



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

**CARACTERIZACIÓN DEL DESARROLLO EMBRIONARIO Y
LARVAL DE *Echinometra vanbrunti* (ERIZO MORADO) EN
SISTEMA DE CAUTIVERIO, SANTA ELENA**

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

**Previo a la obtención del Título de
BIÓLOGO**

AUTOR:

GIOVANNY FERNANDO FUERTES BACILIO

TUTOR:

Blgo. XAVIER PIGUAVE PRECIADO, Mgtr.

LA LIBERTAD – ECUADOR

2025

UNIVERSIDAD ESTATAL

PENÍNSULA DE SANTA ELENA

FACULTAD CIENCIAS DEL MAR

CARRERA DE BIOLOGÍA

**CARACTERIZACIÓN DEL DESARROLLO EMBRIONARIO Y
LARVAL DE *Echinometra vanbrunti* (ERIZO MORADO) EN
SISTEMA DE CAUTIVERIO, SANTA ELENA**

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previo a la obtención del Título de:

BIÓLOGO

AUTOR:

GIOVANNY FERNANDO FUERTES BACILIO

TUTOR:

Blgo. XAVIER PIGUAVE PRECIADO, Mgtr.

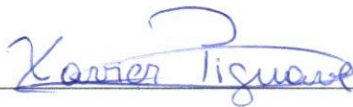
LA LIBERTAD – ECUADOR

2025

DECLARACIÓN DEL DOCENTE TUTOR

En mi calidad de Docente Tutor del Trabajo de Integración Curricular, “**Caracterización del desarrollo embrionario y larval de *Echinometra vanbrunti* (erizo morado) en sistema de cautiverio, Santa Elena**”, elaborado por **Fuertes Bacilio Giovanny Fernando** 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 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

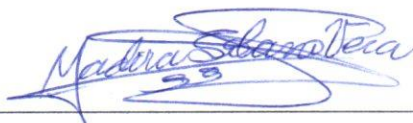


Blgo. Xavier Piguave Preciado, Mgtr.
DOCENTE DE ÁREA
C.D.: 0913435046

DECLARACIÓN DEL DOCENTE DE ÁREA

En mi calidad de Docente Especialista, del Trabajo de Integración Curricular “**Caracterización del desarrollo embrionario y larval de *Echinometra vanbrunti* (erizo morado) en sistema de cautiverio, Santa Elena**”, elaborado por **Fuertes Bacilio Giovanny Fernando** 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. Yadira Solano Vera, Mgtr.
DOCENTE DE ÁREA
C.D.: 0913541363

DEDICATORIA

A Dios, fuente infinita de sabiduría y fortaleza, por permitirme cristalizar este anhelo que hoy ve la luz. Por ser mi guía en los momentos de incertidumbre y por darme la perseverancia para alcanzar esta meta, que no solo es un logro personal, sino una bendición compartida.

A mis padres, Giovanni Fuertes y Lorena Bacilio, pilares fundamentales de mi vida, cuyo amor incondicional y sacrificios han sido el cimiento de todo lo que hoy soy. Gracias por guiarme con paciencia por el sendero de la superación, por estar presentes en cada paso de mi formación, tanto en los triunfos como en las adversidades. Sus sabios consejos, su apoyo motivacional y económico, y su fe inquebrantable en mí, fueron el impulso que necesité para convertir este sueño en realidad.

Finalmente, a todos aquellos que de alguna manera contribuyeron a este logro, mi más profundo agradecimiento.

AGRADECIMIENTO

A las autoridades y personal Académico de la Universidad Estatal Península de Santa Elena por liderar el proceso de formación profesional.

Mi más sincero y profundo agradecimiento al Blgo. Xavier Vicente Piguave Preciado, Mgtr., tutor de esta tesis, cuyo amplio conocimiento científico y profesional fue fundamental para guiar cada etapa de este trabajo. Su dedicación, paciencia y exigencia académica no solo enriquecieron esta investigación, sino que también dejaron una invaluable enseñanza en mi formación como profesional.

A la Blga. Verónica Flores, por sus valiosos consejos, su orientación constante y por compartir siempre su conocimiento con disposición y amabilidad.

A mi querida compañera Nathaly Quimi, que estuvo conmigo en todo este proceso, gracias por tu apoyo incondicional, los ánimos brindados y, sobre todo, por creer en mí en todo momento.

Igualmente, a la Sra. Eva Carmen, cuyo apoyo incondicional, su generosidad y solidaridad me facilitaron la ayuda necesaria, demostrando su desinteresado compromiso con mi formación.

No puedo dejar de expresar mi gratitud a los docentes de la Facultad de Ciencias del Mar, quienes, con sus enseñanzas, retroalimentación y guía, aportaron ese granito de arena que hizo posible la culminación de este proyecto.

Finalmente, a todas aquellas personas que, de una u otra forma, contribuyeron a que este sueño se hiciera realidad.

TRIBUNAL DE GRADO

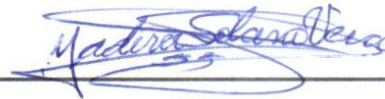
Trabajo de Integración Curricular presentado por **Fuertes Bacilio Giovanni Fernando** como requisito parcial para la obtención del grado de Biólogo/a de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

Trabajo de Integración Curricular **APROBADO** el: 8/7/2025



Ing. Jimmy Villón Moreno, M.Sc.

DIRECTOR/A DE CARRERA
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



Blga. Yadira Solano Vera, Mgtr.

PROFESOR DE ÁREA
MIEMBRO DEL TRIBUNAL




Blgo. Xavier Piguave Preciado, Mgtr.

DOCENTE TUTOR
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Blgo. Richard Duque Marín, Mgtr.

DOCENTE GUÍA DE LA UIC II
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Lcdo. Pascual Alejandro Roca Silvestre, Mgtr.

SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL

DECLARACIÓN EXPRESA

La responsabilidad por los datos, ideas y resultados expuestos en este trabajo de integración curricular: **“CARACTERIZACIÓN DEL DESARROLLO EMBRIONARIO Y LARVAL DE *Echinometra vanbrunti* (ERIZO MORADO) EN SISTEMA DE CAUTIVERIO, SANTA ELENA”**, me corresponden exclusivamente, y el patrimonio intelectual de la misma compartido con la Universidad Estatal Península de Santa Elena.



Giovanny Fernando Fuertes Bacilio
C.I: 2450153545

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
2. PROBLEMÁTICA	4
3. JUSTIFICACIÓN	6
4. OBJETIVOS	8
4.1 OBJETIVO GENERAL	8
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
5. HIPÓTESIS	8
6. MARCO TEÓRICO	9
6.1 Taxonomía de <i>Echinometra vanbrunti</i> (Agassiz,1863)	9
6.2 Familia <i>Echinometridae</i>	9
6.3 Distribución Geográfica de <i>E.vanbrunti</i>	10
6.4 Importancia ecológica	11
6.5 Modelo para estudiar el desarrollo embrionario	12
6.6 Factores físico químico	12
6.6.1 Temperatura	12
6.6.2 Salinidad	14
6.7 Alimentación	14
6.8 Ciclo de vida	15
6.9 Fases embrionarias	16
6.9.1 Huevo o Cigoto	16

6.9.2	División 2 células	16
6.9.3	División 4 células	17
6.9.4	División 8 células	17
6.9.5	Morulación	17
6.9.6	Blástula (64 células)	17
6.9.7	Gastrulación	18
6.9.8	Larva prisma.....	19
6.9.9	Larva plúteus	19
7.	MARCO METODOLÓGICO	20
7.1	Área de estudio	20
7.2	Diseño experimental	21
7.3	Fase de campo.....	26
7.3.1	Recolección de los erizos de mar	26
7.4	Fase de laboratorio	27
7.4.1	Saneamiento de las muestras	27
7.5	Obtención de gametos	29
7.6	Fecundación	30
8.	RESULTADOS	32
8.1	Concentración óptima de cloruro de potasio para la extracción de gametos en la fecundación <i>in vitro</i>	32
8.1.1	Concentración de KCl en ovocitos.....	33
8.1.2	Concentración de KCl en espermatozoides	35

8.2	Examinar las características del proceso embrionario y larvarios que presenta el erizo morado, realizando observaciones en periodos de tiempo.....	37
8.3	Experimentación con diferentes salinidades	38
8.3.1	Salinidad del grupo control correspondiente a 35 ppt.....	38
8.3.2	Salinidad de grupo experimental 2 correspondiente a 30 ppt.....	40
8.3.3	Salinidad de grupo experimental 3 correspondiente a 25 ppt.....	41
8.3.4	Salinidad de grupo experimental 4 correspondiente a 20 ppt.....	43
8.4	Experimentación con diferentes temperaturas	44
8.4.1	Temperatura correspondiente al grupo control de 28°C	44
8.4.2	Temperatura correspondiente al grupo experimental de 25°C.....	46
8.4.3	Temperatura correspondiente al grupo experimental de 23°C.....	48
8.4.4	Temperatura correspondiente al grupo experimental de 20°C.....	50
8.5	Influencia de los parámetros ambientales (Temperatura y salinidad) en el desarrollo embrionario y larval del erizo morado.....	52
8.5.1	Influencia de la salinidad en el desarrollo embrionario y larval	52
8.5.2	Influencia de la temperatura en el desarrollo embrionario y larval.....	54
9.	DISCUSIÓN.....	55
10.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	58
10.1.	CONCLUSIONES	58
10.2.	RECOMENDACIONES	60
11.	BIBLIOGRAFÍA	61
12.	ANEXOS	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 <i>Echinometra vanbrunti</i>	9
Figura 2 Localización geográfica	20
Figura 3 Inducción al desove de <i>Echinometra vanbrunti</i>	22
Figura 4 Grupo experimental de Temperatura.....	23
Figura 5 Grupo experimental de Salinidad	24
Figura 6 Diseño de réplicas junto a observación de intervalos de tiempo.....	25
Figura 7 Zona intermareal rocosa de la playa San Lorenzo, Salinas	26
Figura 8 Concentración óptima de cloruro de potasio para ovocitos	34
Figura 9 Concentración óptima de cloruro de potasio para espermatozoides	36
Figura 10 Fases del desarrollo embrionario y larval de <i>Echinometra vanbrunti</i>	38
Figura 11 Salinidad de grupo control con salinidad de 35ppt	39
Figura 12 Salinidad de grupo experimental 2 correspondiente a 30 ppt	41
Figura 13 Salinidad de grupo experimental 3 correspondiente a 25 ppt.	43
Figura 14 Salinidad de grupo experimental 4 correspondiente a 20 ppt	44
Figura 15 Temperatura correspondiente al grupo control de 28°C	46
Figura 16 Temperatura correspondiente al grupo experimental de 25°C.....	48
Figura 17 Temperatura correspondiente al grupo experimental de 23°C.....	50
Figura 18 Temperatura correspondiente al grupo experimental de 20°C.....	52

ÍNDICE DE TABLA

Tabla 1 Organismos empleados para realizar la fecundación <i>in vitro</i>	33
--	----

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Toma de parámetros ambientales en la zona de recolección de organismos	70
Anexo 2 Selección de un organismo para realizar su respectivo lavado y desinfección.....	70
Anexo 3 Toma de 1 ml de solución de cloruro de potasio destinada a la inducción por inyección	71
Anexo 4 Extracción de gametos tras inyección de 1 ml de KCl: esperma (blanco) y óvulos (naranja).....	71
Anexo 5 Esterilización de agua de mar filtrada mediante fiolas para eliminar contaminantes microbiológicos.....	72
Anexo 6 Cuantificación de gametos mediante cámara de Neubauer bajo microscopía	72
Anexo 7 Peceras experimentales acondicionadas para evaluar el efecto de temperatura y salinidad en los organismos	73
Anexo 8 Registro por hora de temperatura en peceras del grupo experimental para asegurar estabilidad térmica	73
Anexo 9 Regulación térmica mediante adición controlada de hielo en el grupo experimental	74
Anexo 10 Fases del desarrollo embrionario de <i>Echinometra vanbrunti</i> : A) óvulo fecundado, B) división celular en etapa de 4 células, y C) larva en fase prisma temprana.....	74

TABLA DE ANEXOS

Tabla 1 Valor de ovocitos representados en media \pm desviación estándar.	75
Tabla 2 Análisis de normalidad (Shapiro-Wilk) de las concentraciones de KCl (0.3 M, 0.5 M, 0.7 M).....	75
Tabla 3 Análisis de varianza (ANOVA) de ovocitos: comparación de medias entre concentraciones de KCl (0.3 M, 0.5 M y 0.7 M) sin diferencias significativas	75
Tabla 4 Valor de espermatozoides representados en media \pm desviación estándar	76
Tabla 5 Análisis de normalidad de espermatozoides mediante la prueba de Shapiro-Wilk, dando como resultado que presentaron distribuciones no normales.	76
Tabla 6 Prueba de Kruskal-Wallis aplicada a la muestra de espermatozoides para evaluar diferencias según las concentraciones de KCl (0.3, 0.5 y 0.7 M); no se encontraron diferencias significativas ($p = 0,08233$)	76
Tabla 7 Estimación del tiempo transcurrido, en las etapas de desarrollo embrionario de <i>Echinometra vanbrunti</i> , expresado en media \pm desviación estándar (Salinidad 35 PPT, 30PPT, 25 PPT y 20 PPT)	77
Tabla 8 Estimación del tiempo transcurrido, en las etapas de desarrollo embrionario de <i>Echinometra vanbrunti</i> , expresado en media \pm desviación estándar (Temperatura 28°C, 25° C, 23° C y 20° C).....	77

GLOSARIO

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

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

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

Espermatozoides. - es una célula altamente especializada, cuya función es la de fecundar al óvulo.

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

Mórula. - Es la fase que alcanza el embrión cuando se encuentra en la división de 16 y 32 células, la cual presenta una estructura esférica.

Blástula. - Es la fase cuando el embrión alcanza la división de 64 células la cual presenta una forma esférica y consta de una sola capa de células denominado blastodermo.

Cigoto. – Célula resultante de la unión del gameto masculino con el femenino en la reproducción.

Gastrulación. - El proceso produce tres capas embrionarias: el endodermo, el mesodermo y el ectodermo. En el erizo de mar, este proceso comienza con la invaginación de las células del polo vegetal que se mueven hacia el polo animal.

Equinodermo. – Filo de invertebrados exclusivamente marinos, que habitan zonas bentónicas, se caracterizan por tener simetría radial (en adultos), dermoesqueleto calcáreo y sistema ambulacral. Incluyen erizos de mar, estrellas de mar y pepinos de mar.

Larva pluteus. – Etapa larval típica de los equinoideos (como los erizos de mar), con simetría bilateral y brazos alargados con cilios que le permiten nadar y alimentarse, es la fase final antes de la metamorfosis a la forma adulta.

Larva prismática. – Etapa anterior a la larva pluteus, con forma triangular o prismática. Es una transición entre la blástula y la larva pluteus.

Fertilización externa. – Tipo de reproducción en la que los gametos se liberan al medio ambiente (generalmente acuático) donde ocurre la fecundación.

Blastómero. – Cada una de las células resultantes de las primeras divisiones del cigoto durante la segmentación embrionaria.

Segmentación. – Proceso de división celular rápida y sucesiva del cigoto que forma los blastómeros, sin crecimiento del embrión.

Invaginación. – Movimiento celular durante la gastrulación en el que una región del embrión se pliega hacia el interior, formando una estructura parecida a una cavidad.

Coeloblastula. – Tipo de blástula con una cavidad central bien desarrollada, característica en embriones de equinodermos.

Mesénquima. – Células migratorias del embrión que se desprenden del epitelio y contribuyen a la formación del esqueleto y otros tejidos internos en los equinodermos.

ABREVIATURAS

KCL. - Cloruro de potasio

M.- Molar (Unidad de concentración de una solución: mol/L)

T.- Temperatura

°C.- Grados Celsius

SDT.- Desviación estándar

PPT. - Partes por mil

PPM. - Partes por millón

T0.- post-inseminación

ML.- Mililitro

Ec1.- Experimentación control 1

Et2.- Experimentación tratamiento 2

ANOVA: Análisis de varianza

CARACTERIZACIÓN DEL DESARROLLO EMBRIONARIO Y LARVAL DE *Echinometra vanbrunti* (ERIZO MORADO) EN SISTEMA DE CAUTIVERIO, SANTA ELENA

Autor: Giovanni Fernando Fuertes Bacilio
Tutor: Blgo. Xavier Piguave Preciado, M.Sc.

RESUMEN

Echinometra vanbrunti es una especie clave en ecosistemas del Pacífico Oriental Tropical debido a que ayuda al equilibrio ecológico, además de ser un organismo sensible frente a variaciones fisicoquímicas lo convierte en un bioindicador. Este estudio tuvo como objetivo analizar la caracterización de las fases del desarrollo embrionario y larval de *E. vanbrunti*, bajo condiciones controladas, evaluando la incidencia de temperatura y salinidad. Se recolectaron ejemplares en la zona intermareal de San Lorenzo y se indujo a la liberación de espermatozoides y ovocitos mediante inyección intracelómica de cloruro de potasio (KCl) en concentraciones de 0.3, 0.5 y 0.7 M. La fecundación *in vitro* se realizó controlando proporciones gaméticas y parámetros del medio. El monitoreo se efectuó mediante microscopía óptica y registro fotográfico en intervalos definidos, evaluando tasa de fertilización, sincronía celular, segmentación, gastrulación y formación de larvas prisma y plúteus. Los resultados mostraron que rangos térmicos de 25–28 °C y salinidades de 30–35 ppt optimizan la viabilidad, morfología y desarrollo sincrónico, mientras que valores inferiores a 23 °C o 25 ppt provocan bloqueos en el desarrollo hasta un aumento en la mortalidad. Cabe destacar la importancia que tienen los erizos los cuales son clave en los ecosistemas marinos, ya que regulan la dinámica de algas y contribuyen al equilibrio del bento costero, por lo que entender sus requerimientos ambientales es vital para la conservación de hábitats marinos.

Palabras claves: *Echinometra vanbrunti*, Fecundación *in vitro*, Desarrollo embrionario, Temperatura, Salinidad, Microscopía.

CHARACTERIZATION OF THE EMBRYONIC AND LARVAL DEVELOPMENT OF *Echinometra vanbrunti* (PURPLE HEDGEHOG) IN THE CAPTIVE SYSTEM, ST. ELENA

Autor: Giovanni Fernando Fuertes Bacilio
Tutor: Blgo. Xavier Piguave Preciado, M.Sc.

ABSTRACT

Echinometra vanbrunti is a key species in ecosystems of the Tropical Eastern Pacific due to its role in maintaining ecological balance, and its sensitivity to physicochemical variations makes it a bioindicator. This study aimed to analyze the characterization of the embryonic and larval development stages of *E. vanbrunti* under controlled conditions, evaluating the influence of temperature and salinity. Specimens were collected from the intertidal zone of San Lorenzo, and the release of spermatozoa and oocytes was induced by intracoelomic injection of potassium chloride (KCl) at concentrations of 0.3, 0.5, and 0.7 M. In vitro fertilization was carried out by controlling gamete ratios and environmental parameters. Monitoring was performed through optical microscopy and photographic recording at defined intervals, evaluating fertilization rate, cell synchrony, cleavage, gastrulation, and the formation of prism and pluteus larvae. The results showed that temperature ranges of 25–28 °C and salinities of 30–35 ppt optimize viability, morphology, and synchronous development, while values below 23 °C or 25 ppt cause developmental arrest and increased mortality. It is worth highlighting the importance of sea urchins, as they are key species in marine ecosystems, regulating algal dynamics and contributing to the balance of coastal benthic environments. Therefore, understanding their environmental requirements is vital for the conservation of marine habitats.

Keywords: *Echinometra vanbrunti*, In vitro fertilization, Embryonic development, Temperature, Salinity, Microscopy.

1. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial los equinodermos son un grupo muy diverso de organismos marinos, mismos que se distribuyen en todos los océanos tanto de regiones tropicales como polares principalmente en zonas costeras, se los encuentra en zonas profundas y poco profundas (Bernabé, 2025). Estos invertebrados cumplen un rol muy importante dentro de los ecosistemas marinos como indicadores, además de ayudar al mantenimiento y equilibrio de la cadena trófica (Reyes et al., 2024).

Sin embargo, cabe resaltar, que el filo Echinodermata se compone de 5 clases principales las cuales son las siguientes: Asterozoa con el grupo de estrellas de mar, Echinodermata con erizos y dólar de mar, Holothurozoa con pepinos de mar, Crinozoa con crinoideos y lirios de mar y Ophiurozoa con el grupo de ofiuras, este filo comprende hasta la actualidad un aproximado de 7 mil especies vivas (Benítez et al., 2022).

Para el Ecuador, el erizo morado (*Echinometra vanbrunti*) se encuentra en aguas costeras del Pacífico, principalmente en las Islas Galápagos y en el Golfo de Guayaquil, esta especie de erizo sabe habitar zonas intermareales poco profundas como arrecifes de coral, rocas y fondos arenosos, se caracterizan por presentar una simetría pentarradial y un sistema ambulacral que actúa utilizando la presión hidráulica junto a las contracciones musculares (Tigua, 2021).

Con respecto a la reproducción, los equinodermos presentan características particulares que los distinguen del resto del mundo marino, son organismos dioicos con fecundación externa, donde los machos como hembras liberan sus gametos al alcanzar la madurez sexual a través de cinco conductos ubicados en la región superior cercana al conducto anal, el desarrollo embrionario y larval ocurre en el ambiente pelágico, donde los organismos quedan expuestos a diversas condiciones ambientales que influyen en su desarrollo (Lucas et al., 2019).

En cuanto a la reproducción inducida en erizos de mar, se han evidenciado estudios detallados hasta la actualidad, mismos que se han logrado de manera exitosa mediante diferentes procesos, entre ellos se encuentra la aplicación de cloruro de potasio por medio de inyección (Madrid, 2023). Este tipo de reproducción se ha convertido en un punto de vital importancia para la conservación y recuperación de poblaciones de erizos en condiciones controladas de laboratorio (Resgalla et al., 2020).

Con relación a la problemática, las investigaciones han revelado que el erizo morado (*Echinometra vanbrunti*) al igual que otras especies, enfrentar diferentes amenazas en el medio como la sobreexplotación, degradación de ecosistemas marinos, contaminación y cambio climático entre ellos la variación de temperatura y salinidad principalmente han llevado a una disminución a esta población afectando severamente los procesos de desarrollo embrionario y larval de esta especie (Pondella y Williams, 2020).

Esta investigación se centró en la caracterización detallada del desarrollo embrionario y larval del erizo morado *Echinometra vanbrunti* en condiciones de cautiverio mediante técnicas de observación microscópica en laboratorio, con la finalidad de estimar el porcentaje de viabilidad y crecimiento de las larvas y observando si la influencia de los parámetros ambientales (Temperatura y salinidad) afectan en el desarrollo embrionario y larval del erizo.

2. PROBLEMÁTICA

El erizo de mar morado es una especie común del Pacífico Tropical Oriental, no obstante, su desarrollo embrionario y larval ha sido estudiado, pero no cuenta con investigaciones aplicadas en factores físicos y químicos en condiciones de cautiverio. Por esta razón, implementar diseños o estrategias de conservación para el manejo de esta especie, se encuentra limitado por la carencia de dicha información. A pesar de que en América Latina la mayoría de los equinodermos han sido utilizados como objeto de investigación, desde el siglo XIX, contemplando una visión ecológica centrada en el reconocimiento y clasificación taxonómica, sin embargo, esto ha dejado de lado análisis relacionados a su biología reproductiva. Siendo *E. vanbrunti* un organismo ideal para investigar como su crecimiento embrionario se relaciona con interacciones ambientales.

Este vacío de conocimiento es especialmente preocupante en un contexto de creciente presión sobre los ecosistemas costeros, derivada del desarrollo urbano, la contaminación y la sobreexplotación de recursos marinos. Tales impactos incrementan la vulnerabilidad de especies clave como *E. vanbrunti*, que desempeñan un rol ecológico fundamental en la dinámica de fondos rocosos y arrecifes. La ausencia de estudios detallados sobre su ciclo de vida en condiciones controladas dificulta la puesta en marcha de programas de restauración o cultivo en cautiverio que puedan contribuir a su conservación. A nivel global, las poblaciones de erizos de mar también se han visto afectadas por diversas amenazas, como la sobreexplotación, la degradación de hábitats, la contaminación y el cambio climático. Estas presiones inciden particularmente en las primeras etapas de desarrollo embrionaria y larval, que son altamente sensibles a alteraciones en los factores ambientales, estas pueden provocar

malformaciones, retrasos en el desarrollo e incluso mortalidad (Tambutti & Gómez, 2022; Lang et al., 2023).

La salinidad y la temperatura se destacan entre los factores ambientales más determinantes, ya que alteraciones de salinidad pueden modificar la presión osmótica a nivel celular, comprometiendo la viabilidad de los gametos disminuyendo de manera significativa la tasa de fertilización (Byrne et al., 2014). Esta situación se torna negativa en especies como *E. vanbrunti*, que no poseen mecanismos eficientes de regulación osmótica (Bernardi, 2023). Asimismo, los cambios de temperatura influyen de manera directa en funciones fisiológicas esenciales, como el transporte de iones y la actividad enzimática, derivando en una afectación en la homeostasis celular reduciendo así el ritmo de crecimiento durante las primeras fases del desarrollo embrionario (Padilla et al., 2020).

Además, la ausencia de protocolos estandarizados para la reproducción de equinodermos en laboratorio, sumada a la escasa información técnica dentro de la región, limita el desarrollo de iniciativas de acuicultura sostenible, las cuales podrían generar beneficios para la conservación de la biodiversidad marina como para las poblaciones costeras. Ante esta situación, se plantea la siguiente interrogante de investigación: **¿Cómo afectan los parámetros ambientales, como la temperatura y la salinidad, al desarrollo embrionario y larval de *Echinometra vanbrunti* bajo condiciones controladas de laboratorio?**

3. JUSTIFICACIÓN

A nivel mundial *Echinometra vanbrunti* tiene importancia ecológica, desempeña un papel importante como bioindicador de la calidad del hábitat marino, además contribuye al equilibrio del ecosistema ya que son considerados descomponedores de materia orgánica, favorece la oxigenación del agua y regula las comunidades algales.

Desde una perspectiva científica, esta investigación aportó con información importante sobre el desarrollo embrionario y larval de *E. vanbrunti* en sistemas de cautiverio, un aspecto que ha sido poco estudiado en comparación a otras especies de equinodermos. Esto es relevante, dado que las poblaciones enfrentan amenazas como la sobrexplotación, contaminación y cambio climático, factores que han provocado su disminución.

Desde un enfoque experimental, la actual investigación se basó en la observación y registro de las fases embrionarias y larvales bajo condiciones controladas de laboratorio, lo que permitió establecer con precisión los tiempos de desarrollo de cada fase, desde la fertilización hasta la formación de la larva prisma. Este conocimiento no solo tiene valor científico, sino que también resulta fundamental para el desarrollo de futuras estrategias de conservación y manejo de la especie.

Cabe resaltar que la caracterización y estudio del desarrollo embrionario y larval en sistemas de cautiverio es de gran importancia, ya que podría servir como base para establecer programas de conservación y de reintroducción de individuos al medio, con el fin de contribuir a la recuperación de ecosistemas marinos como los arrecifes de coral.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Analizar la caracterización de las etapas de desarrollo embrionario y larval de *Echinometra vanbrunti*, mediante técnicas de observación microscópica en laboratorio, estimando el porcentaje de viabilidad y crecimiento óptimo de las larvas.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la concentración óptima de cloruro de potasio como estimulador gonadal para la extracción de gametos en la fecundación *in vitro* de *Echinometra vanbrunti*.
- Examinar las características del proceso embrionario y larvarios que presenta el erizo morado, realizando observaciones en periodos de tiempo.
- Establecer la influencia de los parámetros ambientales (Temperatura y salinidad) en el desarrollo embrionario y larvario del erizo morado para un buen desarrollo y crecimiento.

5. HIPÓTESIS

H₁: Los parámetros temperatura y salinidad afectan el desarrollo y la supervivencia de las larvas de *Echinometra vanbrunti* en sistemas de cautiverio.

6. MARCO TEÓRICO

6.1 Taxonomía de *Echinometra vanbrunti* (Agassiz,1863)

Según Agassiz, (1863) clasifica taxonómicamente al erizo morado con:

Reino: Animalia

Filo: Echinodermata

Subfilo: Echinozoa

Clase: Echinoidea

Subclase: Euechinoidea

Orden: Camarodonta

Superfamilia: Odontophora

Familia: Echinometridae

Género: Echinometra

Especie: vanbrunti

Nombre científico: *Echinometra vanbrunti* (Agassiz,1863)

Nombre común: Erizo negro

Figura 1

Echinometra vanbrunti



6.2 Familia *Echinometridae*

Los equinodermos representan uno de los grupos con mayor abundancia dentro de los ecosistemas costeros rocosos a nivel mundial, especialmente a lo largo de diferentes franjas latitudinales, su importancia ecológica es notable, en particular de las ofiuras y equinoideos que están presentes en aguas someras, donde cumplen funciones esenciales como recicladores de materia orgánica (Jangoux y Lawrence, 1982). Dentro de la familia *Echinometridae* los erizos se distinguen por poseer un caparazón de forma redondeada, que puede variar en tamaño y por tener espinas largas dominadas primarias, así como otras más cortas distribuidos uniformemente sobre su superficie. Su cuerpo, se divide en dos regiones: el hemisferio oral, en

contacto con el sustrato, donde se localiza la boca rodeada por el peristoma que es una estructura que puede presentar un borde engrosado en forma de labio periférico donde se encuentran cinco pares de pies ambulacrales modificados llamados pies bucales, que son podios robustos y cortos los cuales están reforzados en el extremo como una placa calcárea que les facilita el desplazamiento multidireccional. El hemisferio aboral se sitúa el área anal o periprocto, donde se ubican cinco placas gonadales, cada una de ellas con un gonoporo y una de ellas contiene el madreporito (Ocaña, 2006).

Según Bernardi, (2023), los erizos de mar son responsables de alimentarse de alrededor del 45% de las algas de los arrecifes de coral, sin los erizos de mar, los arrecifes de coral pueden enfrentar severos problemas debido a la invasión de macroalgas, las cuales pueden restringir el crecimiento y la regeneración de los corales. Esta situación resulta preocupante considerando la relevancia de los arrecifes en la protección de las zonas costeras, la conservación de la biodiversidad marina y el mantenimiento de las poblaciones como los erizos de mar, que desempeñan un rol en el equilibrio ecológico del ecosistema.

6.3 Distribución Geográfica de *E.vanbrunti*

La distribución de los ejemplares pertenecientes a la familia *Echinometra* en los ecosistemas marinos se ve restringida por sus limitaciones fisiológicas frente a diversos factores ambientales, estos erizos tienden a concentrarse en estructuras complejas como grietas o cavidades, adoptando esta conducta como mecanismo de defensa frente a la depredación. A diferencia cuando las poblaciones alcanzan altas densidades, los individuos se dispersan de

manera aleatoria sobre el sustrato rocoso, sin depender necesariamente de la complejidad estructural del hábitat que usan como refugio (Mora *et al.*,2010).

En el litoral ecuatoriano, los erizos se distribuyen múltiples localidades como Salinas, Los Frailes y Punta Carnero e incluso las Islas Galápagos. Suelen habitar zonas intermareales rocosos, donde aprovechan las grietas y hendiduras para resguardarse tanto de depredadores como de condiciones ambientales adversas, también se encuentran en aguas someras a lo largo de costas rocosas, donde desempeñan un papel ecológico, ayudando a controlar el crecimiento excesivo de macroalgas y formando parte de la cadena alimenticia como fuente de alimento para diversas especies marinas (Mair *et al.*, 2002; Mora *et al.*, 2010).

6.4 Importancia ecológica

Echinometra vanbrunti cumple un rol ecológico como herbívoro dentro de los ambientes arrecifales coralinos. Debido a que limita el crecimiento de algas y coral en hábitats marinos. Asimismo, los erizos permiten crear asentamientos para otros individuos y a su vez, promueve la resiliencia del ecosistema, al permitir que las poblaciones coralinas permitan subsistir a diferentes condiciones ambientales (The Nature Conservancy, 2015).

Sin embargo, estos organismos pueden ser vulnerables a enfermedades, lo que impacta su papel en la dinámica del arrecife, en aquellos lugares donde los erizos representan un componente clave del ecosistema, se podría considerar su repoblación como una estrategia para restaurar las poblaciones cuando sus densidades han disminuido significativamente (Bernardi, 2023).

6.5 Modelo para estudiar el desarrollo embrionario

Según Charles Ettensohn, (2017) durante más de 150 años, los erizos de mar han sido utilizado para analizar mecanismos de desarrollo embrionario, la permanencia y relevancia de este modelo experimental se debe a diversas características, incluido el rápido desarrollo externo del embrión, su transparencia óptica y simplicidad anatómica, y la facilidad para obtener grandes cantidades de embriones en desarrollo sincrónico.

A lo largo de la historia, los estudios experimentales con erizos de mar han dado lugar a conceptos en los campos de la embriología, genética, y biología molecular. La investigación con erizos de mar y otros equinodermos sigue aportando conocimientos importantes sobre el desarrollo de redes reguladoras de genes, mecanismos de patrones, morfogénesis y la evolución de los programas de desarrollo (Ettensohn C. , 2017).

6.6 Factores físico químico

6.6.1 Temperatura

La temperatura es uno de los parámetros ambientales más esenciales y fundamentales para conocer el clima, refiriéndose al estado relativo de calor o frío en un entorno y esta influenciada

de diversos factores como la radiación solar, el viento, y las características de la superficie terrestres, las estaciones meteorológicas en distintas partes del mundo registran parámetros, el cual tiene un impacto significativo en la vida diaria de múltiples organismos, tanto animales como vegetales.

De acuerdo con Maciel *et al.*, (2015), el cambio climático global puede, modificar la distribución de las especies, afectando directamente su ubicación espacial, en el caso de muchos organismos, sus desplazamientos entre áreas tienden a ser más lentos, lo que limita su capacidad de adaptación rápida a nuevas condiciones. Los ecosistemas intermareales, por su parte, están expuestos a fluctuaciones de temperatura en múltiples escalas temporales y espaciales, siendo sensibles a los cambios asociados con el ciclo de mareas se encuentran sometidos a cambios de temperatura a una diferente variedad de escalas, la cual se ve influenciada por el cambio de marea, provocando que organismos invertebrados tengan la capacidad de adaptarse a estos ambientes (Irusta González, 2009).

Como indican Barbara *et al.*, (2021), las investigaciones que utilizan la temperatura como un factor o variable puntual que puede tender a influenciar algún proceso biológico, debido a que las oscilaciones térmicas poseen la capacidad de producir estrés celular, lo que en el desarrollo embrionario puede afectar de manera negativa al evitar la integridad de las membranas. Por esta razón, la exposición a temperaturas superiores de los límites logra crear un desequilibrio en la espermatogénesis y ovogénesis, conduciendo a una notable disminución en la tasa de fertilización.

6.6.2 Salinidad

La salinidad constituye una propiedad física esencial del agua marina, con implicaciones directas en los procesos fisiológicos de los organismos acuáticos, esto se evidencia al alterar su equilibrio osmótico, lo cual incide en la distribución y el comportamiento de las especies acuáticas. Las alteraciones entre la temperatura y salinidad definen la densidad del agua de mar, influyendo en el desplazamiento horizontal y vertical dentro de las masas de agua donde se producen cambios que afectan a los procesos químicos y biológicos los cuales tienen lugar a lo largo de la columna de agua (Alvarado y Aguilar, 2009).

Los erizos de mar morado poseen cualidades fisiológicas que les permite regular su equilibrio osmótico, contemplando un rango permisible de 30 a 35 ppt. No obstante, la fluctuación de este parámetro puede alterar la constitución intracelular de los productos de la reproducción, como es la integridad de gametos y su baja fiabilidad (Bernardi, 2023). Por esta razón, es necesario que exista un equilibrio osmótico para que se dé la fusión intermembrana entre gametos en el ambiente acuático.

6.7 Alimentación

Los erizos de mar son organismos omnívoros con una dieta predominante fitófaga basa principalmente en alga marinas, obstante también consumen una pequeña proporción de fauna bentónica, como foraminíferos y espongiarios, que representan alrededor del 6% de su alimentación. Su actividad trófica es mayoritariamente nocturna variando según su distribución geográfica, al ser organismos bentónicos presentan una estructura calcárea especializada llamada linterna de Aristóteles la cual funciona como un aparato masticado, esta adaptación

les permite raspar superficies rocosas y alimentarse de algas adheridas a ellas, lo que demuestra su papel ecológico como herbívoros en los ecosistemas marinos. Generalmente los erizos reguladores crean bolas de alimento que se encuentran recubiertas por una mucosidad, la cual permanece intacto durante el paso desde la faringe hasta llegar a la cavidad anal (Calva, 2003).

6.8 Ciclo de vida

Estos organismos son dioicos, no presentan un dimorfismo sexual, dentro de su caparazón presenta una composición de cinco gónadas adheridas, presentando una fecundación externa con desarrollo indirecto, lo que implica que tanto los óvulos como los espermatozoides son liberados al medio acuático, donde ocurre la fecundación.

El ciclo de vida de los erizos de mar comienza desde que los individuos masculinos son aptos para producir espermatozoides mientras que las hembras forman ovocitos. La producción es sincrónica de ambos materiales genéticos se fusiona en el agua, por lo que son dependientes de los parámetros ambientales de esta última.

Entre los principales estímulos que desencadenan esta conducta se encuentran las variaciones térmicas del agua, los ciclos de mareas y las fases lunares, que actúan como señales ambientales en la coordinación del evento reproductivo (Vives A. *et al.*, 2021).

El desarrollo embrionario comienza con la fecundación de los ovocitos provenientes de los organismos reproductores, una vez fecundados y liberados al entorno, se inicia una nueva etapa en el ciclo de vida del organismo, en condiciones naturales, en un lapso de 24 horas después de la fecundación, ocurre la eclosión larval, dando paso al comienzo de la fase larval. En esta

etapa los organismos se integran al plancton marino y son transportados por las corrientes, durante este periodo la alimentación es importante para su supervivencia y desarrollo, ya que dependen de la ingesta continua de microorganismos presentes en la columna de agua, principalmente de fitoplancton, junto con otras partículas orgánicas en suspensión. Esta dieta les proporciona la energía y los nutrientes necesarios para seguir creciendo, avanzar hacia las fases posteriores del desarrollo y aumentar sus posibilidades de lograr la etapa juvenil (Hernández y González Delgado, 2020).

6.9 Fases embrionarias

6.9.1 Huevo o Cigoto

Se deriva de la fecundación de los gametos masculinos y femeninos, en la cual el espermatozoide penetra el óvulo y se fusionan sus núcleos, dando lugar a una célula diploide única, esta célula presenta una envoltura vitelina que se endurece tras la fecundación para impedir la entrada de más espermatozoides, protegiendo así al embrión en las primeras etapas (Vahideh *et al.*, 2012).

6.9.2 División 2 células

La primera división mitótica del cigoto ocurre pocas horas después de la fecundación, generando dos células hijas denominadas blastómeros, esta división es holoblástica y simétrica, lo que garantiza una distribución equitativa del material genético y citoplasmático (Barresi. F y Gilbert, 2020).

6.9.3 División 4 células

Cada uno de los dos blastómeros se divide nuevamente, produciendo cuatro células del mismo tamaño, esta fase se realiza siguiendo ejes de división precisos y está regulada por la polaridad del cigoto, en este punto, las células siguen siendo totipotentes, es decir, capaces de originar un organismo completo (Vahideh *et al.*, 2012).

6.9.4 División 8 células

En esta fase continúan las divisiones mitóticas, alcanzando un total de ocho células, dando paso a un proceso de compactación donde los blastómeros se adhieren más estrechamente entre sí mediante moléculas de adhesión celular, esta compactación facilita la comunicación intercelular y prepara el embrión para la diferenciación (Barresi. F y Gilbert, 2020).

6.9.5 Morulación

Cuando el embrión alcanza entre 16 y 32 células, se denomina mórula, esta estructura esférica se caracteriza por una compactación máxima de los blastómeros y la pérdida de espacios intercelulares visibles. Aunque aún no se ha formado una cavidad interna, ya se observa cierta polarización celular (Vahideh *et al.*, 2012).

6.9.6 Blástula (64 células)

La mórula da paso a la blástula con la formación del blastocele, una cavidad llena de líquido transparente y viscoso que se acumula entre las células del embrión desarrollado, este líquido facilita la separación y organización de las células en una estructura esférica y permite la

expansión del embrión al generarse una presión interna, esta estructura es esférica y consta de una sola capa de células denominada blastodermo. En esta etapa, las células del polo animal desarrollan cilios que permiten al embrión girar dentro de la envoltura vitelina (Vahideh *et al.*, 2012).

6.9.7 Gastrulación

La gastrulación es uno de los procesos del desarrollo embrionario, durante el cual la blástula, una estructura hueca formada por una capa de células, presenta una serie de transformaciones que permiten la formación de las tres capas germinales: ectodermo es la capa externa y en el erizo de mar se desarrollará en la epidermis, que es la capa que cubre todo el cuerpo del animal, además del sistema nervioso primitivo, mesodermo surge de células que se desprenden durante la gastrulación, formará estructuras internas como los músculos y el esqueleto calcáreo que sostiene el cuerpo del erizo, así como el sistema circulatorio primitivo y endodermo la capa más interna, dará lugar al revestimiento del sistema digestivo del erizo, incluyendo el intestino derivado del arquenteron, que se forma a partir de la invaginación en el polo vegetal.

En el erizo de mar, este proceso implica movimientos celulares como la invaginación es uno de los primeros movimientos durante la gastrulación, donde un conjunto de células ubicadas en el polo vegetal de la blástula se invagina hacia el interior se pliega hacia el interior, la migración ocurre cuando ciertas células, especialmente las mesenquimales que derivan del mesodermo, se separan y se desplazan activamente hacia nuevas posiciones dentro del embrión para formar estructuras internas, como el esqueleto y los músculos y la convergencia un movimiento coordinado en el que las células se desplazan y se alinean para estrechar una zona del embrión

mientras se extiende en otra dirección, ayudando a moldear el cuerpo y elongar el arquenteron. (*Tourón Besada, 2012*).

6.9.8 Larva prisma

Surge después de la gastrulación y el embrión pasa por cambios morfológicos y celulares que serán aprovechados en las demás etapas larvarias. Se caracteriza por ser una larva triangular y ser una fase intermedia al desarrollo del erizo de mar.

Durante el estadio se observa una organización bilateral claramente definida, lo que marca el inicio de una mayor complejidad en la simetría corporal que servirá para la locomoción y la alimentación, durante este proceso empiezan a formarse los esbozos de los brazos larvarios, que serán para la captura de alimento y el movimiento en las fases larvales siguientes, estos brazos, aunque aún poco desarrollados, constituyen las bases para la estructura esquelética y muscular que se desarrollará plenamente en la larva plúteus (*Vahideh et al., 2012*).

6.9.9 Larva plúteus

La larva plúteus es la forma larval típica del erizo de mar, presentando brazos largos y ciliados que rodean el cuerpo del organismo, estas bandas ciliadas son estructuras para la locomoción, ya que generan corrientes de agua que permiten el desplazamiento activo en el medio acuático, estas corrientes también facilitan la alimentación al dirigir partículas de alimento hacia la boca de la larva, la función de las bandas ciliadas es para mantener la larva en suspensión y buscar alimento en la columna de agua, durante esta fase la larva puede permanecer semanas en la columna de agua antes de asentarse y comenzar su metamorfosis en un erizo adulto (*Vahideh et al., 2012*).

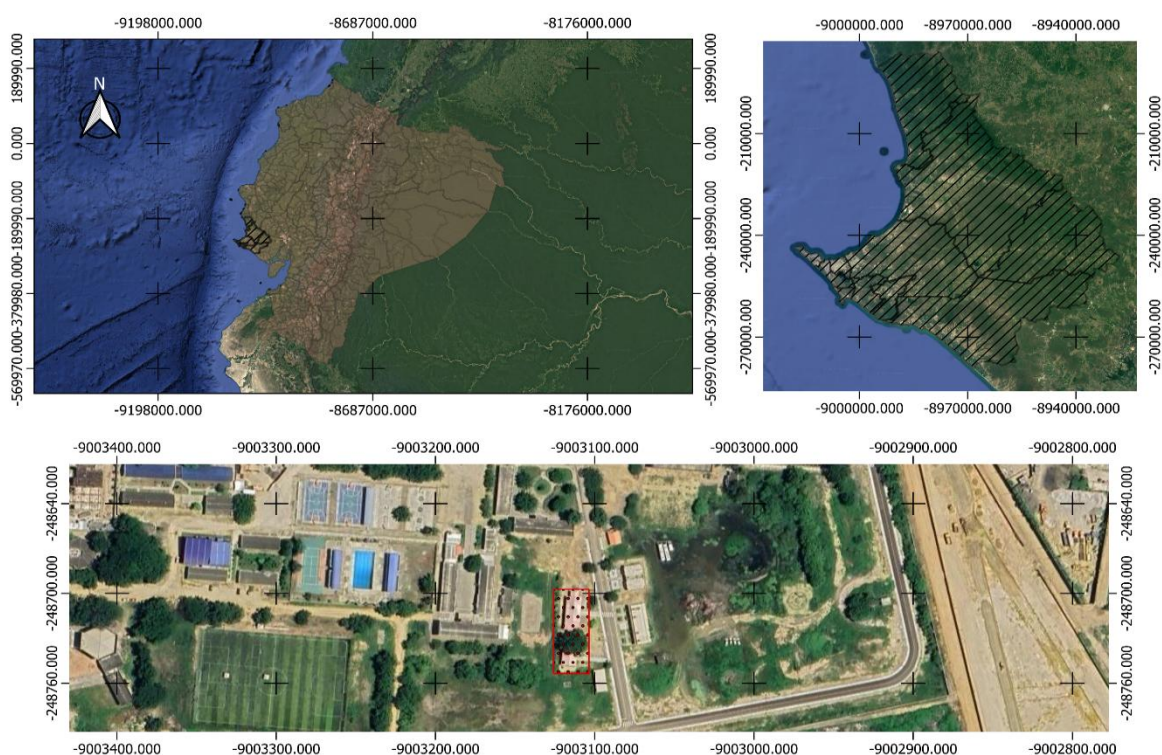
7. MARCO METODOLÓGICO

7.1 Área de estudio

Este trabajo se llevó a cabo en las instalaciones de la Universidad Estatal Península de Santa Elena (UPSE), ubicada en la provincia de Santa Elena. Para la ejecución de la investigación se adecuo un lugar en el laboratorio de la Facultad de Ciencias del Mar, el cual fue equipado y acondicionado para garantizar un entorno controlado para el desarrollo del presente trabajo. La localización geográfica del sitio de trabajo corresponde a las coordenadas: -2.233653 de latitud y -80.876305 de longitud como se muestra en la Figura 2.

Figura 2

Localización geográfica



Nota. Área de estudio en Ecuador, se detalla la provincia de Santa Elena y el campus de la Universidad Estatal Península de Santa Elena (UPSE), ubicado en las coordenadas -2.233653 latitud y -80.876305 longitud. Mapa elaborado con QGIS a partir de imágenes satelitales.

7.2 Diseño experimental

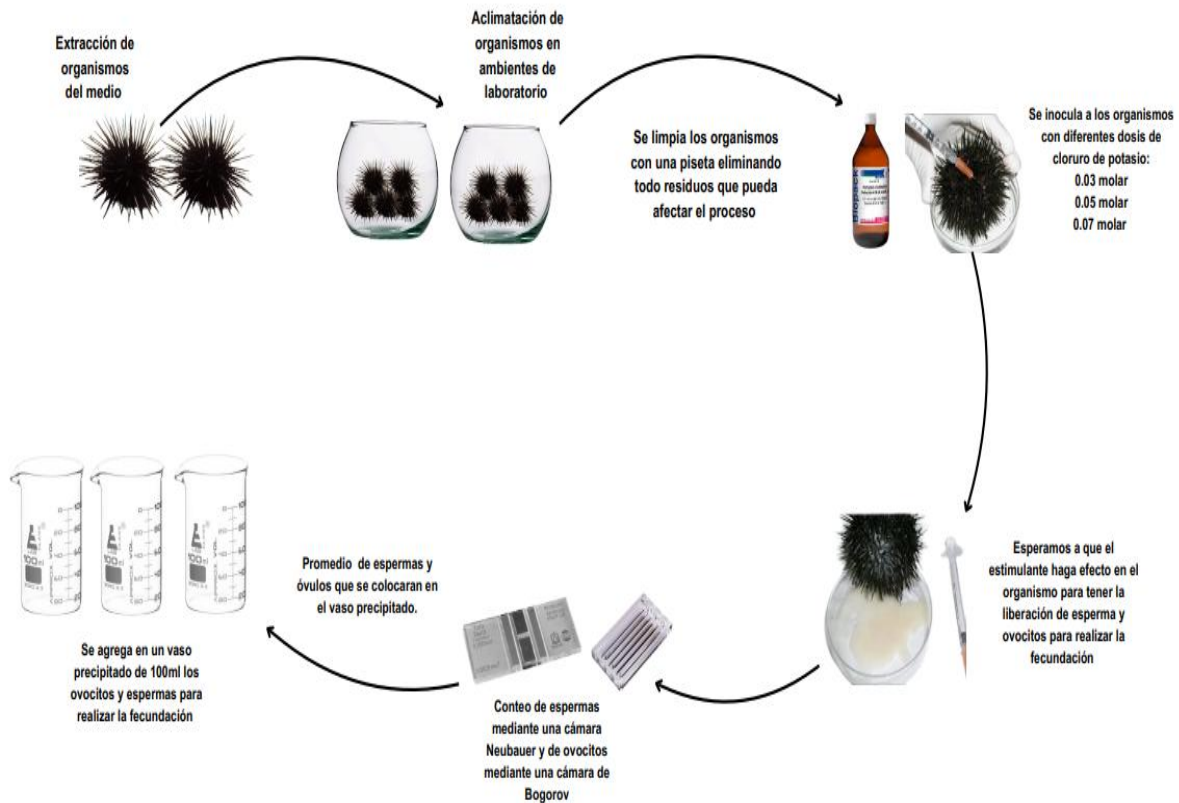
El diseño de este estudio se basa en un enfoque descriptivo y experimental, por lo cual busca la observación, documentación y caracterización detallada de las diferentes etapas del proceso embrionario y los estadios larvales de *Echinometra vanbrunti* de acuerdo con las condiciones ambientales controladas en cautiverio.

El enfoque descriptivo se centra en la observación, documentación morfológica y el análisis de cada fase de las etapas embrionarias y larvales, paralelamente el enfoque experimental emplea un diseño completamente aleatorizado con un enfoque factorial, con el fin de evaluar como incluyen los factores físicos – químicos como la temperatura y salinidad afectan el desarrollo de *E. vanbrunti* en condiciones de cautiverio. El presente sistema experimental consta de una matriz de 8 unidades experimentales (acuarios de cristal cilíndricos) que están equipados con un sistema independiente de control térmico contante en un lapso de 1 hora y monitoreo de salinidad en cada unidad experimental.

La inducción al desove se efectuó mediante inyección intracelómica de cloruro de potasio en concentraciones graduales (0.3, 0.5 y 0.7 M), siguiendo el protocolo de Ordoñez et al. (2021). La valoración de la calidad gamética se realizó mediante análisis microscópico, seleccionando ovocitos esféricos con morfología regular y espermatozoides con motilidad superior al 80%. La cuantificación gamética se ejecutó empleando una cámara Neubauer tanto para ovocitos y espermatozoides, estableciendo una proporción 10:1, la cual corresponde a ovocitos: espermatozoides para llevar a cabo la fertilización *in vitro* como se aprecia en la Figura 3.

Figura 3

Inducción al desove de Echinometra vanbrunti

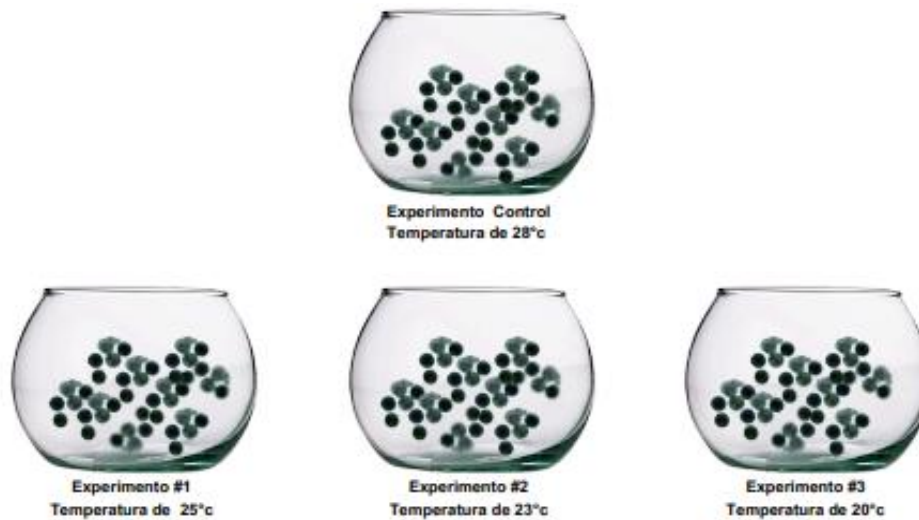


Nota. Inducción al desove de *Echinometra vanbrunti* mediante la inyección de solución de cloruro de potasio en la membrana peristomial, para la obtención de espermatozoides y ovocitos. Posteriormente, las células sexuales serán cuantificadas en una cámara de Neubauer y se preparará una suspensión en vasos de precipitados de 100 ml.

El diseño contempla dos variables independientes: temperatura y salinidad, cada una con cuatro niveles de tratamiento. Para temperatura, se establece un grupo control (Ec1 a 28°C) (temperatura óptima) reportada para la especie de acuerdo con la investigación realizada por Pozo, (2012) y tres tratamientos experimentales (Experimento 1 a 25°C); (Experimento 2 a 23°C) y (Experimento 3 a 20°C) como se muestra en la Figura 4.

Figura 4

Grupo experimental de Temperatura

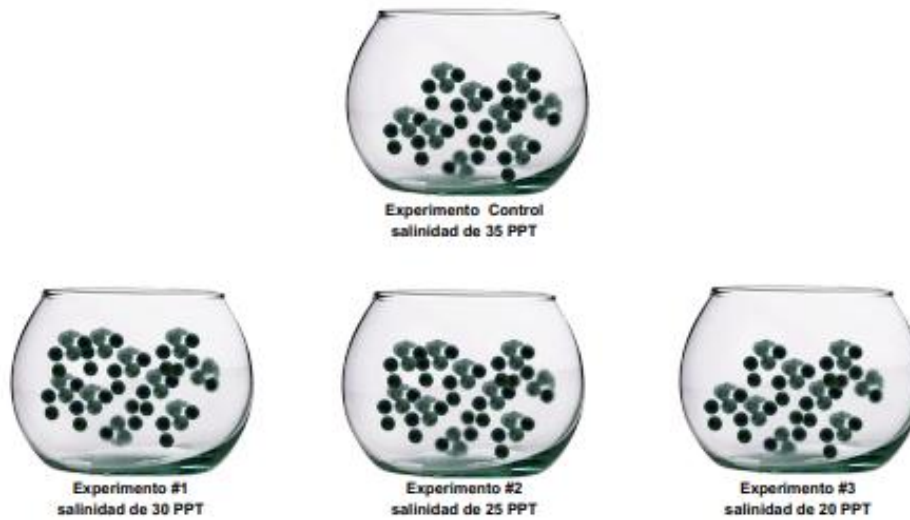


Nota. La figura muestra un grupo control mantenido a una temperatura de 28 °C y tres tratamientos experimentales: Experimento 1 a 25 °C, Experimento 2 a 23 °C y Experimento 3 a 20 °C.

Paralelamente, para salinidad se mantiene un grupo control (Ec2) a una concentración de 35 partes por mil (ppt), siguiendo la metodología propuesta por Domínguez et al. (2007), que establece esta salinidad como óptima para la especie en estudio, se implementaron tres niveles experimentales: Et2 a 30 ppt, Et2 a 25 ppt y Ec3 a 20 ppt como se muestra en la figura 5, con esto se evalúa los posibles efectos de la reducción progresiva de la salinidad en los parámetros fisiológicos y reproductivos de los organismos.

Figura 5

Grupo experimental de Salinidad



Nota. La figura muestra un grupo control con una salinidad de 35 ppt y tres tratamientos experimentales: Experimento 1 a 30 ppt, Experimento 2 a 25 ppt y Experimento 3 a 20 ppt.

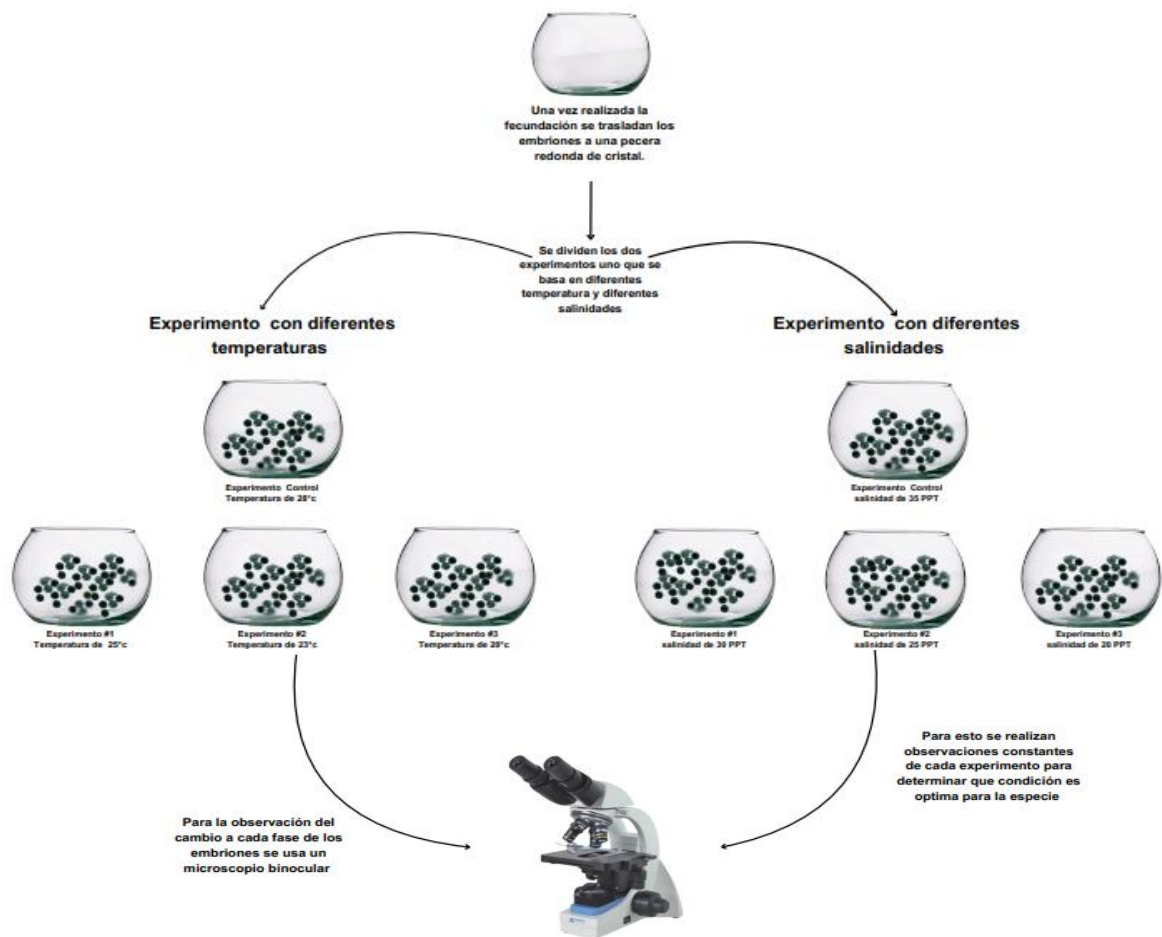
La metodología usada para el monitoreo del desarrollo ontogenético se realizó mediante microscopía óptica en intervalos temporales predeterminados para cada proceso. Se documentaron las siguientes etapas: segmentación temprana, blastulación, formación de las capas embrionarias y desarrollo de la estructura larval (estadios larvarios de prisma y pluteus), además, se implementó un registro fotográfico para la documentación morfométrica de cada estadio de desarrollo de acuerdo con la metodología propuesta por Ordoñez et al. (2021).

Los parámetros fisicoquímicos fueron monitoreados continuamente mediante un multiparámetro para temperatura y salinidad, además de esto se usó un oxígeno metro para medir el nivel de oxígeno en cada replica manteniendo así la estabilidad de las condiciones

experimentales como muestra la Figura 6. Las variables dependientes por evaluar incluyen: tasa de fertilización, tiempo de desarrollo entre estadios y anomalías morfológicas. Los datos serán sometidos a análisis de varianza bifactorial (ANOVA) para determinar efectos principales e interacciones entre variables, seguido de pruebas de Kruskal - Wallis.

Figura 6

Diseño de réplicas junto a observación de intervalos de tiempo



Nota. Se realizaron tres réplicas por tratamiento, tanto para los experimentos de temperatura como para los de salinidad.

7.3 Fase de campo

7.3.1 Recolección de los erizos de mar

Los especímenes de *Echinometra vanbrunti* se recolectaron de forma aleatoria en la zona rocosa de la playa San Lorenzo del Cantón Salinas, entre las coordenadas -2.2038376, -80.9625680 las cuales fueron registradas mediante GPS Garmin 3597 3d. Este sitio fue seleccionado por presentar poblaciones establecidas de erizos de mar morado, esta playa presenta características geomorfológicas que facilitan el acceso seguro durante el muestreo en marea baja como se muestra en la Figura 7.

Figura 7

Zona intermareal rocosa de la playa San Lorenzo, Salinas



Nota. La imagen muestra la zona de recolección de *Echinometra vanbrunti*, sitio de origen de los especímenes utilizados para el desarrollo de los ensayos experimentales

La selección de los organismos se llevó a cabo aplicando criterios estandarizados basados en parámetros morfométricos y condiciones sanitarias, con la finalidad de asegurar su capacidad reproductiva. Durante la recolección se consideraron individuos con un diámetro igual o superior a 45 mm, medida que constituye un indicador confiable de madurez sexual según lo reportado por Galarza (2014). Asimismo, se verificó que los organismos exhibieran una morfología integral, carente de lesiones, malformaciones o anomalías en la pigmentación del caparazón, además de presentar el sistema de espinas completamente preservado.

El proceso de recolección se realizó durante el periodo de marea baja de acuerdo con la tabla de marea del Inocar 2025, facilitando el acceso a las poblaciones intermareales, los organismos fueron extraídos manualmente mediante espátulas plásticas para minimizar el estrés y evitar daños en su estructura esquelética. Después de su recolección, los especímenes son colocados en un cooler de espumaflex de 40 x 50 con agua de mar del sitio, manteniendo la temperatura del medio donde fueron extraídos, al llegar al laboratorio se aplicó aireación adecuada hasta el momento de la experimentación.

7.4 Fase de laboratorio

7.4.1 Saneamiento de las muestras

Los ejemplares de *Echinometra vanbrunti* son sometidos a un protocolo de saneamiento estandarizado previo a su incorporación en los sistemas experimentales, la fase inicial consiste en una aclimatación de los organismos en un recipiente de cuarentena, equipados con sistemas de filtración mecánica y biológica, diseñados para mantener condiciones óptimas del medio.

Cada ejemplar es sometido a un lavado controlado con agua de mar esterilizada (salinidad 35 ± 1 ppt), a una temperatura constante de $24 \pm 1^\circ\text{C}$, utilizando una piseta de laboratorio, este método permite eliminar sedimentos, organismos epibiontes y partículas adheridas al dermatoesqueleto sin dañar las estructuras anatómicas, como espinas y podios. Durante el proceso, se verifica minuciosamente la superficie corporal bajo un estereomicroscopio (aumentos 10x- 40x) para detectar lesiones, anomalías morfológicas o signos de infección.

El periodo de cuarentena se da durante un período de 48 horas donde los organismos estarán en observación, evaluando su comportamiento y estado fisiológico mediante indicadores específicos: respuesta a estímulos, locomoción y capacidad de adhesión al sustrato. Con esto se garantiza la calidad del agua realizando recambios parciales de agua (50% del volumen) cada 12 horas, eliminando desechos metabólicos. Solo los organismos que presenten parámetros normales de conducta y fisiología serán seleccionados para los ensayos reproductivos.

Durante la fase de saneamiento, es necesario mantener y monitorear los parámetros fisicoquímicos como la temperatura, salinidad, pH y oxígeno disuelto dentro de los rangos óptimos para la especie. Las mediciones son evaluadas cada 6 horas, este protocolo garantiza que los organismos se encuentren en óptimas condiciones sanitarias para los siguientes procedimientos experimentales.

7.5 Obtención de gametos

La obtención de gametos de *Echinometra vanbrunti* se realizan mediante inducción química controlada, empleando una solución de cloruro de potasio (KCl) al 0.5M. La administración se efectuará mediante inyección intracelómica de 1 ml de la solución a través de la membrana peristomial, utilizando jeringas estériles de insulina (Moreira Mendoza, 2019). Los especímenes serán posicionados en posición aboral sobre recipientes de vidrio individuales previamente esterilizados, conteniendo 200 ml de agua de mar filtrada.

La emisión de gametos se monitorea durante un período máximo de 30 minutos post-inducción. Los óvulos (coloración naranja-rojiza) serán recolectados mediante pipeteo suave y transferidos a matraces Erlenmeyer con agua de mar filtrada a $22 \pm 1^\circ\text{C}$. Los espermatozoides (coloración blanquecina) serán colectados en seco y mantenidos a 4°C hasta su utilización. La viabilidad gamética será evaluada mediante microscopía, verificando en óvulos: integridad de la membrana vitelina, homogeneidad citoplasmática y ausencia de vesiculación; en espermatozoides: motilidad progresiva y densidad celular mediante cámara de Neubauer.

El proceso de obtención y manipulación de gametos se lleva a cabo en condiciones estériles, utilizando materiales y soluciones previamente esterilizados, así como un control minucioso de temperatura y el pH del medio, este protocolo estandarizado garantiza la recolección de gametos de alta calidad, un factor determinante para el éxito de los ensayos de desarrollo embrionario.

7.6 Fecundación

El proceso de fecundación in vitro de *Echinometra vanbrunti* se realiza bajo condiciones de laboratorio controladas, utilizando agua de mar filtrada que mantenga una temperatura constante de 22 ± 1 °C. Los gametos seleccionados se colocan dentro de un vaso de precipitación, manteniendo una concentración de 3ml de óvulos por mililitro con un volumen de 100 ml, según lo descrito por James y Siikavuopio (2012). La inseminación se realiza mediante la adición de una suspensión espermática estandarizada, manteniendo una proporción 10 espermatozoides por cada óvulo (proporción 10:1) lo que permite maximizar la tasa de fertilización y reducir el riesgo de polispermia.

El proceso de fertilización se monitorea desde el momento que se realiza la inseminación (T0), mediante microscópica en intervalos de 15 minutos durante la primera hora, correspondiente a la etapa inicial de la fecundación. Los indicadores para confirmar una fertilización efectiva incluyen la elevación de la membrana de fecundación, la formación del cono de fecundación y la presencia de pronúcleos. La tasa de fecundación se determinará mediante el conteo de 100 cigotos en tres muestras distintas, considerando el proceso favorable si al menos el 80% de los óvulos resultan fecundados.

El desarrollo embrionario temprano aún se visualiza mediante microscopía de contraste, registrando imagen de las distintas etapas: primera división celular, blástula, gastrulación y las primeras fases del desarrollo larval. Esto permite establecer parámetros para valorar la calidad de los gametos y la viabilidad del desarrollo de los cigotos, facilitando correlaciones precisas entre las condiciones experimentales y los resultados reproductivos obtenidos, además de la

documentación cronológica detallada contribuye a detectar posibles alteraciones en los patrones normales de desarrollo embrionario temprano.

8. RESULTADOS

8.1 Concentración óptima de cloruro de potasio para la extracción de gametos en la fecundación *in vitro*.

El cloruro de potasio es una solución estimuladora de las gónadas femeninas y masculinas en los erizos de mar, la cual causa contracciones musculares en el aparato reproductor provocando la expulsión de los ovocitos y espermatozoides a través del orificio genital de la placa madre porito en la región aboral del erizo de mar. Se evaluaron diferentes concentraciones de cloruro de potasio como estimulador gonadal para llevar a cabo la fecundación *in vitro*, donde se utilizaron 54 organismos de los cuales 29 eran machos y 25 hembras.

El propósito de esta experimentación fue determinar la concentración óptima de KCl que induzca una liberación eficiente de óvulos y espermatozoides, maximizando la cantidad y calidad de gametos obtenidos, mediante pruebas con concentraciones controladas de cloruro de potasio (0.3, 0.5 y 0.7 Molar), con esto se analiza el efecto en la respuesta gonadal, considerando factores como el tiempo de la inducción, la tasa de liberación y la viabilidad de los gametos para su posterior fertilización.

Tabla 1*Organismos empleados para realizar la fecundación in vitro*

54 Organismos					
29 Machos			25 Hembras		
0.3 Molar	0.5 Molar	0.7 Molar	0.3 Molar	0.5 Molar	0.7 Molar
3	2	4	2	4	3
2	3	6	3	2	2
3	2	4	3	2	4

Nota. La tabla muestra un total de 54 organismos utilizados en el estudio, distribuidos en 29 machos y 25 hembras, de acuerdo con las diferentes concentraciones evaluadas.

8.1.1 Concentración de KCl en ovocitos

De acuerdo con el gráfico, la concentración de 0.3 M presentó un valor de 263.17 ± 56.55 ovocitos, lo cual indica un rendimiento de ovocitos elevado, pero con una alta dispersión temporal en los resultados, es decir, los tiempos de respuesta fueron irregulares, esta dispersión se refleja en la variabilidad, que en este caso se refiere al tiempo de reacción que presenta el cloruro de potasio para la obtención de ovocitos.

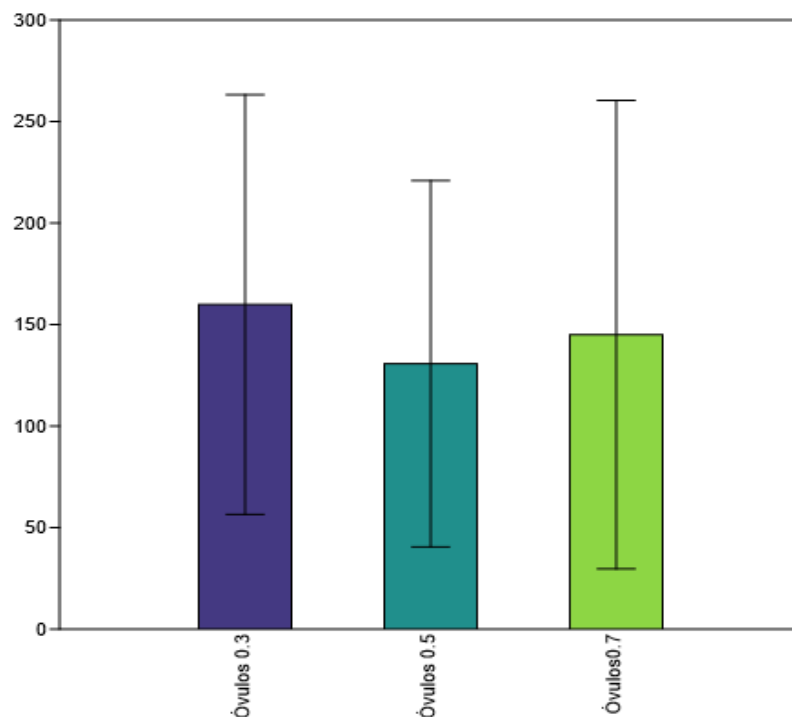
Por su parte, la concentración de 0.5 M obtuvo el valor más bajo con 220.92 ± 40.54 ovocitos, reflejando tanto un rendimiento menor como una variabilidad intermedia entre las demás concentraciones, esto refleja que los tiempos fueron más consistentes que en la concentración de 0.3M, pero aún existe una dispersión considerable reflejando así una gran diferencia. En cambio, la concentración de 0.7 M registró un promedio de 260.42 ± 29.65 ovocitos, muy cercano al valor más alto observado en la concentración de 0.3 M, pero con una menor

dispersión, esto demuestra que los resultados obtenidos son homogéneos, es decir, hubo una menor variabilidad en los periodos de tiempos para la obtención de ovocitos.

Por tanto, aunque la concentración de 0.3 M presentó el valor más elevado, la concentración de 0.7 M se considera óptima, ya que combina un alto rendimiento de acuerdo con el periodo de tiempo, lo que indica mayor estabilidad y confiabilidad en el tiempo de obtención de ovocitos como muestra la Figura 8.

Figura 8

Concentración óptima de cloruro de potasio para ovocitos



El análisis de normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk mostró que los datos correspondientes a las tres concentraciones de cloruro de potasio evaluadas (0.3M, 0.5M y 0.7M) presentaron valores de $p > 0.05$, indicando que todas las distribuciones son consideradas

normales. Aunque la concentración de 0.5M presentó un caso particular en valor de p que fue de $p = 0.112$ el cual se aproximó al umbral de significancia, este se mantuvo dentro del rango aceptable para asumir normalidad. Los resultados demuestran que los datos no presentan desviaciones significativas de la distribución normal, validando así el uso de pruebas paramétricas para realizar el análisis estadístico subsiguiente.

Al revelar el supuesto de normalidad, se procedió a realizar un análisis de varianza (ANOVA) para comparar las medias de los grupos, el test mostró un valor de $p = 0.7502$, lo que permite concluir que no presentaron diferencias estadísticamente significativas en las medias de los grupos evaluados con las diferentes concentraciones de cloruro de potasio (0.3M, 0.5M y 0.7M) al nivel de significancia convencional ($\alpha = 0.05$), por lo que se acepta la hipótesis nula de igualdad de medias de los tratamientos ya que son iguales.

8.1.2 Concentración de KCl en espermatozoides

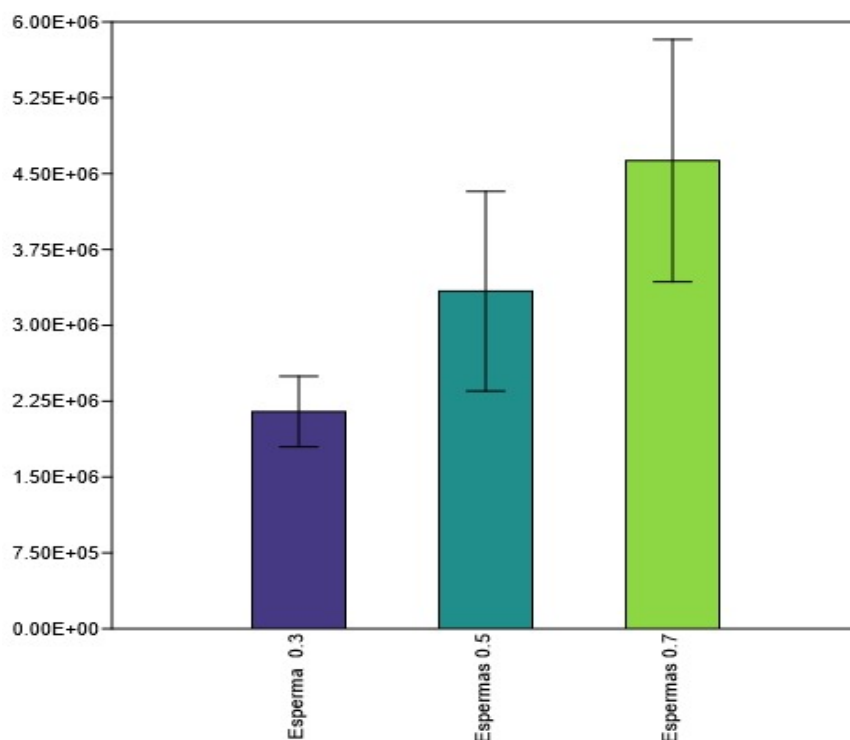
La concentración de KCl a 0.7 M presentó el valor promedio más alto de $4'628083 \pm 1.198.734$ espermatozoides, lo que indica una mayor eficacia en la estimulación gonadal, lo que se considera una variabilidad moderada y aceptable dada la magnitud del efecto del cloruro de potasio en relación con el tiempo de reacción, la dispersión que presenta se debe a una respuesta desigual de los espermatozoides frente a una alta concentración.

Por su parte, la concentración de 0.5 M mostró una media intermedia de $3'337000 \pm 986.878$ espermatoцитos, con una variabilidad cercana al 29.6 %, atribuida a una estimulación parcial, donde algunas células responden con mayor intensidad que otras, por otro lado, la concentración de 0.3 M produjo la media más baja con respecto a la liberación de espermatoцитos ya que presentó un valor $2.146.583 \pm 349.133$, lo que indica una respuesta constante con respecto al cloruro de potasio.

Se concluye que la concentración óptima es la de 0.7 M, ya que, a pesar de su variabilidad moderada de acuerdo con el periodo de tiempo, genera la mayor cantidad de espermatoцитos, lo que la convierte en la más efectiva para inducir a la liberación de espermatoцитos como se muestra en la figura 9.

Figura 9

Concentración óptima de cloruro de potasio para espermatoцитos.



Los resultados demuestran que la concentración 0.7 M ofrece el mejor equilibrio entre eficacia y confiabilidad, dado que la elección de pruebas estadísticas comparativas depende del cumplimiento de los supuestos paramétricos, se evaluó la normalidad de los datos mediante la prueba de Shapiro-Wilk, dando como resultados que las concentraciones de 0.3 M ($p=0.03199$) y 0.5 M ($p=0.007812$) presentaron distribuciones no normales ($p < 0.05$), mientras que la concentración de 0.7 M ($p = 0.0602$) mostró una distribución compatible con la normalidad ($p > 0.05$).

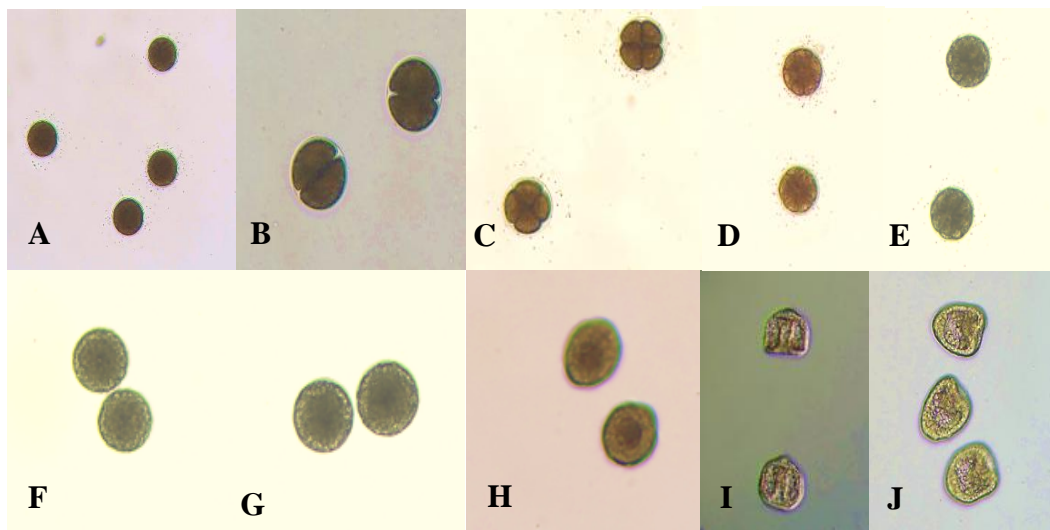
Esta variedad en los supuestos justificó el uso de métodos no paramétricos para el análisis comparativo, posteriormente se realizó la prueba de Kruskal-Wallis, donde se compararon las medianas de los grupos bajo diferentes concentraciones de cloruro de potasio, el resultado obtenido ($p=0.08233$) indicó que no existen diferencias estadísticamente significativas entre concentraciones al nivel de significancia convencional ($\alpha=0.05$), por lo que se acepta la hipótesis nula y se concluye que las concentraciones de cloruro de potasio no tienen efecto significativamente diferentes sobre la variable medida bajo las condiciones experimentales evaluadas.

8.2 Examinar las características del proceso embrionario y larvarios que presenta el erizo morado, realizando observaciones en periodos de tiempo.

A continuación, se puede observar el proceso embrionario y larvario del erizo morado (*Echinometra vanbrunti*) mediante observaciones en periodo de tiempo desde la fecundación hasta la formación de la larva pluteus como se muestra en la Figura 10.

Figura 10

Fases del desarrollo embrionario y larval de Echinometra vanbrunti



Nota. A) Óvulo fecundado; B) Primera división celular Dos células; C) División 4 células; D) División 8 células; E) División 16 células; F) Morulación; G) Blástula; H) Gástrula; I) Larva prisma (Temprana); J) Larva pluteus (Temprana).

8.3 Experimentación con diferentes salinidades

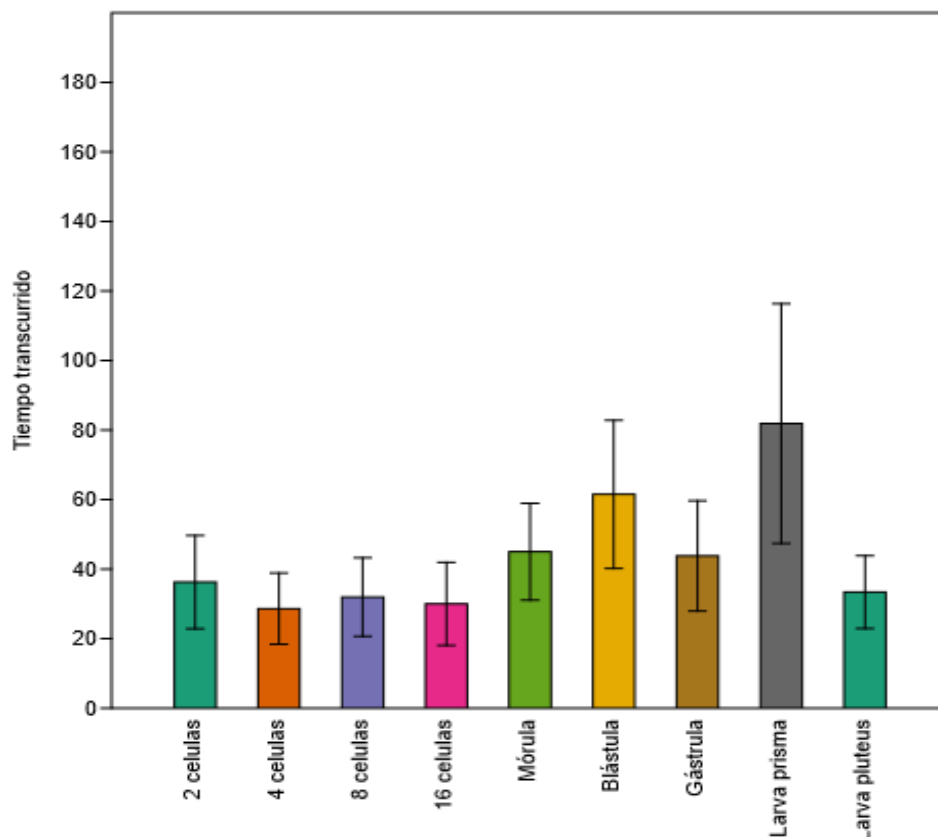
8.3.1 Salinidad del grupo control correspondiente a 35 ppt

Durante el desarrollo embrionario la etapa de 2 células ocurre en 36.27 ± 13.38 min, marcando el inicio de las divisiones celulares tras la fecundación, la transición a 4 células se da en 28.61 ± 10.23 min, lo que demuestra una aceleración en esta división inicial, posiblemente debido a una sincronización más eficiente de los mecanismos mitóticos. Luego, la etapa de 8 células se alcanza en 31.94 ± 11.30 min, y la de 16 células en 30.02 ± 11.95 min, mostrando una relativa estabilidad en los tiempos de división durante estas fases tempranas.

A medida que el embrión se compacta y forma la mórula, el tiempo se extiende a 44.99 ± 13.92 min, reflejando un proceso más elaborado de organización celular, esto aumenta aún más en la blástula, que aparece en 61.51 ± 21.28 min, siendo una de las etapas con mayor periodo de tiempo lo que indica que existan diferencias individuales. Después, la gástrula empieza su formación en 43.82 ± 15.87 min, un tiempo menor que el de la fase de blástula, posiblemente debido a que durante esta fase implica movimientos celulares más rápidos y definidos. La transformación hacia larva prisma representa el periodo más prolongado con 81.86 ± 34.46 min, siendo esta una etapa de diferenciación y formación de estructuras en fases larvales. Finalmente, la larva pluteus se desarrolla en un lapso de 33.41 ± 10.45 min, indicando una transición más rápida hacia una forma larval funcional como muestra la Figura 11.

Figura 11

Salinidad de grupo control con salinidad de 35ppt



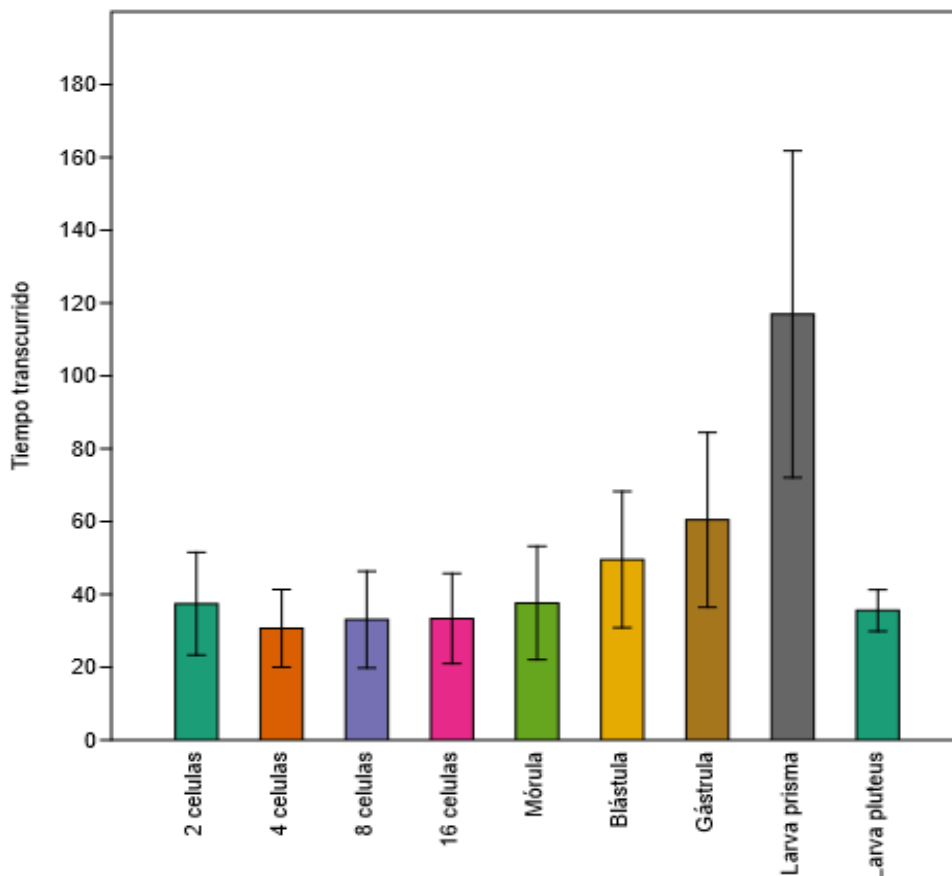
8.3.2 Salinidad de grupo experimental 2 correspondiente a 30 ppt

A una salinidad intermedia muestra que la fase de 2 células se alcanza en 37.42 ± 14.11 min, indicando el inicio de las divisiones celulares luego de la fecundación, con un periodo de tiempo moderado el cual se debe a diferencias en la activación del ciclo celular, a continuación, la fase de 4 células ocurre en 30.66 ± 10.64 min, mostrando una ligera aceleración en la división celular, el desarrollo continúa con la etapa de 8 células en 33.06 ± 13.28 min y la de 16 células en 33.36 ± 12.34 min, ambas fases presentaron tiempos similares, lo que demuestra una estabilidad en las divisiones tempranas. Posteriormente, la fase de mórula se forma en 37.62 ± 15.56 min, indicando un aumento en la complejidad celular debido al inicio de la compactación y al fortalecimiento intercelular.

La blastulación es la etapa con mayor cantidad de tiempo, esto se debe a que presenta mayores transformaciones y reorganizaciones desde el epitelio embrionario, llegando a un tiempo de 49.56 ± 18.68 min. La gástrula presentó un valor de 60.44 ± 23.99 min, con un periodo de tiempo aún mayor, debido a la diversidad en los patrones de migración celular y en la formación de las capas germinativas. La transición hacia larva prisma es la más prolongada y variable del proceso, con 116.92 ± 44.85 min, lo que indica una etapa compleja de diferenciación y formación de estructuras larvales. Finalmente, la larva pluteus se forma en 35.59 ± 5.71 min, pero con una viabilidad reducida indicando una reducción en la supervivencia de individuos que completaron esta última etapa del desarrollo como se muestra en la Figura 12.

Figura 12

Salinidad de grupo experimental 2 correspondiente a 30 ppt



8.3.3 Salinidad de grupo experimental 3 correspondiente a 25 ppt

Bajo condiciones de salinidad más baja desarrollo embrionario mostró una tendencia ascendente con algunas fluctuaciones a lo largo de las distintas fases, reflejando una progresión moderadamente eficiente en la segmentación y diferenciación celular. Durante la fase de 2 células se registró un tiempo promedio de 37.32 ± 13.25 min, evidenciando un inicio aceptable del proceso de división con un periodo de tiempo moderado. Posteriormente, en la fase de 4 células, se observó una leve disminución a 32.97 ± 12.39 min, lo que podría estar relacionado con asincronías en la segunda división o diferencias individuales en la activación del ciclo

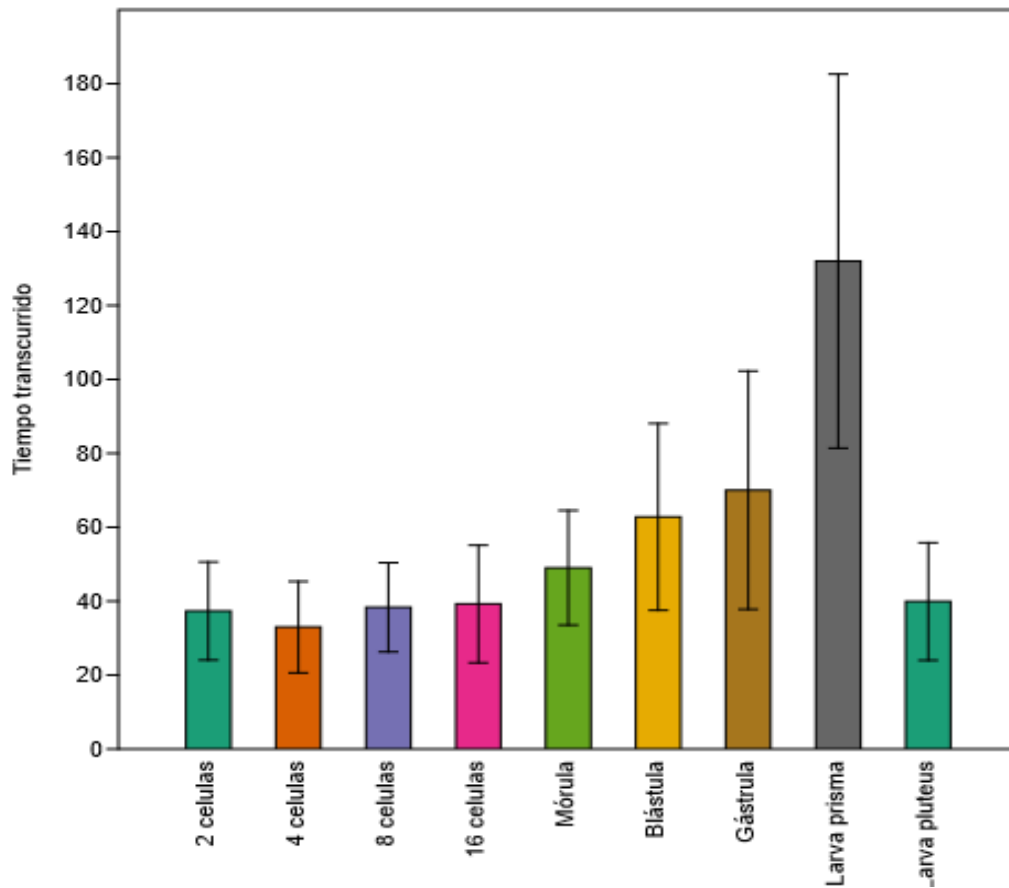
celular. En la fase de 8 células, la viabilidad aumentó nuevamente a 38.33 ± 12.04 min, lo cual refleja una recuperación parcial del desarrollo, esta tendencia se mantuvo en la fase de 16 células con 39.25 ± 15.90 min, lo que indica una progresión sostenida, aunque todavía con cierto grado de dispersión.

En mórula se evidenció un incremento marcado con 49.01 ± 15.51 min, lo que muestra un proceso de compactación celular más organizado, durante la etapa de blástula se evidenció un mayor avance con un valor promedio de 62.80 ± 25.24 min, lo que indica una buena transición morfológica hacia la formación del blastocele. Esta tendencia continuó en la gástrula con un tiempo promedio de 70.03 ± 32.24 min, mostrando un proceso de diferenciación embrionaria.

La fase de larva prisma alcanzó el valor más alto del desarrollo con 132.01 ± 50.62 min, lo que podría estar asociado a un crecimiento celular acelerado o un aumento en la actividad morfogenética. Finalmente, en la fase de larva pluteus, se observó una disminución notable a 39.92 ± 15.90 min, indicando una pérdida en el tiempo promedio debido una baja proporción de individuos que lograron completar esta última etapa del desarrollo como se muestra en la Figura 13.

Figura 13

Salinidad de grupo experimental 3 correspondiente a 25 ppt.



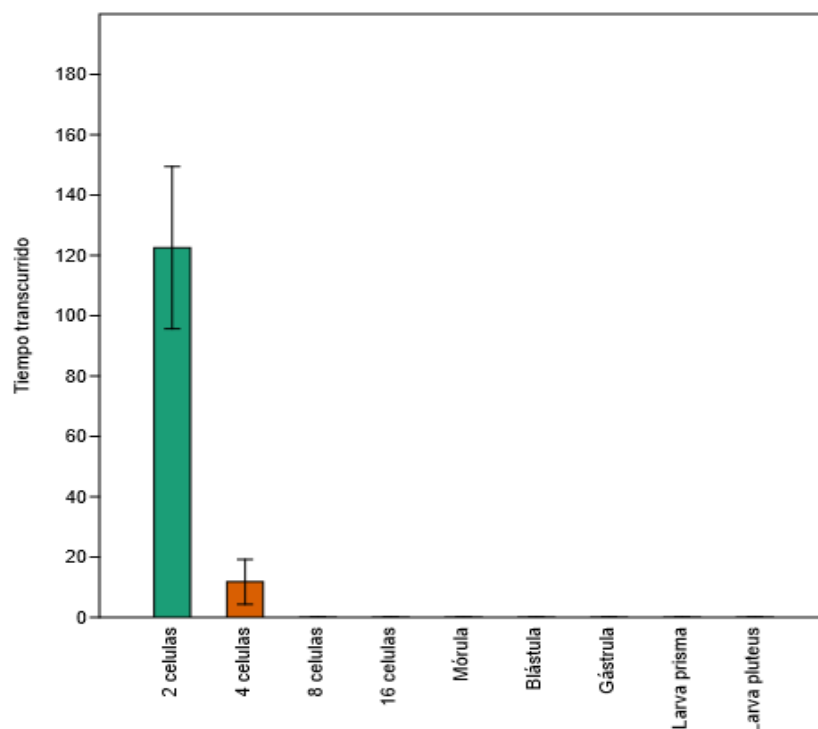
8.3.4 Salinidad de grupo experimental 4 correspondiente a 20 ppt

La reducción extrema de salinidad tuvo un impacto negativo sobre la viabilidad embrionaria presentando inhibición del proceso de desarrollo embrionario y larval, en la fase de 2 células se registró un valor promedio excepcionalmente alto de 122.54 ± 26.91 min. Sin embargo, en la fase de 4 células el tiempo promedio descendió drásticamente a 11.78 ± 7.45 min, reflejando una fuerte pérdida o detención del desarrollo durante la segunda división celular.

A partir de la fase de 8 células y en todas las etapas posteriores no se evidenció desarrollo ni viabilidad 0 ± 0 min, lo que sugiere una detención total del proceso embrionario tras la fase inicial de segmentación. Esto indica que existen problemas críticos los cuales impidieron la progresión del desarrollo embrionario más allá de las primeras divisiones celulares como muestra la Figura 14.

Figura 14

Salinidad de grupo experimental 4 correspondiente a 20 ppt



8.4 Experimentación con diferentes temperaturas

8.4.1 Temperatura correspondiente al grupo control de 28°C

El desarrollo embrionario mostró un patrón ascendente a lo largo de las fases celulares tempranas hasta las etapas larvarias, evidenciando una progresión favorable en las condiciones evaluadas. En la fase de 2 células se registró un valor de 25.73 ± 9.99 min, reflejando una

viabilidad moderada con una dispersión inicial considerable, lo cual indica que se debe a la sensibilidad del proceso de segmentación temprana. En la etapa de 4 células se evidenció un incremento de 36.20 ± 9.56 min, manteniéndose una diferencia similar, lo que sugiere una continuidad en la división celular, aunque con diferencias entre embriones.

Posteriormente, en la fase de 8 células se observó un aumento a 43.71 ± 15.08 min, seguido de un ascenso en la etapa de 16 células con un valor de 45.66 ± 17.82 min, indicando un avance progresivo en el proceso de segmentación, aunque con un leve incremento en la dispersión, posiblemente asociado a asincronías en el ritmo de división.

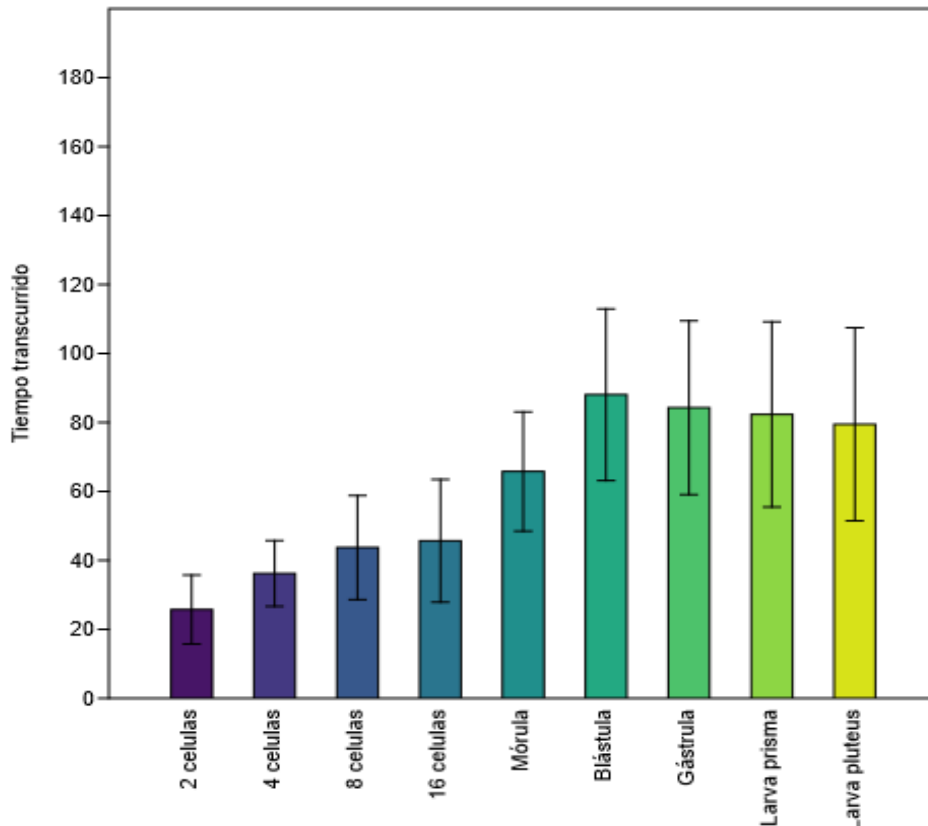
La morulación presenta un promedio de tiempo de 65.79 ± 17.29 min, representando una diferencia importante en la organización embrionaria, presentando así una buena estructuración multicelular, la tendencia positiva continuó en la fase de blástula, donde alcanzó el valor más alto con 88.06 ± 24.90 min, indicando una transición hacia la formación del blastocele. En la fase de gástrula, se registró un ligero descenso de 84.28 ± 25.21 min, mostrando la complejidad del proceso de gastrulación, pero evidenciando altos niveles de desarrollo.

La fase de larva prisma mostró una viabilidad de 82.35 ± 26.87 min, con una diferencia aceptable que sugiere una buena adaptación morfológica, la larva pluteus alcanzó un valor de 79.47 ± 28.03 min, concluyendo el desarrollo embrionario con una alta proporción de embriones

que completaron exitosamente su diferenciación, lo que indica una adecuada sincronía y estabilidad del proceso bajo las condiciones establecidas como se muestra en la Figura 15.

Figura 15

Temperatura correspondiente al grupo control de 28°C



8.4.2 Temperatura correspondiente al grupo experimental de 25°C

De acuerdo con el desarrollo embrionario muestra una tendencia ascendente en la proporción de embriones viables a lo largo de las distintas fases, mostrando un progreso favorable bajo las condiciones experimentales, durante la etapa de 2 células mostró un valor de 27.14 ± 10.06 min, lo que indica un inicio moderado del proceso de segmentación, con una dispersión notable que está asociada a variaciones en la fecundación o activación inicial del cigoto.

En la fase de 4 células se vio un incremento de 37.88 ± 12.89 min, con un aumento en la variabilidad, lo que muestra una continuidad en la división celular, aunque con cierta heterogeneidad en la velocidad de segmentación entre embriones. En la etapa de 8 células mantuvo un valor progresivo de 40.08 ± 13.55 min, seguido por un incremento notable en la fase de 16 células, que alcanzó un valor de 50.01 ± 17.45 min, muestra una segmentación más activa y una mejor estructura embrionaria.

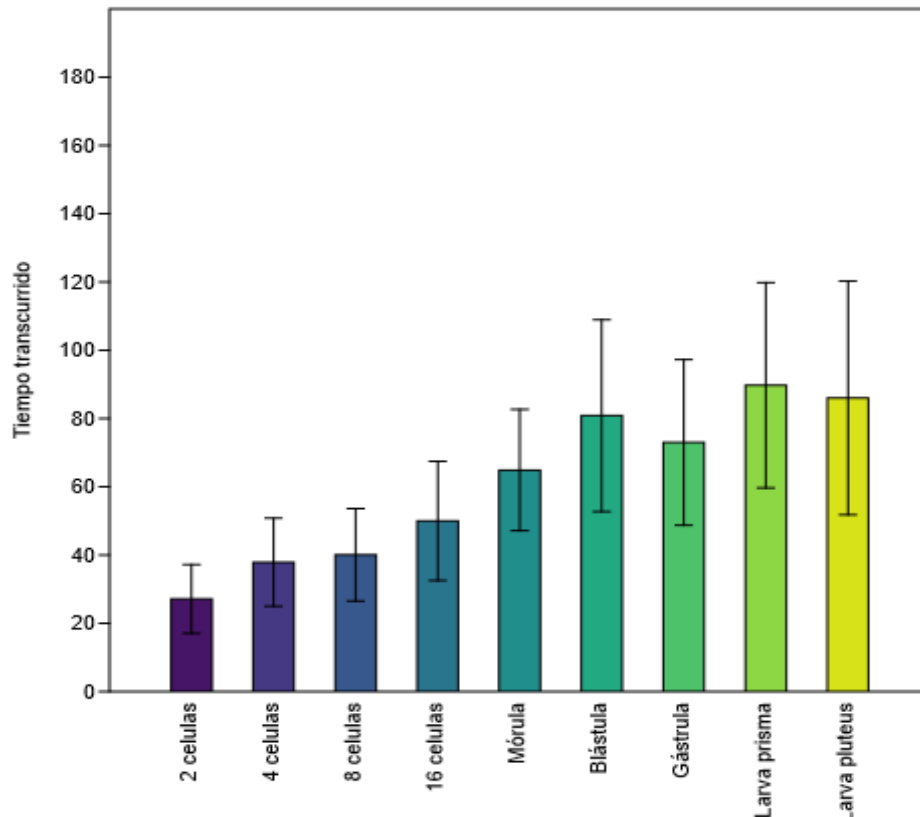
La fase de mórula obtuvo un promedio elevado de 64.88 ± 17.77 min, lo que indica un alto porcentaje de embriones que lograron una organización celular más compacta, manteniéndose dentro de una variabilidad aceptable. Esta tendencia ascendente continuó en la fase de blástula, que presentando un valor de 80.84 ± 28.09 min, reflejando una transición adecuada hacia la formación del blastocele, aunque con un incremento en la dispersión de los datos, posiblemente asociado a diferencias en la sincronía del desarrollo.

En la fase de gástrula se registró un leve descenso a 73.01 ± 24.27 min, lo cual puede deberse a la complejidad del proceso morfogénico de gastrulación. No obstante, en la fase de larva prisma se evidenció una recuperación significativa con un valor de 89.74 ± 30.08 min, lo que indica un buen desempeño estructural y funcional en esta etapa larval, en cuanto a la larva pluteus alcanzó un valor promedio de 86.01 ± 34.23 min, mostrando una culminación del desarrollo embrionario, con una proporción elevada de embriones que completaron su

diferenciación, a pesar del aumento en la variabilidad interindividual como muestra la Figura 16.

Figura 16

Temperatura correspondiente al grupo experimental de 25°c



8.4.3 Temperatura correspondiente al grupo experimental de 23°c

Con base a los datos obtenidos mostró un patrón general de incremento en la viabilidad a lo largo de las distintas fases, con ligeras fluctuaciones, evidenciando un proceso de segmentación y diferenciación mayormente exitoso bajo las condiciones evaluadas. En 2 células se registró un valor promedio de 28.02 ± 10.31 min, indicando un inicio moderado del proceso de segmentación, con una dispersión notable posiblemente asociada a diferencias en la activación del desarrollo temprano. Durante la fase de 4 células se presentó un aumento notable en el

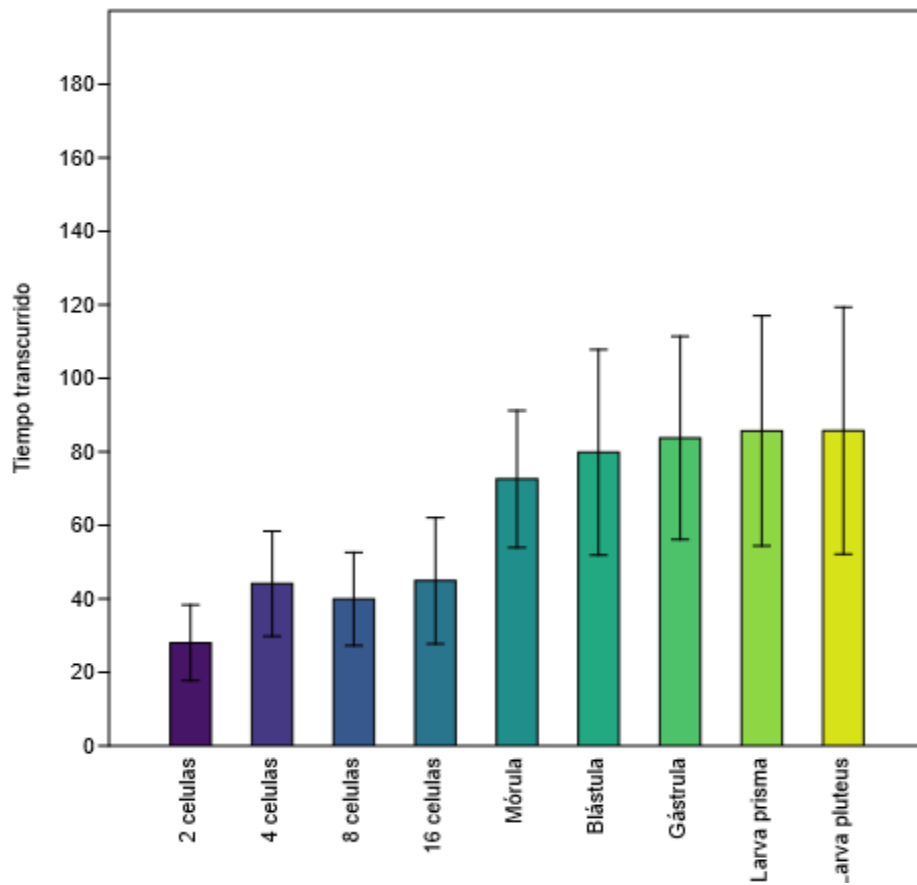
tiempo donde se alcanzando los 44.11 ± 14.29 min, siendo este un avance favorable en la división celular, aunque todavía con cierta variabilidad interindividual, en la etapa de 8 células, se observó una leve disminución a 39.92 ± 12.66 min, lo que podría estar relacionado con asincronías en la tercera división celular.

En la fase de 16 células, el periodo de tiempo fue de 44.92 ± 17.18 min, lo que indica una estabilización en el desarrollo, aunque presenta aumento en la dispersión de los datos. La morulación mostró un valor considerablemente más alto con 72.59 ± 18.63 min, indicando una transición estructural más organizada y eficiente. Esta tendencia continuó en la blástula con un valor de 79.85 ± 27.98 min, lo que evidencia una buena formación del blastocele, pese a un incremento en la variabilidad. En la fase de gástrula se alcanzó un promedio de 83.77 ± 27.63 min, reflejando un avance morfogenético con una elevada proporción de embriones.

La larva prisma mostró una viabilidad aún mayor con 85.70 ± 31.28 min, y finalmente, la larva pluteus mantuvo esta tendencia con un valor de 85.74 ± 33.62 min. Estos resultados sugieren que, a pesar de las fluctuaciones iniciales y el aumento en la variabilidad, el desarrollo embrionario logró consolidarse exitosamente hasta alcanzar las fases larvales avanzadas como se muestra en la Figura 17.

Figura 17

Temperatura correspondiente al grupo experimental de 23°c



8.4.4 Temperatura correspondiente al grupo experimental de 20°c

El desarrollo embrionario mostró una tendencia positiva durante las primeras fases celulares y morfológicas, aunque con una interrupción evidente en la fase final, en la etapa de 2 células se obtuvo un valor promedio de 36.95 ± 13.12 min, lo que indica un comienzo favorable del proceso de segmentación, con una dispersión moderada atribuible a variaciones entre embriones en la activación temprana.

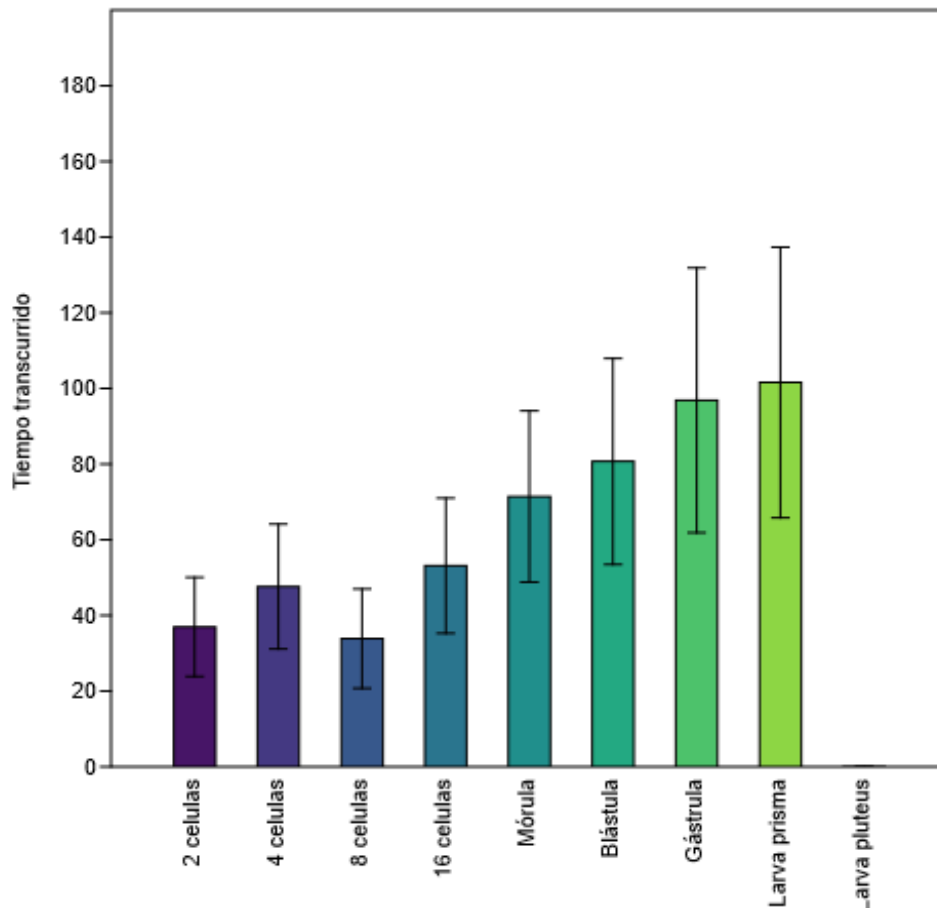
Este progreso continuo en la fase de 4 células a 47.61 ± 16.49 min, indicando una continuidad adecuada en la división celular, aunque con un incremento en la variabilidad. No obstante, en la etapa de 8 células se evidenció una reducción a 33.87 ± 13.15 min, lo que está relacionado con asincronías en la tercera división o con dificultades en la progresión del desarrollo embrionario.

En la fase de 16 células, se evidenció un repunte en la viabilidad con un valor de 53.14 ± 17.89 min, seguido por un incremento notable durante la morulación con 71.42 ± 22.62 min, lo que sugiere una buena compactación celular y avance estructural, durante la fase de blástula, los embriones alcanzaron un valor de 80.72 ± 27.24 min, indicando una correcta formación del blastocele. Posteriormente, en la fase de gástrula se registró un aumento significativo de 96.87 ± 34.98 min, lo cual evidencia un proceso de diferenciación germinal exitoso.

La larva prisma alcanzó el punto más alto de viabilidad con 101.60 ± 35.76 min, lo que indica una elevada eficiencia en la transición hacia la fase larval temprana. Sin embargo, en la fase de larva pluteus no se reportó viabilidad 0 ± 0 min, lo cual representa una interrupción total en el desarrollo hacia esta última etapa, la ausencia podría deberse a factores internos que afectaron la supervivencia embrionaria tras la fase de larva prisma como muestra la Figura 18.

Figura 18

Temperatura correspondiente al grupo experimental de 20°C



8.5 Influencia de los parámetros ambientales (Temperatura y salinidad) en el desarrollo embrionario y larval del erizo morado.

8.5.1 Influencia de la salinidad en el desarrollo embrionario y larval

Los resultados obtenidos evidencian que la salinidad es un factor determinante en la viabilidad y progresión del desarrollo embrionario y larval del erizo morado, en el grupo control (35 ppt), se observó un desarrollo continuo desde las fases iniciales de segmentación (2 a 16 células) hasta la formación de larvas, destacando un incremento sostenido en los tiempos promedio de

transición entre fases, la larva prisma presentó el valor más alto (81.86 ± 34.46 min), mientras que en la fase de pluteus se registró una disminución en la viabilidad (33.41 ± 10.45 min), probablemente asociada a procesos de mortalidad embrionaria. A 30 ppt, el desarrollo larval mostró una tendencia similar, aunque con un incremento en la duración de la fase de larva prisma (116.92 ± 44.85 min), seguida por una reducción en la larva pluteus (35.59 ± 5.71 min), lo que muestra que a una salinidad inferior a la salinidad óptima aún permite una progresión efectiva.

Presentando una salinidad de 25 ppt, la segmentación embrionaria presentó un desarrollo morfológico hasta alcanzar el máximo valor en la larva prisma (132.01 ± 50.62 min); sin embargo, la viabilidad presentó una disminución de manera considerable en la fase de pluteus (39.92 ± 15.90 min), lo que está relacionado con una menor eficiencia en la culminación del desarrollo larvario.

En contraste, a 20 ppt se produjo una inhibición casi total del proceso embrionario, aunque la formación de embriones en la fase de 2 células (122.54 ± 26.91 min) fue notable, el desarrollo se detuvo completamente a partir de la fase de 4 células, sin registrarse viabilidad en los estadios posteriores, indicando que el rango óptimo de salinidad para el desarrollo del erizo morado se encuentra entre los rangos de 30 y 35 ppt, mientras que salinidades inferiores a los 25 ppt comprometen la continuidad y culminación del desarrollo larval.

8.5.2 Influencia de la temperatura en el desarrollo embrionario y larval

La temperatura mostró una influencia significativa sobre las tasas de segmentación y la progresión del desarrollo embrionario del erizo morado, a 28 °C (grupo control), presenta una secuencia de desarrollo bien definida y sincronizada, desde las divisiones celulares tempranas hasta la formación de larvas pluteus, con valores promedio altos en las fases más avanzadas (larva prisma: 82.35 ± 26.87 min; larva pluteus: 79.47 ± 28.03 min). A una temperatura de 25 °C, el patrón es positivo, con un desarrollo progresivo y sostenido, alcanzando valores comparables en las etapas larvales (larva prisma: 89.74 ± 30.08 min; pluteus: 86.01 ± 34.23 min), lo que demuestra que esta temperatura también favorece a la diferenciación y morfogénesis de la larva.

Temperatura de 23 °C, el desarrollo presenta ciertas fluctuaciones en fases intermedias, aunque la progresión general fue adecuada, permitiendo la transición hasta la fase de pluteus (85.74 ± 33.62 min), a pesar de un incremento en la variabilidad que presenta entre muestras. Por otro lado, a 20 °C se evidenció una interrupción crítica del proceso de desarrollo, aunque las fases iniciales mostraron valores consistentes (larva prisma: 101.60 ± 35.76 min), no se registró viabilidad en la fase de pluteus (0 ± 0 min), lo cual indica una detención total del desarrollo larval avanzado bajo esta condición. Los datos permiten concluir que el intervalo térmico óptimo para el desarrollo embrionario y larval del erizo morado se encuentra entre 25 °C y 28 °C, mientras que temperaturas iguales o inferiores a 20 °C afectan negativamente la viabilidad, impidiendo la culminación del ciclo embrionario.

9. DISCUSIÓN

El presente trabajo investigativo fue ejecutado desde el mes de abril a junio 2025 donde se evaluó las concentraciones 0.3, 0.5, 0.7 de cloruro de potasio como estimador gonadal, donde la concentración 0.7 M fue la óptima para la obtención de espermatozoides y gametocitos, coincidiendo con lo señalado por Ordoñez et al., (2021) quienes mencionan que la inducción del desove mediante la inyección de cloruro de potasio es eficiente dependiendo de la concentración y volumen administrado.

Con respecto al desarrollo embrionario durante las experimentaciones de salinidad, se evidenció que en condiciones de 35 ppt, los tiempos en las primeras divisiones de 2 a 16 células concurren de 30 a 36 minutos presentando baja viabilidad, coincidiendo con el estudio de Segovia (2023) que indican que los primeros estadios larvarios presentan mayor sensibilidad a factores ambientales, reflejado que en el cumplimiento tardío de fases intermedias como mórula y blástula (45–61 min), reflejando una transición a divisiones celulares más complejas.

En el caso del estadio de larva prisma (82 min) coincide con lo hallado por Segovia (2023), quien atribuye esas diferencias en la variación de la viabilidad embrionaria. Finalmente, la reducción del tiempo en larva pluteus de 33 min, se asocia a una caída en la viabilidad, debido a mortalidad embrionaria, como se ha reportado en contextos de condiciones fisicoquímicas subóptimas del estudio de Segovia (2023).

El análisis de la viabilidad embrionaria bajo diferentes salinidades mostró patrones consistentes con estudios previos. En 30 ppt, se observó una alta viabilidad en la fase de larva prisma (193.00 ± 2.00 min) con mínima variabilidad, indicando condiciones favorables para el desarrollo medio. Sin embargo, al llegar a pluteus, se registró una caída importante (64.00 ± 32.19 min), lo cual refuerza que esta fase requiere condiciones ambientales altamente estables para completarse con éxito, como lo menciona Bernardi (2023).

De manera similar, en 25 ppt se mantuvo una elevada viabilidad en larva prisma (200.00 ± 2.89 min), pero la fase pluteus volvió a disminuir (105.00 ± 52.52 min), en cambio, a 20 ppt, el desarrollo embrionario se restringió casi por completo, siendo observable solo en 2 células (164.67 ± 98.29 min), lo que concuerda con Ordoñez et al. (2021), quienes indicaron que salinidades fuera del rango óptimo provocan bloqueos en fases tempranas. En condiciones de 30 PPT, se observó una buena viabilidad en larva prisma (209.33 ± 5.81 min), pero nuevamente colapsó en pluteus (30 ± 30 min), reforzando la alta sensibilidad de esta etapa a variaciones ambientales, como también expone Ordoñez et al. (2021).

Bajo tratamientos térmicos, las fases de 2 a 8 células no presentaron variaciones entre 20° y 28° C (50 – 90 min), lo que concuerda con Bernabé (2025), quien señala que estas etapas son menos sensibles a cambios térmicos. No obstante, desde la fase de 16 células mostró una desaceleración significativa (109 – 112 min) a temperaturas no adecuadas, lo que reafirma el aumento en la sensibilidad al avanzar el desarrollo de acuerdo con lo expresado por Bernabé, (2025).

En fases las fases como mórula y blástula, el desarrollo fue más rápido entre 25–28 °C, aunque Bernabé, (2025) el quien advierte que el exceso de temperatura puede inducir estrés y reducir la viabilidad. Finalmente, en etapas larvarias, se observaron tiempos estables entre 160–180 min a 23–25 °C, mientras que a 20 °C la viabilidad se redujo notablemente en la larva pluteus, coincidiendo con Anaguano & Balseca, (2024), quienes enfatizan la importancia de mantener temperaturas adecuadas para lograr las fases embrionarias y obtener resultados en las fases larvarias. Los resultados respaldan que el desarrollo embrionario en equinodermos puede actuar como bioindicador ambiental, dada su alta sensibilidad a factores físicos y antrópicos, como sugiere Segovia, (2023).

10. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

10.1. CONCLUSIONES

- Tras los experimentos efectuados, se estableció que la concentración de KCl 0.7 M es la más adecuada para obtener gametos del erizo morado (*E. vanbrunti*). Esta concentración resultó favorable debido a que hubo una mayor liberación de espermas seguida de la liberación de óvulos, existió una mayor eficacia en la inducción del desove y la calidad de los gametos obtenidos.
- El desarrollo embrionario de *Echinometra vanbrunti* evidenció una alta sensibilidad frente a variaciones de salinidad, siendo las condiciones de 30 - 35 ppt las más adecuadas para alcanzar etapas larvarias avanzadas, la transición hacia la fase de larva fue vulnerable, lo que resalta la necesidad de tener cultivos ambientales estables, este conocimiento resulta clave para establecer estrategia de conservación *In situ* que ayuden a conservar la especie ante posibles alteraciones en su hábitat natural.
- Los resultados referentes a temperatura evidenciaron que el erizo morado fue sumamente sensible a variaciones térmicas principalmente cuando se encuentran en fases avanzadas, por lo que se evidencia que a temperaturas de 25° a 28°C son las más adecuadas para un desarrollo viable, sin embargo, por debajo de 23°C las fases se ven afectadas directamente provocando retardos o malformaciones hasta la muerte, lo que

comprobó la hipótesis donde indica que los parámetros temperatura y salinidad si afectan el desarrollo y la supervivencia de las larvas de *Echinometra vanbrunti* en sistemas de cautiverio cuando está por debajo o por encima de los valores permitidos para su desarrollo exitoso.

10.2. RECOMENDACIONES

- Se recomienda implementar programas de cultivo en cautiverio de *Echinometra vanbrunti*, utilizando salinidades entre 30 – 35 PPT, manteniendo las condiciones físico - químicas a lo largo de las fases embrionarias y larval, esta estrategia podría favorecer al desarrollo de este organismo en laboratorio, sino que también ayudaría a reducir la presión sobre las poblaciones naturales contribuyendo así a su conservación.
- Asimismo, es fundamental promover líneas de investigación orientadas al desarrollo de estrategias de repoblamiento, integrando a la población, esto podría convertir el modelo en una herramienta efectiva tanto para el beneficio de las poblaciones costeras como a los ecosistemas donde *Echinometra vanbrunti* desempeña un papel ecológico.
- Finalmente se recomienda establecer programas de monitoreo y manejo ambiental en zonas costeras donde habita *E. vanbrunti*, en especial en aquellas áreas expuesta a alta variabilidad salina y térmica, por lo tanto, contar con esta información permitiría anticipar los posibles efectos del cambio climático sobre las fases tempranas del desarrollo, y diseñar medidas preventivas que fortalezcan la resiliencia de las poblaciones naturales y sus hábitats.

11. BIBLIOGRAFÍA

Admin. (2023). *Nuevo estudio explica los posibles impactos del cambio climático en erizos de mar presentes en altas latitudes*. Centroideal: <https://centroideal.cl/2023/06/27/nuevo-estudio-explica-los-posibles-impactos-del-cambio-climatico-en-erizos-de-mar-presentes-en-altas-latitudes/>

Alonso Santiago, W. G., Muñoz Álvarez, I. A., Díaz Martínez, J. P., y Benítez Villalobos, F. (2023). Resemblances in the early development of two sea urchins: *Toxopneustes roseus* (Euechinoidea: Echinacea) and *Rhyncholampas pacificus* (Euechinoidea: Irregularia) from different habitats in the southern Mexican Pacific. *Biología del Desarrollo*, Volumen 499; Páginas 1 - 9. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0012160623000659>

Amaya Vallejo, V. (2007). *Echinometra vanbrunti (Echinometridae) as a Host of Commensal Relationships in the Colombian Pacific Ocean*. scielo: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-548X2007000100005

Ayerbe, R., Zevallos, S., Castañeda, V., Lope, F., Bendita, H., Vizcarra, Y., y Sanz, Y. (octubre de 2017). *Manual para el cultivo del erizo comercial Loxechinus albus en la región Moquegua*. https://rnia.produce.gob.pe/wp-content/uploads/2019/10/Manual-de-cultivo-de-erizo_2015.pdf

Barbara Luz, A., Epherra, L., y Rubilar, T. (marzo de 2021). *Efecto de la temperatura sobre la morfología y reproducción en el erizo de mar Arbacia dufresnii (Echinodermata: Echinoidea)*. scielo:

https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442021000500154

Barrencu, A. H. (2008). *Aspectos reproductivos del erizo común paracentrotus lividus en aguas del Este de Gran Canaria*. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria: https://accedacris.ulpgc.es/bitstream/10553/11652/2/0697866_00000_0000.pdf

Barresi, F. M. J., y Gilbert, S. F. (2020). *Developmental Biology 12th edition*. New York, Oxford: Sinauer Assoc.

Bautista Correa, J. (2019). *Protocolo de reproducción del erizo rojo (Loxechinus albus) en la macroregión sur*. <https://rnia.produce.gob.pe/wp-content/uploads/2019/09/Protocolo-de-Reproducci%C3%B3n-del-Erizo-Rojo-loxechinus-albus-en-la-Macroregi%C3%B3n-Sur.pdf>

Bernabé Rodríguez, M. J. (2025). *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*. <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/12976/1/UPSE-TBI-2025-0002.pdf>

Bernardi, D. (31 de julio de 2023). *Los erizos de mar luchan por 'mantenerse en pie' mientras el cambio climático altera los ecosistemas*. Syracuse university College of arts y sciences: <https://n9.cl/qt30t>

Byrne, M., Ho, M., Selvakumaraswamy, P., Nguyen, H., Dworjanyn, S., y Davis, A. (2009). Temperature, but not pH, compromises sea urchin fertilization and early development under near-future climate change scenarios. (R. Sociedad, Ed.) *Proceedings of The Royal B Society*, 276, 1883 - 1888. <https://doi.org/10.1098/rspb.2008.1935>

- Calva, L. G. (2003). *Habitos Alimenticios de Algunos Equinodermos. Parte 2 Erizos de mar y Pepinos de mar*. Researchgate: <https://www.researchgate.net/publication/237483841>
- Castellano Torres, L. E., Martínez Cadena, G., López Godínez, J., Cuéllar Mata, P., y García Soto, J. (febrero de 2010). *Los gametos de erizo de mar como modelo de estudio de la fecundación*. Repositorio ugto mx: http://repositorio.ugto.mx/bitstream/20.500.12059/6219/1/3_Los%20gametos%20de%20erizo%20de%20mar%20como%20modelo%20de%20estudio%20de%20la%20fecundaci%C3%B3n.pdf
- Clark, D., Lamare, M., y Barker, M. (2009). *Response of sea urchin pluteus larvae (Echinodermata: Echinoidea) to reduced seawater pH: A comparison among a tropical, temperate, and a polar species*. Researchgate: https://www.researchgate.net/publication/226774992_Response_of_sea_urchin_pluteus_larvae_Echinodermata_Echinoidea_to_reduced_seawater_pH_A_comparison_among_a_tropical_temperate_and_a_polar_species
- Deidre, L., Kaltenbach, S., y McClay, D. (2011). *Morphogenesis in sea urchin embryos: linking cellular events to gene regulatory network states*. PMC: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3744329/>
- Domínguez, A., Rosas, J., Velásquez, A., Cabrera, T., y Mata, E. (abril de 2007). *Desarrollo, supervivencia y crecimiento del erizo Lytechinus variegatus (Lamarck, 1816) (Echinodermata: Echinoidea) alimentado con microalgas a dos salinidades y temperaturas diferentes*. scielo: <https://www.scielo.cl/pdf/revbiolmar/v42n1/art06.pdf>
- Ettensohn, C. (2017). *Sea Urchins as a Model System for Studying Embryonic Development*. Sciencedirect:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128012383995096?via%3Dihub>

Foo, S., Dworjanyn, S., Khatkar, M., y Poore, A. (septiembre de 2014). Increased temperature, but not acidification, enhances fertilization and development in a tropical urchin: Potential for adaptation to a tropicalized eastern Australia. *Evolutionary Applications*, 7(10), 1226 - 1237. <https://doi.org/10.1111/eva.12218>

Gambardella, C., Francesca, M., Falugi, C., Varrella, S., y Corinaldesi, C. (2021). Early-stage anomalies in the sea urchin (*Paracentrotus lividus*) as bioindicators of multiple stressors in the marine environment: Overview and future perspectives. *Environmental Pollution*, volumen 287; Artículo 117608. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117608>

Gaspar, D. (2015). *Biología y ecología del erizo de mar Pseudechinus magellanicus (Echinoidea: Temnopleuridae)*. Core: <https://core.ac.uk/download/pdf/296380605.pdf>

Gilbert, S. (2000). The Early Development of Sea Urchins. *Developmental Biology (6ª ed.)*. Sinauer Associates.

González Castellano, I. (29 de junio de 2015). *Estudio citogenético en el erizo de mar Paracentrotus lividus*. https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/14867/Gonz%C3%A1lezCastellano_Ines_TFG_2015.pdf?sequence=2&isAllowed=y

González, E. O. (1986). *Aspectos sobre la biología del erizo de espina larga. Periodos reproductivos*. Universidad Autónoma de Baja California Sur: <https://biblio.uabcs.mx/tesis/te290.pdf>

- Henrique M, R., Koerting , L., Sarah , D., J. van den Berg, J., Dubbeldam , M., Kwadijk , C., y Murk , A. (november de 2011). Early life developmental effects of marine persistent organic pollutants on the sea urchin *Psammechinus miliaris*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Volume 74, Issue 8; Pages: 2182-2192.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.07.037>
- Hernández, J., y González Delgado, S. (septiembre de 2020). *The sea urchin Arbacia lixula (Linnaeus, 1758) in a changing world*.
[https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/21550/EI%20erizo%20de%20mar%20Arbacia%20lixula%20\(Linnaeus,%201758\)%20en%20un%20mundo%20en%20cambio.pdf?sequence=1](https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/21550/EI%20erizo%20de%20mar%20Arbacia%20lixula%20(Linnaeus,%201758)%20en%20un%20mundo%20en%20cambio.pdf?sequence=1)
- Irusta González, J. (2009). *Contribución al conocimiento del erizo de mar Paracentrotus lividus(Lamarck,1816) en el mar Cantábrico*. Researchgate:
https://www.researchgate.net/publication/234842161_Contribucion_al_conocimiento_del_erizo_de_mar_Paracentrotus_lividusLamarck_1816_en_el_Mar_Cantabrico_ciclo_gonadal_y_dinamica_de_poblaciones_Mem
- James, P., y Siikavuopio, S. (2012). Guide to the Sea Urchin Reproductive Cycle and Staging Sea Urchin Gonad Samples. *Nofirma*, 20.
- Jangoux, M., y Lawrence, J. M. (1982). Echinoderm Nutrition.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1201/9781003078920>
- López Ortiz, B., y Sánchez, A. (2009). *Efecto del aumento de salinidad en la fertilización de óvulos de erizos Strongylocentrotus franciscanus* Efecto del aumento de salinidad en la fertilización de óvulos de erizos *Strongylocentrotus franciscanus* y *Lytechinus anamesus*. scielo: <https://www.scielo.org.mx/pdf/hbio/v19n2/v19n2a13.pdf>

- López Ortiz, B., y Sánchez, A. (20 de julio de 2009). *Efecto del aumento de salinidad en la fertilización de óvulos de erizos Strongylocentrotus franciscanus y Lytechinus anamesus*. Scielo:
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-88972009000200013
- Lucas R., S., Fernández, J. P., Mercedes-Vera, P., Florencia, C., y Rubilar, T. (2019). *La importancia de controlar el fotoperiodo para obtener mayor fecundidad en *Arbacia dufresnii*". Evaluación del efecto del fotoperiodo en la fecundidad y éxito de fecundación en un sistema cerrado de recirculación*. LAQUA:
<https://www.was.org/Meeting/Program/PaperDetail/155930>
- Luque Mora , J. A. (2024). *Efecto de la hipercapnia en el desarrollo temprano del erizo de mar *Echinometra vanbrunti**. Repositorio Uleam:
<https://repositorio.uleam.edu.ec/handle/123456789/6955>
- Mair, J., Mora Sanchez, E., y Cruz , M. (2002). Manual de campo de los invertebrados bentónicos. *Univ. de Guayaquil*, 1 - 105.
- Mair, J., Mora Sánchez, E., y Cruz Padilla, M. (2002). Manual de campo de los invertebrados bentónicos marinos: moluscos, crustáceos y equinodermos de la zona litoral ecuatoriana. *Guayaquil: Universidad de Guayaquil*.
- Mejía Gutiérrez, L., Benítez Villalobos , F., y Díaz martínez , J. (2019). Effect of temperature increase on fertilization, embryonic development and larval survival of the sea urchin *Toxopneustes roseus* in the Mexican south Pacific. *Journal of Thermal Biology*, Volumen 73, Pages 157 - 164.

- Mora , E., Jurado, V., y Mendívez, W. (2010). Diversidad de macroinvertebrados en la *Ciencias del Mar y Limnología*, IV(2), 101 - 116.
<https://aquadocs.org/bitstream/handle/1834/5389/99->
- Moreira Mendoza, J. (2019). *Evaluación de dietas de algas, longitud inicial e iluminación en el crecimiento y supervivencia de juveniles del erizo del mar Tripneustes depressus*. Cenaim:
<http://www.cenaim.espol.edu.ec/sites/cenaim.espol.edu.ec/files/2023/Tesis/TESIS%20JONATHAN%20MOREIRA%20MENDOZA%20ITSLAM%202019.pdf>
- NOAA. (2024). *What is Ocean Acidification?* Oceanservice:
<https://oceanservice.noaa.gov/facts/acidification.html>
- Ocaña, A. (2006). Equinodermos. Fauna Andaluza. (Vol. XV). (A. y. TINAUT, Ed.). *Andalucía: Publicaciones Comunitarias, S.L., Sevilla*, 174-190.
- Ordoñez Iglesias , J., Zapata Vívenes , E., Sonnenholzner Varas, J., y Bernal José Félix. (31 de julio de 2021). *Efecto de la salinidad en la embriogénesis del erizo de mar Arbacia stellata (Blainville, 1825)*. La Técnica:
https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Frevistas.utm.edu.ec%2Findex.php%2Fplatecnica%2Farticle%2Fdownload%2F3064%2F3584%2F&psig=AOvVaw0ud17TcyE8yRUi16CmrmYS&ust=1729123190537000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CAcQr5oMahcKEwj4_Kmr5JGJAxUAA
- Otero, E. V. (2019). *Fecundación, desarrollo embrionario y larvario del erizo de mar Paracentrotus lividus*. Ecocost: <https://ecocost.webs.uvigo.es/wp-content/uploads/2019/05/guion-1-reproduccion-erizo-de-mar.pdf>
- Pawson, D. L. (2007). Phylum echinodermata. *Zootaxa*, 749-764.

- Pozo, F. (13 de enero de 2012). *Caracterización de la fecundación in vitro y desarrollo larval de Echinometria vanbrunti*. ResearchGate: https://www.researchgate.net/publication/348436286_Caracterizacion_de_la_fecundacion_in_vitro_y_desarrollo_larval_de_Echinometria_vanbrunti
- Salas-Galarza, A., Carpizo-Ituarte, E., Parés-Sierra, G., Martínez-López, R., y Quintana-Rodríguez, R. (2005). Producción de juveniles de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* (Echinodermata: Echinoidea) en Baja California, México. *Revista de Biología Tropical*, 53,345.
- Stefano , C. (2013). Research and development of hatchery techniques to optimise juvenile production of the edible Sea Urchin, *Paracentrotus lividus*. *University of Stirling, Stirling*.
- Steneck, R. (2013). Sea Urchins as Drivers of Shallow Benthic Marine Community Structure. *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*, 195 - 212. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396491-5.00014-9>
- The Nature Conservancy. (2015). *Erizos de mar*. The Nature Conservancy: <https://reefresilience.org/es/stressors/predator-outbreaks/urchins/>
- Tourón Besada, N. (2012). Caracterización genética de poblaciones de *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) en Asturias, Galicia y Canarias y desarrollo de sistemas de cultivo en batea. *Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela* .
- Vahideh , G., Mohammad Seddiq , M., Mohammadi, E., y Sadripour, E. (abril de 2012). *Determination of developmental stages of embryo in the Sea Urchin, Echinometra mathaei*. Researchgate: https://www.researchgate.net/publication/277063137_Determination_of_developmental_stages_of_embryo_in_the_Sea_Urchin_Echinometra_mathaei

Villeneuve, G. (1965). *Erizo de mar.*

https://aulas.uruguayeduca.edu.uy/pluginfile.php/104554/mod_resource/content/1/Erizo%20de%20Mar%28Villeneuve%29.pdf

Vives, A., Rubilar, T., Herrero Pérezrul, M. D., y Ceballos Vázquez, B. P. (2020).

Reproduction of the sea urchin Tripneustes depressus (Camarodonta:Toxopneustidae) in Bahía de La Paz, Baja California Sur, Mexico. scielo:

<https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0034->

[77442021000500202&script=sci_abstract&tlng=es](https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0034-77442021000500202&script=sci_abstract&tlng=es)

Vives, A., Rubilar, T., Herrero Pérezrul, M., y Ceballos Vázquez, B. (2021). *Reproduction of*

the sea urchin Tripneustes depressus (Camarodonta:Toxopneustidae) in Bahía de La Paz, Baja California Sur, Mexico. <https://doi.org/10.15517/rbt.v69iSuppl.1.46353>

Zambrano Segovia, Z. (2023). *Estudio Citogenético Clásico A Partir De Embriones De*

Echinometra vanbrunti.

Repositorio.upse:

<https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/10131/1/UPSE-TBI-2023-0089.pdf>

Zapata Vívenes , E., Ordoñez Iglesias , J., Sonnenholzner Varas, J., y Bernal, J. (2021). *Salinity*

effect on the embryogenesis of the sea urchin Arbacia stellata. La técnica :

<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Frevistas.utm.edu.ec%2Findex.php%2Fplatecnica%2Farticle%2Fdownload%2F3064%2F3584%2F&psig=AOvVa>

[w3IpvM84rRzfwgKBBksjKqN&ust=1727475065361000&source=images&cd=vfe&](https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Frevistas.utm.edu.ec%2Findex.php%2Fplatecnica%2Farticle%2Fdownload%2F3064%2F3584%2F&psig=AOvVaw3IpvM84rRzfwgKBBksjKqN&ust=1727475065361000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CAcQr5oMahcKEwj49rqe0OGIAxUAA)

[opi=89978449&ved=0CAcQr5oMahcKEwj49rqe0OGIAxUAA](https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Frevistas.utm.edu.ec%2Findex.php%2Fplatecnica%2Farticle%2Fdownload%2F3064%2F3584%2F&psig=AOvVaw3IpvM84rRzfwgKBBksjKqN&ust=1727475065361000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CAcQr5oMahcKEwj49rqe0OGIAxUAA)

[opi=89978449&ved=0CAcQr5oMahcKEwj49rqe0OGIAxUAA](https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Frevistas.utm.edu.ec%2Findex.php%2Fplatecnica%2Farticle%2Fdownload%2F3064%2F3584%2F&psig=AOvVaw3IpvM84rRzfwgKBBksjKqN&ust=1727475065361000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CAcQr5oMahcKEwj49rqe0OGIAxUAA)

12. ANEXOS

Anexo 1

Toma de parámetros ambientales en la zona de recolección de organismos



Anexo 2

Selección de un organismo para realizar su respectivo lavado y desinfección



Anexo 3

Toma de 1 ml de solución de cloruro de potasio destinada a la inducción por inyección



Anexo 4

Extracción de gametos tras inyección de 1 ml de KCl: esperma (blanco) y óvulos (naranja)



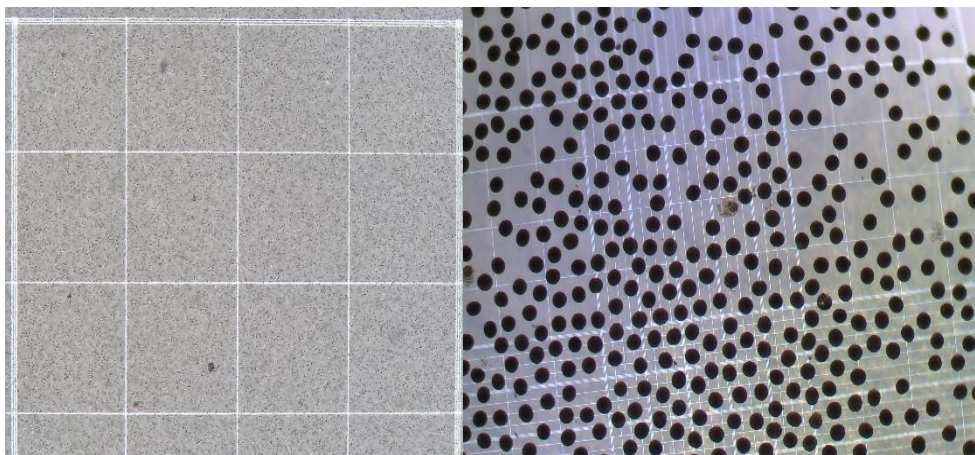
Anexo 5

Esterilización de agua de mar filtrada mediante fiolas para eliminar contaminantes microbiológicos



Anexo 6

Cuantificación de gametos mediante cámara de Neubauer bajo microscopía



Anexo 7

Peceras experimentales acondicionadas para evaluar el efecto de temperatura y salinidad en los organismos



Anexo 8

Registro por hora de temperatura en peceras del grupo experimental para asegurar estabilidad



Anexo 9

Regulación térmica mediante adición controlada de hielo en el grupo experimental



Anexo 10

Fases del desarrollo embrionario de Echinometra vanbrunti: A) óvulo fecundado, B) división celular en etapa de 4 células, y C) larva en fase prisma temprana

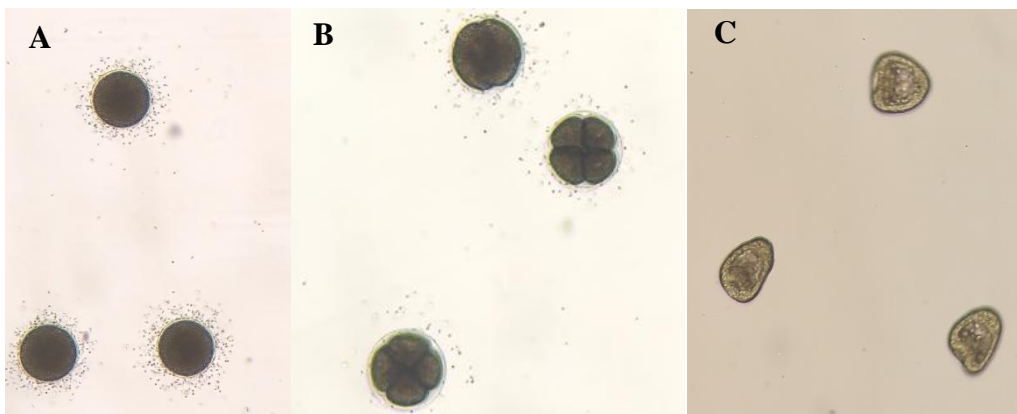


Tabla 1

Valor de ovocitos representados en media \pm desviación estándar.

Ovocitos	KCl a 0.3 M	KCl a 0.5 M	KCl a 0.7 M
Mean	263,17	220,92	260,42
Std. error	56,55	40,54	29,65

Tabla 2.

Análisis de normalidad (Shapiro-Wilk) de las concentraciones de KCl (0.3 M, 0.5 M, 0.7 M)

Ovocitos	KCl a 0.3 M	KCl a 0.5 M	KCl a 0.7 M
Shapiro-Wilk W	0,9785	0,8321	0,8901
p (normal)	0,9438	0,112	0,3189

Tabla 3

Análisis de varianza (ANOVA) de ovocitos: comparación de medias entre concentraciones de KCl (0.3 M, 0.5 M y 0.7 M) sin diferencias significativas

Test for equal means

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
Between groups:	6705,75	2	3352,88	0,293	0,7502
Within groups:	171624	15	11441,6	Permutation p (n=99999)	0,7545
Total:	178330	17	0,7545		

Components of variance (only for random effects):

Var(group):	-1348,12	Var(error):	11441,6	ICC:	-0,133563
omega2:	0				

Levene's test for homogeneity of variance, from means p (same): 0,6514

Levene's test, from medians p (same): 0,6782

Welch F test in the case of unequal variances: F=0,3225, df=9,418, p=0,732

Bayes factor: 0,1502 (substantial evidence for equal means)

Tabla 4

Valor de espermatozoides representados en media \pm desviación estándar

Espermatozoides	KCl 0.3	KCl0.5	KCl 0.7
Mean	2146583	3337000	4628083
Std. error	349132,5	986878,5	1198734

Tabla 5

Análisis de normalidad de espermatozoides mediante la prueba de Shapiro-Wilk, dando como resultado que presentaron distribuciones no normales.

Espermatozoides	KCl a 0.3 M	KCl a0.5 M	KCl a 0.7 M
Shapiro-Wilk W	0,7714	0,7097	0,8012
p(normal)	0,03199	0,007812	0,0602

Tabla 6

Prueba de Kruskal-Wallis aplicada a la muestra de espermatozoides para evaluar diferencias según las concentraciones de KCl (0.3, 0.5 y 0.7 M); no se encontraron diferencias significativas ($p = 0,08233$)

Kruskal-Wallis test for equal medians

H (chi2): 4,994
Hc (tie corrected): 4,994
p (same): 0,08233

There is no significant difference between sample medians

Tabla 7

Estimación del tiempo transcurrido, en las etapas de desarrollo embrionario de Echinometra vanbrunti, expresado en media ± desviación estándar (Salinidad 35 PPT, 30PPT, 25 PPT y 20 PPT)

35 ppt									
	2 células	4 células	8 células	16 células	Mórula	Blástula	Gástrula	Larva prisma	Larva pluteus
Mean	36,27	28,61	31,94	30,02	44,99	61,51	43,82	81,86	33,41
Std. error	13,38	10,23	11,30	11,95	13,92	21,28	15,87	34,46	10,45
30 ppt									
	2 células	4 células	8 células	16 células	Mórula	Blástula	Gástrula	Larva prisma	Larva pluteus
Mean	37,42	30,66	33,06	33,36	37,62	49,56	60,44	116,92	35,59
Std. error	14,11	10,64	13,28	12,34	15,56	18,68	24,00	44,85	5,71
25 ppt									
	2 células	4 células	8 células	16 células	Mórula	Blástula	Gástrula	Larva prisma	Larva pluteus
Mean	37,32	32,97	38,33	39,25	49,01	62,80	70,03	132,01	39,92
Std. error	13,25	12,39	12,04	15,90	15,51	25,24	32,24	50,62	15,90
20 ppt									
	2 células	4 células	8 células	16 células	Mórula	Blástula	Gástrula	Larva prisma	Larva pluteus
Mean	122,54	11,78	0	0	0	0	0	0	0
Std. error	26,91	7,45	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 8

Estimación del tiempo transcurrido, en las etapas de desarrollo embrionario de Echinometra vanbrunti, expresado en media ± desviación estándar (Temperatura 28°C, 25° C, 23° C y 20° C)

Temperatura de 28° C									
	2 células	4 células	8 células	16 células	Mórula	Blástula	Gástrula	Larva prisma	Larva pluteus
Mean	36,95	47,61	33,87	53,14	71,42	80,72	96,87	101,60	0
Std. error	13,12	16,49	13,15	17,89	22,62	27,24	34,98	35,76	0
Temperatura de 25° C									
	2 células	4 células	8 células	16 células	Mórula	Blástula	Gástrula	Larva prisma	Larva pluteus
Mean	36,95	47,61	33,87	53,14	71,42	80,72	96,87	101,60	0
Std. error	13,12	16,49	13,15	17,89	22,62	27,24	34,98	35,76	0
Temperatura de 23° C									
	2 células	4 células	8 células	16 células	Mórula	Blástula	Gástrula	Larva prisma	Larva pluteus
Mean	36,95	47,61	33,87	53,14	71,42	80,72	96,87	101,60	0
Std. error	13,12	16,49	13,15	17,89	22,62	27,24	34,98	35,76	0
Temperatura de 20° C									
	2 células	4 células	8 células	16 células	Mórula	Blástula	Gástrula	Larva prisma	Larva pluteus
Mean	36,95	47,61	33,87	53,14	71,42	80,72	96,87	101,60	0
Std. error	13,12	16,49	13,15	17,89	22,62	27,24	34,98	35,76	0