embrionario en respuesta a los tratamientos

Una vez aplicado el método de inducción por choques térmicos, se logró llevar a cabo el seguimiento de las fases del desarrollo embrionario a partir de la fecundación por medio de la unión de gametos, hasta la eclosión y formación de la larva prisma en los aumentos 10x y 4x, tal como se muestra en la Figura 24.

Figura 24.

Fases del desarrollo embrionario del erizo de mar Echinometra vanbrunti.



Nota: Fases del desarrollo embrionario: A. Óvulo no fecundado; B. Óvulo fecundado; C. Primera división celular (Dos células); D. División 4 células; E. División 8 células; F. División 32 células; G. Blástula; H. Gástrula; I. Larva prisma –vista lateral; J. Larva prisma –vista inferior.

8.2.1. Tasa de crecimiento en embriones

La prueba de normalidad aplicada en los grupos de dieta tanto natural ($p = 0,1082$), balanceada ($p = 0,593$) y combinada ($p = 0,092$) muestra valores superiores al nivel de confianza de 0,05. Estos resultados indican que los valores no presentan desviaciones significativas manteniendo una distribución normal en los tres grupos de datos, dando paso a las pruebas paramétricas.

Posteriormente, el análisis de varianza Prueba ANOVA determinó que los grupos no presentan diferencias significativas entre las medias de los grupos ($F = 0,00276$ y $P = 0,9972$) con un valor de varianza negativa entre los grupos de $-174,622$ con un coeficiente de correlación de intraclass (ICC) de 0,099 indicando una variabilidad mínima entre los grupos.

En base a esta comparativa, la tabla 6 muestra el tamaño obtenido de los ovocitos en el cual se observa que la misma no mostro diferencias mayores en cada uno de los tratamientos aplicados dando una media general del $61,67 \mu\text{m}$ para fecundación y $160,17 \mu\text{m}$ para larva prisma, siendo este la última etapa del desarrollo embrionario que da paso a la larva pluteus. Adicionalmente, la tasa de crecimiento en los tres grupos fue similar desde 11,45% para dieta N, 11,32% para dieta C y finalmente 11,85% para dieta B, mostrando una leve superioridad en este grupo de tratamiento.

Tabla 6.*Comparativa de tamaño de ovocitos obtenidos en diferentes tratamientos*

Fases	Tamaño (μm)						Promedio
	Dieta N	TA	Dieta B	TA	Dieta C	TA	
<i>Fecundación</i>	62,01	10 min	61,44	10 min	61,56	9 min	61,67
<i>2 células</i>	65,73	25 min	65,05	26 min	65,37	27 min	65,38
<i>4 células</i>	67,9	55 min	67,42	58 min	67,51	57 min	67,51
<i>8 células</i>	76,69	02h00	75,47	02h08	77,86	01h59	76,67
<i>16 células</i>	93,83	03h23	91,86	03h38	92,81	03h22	92,83
<i>32 células</i>	112,68	05h22	115,25	05h48	112,02	05h20	113,32
<i>Mórula</i>	119,2	07h50	116,33	08h23	117,77	07h45	117,77
<i>Blástula</i>	118,71	13h36	123,12	14h18	120,96	13h25	120,93
<i>Gástrula</i>	128,57	21h44	126,44	22h48	125,56	21h17	125,86
<i>Larva prisma</i>	160,35	29h40	162,51	31h15	157,64	28h52	160,17
TC%	11,45%		11,85%		11,32%		11,55%

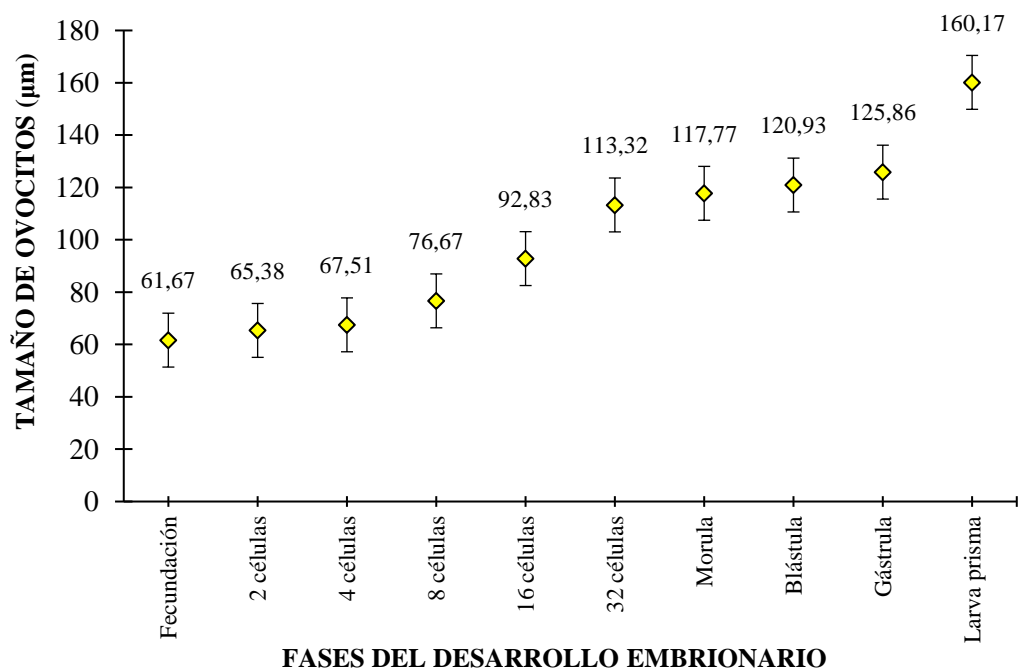
Nota: Los tamaños fueron extraídos periódicamente en cada cambio de fase en relación al tiempo con ayuda del software ImageJ en vista del microscopio. TA = Tiempo acumulado; TC% = Porcentaje de la Tasa de crecimiento

De acuerdo con esta comparativa, se puede considerar una igualdad en las longitudes de los ovocitos con una diferencia mínima entre los grupos en todas las fases de desarrollo embrionario desde la fecundación hasta larva prisma (Figura 25). Además de la longitud, con el tiempo de crecimiento para cada dieta se logró constatar que en la dieta combinada se obtuvo la fase larva prisma en 28h52 min, seguido de la dieta natural en 29h40 min y finalmente en la dieta balanceada en

31h15 min (ver tabla 6). De tal forma, que los ovocitos desarrollados bajo la dieta combinada obtuvieron una respuesta rápida de crecimiento en menor tiempo.

Figura 25.

Tamaño de ovocitos durante el desarrollo embrionario con relación al tiempo.



Nota: Longitud promedio de ovocito obtenida bajo mediciones en micras en diferentes fases (ver tabla 6). Tiempo de obtención de larva prisma: Dieta natural (29h40 min); Dieta balanceada (31h15 min); Dieta combinada (28h52 min).

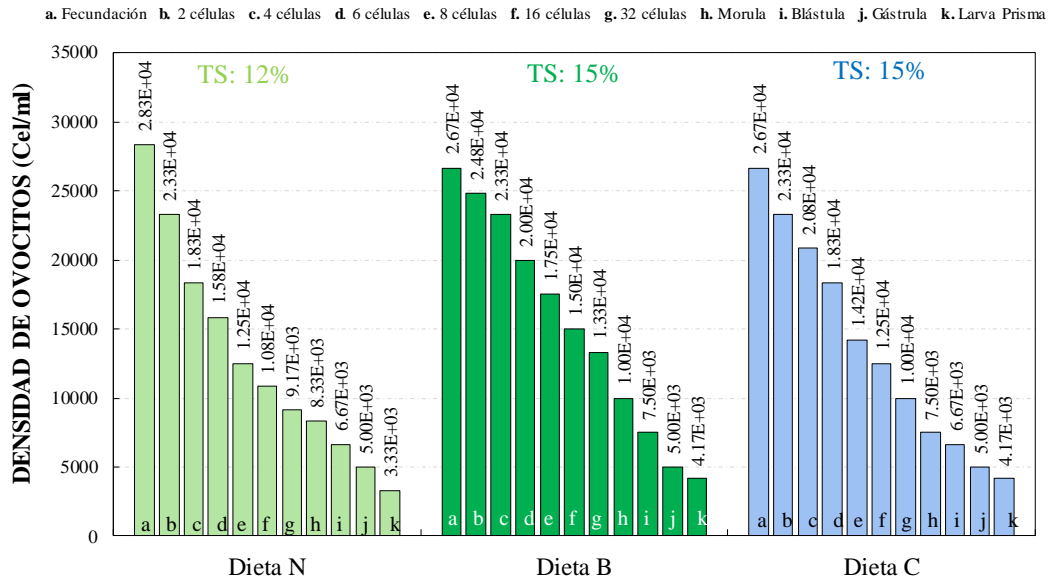
8.2.2. Densidad poblacional de embriones

La prueba de normalidad de Anderson Darling aplicada en tres grupos de dietas muestra p-valores mayores al nivel de significancia de 0,05 (Dieta N: 0,5057; Dieta B: 0,7854; Dieta C: 0,7854). Estos valores indican que la hipótesis de normalidad no puede ser rechazada, por lo tanto, se asume que los valores cuentan con una distribución normal.

El análisis estadístico de ANOVA no mostró diferencias significativas entre las medias con un valor F de 0,2562 y $P = 0,7757$. Adicionalmente, los valores de varianza sugieren una variabilidad poco relevante, siendo esta de -4,279. El coeficiente de correlación intraclase (ICC) fue de -0,0725, lo que refuerza esta conclusión indicando que la mayor parte de la variabilidad está dentro de los grupos, tal como se muestra en la Figura 26.

Figura 26.

Densidad poblacional de ovocitos fertilizados en tres grupos de tratamientos.



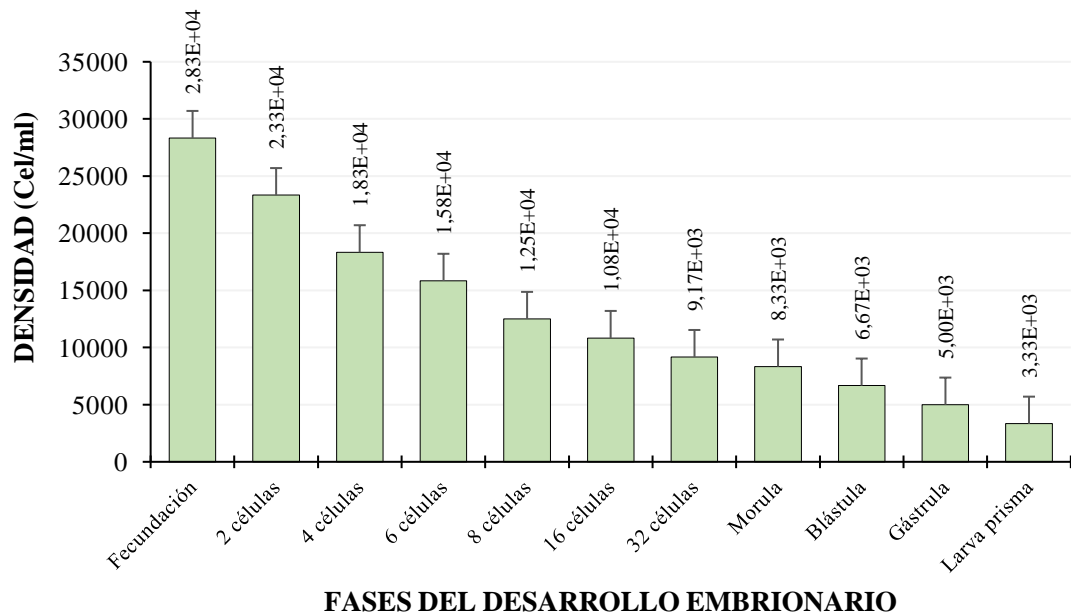
Nota: En la figura se muestra comparación de ovocitos desarrollados a larva prisma (25°C) bajo tres dietas de estudio con una tasa de supervivencia (TS) del 12% para dieta N y 15% para dieta B y C.

8.2.2.1. Densidad poblacional – Dieta natural

En cuando al desarrollo embrionario el grupo de dieta natural mostro una disminución progresiva en el número de organismos en cada fase de desarrollo. La fase de fecundación contó con una densidad poblacional inicial de $2,83 \times 10^4$ cel/ml hasta el estadio de larva prisma de $3,33 \times 10^3$ cel/ml. Esta disminución, da a conocer una menor proporción final de embriones con una tasa de supervivencia del 12% para la obtención de larvas, tal como se muestra en la Figura 27.

Figura 27.

Densidad de ovocitos fertilizados en dieta natural.



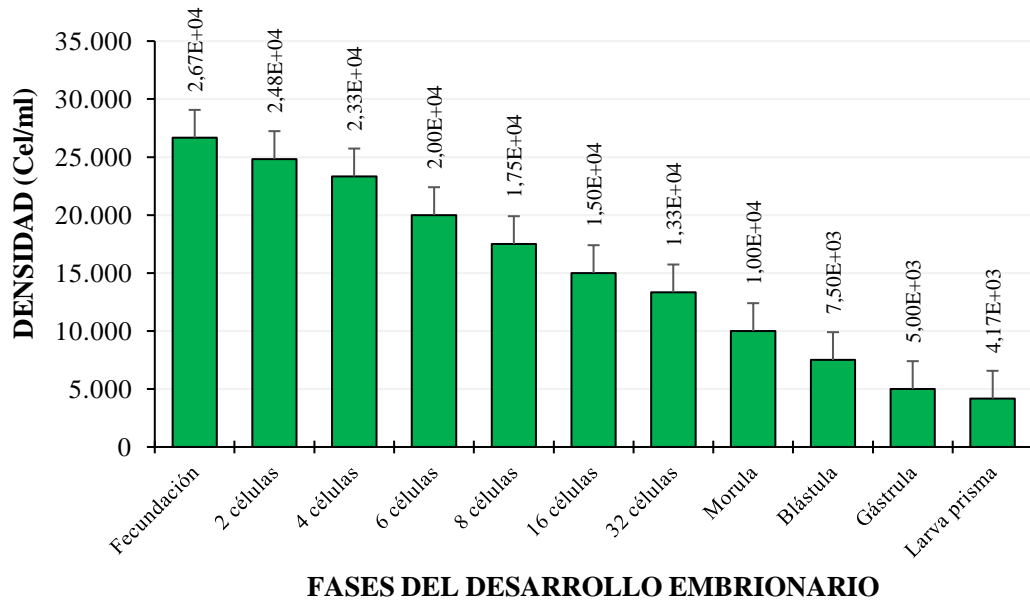
Nota: La Figura muestra el conteo de ovocitos desarrollados a larva en 39h40 min (25°C) con una tasa de supervivencia del 12%.

8.2.2.2. Densidad poblacional – Dieta balanceada.

En la Figura 28 se muestra la disminución constante en la cantidad de ovocitos obtenidos en la última fase del desarrollo embrionario, el cual inicia con una densidad de fecundación de $2,67 \times 10^4$ cel/ml hasta la fase prisma, donde se obtuvo $4,17 \times 10^3$ cel/ml. La disminución de la cantidad de ovocitos se mostró notable a partir del estadio de 16 células. La tendencia de la disminución de ovocitos registro una tasa de supervivencia del 15% que corresponden a los individuos que alcanzaron la fase de larva prisma.

Figura 28.

Densidad de ovocitos fertilizados en dieta balanceada.



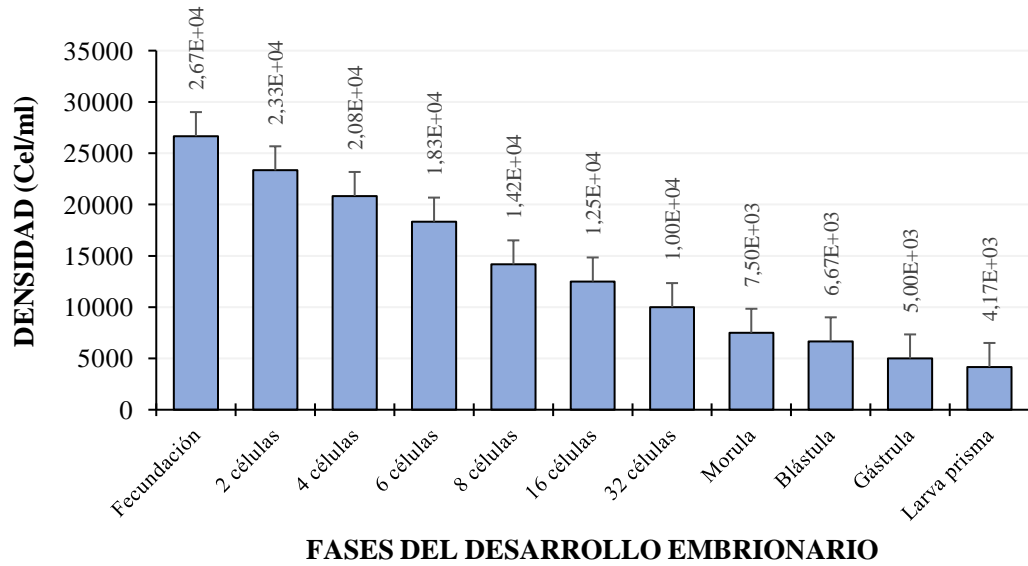
Nota: La Figura muestra el conteo de ovocitos desarrollados a larva en 31h15 min (25°C), con una tasa de éxito del 15%.

8.2.2.3. Densidad poblacional – Dieta combinada

De igual forma, la dieta combinada también muestra una disminución progresiva de la densidad de ovocitos contabilizada, en el cual se muestra una fecundación inicial de $2,67 \times 10^4$ cel/ml, el cual se reduce notablemente a partir de la fase de división de 8 células obteniendo un total de $4,17 \times 10^3$ cel/ml para la fase prisma. Esta disminución muestra una tasa de supervivencia del 15% de los organismos que logran alcanzar la fase de larva prisma (ver Figura 29).

Figura 29.

Densidad de ovocitos fertilizados en dieta combinada.



Nota: La Figura muestra el conteo de ovocitos desarrollados a larva en 28h52 min (25°C) con una tasa de supervivencia del 15%.

8.2.3. Comparación de métodos: Choques térmicos vs inyección vía peristomal

Los datos evaluados de choques térmicos e inyección vía peristomal mostraron una distribución normal. Por lo tanto, la aplicación de la prueba ANOVA determinó mediante un valor $p= 0,8417$ y un valor $F= 0,040$ que no existen diferencias significativas con una varianza de 4,73 y una variabilidad mínima entre ambas variables.

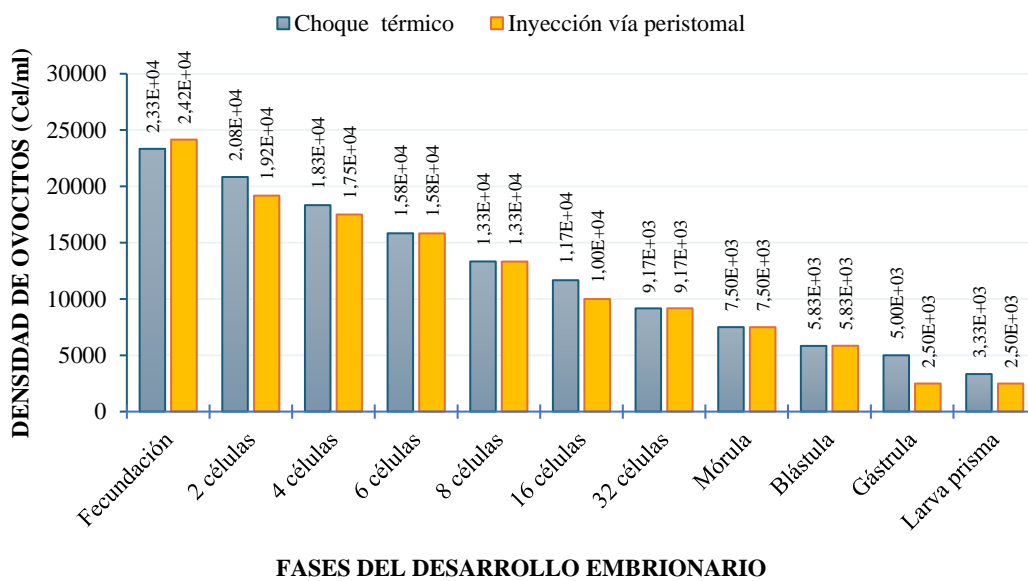
Sin embargo, la comparación de la densidad de ovocitos obtenida entre los dos métodos de inducción: choques térmicos e inyección de KCl vía peristomal, se evidencian diferencias entre las densidades obtenidas y en tiempos de desarrollo diferentes (ver Figura 30). El método de choques térmicos, aunque resulto menos eficiente en la cantidad de ovocitos liberados y fecundados ($2,33E+04$ cel/ml), muestra una poca variabilidad considerable entre los individuos ante la obtención de larvas ($3,33E+03$ cel/ml) en 26h32min con una tasa de supervivencia del 14.23%, a pesar de ser una técnica menos invasiva provoca un menor estrés en los organismos, contando con un menor riesgo de mortalidad. Esta técnica es la mejor opción en experimentos donde se priorice el bienestar y la supervivencia de los erizos a largo plazo.

En cambio, la inyección de KCl vía peristomal es más eficiente ante la mayor densidad de ovocitos liberados ($2.42E+04$ cel/ml). Sin embargo, la densidad final

de larvas obtenidas fue inferior en comparación con los choques térmicos (2.50E+04 cel/ml) con un tiempo de 29h15min con una tasa de supervivencia menor del 10,33%. Aunque este método acelera el proceso de obtención de gametos, es más invasivo, lo que provoca un mayor estrés en los erizos y un aumento potencial en la mortalidad. Si bien es más efectivo en términos de rapidez y éxito inicial en la liberación de gametos, su uso debe ser cuidadosamente considerado, especialmente cuando la viabilidad de los erizos es un factor crítico a largo plazo.

Figura 30.

Densidad de ovocitos en dos métodos de inducción.



Nota: La Figura muestra la comparativa del conteo poblacional de ovocitos durante el desarrollo embrionario obtenidos mediante choques térmicos e inyección vía peristomal (mantenimiento: 25°C).

8.2.4. Pérdida de peso Post-desove en dos métodos de inducción

La comparativa realizada entre la pérdida de peso tanto en machos y hembras del erizo de mar *Echinometra vanbrunti* en dos métodos de inducción diferentes se realiza con el fin de comprender de mejor forma la disminución de peso a causa de la liberación de gametos posterior al desove tanto en ejemplares masculinos y femeninos. De esta forma, se reconoce cuál de los dos métodos provoca una mayor liberación de gametos, en el cual se muestra que en el caso de los choques térmicos los machos con un peso inicial (PI) promediado de 45,57 gramos, obtiene una pérdida del peso (PP) de 0,5 g mostrando un porcentaje de pérdida de peso (PP%) del 1,10% respecto a su peso inicial. Por otro lado, las hembras con un peso inicial (PI) de 37,44 g, presenta una disminución del peso (PP) de 0,67 g, lo que equivale a un 1,37% de pérdida de peso (%PP) con respecto a su peso inicial. Estos resultados indican que las hembras tienen mayor pérdida de peso en comparación de los machos mediante esta técnica de cambios de temperatura.

En el caso del método de inyección de KCl vía peristomal, los machos mostraron un peso inicial de 56,77 g, con un porcentaje de pérdida de peso (%PP) del 1,31% representando una disminución de 0,51 gramos. En el caso de las hembras, con un peso inicial de 45,8 g obtuvo una disminución de 0,64 g que representa un 1,47% de pérdida de peso. Bajo este método las hembras tienden a perder mayor cantidad del peso en comparación de los machos (ver Tabla 7).

Tabla 7.

Comparación pérdida de peso en machos y hembras post-desove en dos métodos de inducción.

Desove	Choques térmicos			Inyección KCl vía peristomal		
	PI (g)	PP (g)	%PP	PI (g)	PP (g)	%PP
Macho	45,57	-0,5	1,10%	56,77	-0,51	1,31%
Hembra	37,44	-0,67	1,37%	45,80	-0,64	1,47%

Nota: Datos promediados de 12 organismos pertenecientes al grupo dieta C. PI: Peso inicial; %PP: Porcentaje pérdida de peso; PP: Pérdida de peso.

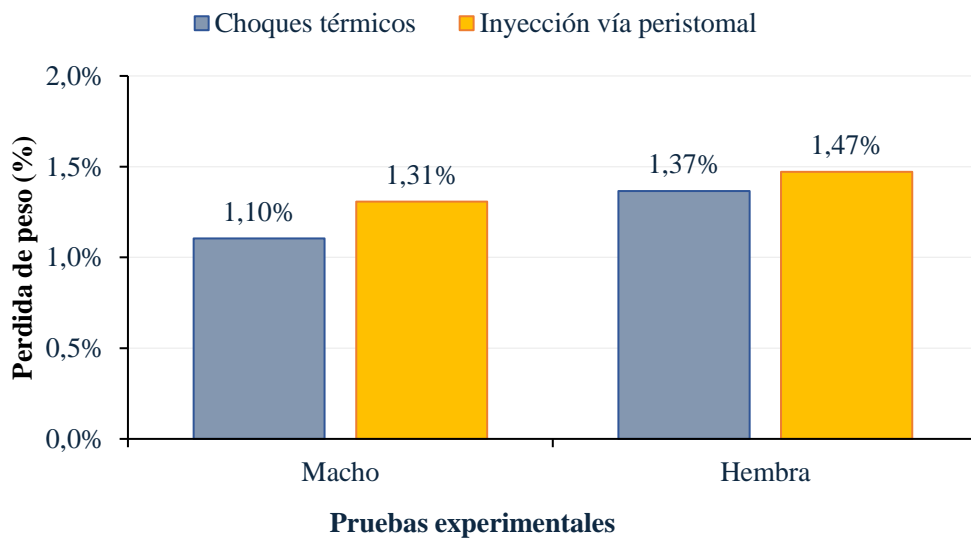
La comparación de la pérdida de peso de *E. vanbrunti* en relación a su peso inicial permitió determinar cuál de los dos métodos utilizados promueve una mayor expulsión de gametos. La Figura 31 muestra que los choques térmicos resultaron ser menos efectivos para la liberación de gametos mediante la pérdida de peso con un 1,10% en machos y 1,37% en hembras. Mientras que, para el método de inyección vía peristomal muestra resultados de pérdida de peso más efectiva reflejando una mayor liberación de gametos con una pérdida de peso de 1,31% en machos y 1,47% en hembras.

En cuando a los métodos, los choques térmicos resultan menos invasivos y producen menos estrés en el organismo a comparación de la inyección de KCl vía peristomal. Bajo la realización de pruebas, el primer método mostró una mortalidad

del 33,33%, en el que tan solo 2 de 6 organismos utilizados murieron en los días posteriores a la prueba, mientras que el segundo método tuvo una mortalidad del 83,3%, ya que 5 de los 6 organismos utilizados no sobrevivieron los días posteriores a la fase de inducción.

Figura 31.

Pérdida de peso post-desove mediante dos métodos de inducción.



Nota: Las pruebas comparativas se realizaron bajo las mismas condiciones de mantenimiento con temperatura inicial de 25°C y sin oxígeno. Choques térmicos: 31°C –18°C – 31°C (Robles et al., 2020); Inyección vía peristomal: 2 ml por individuo de KCl a 0,5 mol (Madrid, 2023).

8.3. Elaboración de Protocolo De Parámetros Físicoquímicos

8.3.1. Registro de Parámetros físicoquímicos en tratamientos realizados

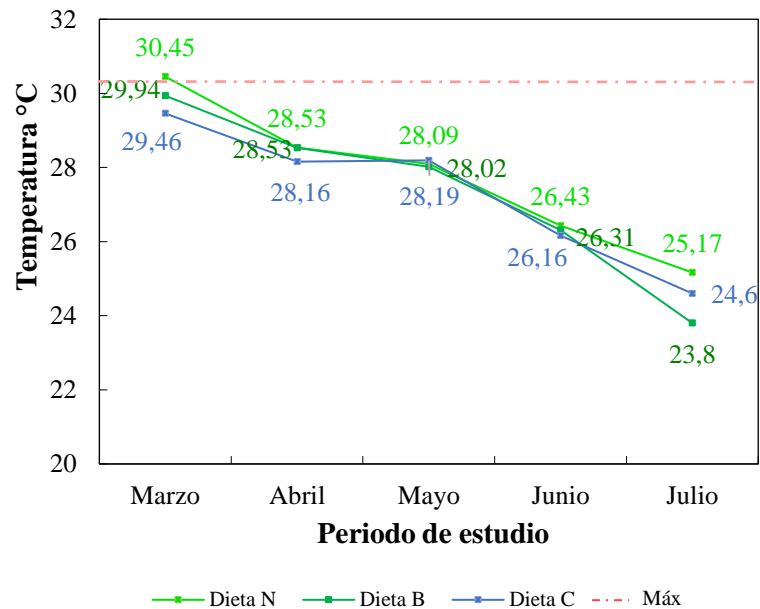
8.3.1.1. Temperatura

En la dieta N, la temperatura inició en marzo con 30,45°C, ligeramente por encima del rango recomendado, y fue disminuyendo de manera constante hasta alcanzar 25,17°C en julio. Este descenso progresivo indica un enfriamiento continuo a lo largo del periodo, manteniéndose dentro de un rango aceptable para el cultivo de erizos. Por otro lado, en el grupo dieta B la temperatura comenzó en marzo con 29,94° cerca del límite superior recomendado, y mostro un descenso similar, llegando a 23,8°C en el mes de julio.

Finalmente, en la dieta C la temperatura inicial fue de 29,46°C en marzo, un poco más baja que en los otros grupos, pero igualmente dentro del rango recomendado. Esta disminuyó hasta 24,6°C en julio, siguiendo un comportamiento similar a los otros grupos. Las temperaturas en este grupo también se mantuvieron dentro de los límites recomendados durante todo el periodo. Por lo tanto, el registro de la temperatura en los tres grupos muestra una tendencia que disminuye constantemente a lo largo del tiempo, desde marzo a julio manteniéndose dentro del rango recomendado para el cultivo de erizos de mar, sin grandes variaciones entre los grupos (ver Figura 32).

Figura 32.

Registro mensual de temperatura entre marzo a julio.



Nota: La Figura muestra la temperatura del agua obtenida entre los meses de marzo a julio. Considerando un rango óptimo de 30°C máximo (Mattaliano, 2020)

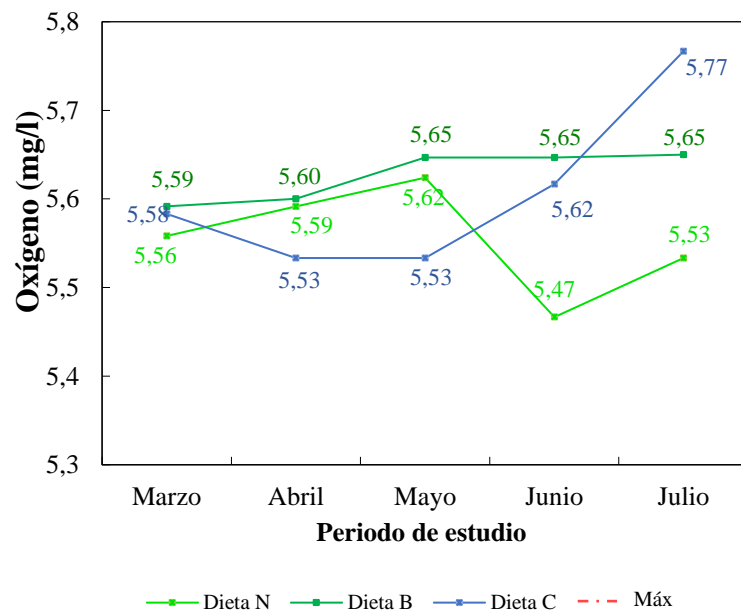
8.3.1.2. Oxígeno.

En el grupo dieta N, los niveles de oxígeno comenzaron en 5,56 mg/l en marzo y finalizaron en 5,53 mg/l en julio, mostrando una variabilidad mínima a lo largo del periodo. Mientras que en dieta B, el oxígeno inicial fue de 5,59 mg/l en marzo, 5,60 mg/l en abril y manteniéndose constante en 5,65 mg/l los meses de mayo, junio y julio.

Por último, en la dieta C se registró 5,58 mg/l en los niveles de oxígeno en el mes de marzo y manteniéndose constante con variaciones muy ligeras hasta julio con 5,77 mg/l situándose dentro del rango recomendado de 5 a 6 mg/l. En base a esto, se dio a conocer que los niveles de oxígeno se mantuvieron mayormente estables a lo largo del periodo en los tres grupos de estudio de marzo a julio, con una variabilidad mínima que sugiere condiciones adecuadas para el cultivo de erizos de mar (ver Figura 33).

Figura 33.

Registro mensual de oxígeno entre marzo a julio.



Nota: En la Figura se muestra los niveles de oxígeno registrados, mostrando pocas variaciones situándose dentro del rango permisible de 5 a 6 mg/l recomendados para erizos de mar (Mattaliano, 2020).

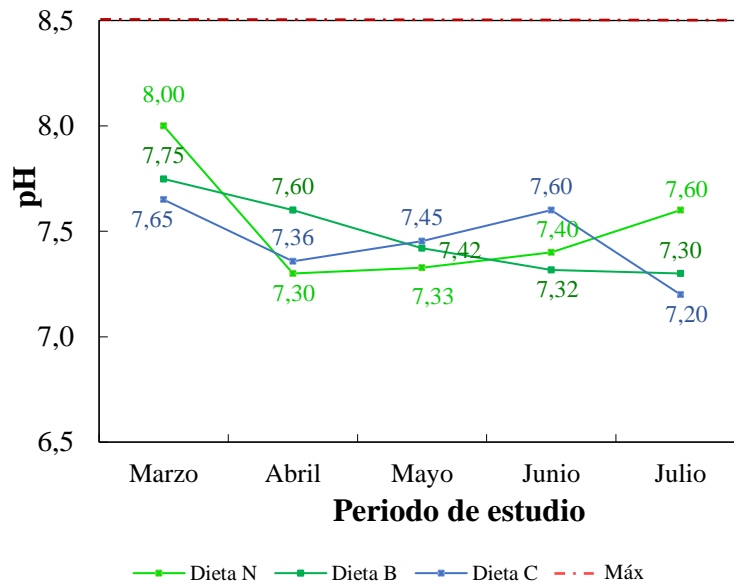
8.3.1.3. pH.

Los rangos de pH se mostraron dentro del rango establecido de 6,5 a 8,5 para organismos marinos. En la dieta natural, los niveles de pH varían entre 7,30 a 8,0 mostrando valores máximos para el mes de marzo, seguido del mes de Julio con 7,60. En el caso de la dieta balanceada, los valores mostraron variación entre 7,75 a 7,30, siendo el más alto para marzo, con una disminución constante durante los siguientes meses hasta Julio que mostro el valor mínimo.

Finalmente, la dieta combinada muestra mayores cambios situándose entre 7,30 a 7,65, mostrando los valores más altos en marzo y junio de 7,65 y 7,60 respectivamente. El registro del pH en los tres grupos muestra un mayor aumento en el mes de marzo, el cual puede estar influenciada por el aumento de temperatura al ser un mes con clima más cálido (ver Figura 34).

Figura 34.

Registro mensual de pH entre marzo a julio.



Nota: Los valores elevados de pH pueden convertir el amonio (NH_4^+) en su forma más tóxica, el amoníaco (NH_3), lo que agrava el riesgo para los organismos (Mattaliano, 2020; Casanova & Betancourt, 2010).

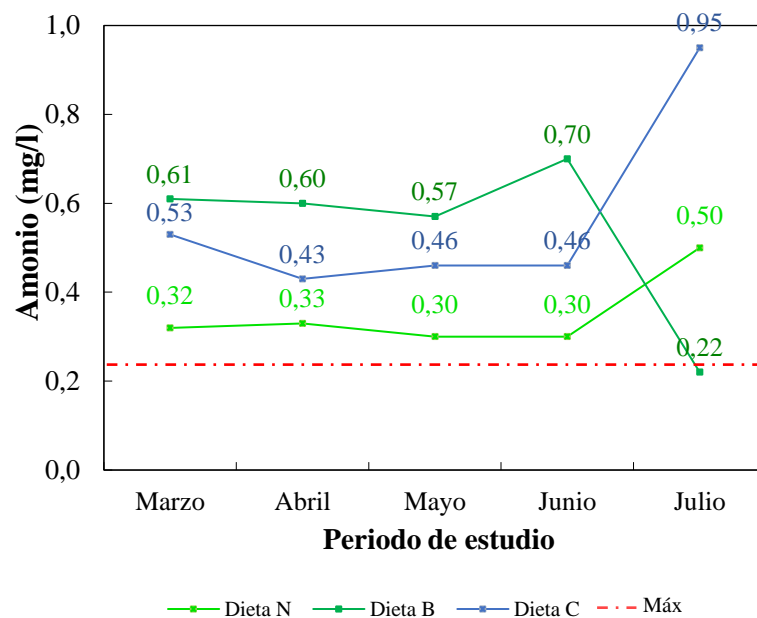
8.3.1.4. Amonio (NH_4^+).

En el grupo con dieta natural (N), los niveles de amonio, aunque ligeramente superiores al rango recomendado de 0,01 a 0,25 mg/l, se mantienen estables entre 0,30 y 0,33 mg/l de marzo a junio. Esto indica un posible estrés, pero manejable a nivel de cultivo. En julio, el nivel sube a 0,50 mg/l, lo que requiere un recambio de agua inmediato para evitar problemas a largo plazo. Por otro lado, en el grupo dieta B los niveles varían entre 0,57 y 0,70 mg/l de marzo a junio, lo que podría generar algo de estrés, sin embargo, en julio estos valores disminuyen a 0,22 mg/l, dentro

del rango seguro, lo que sugiere que con recambios de agua se puede controlar para evitar problemas mayores. Finalmente, en el grupo dieta C, los niveles se mantienen entre 0,43 y 0,53 mg/l de marzo a junio respectivamente, sobrepasando el límite recomendado. En julio, un aumento a 0,95 mg/l requiere acción inmediata, como recambios de agua, para evitar complicaciones y garantizar el bienestar del cultivo. De esta forma, determinados los valores superiores al rango, se tomó acción inmediata con los recambios y sifoneos del agua para un mayor control del agua (ver Figura 35).

Figura 35.

Registro mensual de amonio entre marzo a julio.



Nota: Los niveles de amonio se situaron por encima del valor máximo permitido de 0,25 mg/l (Casanova & Betancourt, 2010). En concentraciones elevadas, especialmente a pH alto, el amonio se convierte en amoníaco (NH_3) que es altamente tóxico para los organismos acuáticos.

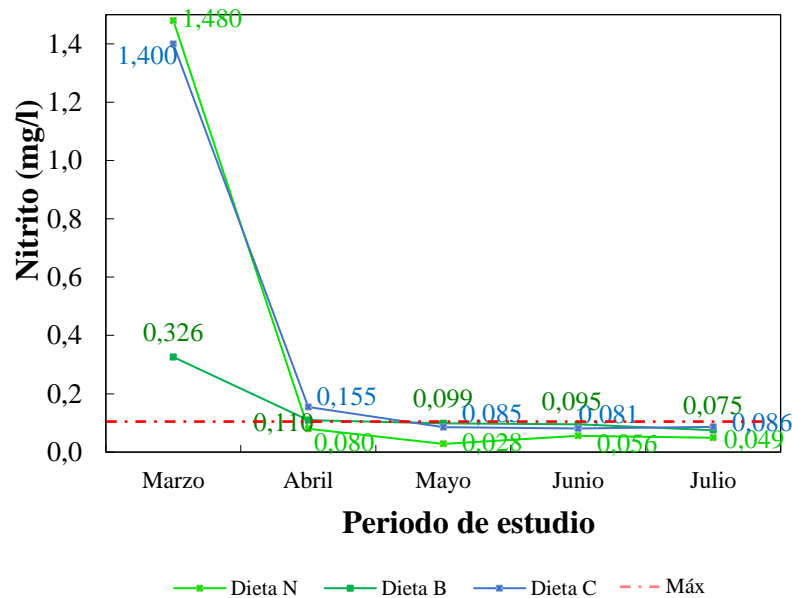
8.3.1.5. Nitrito (NO_2^-).

Los niveles de nitrito registraron valores superiores al rango permitido de 0,001 a 0,100 mg/l. En el caso de la dieta natural, el mes de marzo mostró un incremento brusco de este parámetro siendo altamente toxico durante este mes, mientras que los demás meses los resultados fueron mínimos variando entre 0,028 a 0,080 mg/l.

En el grupo balanceado, el nitrito de igual forma mostro valores elevados en el mes de marzo de 0,326 mg/l, lo que puede afectar el mantenimiento de los erizos de mar. Sin embargo, para los meses de abril a julio se registran valores moderados entre 0,075 y 0,110 mg/l, lo que sugiere que para esos mese el nitrito no presentaría influencia alguna con la mortalidad en niveles de toxicidad. Finalmente, en el grupo dieta C los niveles de nitrito son alarmantemente altos en marzo, con 1,400 mg/l, lo que supone un riesgo mayor para los organismos. Sin embargo, a partir de abril los niveles disminuyen y se sitúan entre 0,081 y 0,086 mg/l, dentro del rango seguro. Ante la presencia de cifras alarmantes, se toma acciones de forma inmediata realizando los respectivos controles al sistema de cultivo (ver Figura 36).

Figura 36.

Registro mensual de nitrito entre marzo a julio.



Nota: Los niveles de nitrito se situaron por debajo valor máximo permitido de 0,100 mg/l (De la Rosa & Velázquez, 2023), a excepción del mes de marzo en los tres grupos. Valores elevados indican que el sistema biológico no complementa el nitrito en nitrato provocando consecuencias toxicas en los organismos.

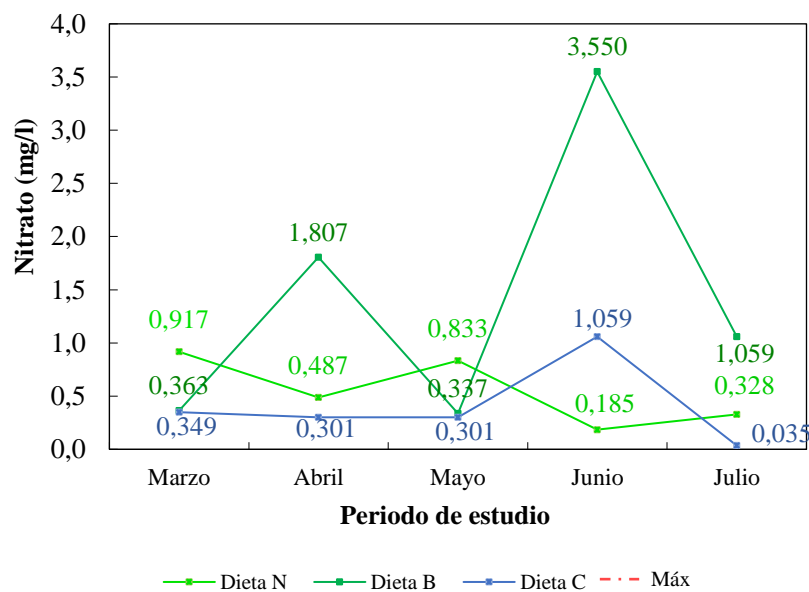
8.3.1.6. Nitrato (NO_3^-).

El registro de nitrato por su parte mostró valores dentro del rango permitido de 2,00 y 10,00 mg/l para que estos puedan mantenerse y desarrollarse adecuadamente. En el caso de la dieta natural, los valores se muestran muy por debajo del rango con valores entre 0,185 y 0,917, siendo el valor máximo el registrado durante el mes de marzo. Por otro lado, la dieta balanceada también mostro valores moderados entre

0,363 y 3,55 mg/l, siendo el más alto registrado en junio. Finalmente, en la dieta C los niveles también se encuentran por debajo del rango permisible durante todo el período, variando entre 0,035 y 1,059 mg/l indicando un ambiente adecuado para los erizos de mar. Por lo tanto, el nitrato no resultó ser un parámetro que represente un mayor problema ante el crecimiento de estos organismos manteniéndose todos los valores dentro del rango permisible, tal como se muestra en la Figura 37.

Figura 37.

Registro mensual de nitrato entre marzo a julio.



Nota: Los valores de nitrato se mantuvieron por debajo del límite máximo (0 a 10 mg/l) (De la Rosa & Velázquez, 2023) en todos los grupos, con un valor máximo de 3.55 mg/l en mayo para la Dieta Balanceada. Aunque el nitrato es menos tóxico, su acumulación puede ser indicativa de una inadecuada eliminación del amonio y nitrito

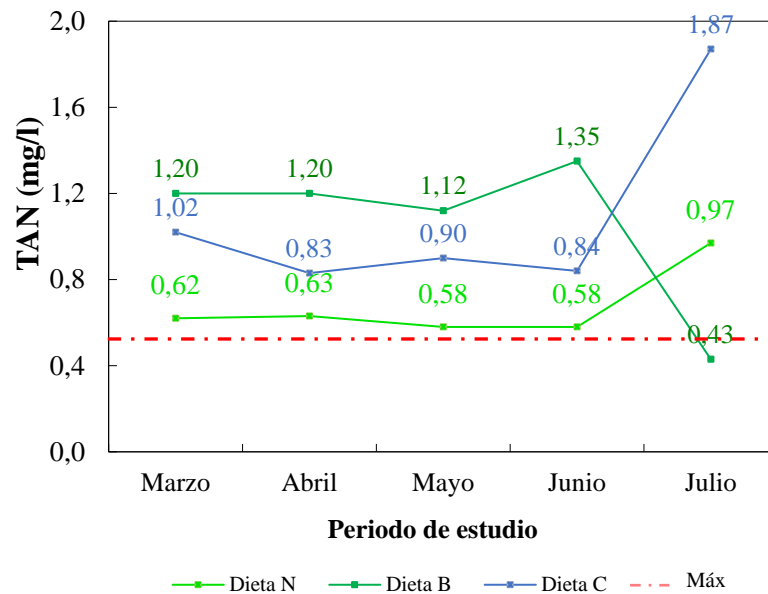
8.3.1.7. TAN

Los valores del total de amonio nitrogenado muestran valores superiores al recomendado de 0,50 mg/l, lo que resulta una gran acumulación de amoniaco en el sistema tal como se muestra en la gráfica 26. En el caso de dieta natural, los valores variaron ligeramente entre 0,58 a 0,67 mg/l, siendo el valor máximo registrado en el mes de julio, seguido de abril y marzo con 0,63 y 0,62 mg/l.

En la dieta balanceada, los valores de tan son relativamente elevados al inicio de 1,20 mg/l en marzo y de 1,35 mg/l para junio, siendo el mes de julio con mayor disminución de TAN de 0,43 mg/l. Finalmente, para la dieta combinada, todos los meses presentaron valores elevados entre 0,83 mg/l y 1,87 mg/l, siendo el mes de julio el que alcanzó el valor máximo, seguido del mes de marzo con 1,02 mg/l, tal como se muestra en la Figura 38.

Figura 38.

Registro mensual de Total amoniaco nitrogenado (TAN) entre marzo a julio.



Nota: Un TAN superior a 0.5 mg/L indica que hay una mayor concentración de amoníaco y/o ion amonio en el agua (Sandiñas & Pérez, 2004).

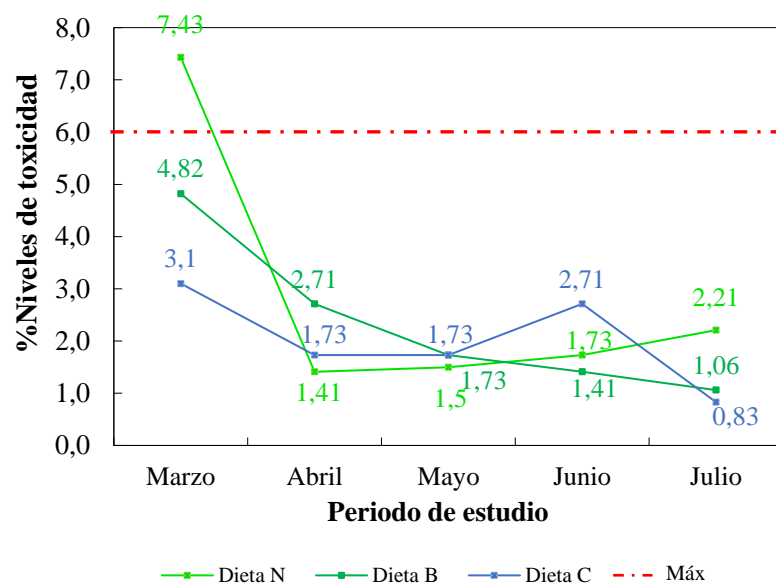
8.3.1.8. Niveles de toxicidad (%).

Los valores del cálculo de los niveles de toxicidad pueden variar significativamente con respecto a los niveles de pH y la temperatura del agua, considerando una toxicidad menor para valores inferiores al 10%. El registro de toxicidad en la dieta natural muestra una alta proporción de 7,43% para el mes de marzo siendo el mes con mayor toxicidad para este grupo, sin embargo, los meses de abril y julio mostraron valores moderados variando entre 1,41 a 2,21%.

En el caso de la dieta balanceada, los niveles de toxicidad fueron menores al variando entre 1,06% y 4,82%, siendo el valor máximo registrado en el mes de marzo con una disminución progresiva en los siguientes meses. Finalmente la dieta combinada también mostro valores menores de toxicidad, registrando el nivel más alto en el mes de marzo y junio del 3,1 y 2,71% respectivamente (ver Figura 39).

Figura 39.

Registro mensual del porcentaje de amonio no ionizado entre marzo a julio.



Nota: La proporción de amoníaco (NH_3) menos dañina para los microorganismos acuáticos ocurre a pH bajo (menos de 6.0), donde predomina el amonio (NH_4^+). A pH alrededor de 8.0, NH_3 es del 10% o menos y se considera seguro, mientras que a pH superiores a 9.0, la toxicidad aumenta significativamente (De la Rosa & Velázquez, 2023).

8.3.2. Influencia de parámetros con la mortalidad

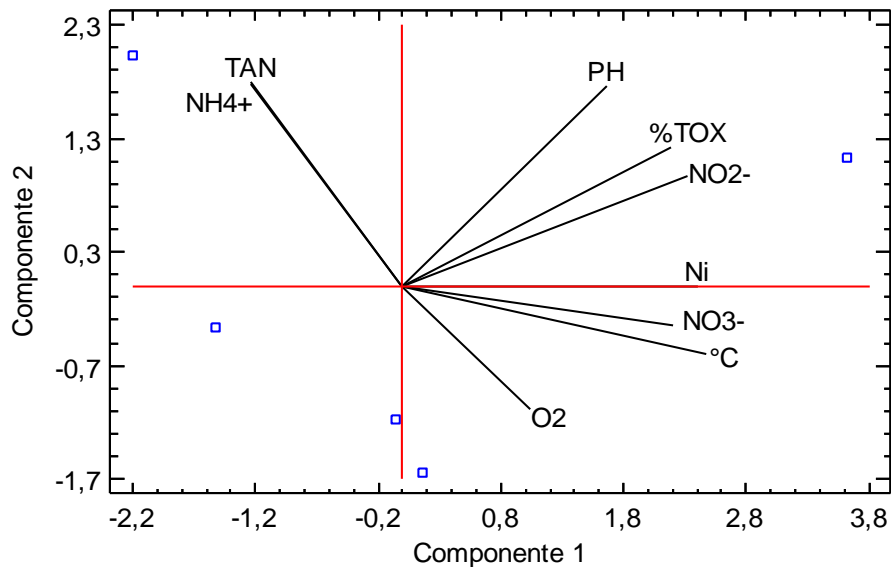
8.3.2.1. Relación de parámetros fisicoquímicos con la mortalidad – Dieta N

La prueba de normalidad aplicada a los conjuntos de datos de la dieta natural determinó que los valores de mortalidad ($p=0,3602$), temperatura ($p=0,8616$), oxígeno ($p=0,8708$), pH ($p=0,117$) y nitrato ($p=0,5398$) presentan una distribución normal. En cambio, los datos de nitrito ($p=0,0013$), amonio ($p=0,0107$), TAN ($p=0,008$) y %Toxicidad ($p=0,0038$) no siguen una distribución normal. En este caso los conjuntos paramétricos tienen mayor dominancia lo que representa una mayor fiabilidad ante la aplicación del análisis de componentes principales (ACP).

Posteriormente, el análisis de componentes principales (ACP) muestra bajo un enfoque bidimensional que en el componente 1 se muestra una influencia positiva fuerte entre las variables %Toxicidad, NO_2^- y pH, además de una influencia negativa de NO_3^- con una carga factorial moderada en el componente 1. Por otro lado, en el componente 2 el número de individuos muestra una relación negativa débil con TAN y NH_4^+ en el cuadrante opuesto. Por lo tanto, en este grupo se observa que la relación de vectores del Número de individuos (N_i) se mantienen a niveles elevados de toxicidad y nitritos, mientras que el aumento de amonio y TAN parecen afectar negativamente en la disminución de erizos de mar.

Figura 40.

Gráfica de análisis de componentes principales de dieta N.



Nota: La figura muestra la relación existente de las variables entre si comprendiendo de mayor forma la influencia de los parámetros con el número de individuos (Ni).

8.3.2.2. Relación de parámetros fisicoquímicos con la mortalidad – Dieta B

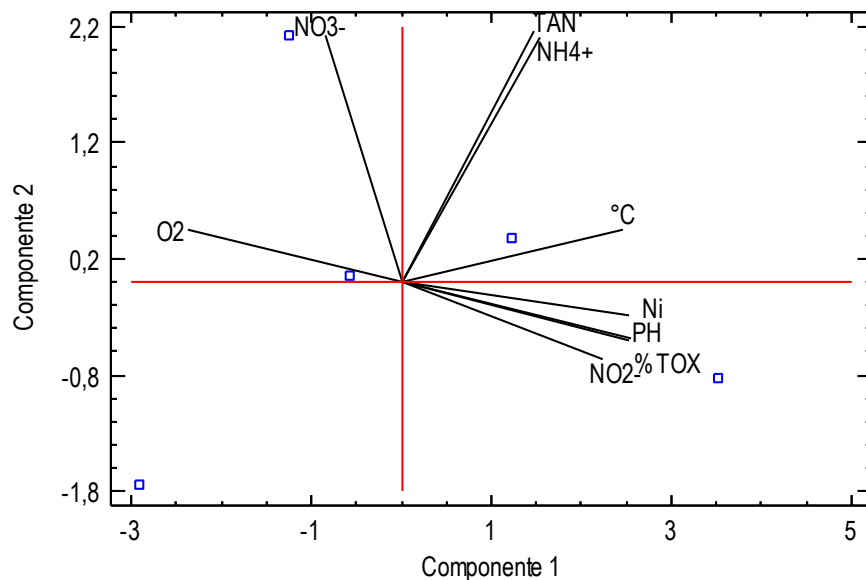
El análisis de normalidad aplicado en las variables a estudiar mostró una distribución normal para los datos de número de organismos ($p=0,274$), temperatura ($p=0,683$), nitrato ($p=0,268$), oxígeno ($p=0,270$) y % de toxicidad ($p=0,217$), mientras que para las variables de nitrato ($p=0,004$), amonio ($p=0,004$) y TAN ($p=0,030$) revelaron que son conjuntos de datos no paramétricos, por lo tanto no siguen una distribución normal. En este caso los conjuntos paramétricos tienen

mayor dominancia lo que representa una mayor fiabilidad ante la aplicación del análisis de componentes principales (ACP).

En la figura 41 se observa mediante el análisis componentes principales que la variable número de individuos (Ni) posee una relación positiva con pH, NO₂⁻ y %Toxicidad, indicando que estos valores se relacionan con una mayor cantidad de organismos. Mientras que en el componente 2 la relación de las variables con Ni es mínima, con una relación negativa muy débil con TAN y NH₄⁺ indicando que la reducción de Ni se debe al aumento de estos parámetros.

Figura 41.

Gráfica de análisis de componentes principales de dieta B.



Nota: La figura muestra la relación existente de las variables entre si comprendiendo de mayor forma la influencia de los parámetros con el número de individuos (Ni).

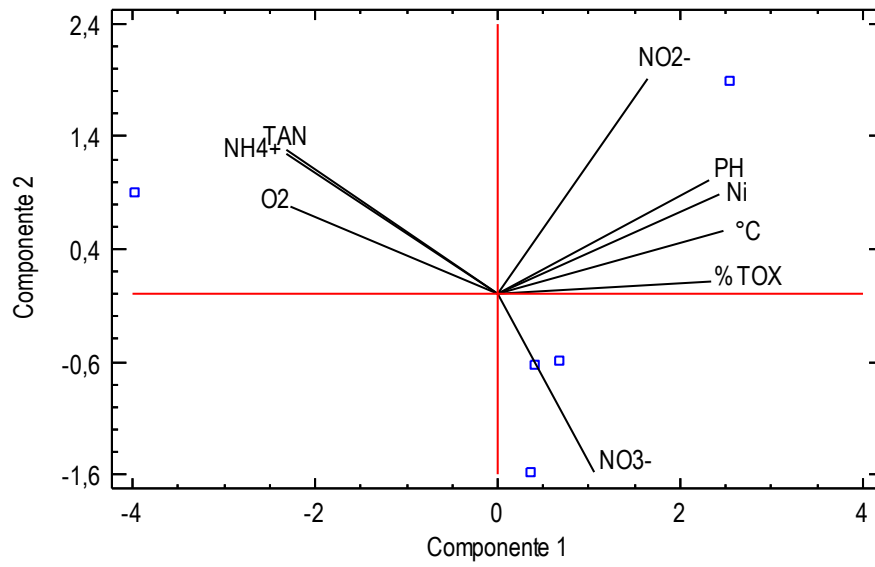
8.3.2.3. Relación de parámetros fisicoquímicos con la mortalidad – Dieta C

La prueba de normalidad de Anderson Darling aplicada a los conjuntos de datos de la dieta combinada determinó que los valores de mortalidad ($p=0,917$), temperatura ($p=0,497$), oxígeno ($p=0,161$), pH ($p=0,125$), nitrato ($p=0,058$) y %toxicidad ($p=0,537$) presentan una distribución normal. En cambio, los datos de nitrito ($p=0,0018$), amonio ($p=0,011$) y TAN ($p=0,013$) no siguen una distribución normal, por lo tanto, los conjuntos paramétricos tienen mayor dominancia lo que representa una mayor fiabilidad ante la aplicación del análisis de componentes principales (ACP).

Bajo el análisis de la Figura 42 se observa que en el componente 1 los valores de NI muestran una relación positiva con las variables %Toxicidad, pH y Temperatura ($^{\circ}\text{C}$) sugiriendo que las mismas no presentaron reducción en el número de individuos. Por otro lado, en el componente 2 se observa que los vectores de NH_4^+ , TAN y Oxígeno (O_2) presentan una relación negativa con el Número de individuos (Ni), lo que indica una influencia indirecta entre las variables. Así como también, una influencia negativa débil de nitrato con el número de individuos.

Figura 42.

Gráfica de análisis de componentes principales de dieta C.



Nota: La figura muestra la relación existente de las variables entre si comprendiendo de mayor forma la influencia de los parámetros con el número de individuos (Ni).

8.3.3. Elaboración de Protocolo de los Parámetros Físicoquímicos para mantenimiento de reproductores de *Echinometra vanbrunti*.

De acuerdo con los análisis de componentes principales se obtuvo que el erizo de mar *Echinometra vanbrunti* puede tolerar niveles altos en varios parámetros. Sin embargo, la mortalidad registrada indica que varios de estos parámetros deben mantenerse por debajo del rango permisible para evitar que estos puedan verse afectados en su crecimiento, alimentación o que estén expuesto a un elevado nivel estrés, que por lo consiguiente ocasionaría la mortalidad del mismo provocando pérdidas dentro de un sistema de cultivo. En base a esto, es importante conocer que la disminución de Ni está principalmente asociada a niveles elevados de amonio (NH_4^+), nitrógeno total amoniacal (TAN) y nitratos (NO_3^-), mientras que niveles de nitritos (NO_2^-), pH y %TOX, no produjeron disminución alguna, siempre y cuando estos factores no superen ciertos umbrales tóxicos.

8.3.3.1. Parámetros recomendados

La Tabla 8 muestra los parámetros recomendados a utilizar para el mantenimiento de *Echinometra vanbrunti* en medios de cautiverio, ante la utilización de alimento balanceado y alimento natural se obtuvieron los datos que se muestran en la misma. Es importante mencionar que la temperatura puede aplicarse al ambiente sin intervenciones, sin embargo, para un mayor crecimiento en peso y talla se recomienda no sobrepasar los límites de este parámetro.

Tabla 8.

Parámetros fisicoquímicos recomendados para el mantenimiento de E. vanbrunti en reproductores.

Parámetros fisicoquímicos	Rangos recomendados	Observaciones
Temperatura	22° a 30°C	Relación mínima con el número de individuos. Las variaciones fuera de este rango pueden afectar la supervivencia.
Oxígeno	5 a 6 mg/l	Influencia negativa débil en mortalidad a niveles bajos. Mantener oxígeno adecuado es crucial.
pH	6 – 8	Poca influencia con el número de individuos. Mantenga los niveles bajos para evitar la toxicidad.
Amonio	< 0,5 mg/l	Correlación débil con el número de individuos. Mantener los niveles bajos para evitar toxicidad.
Nitrito	< 0,1 mg/l	Relación positiva con el número de individuos. Mantener niveles bajos es crucial para la salud.
Nitrato	<8 mg/l	Relación débil y negativa. Mantener niveles bajos para evitar efectos negativos a largo plazo.
TAN	< 1mg/l	Relación débil con el número de individuos. Mantener niveles bajos para evitar toxicidad del amoníaco.

Nota: La tabla muestra valores recomendados para el mantenimiento de reproductores en cautiverio con tallas comprendidas entre 4 a 7 cm de diámetro.

9. DICUSIONES, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

9.1. Discusiones

Vizcarra (2017) menciona que el uso de macroalgas *Ulva lactuca*, *Lessonia sp.* y *Gelidium sp* tuvo un crecimiento de 3 g de peso (0,25g/mes) y una longitud total de 14 mm (1,16 mm/mes), mientras que dieta balanceada alcanzó un crecimiento de 5g de peso (0,41 g/mes) y 10 mm de longitud (0,83 mm/mes), durante 1 año entre 2014 a 2015. Lope Sosa (2016), en un experimento de seis meses con *Loxechinus albus*, reportó un crecimiento significativamente mayor en peso en el quinto mes, con un incremento promedio de 3,72 g bajo dieta natural y 1,86 g con dieta artificial. Además, la supervivencia fue más alta con la dieta artificial (96.49%), sugiriendo que, aunque la dieta natural favorece el crecimiento en peso, la dieta artificial es más efectiva en términos de supervivencia, planteando un balance entre ambos tipos de alimentación para optimizar el cultivo. En consecuencia, el crecimiento por dieta balanceada y natural corresponde a $2,0\pm 0,45$ mm y $2,085\pm 0,42$ mm en longitud total, mientras que en peso $2,155\pm 0,26$ g y $1,55\pm 0,57$ g respectivamente.

Un estudio realizado por Pincay (2023) en erizo de mar *Arbacia stellata* bajo la implementación de dieta de origen de proteína animal y vegetal durante 98 días, obtuvo un incremento del diámetro de testa $1.88\pm 0,21$ mm y peso de $4,5\pm 0,52$ g. Estos valores reflejan un sustento a nuestros resultados, siendo estos de 2,00 mm

del diámetro de testa y peso de $2,155\pm 0,26$ g para la dieta balanceada (origen vegetal y animal) obtenidos durante 5 meses de estudio.

Ancin et al. (2021), revela que la temperatura empleada de 15°C es óptima para el mantenimiento de reproductores de erizo de mar de la especie *Arbacia dufresnii*, destacando que esta temperatura favorece a la producción de gametos en las gónadas mediante el aumento de peso seco. El autor indica que además, mejor los procesos metabólicos necesarios para la gametogénesis, mientras que a temperaturas menores de 13°C los reproductores no producen suficiente gónada y a temperaturas mayores estos organismos tienen a aumentar la tasa de mortalidad debido al estrés de la temperatura. Ayerbe et al. (2017), menciona que los reproductores de *Loxechinus albus* deben mantenerse a temperaturas de 18°C . sin embargo, el mantenimiento de *E. vanbrunti* a temperatura ambiente ($32-22^{\circ}\text{C}$) mostro una mortalidad del 19,44% siendo un valor moderado con una producción de gametos cerca de los 30 a 36 días de alimentación.

Un estudio realizado por Fernández et al. (2021), menciona que el desarrollo embrionario se obtiene de forma más rápida y sincronizada a temperatura alta de 17° en la especie *Arbacia dufrenni*, mencionando que la temperatura tiene influencia en el desarrollo embrionario para la obtención de larvas tempranas en 24 a 28 horas post fecundación. El mismo tiempo de obtención de larvas concuerda Ayerbe et al. (2017) a temperaturas de 18 a 20°C . En base a esto, las larvas

obtenidas en este estudio rondan cerca de las 29h siendo 28h para dieta combinada, 29h dieta natural y 31h dieta balanceada. Sin embargo, la temperatura utilizada para el mantenimiento de ovocitos fue de 25° obteniendo larvas Prisma en tiempos similares de 28 a 31 horas.

Gómez & Gómez (2005), reportaron en *L. variegatus* un tamaño de óvulos maduros $119\pm 2 \mu\text{m}$ y larva prisma de $140\pm 2 \mu\text{m}$ de longitud. Sonnenholzner et al. (2018), destaca que el método de inducción al desove por shock térmico puede ser utilizado en erizos de mar, él lo demuestra en la especie *Tripneustes depressus* mediante un aumento de 4 a 5 °C en la temperatura del agua, en condiciones de oscuridad, siendo este un método altamente efectivo y no invasivo. Los autores reportan un diámetro de ovocitos fertilizados de $78.4 \pm 2.1 \mu\text{m}$. Con una etapa de larva prisma de dos brazos de 201 μm en longitud total. Ayerbe et al. (2015), obtuvo densidades de larva *L. albus* de 3×10^4 posterior a las 24 horas a temperaturas de 18°C a proporción 2:1 con un tamaño de larva prisma de 190 μm de longitud total. Estos resultados complementan nuestros datos obtenidos, siendo que en el caso de la especie *Echinometra vanbrunti* los valores hallados de ovocitos fecundados son menores y estos corresponden a 61,67 μm y la larva prisma de 160 μm de longitud dorsoventral y 131,63 μm de longitud de la línea media, con una densidad de $4,17 \times 10^3$ para la dieta balanceada y combinada.

Mattaliano (2020) indica que condiciones de oxígeno deben mantenerse en rango óptimos de 5 a 6 mg/l para cultivos marinos, así como niveles de pH moderados de 6.5 a 8.5. Vázquez (2024) y Álvarez et al. (2015) mencionan que en ambientes marinos, los niveles de pH y temperatura juegan un papel importante en la toxicidad del medio. Especialmente, indican que niveles bajos de pH (menores a 8) a temperaturas cálidas pueden contribuir a la reducción de la toxicidad (%Tox) y del total de amonio nitrogenado (TAN), lo que ayuda a prevenir la eutrofización del ecosistema marino con respecto a la concentración de otros nutrientes como amonio, nitrito y nitrato. Por lo tanto, se deben controlar ambos factores para mantener un ambiente saludable en el medio marino. De esta forma, Zapata & Aparicio (2019) indican que ante cambios de parámetros que afectan la calidad de agua los erizos de mar del género *Echinometra* pueden regular la concentración de iones en sus tejidos para mitigar el efecto de metales pesados y otros contaminantes que afectan la osmosis y la función celular mediante la activación de celomocitos.

Ante esta información obtenida, el estudio del mantenimiento de reproductores fue realizado a temperaturas cálidas en el que los niveles de pH se mantuvieron moderados siendo entre 7.20 a 8.00 en todos los grupos a temperaturas entre 23.8 a 30.45 °C, mostrando los valores máximos para el mes de marzo. Estas condiciones a pesar de resultar moderadas mostraron niveles de TAN ligeramente elevados al rango recomendado en todos los meses, mientras que los niveles de toxicidad no sobrepasaron del 6%, mostrando así un ambiente controlado en el que los erizos no fueron expuestos a niveles críticos de toxicidad durante el periodo de investigación.

9.2. Conclusiones

Mediante la evaluación de la aplicación de dietas experimentales en un periodo de 5 meses de estudio, se determinó que los erizos de mar mostraron una mayor tasa de crecimiento (TC) de peso en dieta combinada (1.07%) y dieta balanceada (0.92%), mientras que en talla, la dieta combinada tuvo mayor TC (1,09%) que las otras dietas. Sin embargo, en cuanto a mortalidad la dieta combinada mostró menor pérdida de individuos del 8%. Por lo tanto, los reproductores de *Echinometra vanbrunti* poseen una mayor adaptabilidad y supervivencia hacia las dietas variadas, en este caso el grupo de dieta combinada a comparación de las otras dietas.

La tasa de crecimiento del desarrollo embrionario no mostró diferencias significativas en cuanto al tamaño de ovocitos, ya que esta variable no se vio influenciada por los cambios de dieta. Sin embargo, para la producción de larvas la dieta balanceada y dieta combinada mostraron una similitud en la densidad poblacional de $3,33 \times 10^3$ con un 15,61% en la tasa de supervivencia en el tiempo de crecimiento de 28 a 32 horas para la obtención de larva, a diferencia de la dieta natural. Estos valores, corroboran la hipótesis de la investigación indicando que la aplicación de dietas y choques térmicos influyen en la densidad poblacional y tasa de supervivencia en el desarrollo embrionario del erizo de mar

Ante el estudio y toma de parámetros fisicoquímicos del agua, se registró niveles de pH moderados a temperaturas cálidas, obteniendo así condiciones poco tóxicas menores al 6% sin representar una situación crítica en el medio natural, por lo que los reproductores pudieron desarrollarse de forma segura. Sin embargo, la relación de las variables indicó bajo el análisis de componentes principales (ACP) que el incremento de TAN, amonio y nitratos afectan directamente la supervivencia de los erizos de mar, y que factores como %Toxicidad, nitrito y pH que tuvieron valores moderados contaron con una influencia positiva para la supervivencia en esta especie de erizo de mar.

No obstante, es importante mencionar la temperatura a pesar de que no mostró una influencia significativa para el mantenimiento de reproductores, si tuvo participación en los procesos de desove. Esto se debe a que los meses más calurosos (marzo, abril y mayo) que registraron temperaturas cálidas provocaron desoves no planificados, y su fase de inducción no fue altamente exitosa. Mientras que los meses con temperatura más fresca, tuvieron mayor éxito para la inducción al desove en la fase experimental para la obtención de datos de una forma controlada.

9.3. Recomendaciones

Durante la fase de adaptación posterior a la recolección, muchos de los organismos tienden a estresarse gradualmente y algunos muestran signos de mortalidad, por lo que se recomienda tener un mayor control de los parámetros sobre todo la temperatura en el primer día de aclimatación, procurar que esta sea igual al de su medio natural que se está extrayendo.

Los recambios y sifoneos del agua juegan un papel fundamental en el sistema de cultivo tanto para reproductores y larvas del erizo de mar, ya que garantiza un mayor cuidado para esta especie por lo que se recomienda frecuentar estas actividades si los organismos registran anomalías como pérdida de las espinas o cambios anormales en su coloración.

Para la aplicación de choques térmicos se recomienda utilizar recipientes limpios en oscuridad y sin oxígeno, respetando los tiempos establecidos de 20 minutos para cada cambio de temperatura con el fin de obtener una respuesta rápida de inducción.

La investigación abarca el estudio de los efectos de dietas en el desarrollo embrionario, sin embargo, para evaluar su eficacia con la producción de larvas de calidad, se recomienda analizar de igual forma la fase larvaria para tener un resultado más concreto ante la influencia de las dietas.

Se recomienda además mantener una evaluación semanal o diaria del control microbiano en los tanques de producción tanto para larvas y reproductores, para cuidar de esa forma la salud de los erizos de mar.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Alarcón B. (S.f.) Primeros pasos en ImageJ: guía para descargar el programa, abrir una imagen, mejorarla, poner una barra de medida e imprimir. Instituto de Biomedicina de Valencia (CSIC).
- Álvarez I. K. (2017) CICLO REPRODUCTIVO DE *Tripneustes depressus* (A. AGASSIZ, 1863) (ECHINODERMATA: ECHINOIDEA) EN PUNTA ARENA DE LA VENTANA, BAJA CALIFORNIA SUR, MÉXICO. Tesis de Biología Marina. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA SU. Baja California, México.
- Álvarez P., Hidalgo F. & Normando C. (2012) El cultivo del erizo de mar común *Paracentrotus lividus*: piensos de finalización, sexo y calidad comercial del color gonadal. V Foro Iberoam. Rec. Mar. Acui. Pág. 429-438. Cádiz, España.
- Anaguano M. (2023) Efecto de la aplicación de dos dietas experimentales sobre el crecimiento del erizo de mar *echinometra vanbrunti* en la libertad, provincia de santa elena. Tesis de Biología. Repositorio UPSE. Santa Elena, Ecuador. Pág. 17.
- Ancin, B.L., Epherra, L. & Rubilar, T. (2021). Efecto de la temperatura sobre la morfología y reproducción en el erizo de mar *Arbacia dufresnii* (Echinodermata: Echinoidea). Revista de Biología Tropical, 69(S1), 154-170. DOI: 10.15517/rbt.v69iSuppl.1.46346

- Arroyo Cesar & Lechuga Adriana (2021) Equinodermos de Isla La Roqueta de Acapulco, Guerrero, México. *Revista de Biología Tropical*, 69(S1), 265-271. DOI 10.15517/rbt.v69iSuppl.1.46358
- Ayerbe S., Zevallos V., Lope F., Bendita H., Vizcarra Y. & Sanz Y. (2017) MANUAL PARA EL CULTIVO DEL ERIZO COMERCIAL *Loxechinus albus* EN LA REGIÓN MOQUEGUA. Informe Instituto del Mar del Perú. Callao, Perú. Pág. 3-15.
- Benítez-Villalobos, F., R. Granja-Fernández, O. Jiménez-Antonio & A.A. Lizárraga-Rodríguez (2022). Equinodermos (Echinodermata). Pp: 277-295, In: Bastida-Zavala, J.R. & M.S. García-Madriral (eds.). *Invertebrados marinos y costeros del Pacífico sur de México*. Universidad del Mar y Geomare, Puerto Ángel, Oaxaca, México, 295 pp. Genero Echinometra
- Briceño, A., Yaqueli, D., & Gomez Custodio, B. G. (2024). Efecto in vitro del extracto acuoso de *Chenopodium quinoa* “quinua” sobre la movilidad y viabilidad de los espermatozoides de *Tetrapygus niger* “erizo de mar”. Universidad Privada Antenor Orrego.
- Bustos E. & Olave S. (2001) Manual: El cultivo del Erizo de Mar (*Loxechinus albus*). Instituto de fomento pesquero. INFOP. ComSur Ltda.
- Cárdenas M. Triviño M, Ginatta G. & Velásquez (2018) Comunidades Bentónicas Presentas en Sitios de Buceo en la Reserva Marina El Pelado. Artículo de investigación. Edición Especial. No 11. Pág. 67-88.
- Casanova F. & Betancourt J. (2010) CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL AGUA DE LA ENSENADA DE TUMACO. *Boletín científico*. Pág. 45-55.

- Castellano I. G. (2015) Estudio citogenético en el erizo de mar *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816). Universidad de Coruña. Departamento de Biología. La Coruña, España.
- Catoira G. J. (2012) Optimización del cultivo y manejo del erizo de mar. Anexo IV). Junta Nacional Asesora de Cultivos Marinos. JACUMAR. Pág. 3-71.
- Catoira, G. J. (2009) Cultivo y Gestión del Erizo de mar (*Paracentrotus lividus*, Lamarck, 1816). Junta Nacional Asesora de Cultivos Marinos. JACUMAR. Pág. 1-49.
- Cerezo Ortega, I. M., Domínguez-Maqueda, M., Córdoba Caballero, J., Seoane Zonjic, P., Tapia-Paniagua, S. T., Moriñigo-Gutiérrez, M. Á., & Balebona-Accino, M. D. C. (2022). Respuesta transcriptómica del intestino de *Solea senegalensis* tras la administración dietética del probiótico *Shewanella putrefaciens* Pdp11.
- Conejeros Vargas C., Solís Marín F., López L., Zúñiga A., Caballero O. & Cao R. (2022) Erizos de mar en las ofrendas del recinto sagrado de Tenochtitlan Los animales y el recinto sagrado de Tenochtitlan / Leonardo López Luján y Eduardo Matos Moctezuma, coordinadores. El Colegio Nacional Luis González Obregón Primera edición. Pág. 323-324.
- Constitución De La Republica Del Ecuador (2008) Capítulo II - Biodiversidad Y Recursos Naturales. Registro Oficial No. 449. Suplemento del Registro Oficial 653, 21-XII-2015. Pp. 66.

- Corpas, J. F. C. (2023). Aproximación al conocimiento de la Linterna de Aristóteles de *Coelopleurus coronalis* (Echinoidea, Eoceno). *Batalleria (Barcelona): revista de paleontología*, (29), 16-23.
- Cortés-Useche, C., Gómez-León, J., & Santos-Acevedo, M. (2011). ERIZOS DE MAR COMO CONTROL BIOLÓGICO DEL " FOULING" EN UN CULTIVO DE NODIPECTEN NODOSUS EN EL ÁREA DE SANTA MARTA, CARIBE COLOMBIANO. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras INVEMAR*, 40(2), 233-247.
- Cruz C. (2019) Una dieta a base de harina de *Ulva lactuca* mejora el crecimiento de alevines de bauncos *Girella laevis* (*Pisces: Kyphosidae*). *Scientia Agropecuaria* vol.10 no.2. Doi: <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.02.04>
- Dagnino J. (2017) Análisis de varianza. *Bioestadística y epidemiología. Rev Chil Anest*; 43: 306-310.
- De la Rosa C. & Velázquez L. (2023) Evaluación de la concentración de amonio y nitrito en el agua de un sistema intensivo de cultivo de camarón. Tesis Ingeniería Acuícola. Universidad Técnica de Machala. Pág. 40-51.
- Díaz-Pérez, L., & Carpizo-Ituarte, E. (2011). Efecto del estrés térmico sobre la supervivencia y retraso de la metamorfosis en larvas del erizo de mar *morado Strongylocentrotus purpuratus*. *Ciencias Marinas*, 37 (4A), 403-414.

- Domínguez, H., & Loret, E. P. (2019). *Ulva lactuca*, una fuente de problemas y riquezas potenciales. *Marine Drugs*, 17(6), 357. <https://doi.org/10.3390/md17060357>
- Escarcega Q., Granados B., González G., Epherra, L., Marín-Hernández, M., & Crespi-abril, A. (2019). Variación fenotípica del erizo *Eucidaris tribuloides* (Cidaroida: Cidaridae) en el Corredor Arrecifal del Suroeste del Golfo de México. *Revista de Biología Tropical*, 67(6),1146-1159. ISSN: 0034-7744.
- Espinoza A. & Hernández H. (2021) Potencial biotecnológico de la biomasa de *Ulva lactuca* L. para la producción agrícola sostenible. X Sinopsio de Ecología 2021. Universidad de Guadalajara.
- Fernández, JP, Chaar, FB, Epherra, L., González-Aravena, JM, & Rubilar, T. (2021). El desarrollo embrionario y larvario está condicionado por la temperatura del agua y el origen materno de los huevos en el erizo de mar *Arbacia dufresnii* (Equinodermos: Echinoidea). *Revista de Biología Tropical*, 69(T1), 452-463. DOI 10.15517/rbt.v69iSuppl.1.46384
- FAO (2022) El estado mundial de la pesca y acuicultura. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- FAO. (2019). Pesca y Acuicultura. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Gallego A. & Pérez I. (2021) Estimación de la densidad celular mediante el uso de cámaras de recuento. Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. Universidad Politécnica de Valencia. Pág. 1-8.

- Gaspar Gil D, (2015) Biología y ecología del erizo de mar *Pseudechinus magellanicus* (Echinoidea: Temnopleuridae) en Patagonia Central. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de la Plata. Pág. 30-142.
- GIDEA (2017) La medición del crecimiento. Grupo de Innovación Docente de Economía Aplicada (GIDEA). Universidad de Murcia.
- Gómez M., O., & Gómez G., A. (2005). Desarrollo embrionario y larval de *Lytechinus variegatus* (Echinoidea: Toxopneustidae) en condiciones de laboratorio en la Isla de Margarita-Venezuela. *Revista de Biología Tropical*, 53 (3), 313-318.
- GOOGLE MAPS (2024) Santa Elena Ecuador. Google maps.
- Juárez E., Solís M. & Arreguín E. (2015) Micro identificación taxonómica y nuevos caracteres diagnósticos del erizo marino *Astropyga pulvinata* (Diadematoida: Diadematidae). *Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol. ISSN-0034-7744)* Vol. 63 (Suppl. 2): 49-58.
- Lianis, O. L., Eliset, S. R., Pedro Augusto, D. R., & Manuel, O. S. (2022, December). CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA DEL DESARROLLO HEPÁTICO EN EMBRIONES Y FETOS HUMANOS DE LA OCTAVA-DUODÉCIMA SEMANA 2019-2021. In *Morfovirtual 2022*.
- Lope Sosa, F. (2016). Estudio comparativo de dietas natural y artificial en el crecimiento y supervivencia de juveniles de *Loxechinus albus* Erizo Verde en un sistema de cultivo suspendido en la playa gentilares durante el 2014. [Tesis 65 de Grado, Universidad Nacional de Moquegua].

- Luna, S. (2015) Distribución Poblacional y Ciclo Reproductivo del Erizo de Mar Blanco *Tripneustes depressus* (Echinodermata: Echinoidea) en las islas Galápagos. Área de Investigaciones Marinas y Conservación Costera de la Estación Científica Charles Darwin. Pág. 1-7.
- MAATE (2021) Mapa de precipitación provincia Santa Elena. Ministerio de ambiente, agua y transición ecológica.
- Madrid F. A. (2023) Producción de juveniles de erizo de mar (*Lytechinus variegatus*) en condiciones de laboratorio. Tesis de doctorado. Universidad de Magdalena. Santa Marta, Colombia. Pp. 17.
- Martelli, Antonela, Zualet, Tania-Vanina, Miras-Gagliardi, María-Belén y Rubilar, Tamara. (2024). Fitorremediación de efluentes acuícolas mediante el uso de seis microalgas marinas: aportes de sustentabilidad en la industria acuícola del erizo de mar en Argentina. *Revista de Biología Tropical*, 72 (Supl. 1), e58979. <https://dx.doi.org/10.15517/rev.biol.trop..v72is1.58979>
- Mattaliano A. (2020) El erizo de mar *Arbacia lixula* (Linnaeus, 1758) en un mundo en cambio. Trabajo de grado de Biología. Pág. 15.
- Marzuqa M., Mitsuka E. & Neagari D. (2016) Estudio de Mercado de Erizos en Japón. PMP. Gobierno de Chile. Pág. 2-34.
- McClanahan T. R. & Muthiga N. A. (2020) Echinometra. Capítulo 28. Erizo de mar: Biología y ecología. Cuarta Edición. Vol. 43. Doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819570-3.00028-7>

- Mendes A., Araújo J., Soares F., Bandarra N. & Pousão F. (2019) Production of Purple Sea Urchin *Paracentrotus lividus* in Portugal. *WORLD AQUACULTURE*. Vol. 50 (1). Pág. 46-50.
- Mendoza A. (2018) Determinación de dietas que promuevan el crecimiento y la maduración gonadal del erizo de mar *Tripneustes depressus*. Instituto Tecnológico Superior. Tesis de grado. Manabí, Ecuador.
- Millares Goy, M. (2024). Detección y clasificación automática de larvas de erizo de mar en imágenes microscópicas mediante aprendizaje profundo. Trabajo fin de grado. Universidad de Coruña.
- Muñoz Álvarez, A. I. (2020). *Caracterización del desarrollo temprano desde fecundación hasta metamorfosis del erizo *Rhyncholampas pacificus* (Echinodermata: Echinoidea) en la costa de Oaxaca, alimentado con diferentes dietas de microalgas* (Doctoral dissertation, El Autor).
- N. LEWIS, D., & HUNT-LEWIS, V. (2020). Equinoideos: Atlas para la identificación de elementos, determinación de la morfología, definición de términos y relevancia para la arqueología. *Archaeofauna*, 29, 7–22. <https://doi.org/10.15366/archaeofauna2020.29.001>
- Orellana, C. L. (2022) Análisis de la diversidad y abundancia de equinodermos en el perfil costero del Ecuador durante el período 2013 – 2021. Trabajo practico previo a la obtención del título de Biología. La libertad, Ecuador. Pág. 47-61.
- Parrondo Lombardía, M., Coya Testón, R., Miralles López, L., Ibabe Arrieta, A., Fueyo, Á., Pérez Méndez, M. T., & Borrell Pichs, Y. J. (2023). Herramientas

genéticas y planes de gestión sostenible en las pesquerías de invertebrados en Asturias. *La sostenibilidad de las pesquerías en el Principado de Asturias: ciencia, gestión y participación en una agenda regional hacia el 2030*.

Pérez, A., Gil D. & Rubilar T. (2014) Echinodermata. Los invertebrados marinos. Primera edición. Fundación de Historia Natural Félix de Azara. Buenos Aires, Argentina. Pág. 295-316.

Pincay E. (2023) EFECTO DE DIETAS FORMULADAS SOBRE EL CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA DEL ERIZO DE MAR NEGRO *Arbacia stellata* (ECHINOIDEA: ARBACIIDAE). Tesis de Postgrado. Pág. 48-51.

Reyes-Luján¹, Dwight Arrieche, Edgar Zapata-Vívenes³, Jorge Barrios⁴, Wil Salgado & César Lodeiros (2015) Ciclo gametogénico del erizo marino *Echinometra lucunter* (Echinometra: Echinoidea) en el Noriente de Venezuela. *Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol. ISSN-0034-7744)* Vol. 63 (Suppl. 2): 273-283

Reyes-Luján, J., Zapata-Vívenes, É., Arrieche, D., & Lodeiros, C. (2024). Efecto de la estacionalidad sobre el desarrollo gonadal y la composición bioquímica del erizo de mar *Echinometra Lucunter lucunter* (Echinodermata: Echinometridae) en el Islote Lobos, Venezuela. *Gayana*, 88(1), 44-56.

- Robles J. Cisneros P. & Ramírez R. (2020) REPRODUCCIÓN Y CULTIVO DE OSTRAS NATIVAS *Striostrea prismática* (Gray, 1825). TUMBES, PERÚ. Inf Inst Mar Perú, Vol. 47. No. 1. Pág. 5-13.
- Rojas Gleen (2007) Anatomía de los Erizos. Plus Formación.
- Rubilar, T., & Cardozo, D. (2020). Los erizos de mar y su potencialidad en producir un tratamiento contra COVID-19. *Atek Na [En la tierra]*, 9, 375-384.
- Sánchez A., Vayas T., Mayorga F., Freire C., 2020, Pesca y Acuicultura en Ecuador. OBEST. Universidad Técnica de Ambato.
- Sanna Mauro (2021) Erizo Marino de Las Rocas *Echinometra vanbrunti*. Natusfera España.
- Sardiñas Peña, Olivia, & Pérez Cabrera, Adisbel. (2004). Determinación de nitrógeno amoniacal y total en aguas de consumo y residuales por el método del fenato. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 42(2)
- Sonnenholzner, V. J. (2021). ¿Hacia dónde va la acuicultura de equinodermos en América Latina? Potencial, retos y oportunidades. *Revista de Biología Tropical*, 69 (Suppl. 1), Pág. 514-549.
<https://dx.doi.org/10.15517/rbt.v69isuppl.1.46393>
- Sonnenholzner, V., Touron N. & Panchana M. (2018). Breeding, larval development, and growth of juveniles of the edible sea urchin *Tripneustes depressus*: A new target species for aquaculture in Ecuador. *Aquaculture* 496. Pág. 134-145.

- Stevenson, V., Prata, J., & Christoffersen, M. L. (2023). Filo Echinodermata: percepção e modelagem tridimensional com alunos de uma escola estadual em João Pessoa. *Revista de Ensino de Ciências e Matemática*, 14(1), 1-25.
- Sumarriva Bustinza, L; Castro Luna, A; Sotelo Méndez, A y Chávez Sumarriva, N. (2019). Evaluación biológica de proteína, vitaminas, minerales y aminoácidos 68 del alga comestible *Ulva lactuca* "lechuga de mar" del litoral peruano. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 85(1), 31-42
- Tambutti M. & Gómez J. (2022) Conservación, desarrollo sostenible y mitigación del cambio climático. Panorama de los océanos, los mares y los recursos marinos en América Latina y el Caribe. Naciones Unidas Cepal. Capítulo 7. Pág. 33-35.
- Tigua, H. (2021). Caracterización De La Población Del Erizo Negro En La Zona Intermareal Rocosa De Estero De Plátano. [Tesis de Grado, Pontificia Universidad Católica del Ecuador].
- Vázquez O. E. (2019) Fecundación, desarrollo embrionario y larvario del erizo de mar *Paracentrotus lividus*. Grupo d investigación de ecología costera. Universidad de Vigo.
- Vázquez Olivares, A. E. (2024). *Diseño y cálculo de jaulas flotantes para cultivos marinos y dulceacuícolas*. Food & Agriculture Org.[Author].
- Vives A., Rubilar T., Herrero M. & Ceballos B. (2021) Reproducción del erizo de mar *Tripneustes depressus* (Camarodonta: Toxopneustidae) en Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. *Revista de Biología Tropical*, ISSN

electrónico: 2215-2075 Vol. 69(S1): 202-218. DOI
10.15517/rbt.v69iSuppl.1.46353

Vizcarra P. (2017) Determinación del efecto de las dietas natural y balanceada sobre el crecimiento, la madurez gonadal y el perfil bioquímico del “Erizo” *Loxechinus albus* (Molina 1782) en un sistema de cultivo suspendido en medio natural durante la estación estival 2014 – 2016. Tesis de Biología. Arequipa, Perú. Pág. 10-14.

YSI incorporated. (2010) YSI 9300 and 9500 Direct-Read Photometers. User Manual. Pág. 23 – 142.

Zapata-Vívenes, E., & Aparicio, G. (2019). Defensas antioxidantes en el fluido celómico del erizo negro *Echinometra lucunter* (Linnaeus, 1758) estimulado con inóculos bacterianos. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 11(1), 27-42. <https://doi.org/10.15359/revmar.11-1.2>

11. ANEXOS

Anexo 1.

Extracción de muestras de reproductores E. vanbrunti.



Nota: Los organismos fueron trasladados en recipientes plasticos con agua de mar y hielo, puestos individualmente en fundas plasticas con cremallera.

Anexo 2.

Obtención de alimento vivo Ulva lactuca



Nota: La muestras de alimento vivo fueron puestas en fundas plasticas con cremallera con agua de mar y trasladadas en un recipiente plastico.

Anexo 3.

Alimento balanceado peletizado.



Nota: El balanceado utilizado fue almacenado a temperaturas frías.

Anexo 4.

Sistema de cultivo implementado.



Nota: Los 9 tanques utilizados fueron distribuidos en tres grupos de dietas (ver Figura 9)

Anexo 5.

Mantenimiento y alimentación de organismos.



Nota: En la figura se muestran los organismos en mantenimiento bajo la aplicación de dieta balanceada

Anexo 6.

Toma de parámetros y sifoneos.



Nota: Los recambio y sifoneos se realizaron cada dos días, para evitar la toxicidad en la calidad del agua.

Anexo 7.

Mediciones biométricas.



Nota: La toma de medidas fue realizada con una pesa digital para el peso corporal y calibrador de verniel para el diametro de testa. La tecera imagen muestra la adaptacion de los reproductores a la dieta balanceada con un notable cambio en su estructura fisica.

Anexo 8.

Preparación de la temperatura del agua para la inducción por choques térmicos.



Nota: Los organismos fueron inducidos por el incremento y disminuci3n de temperatura de caliente a frio por cada 10 minutos.

Anexo 9.

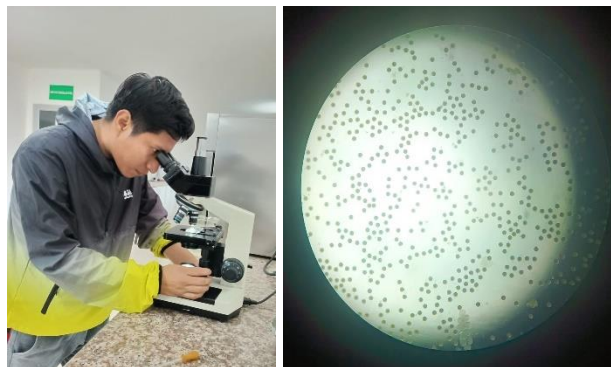
Obtención de gametos femeninos y masculinos.



Nota: En la figura se muestra la expulsión de gametos femeninos (color naranja brillante) y masculinos (color blanco), para posteriormente ser mezclados en un recipiente de 1 litro con proporción 2:1.

Anexo 10.

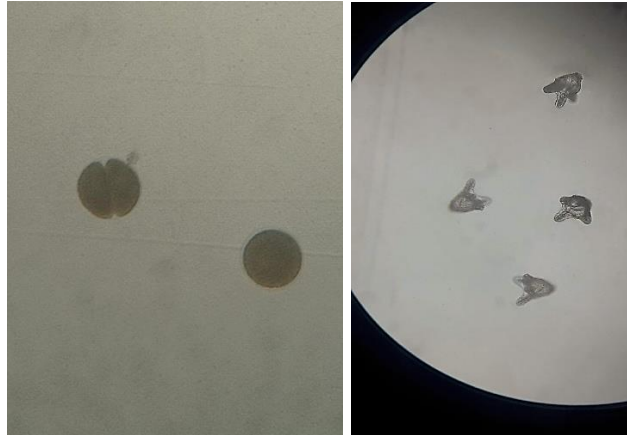
Monitoreo de embriones.



Nota: Los monitoreos comenzaron a partir de la combinación de gametos. En la figura se observan a los ovocitos expulsados por la hembra siendo fecundados.

Anexo 11.

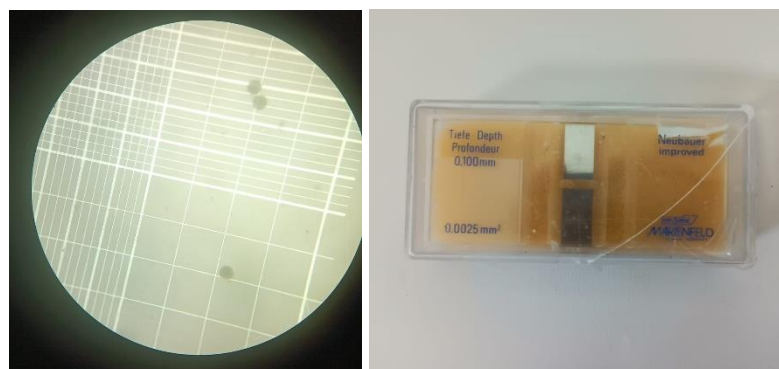
Fases del desarrollo embrionario.



Nota: En las figuras se observan los ovocitos fecundados y su primera división celular (imagen izquierda), además de la obtención de larva prisma (imagen derecha). Ver fases completas en la Figura 12.

Anexo 12.

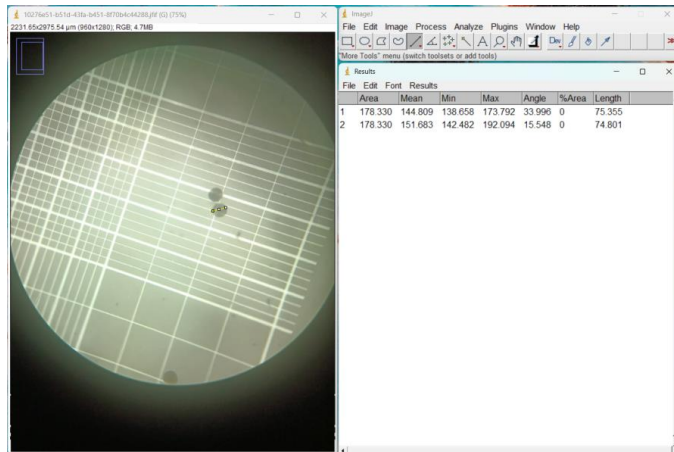
Conteo densidad poblacional.



Nota: Para la obtención de la densidad se utilizó la cámara de neubauer (imagen derecha).

Anexo 13.

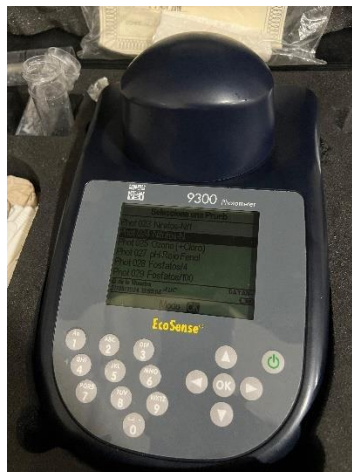
Medición de embriones.



Nota: La toma de datos se dio inicio a partir de la fecundación hasta la obtención de larvas en el software digital de medición ImageJ (ver Figura 12.).

Anexo 14.

Medición de parámetros por espectrometría.



Nota: El espectrofotómetro permitió la medición de parámetros como amonio, nitrito y nitrato.

Anexo 15.

Porcentaje de amoníaco no ionizado en solución acuosa por valor de pH y temperatura.

Table 1 Percentage Un-ionized Ammonia in Aqueous Solution by pH Value and Temperature Calculated from data in Emerson, et. al*

pH	Temperature (°C)														
	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	32
7.0	0.11	0.13	0.16	0.18	0.22	0.25	0.29	0.34	0.39	0.46	0.52	0.60	0.69	0.80	0.91
7.2	0.18	0.21	0.25	0.29	0.34	0.40	0.46	0.54	0.62	0.82	0.83	0.96	1.10	1.26	1.44
7.4	0.29	0.34	0.40	0.46	0.54	0.63	0.73	0.85	0.98	1.14	1.31	1.50	1.73	1.98	2.26
7.6	0.45	0.53	0.63	0.73	0.86	1.00	1.16	1.34	1.55	1.79	2.06	2.36	2.71	3.10	3.53
7.8	0.72	0.84	0.99	1.16	1.35	1.57	1.82	2.11	2.44	2.81	3.22	3.70	4.23	4.82	5.48
8.0	1.13	1.33	1.56	1.82	2.12	2.47	2.86	3.30	3.81	4.38	5.02	5.74	6.54	7.43	8.42
8.2	1.79	2.10	2.45	2.86	3.32	3.85	4.45	5.14	5.90	6.76	7.72	8.80	9.98	11.29	12.72
8.4	2.80	3.28	3.83	4.45	5.17	5.97	6.88	7.90	9.04	10.31	11.71	13.26	14.95	16.78	18.77
8.6	4.37	5.10	5.93	6.88	7.95	9.14	10.48	11.97	13.61	15.41	17.37	19.50	21.78	24.22	26.80
8.8	6.75	7.85	9.09	10.48	12.04	13.76	15.66	17.73	19.98	22.41	25.00	27.74	30.62	33.62	36.72
9.0	10.30	11.90	13.68	15.65	17.82	20.18	22.73	25.46	28.36	31.40	34.56	37.83	41.16	44.53	47.91
9.2	15.39	17.63	20.08	22.73	25.58	28.61	31.80	35.12	38.55	42.04	45.57	49.09	52.58	55.99	59.31
9.4	22.38	25.33	28.47	31.80	35.26	38.84	42.49	46.18	49.85	53.48	57.02	60.45	63.73	66.85	69.79
9.6	31.36	34.96	38.38	42.49	46.33	50.16	53.94	57.62	61.17	64.56	67.77	70.78	73.58	76.17	78.55
9.8	42.00	46.00	50.00	53.94	57.78	61.47	64.99	68.31	71.40	74.28	76.92	79.33	81.53	83.51	85.30
10.0	53.44	57.45	61.31	64.98	68.44	71.66	74.63	77.35	79.83	82.07	84.08	85.88	87.49	88.92	90.19
10.2	64.53	68.15	71.52	74.63	77.46	80.03	82.34	84.41	86.25	87.88	89.33	90.60	91.73	92.71	93.58

* Emerson, K., R. C. Russo, R.E. Lund, and R.V. Thurston. 1975. Aqueous ammonia equilibrium calculations: effect of pH and temperature. *J. Fish. Res. Board Can.*, 32:2379-2383.