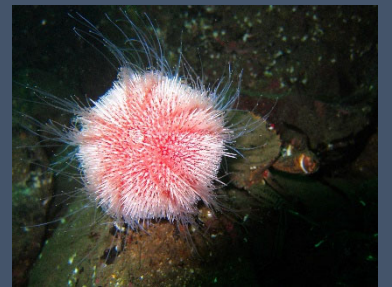
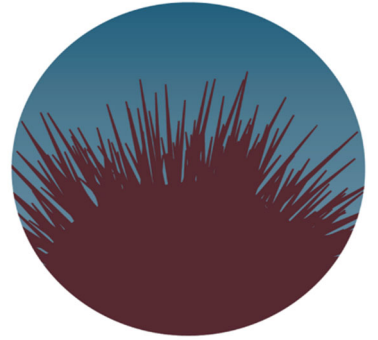
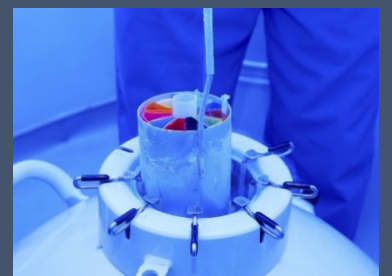
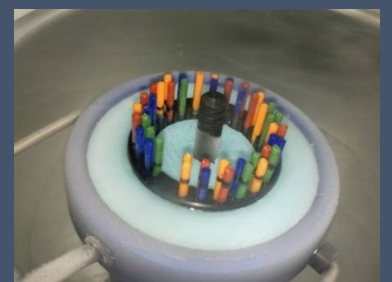
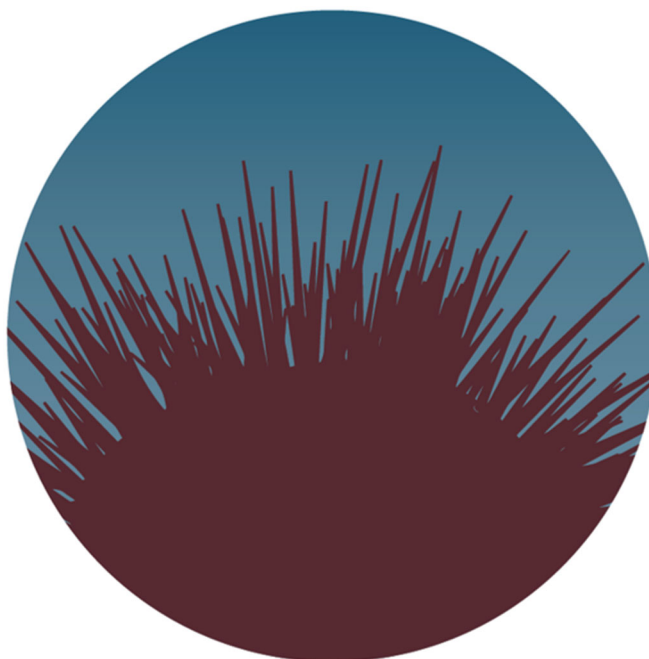


*Informe final de actividades de  
OCIMER*



Sea Urchin  
Research Project





<b>Fuente Verificación</b>	Informe final de actividades
<b>Tipo de diseminación</b>	Informe final
<b>Nivel de Diseminación</b>	Público
<b>Idioma</b>	Español
<b>Titulo</b>	Informe final de actividades del proyecto OCIMER
<b>Fecha publicación</b>	Noviembre 2021
<b>Acción</b>	OCIMER
<b>Entidad Beneficiaria</b>	CIM-Universidade de Vigo
<b>Participantes</b>	Noelia Tourón, Universidade de Vigo Estefanía Paredes, Universidade de Vigo Sara Campos, Universidade de Vigo Damián Costas, Universidade de Vigo

Informe que recoge los resultados obtenidos durante el desarrollo del proyecto OCIMER (Optimización del cultivo integral del erizo de mar *Paracentrotus lividus*).

## Resumen

### Disclaimer

Los autores declaran no tener conflictos de intereses en la publicación de esta información, que se publica en abierto y sin ánimo de lucro, con un interés exclusivamente informativo y didáctico.

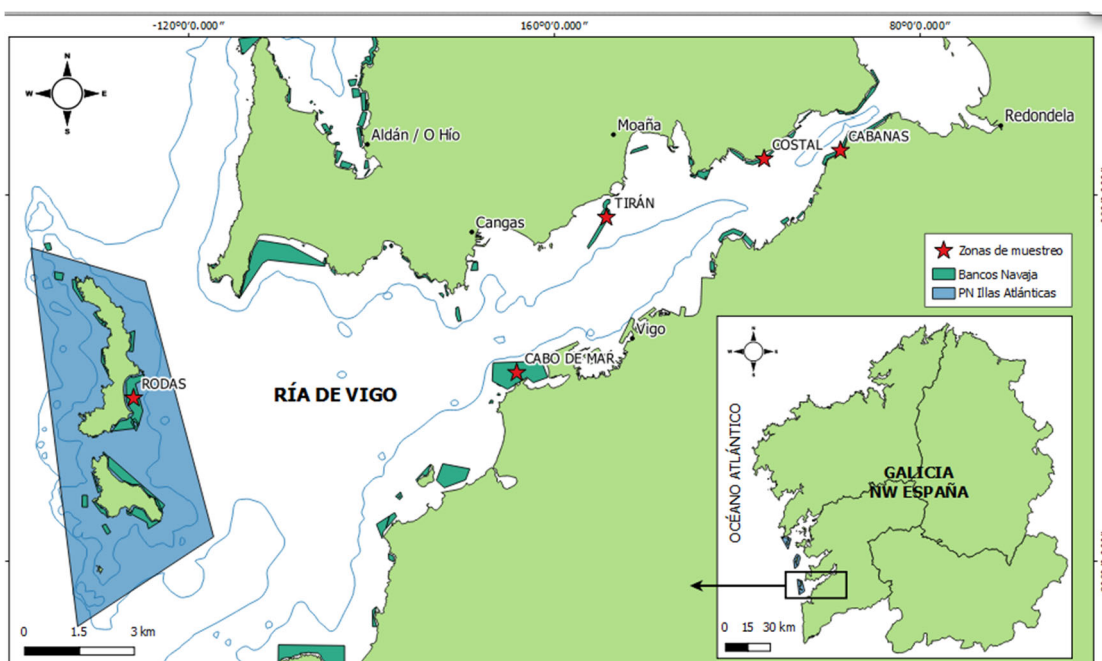
# Índice

Índice ..... 3

Actividad 1. Identificación y revisión bibliográfica para la puesta en marcha..... 7

Actividad 2. Diseño y puesta en marcha de pruebas piloto para repoblación del erizo de mar *P. lividus*..... 7

Estudio de especies autóctonas e interacciones entre ellas en la zona a repoblar..... 9



.... 10



..... 10

En la Tabla 1 se especifican las coordenadas exactas que delimitan el área donde se realizó la repoblación con individuos juveniles de *P. lividus*..... 11

Estudio de las variables abióticas y bióticas del área a repoblar ..... 11



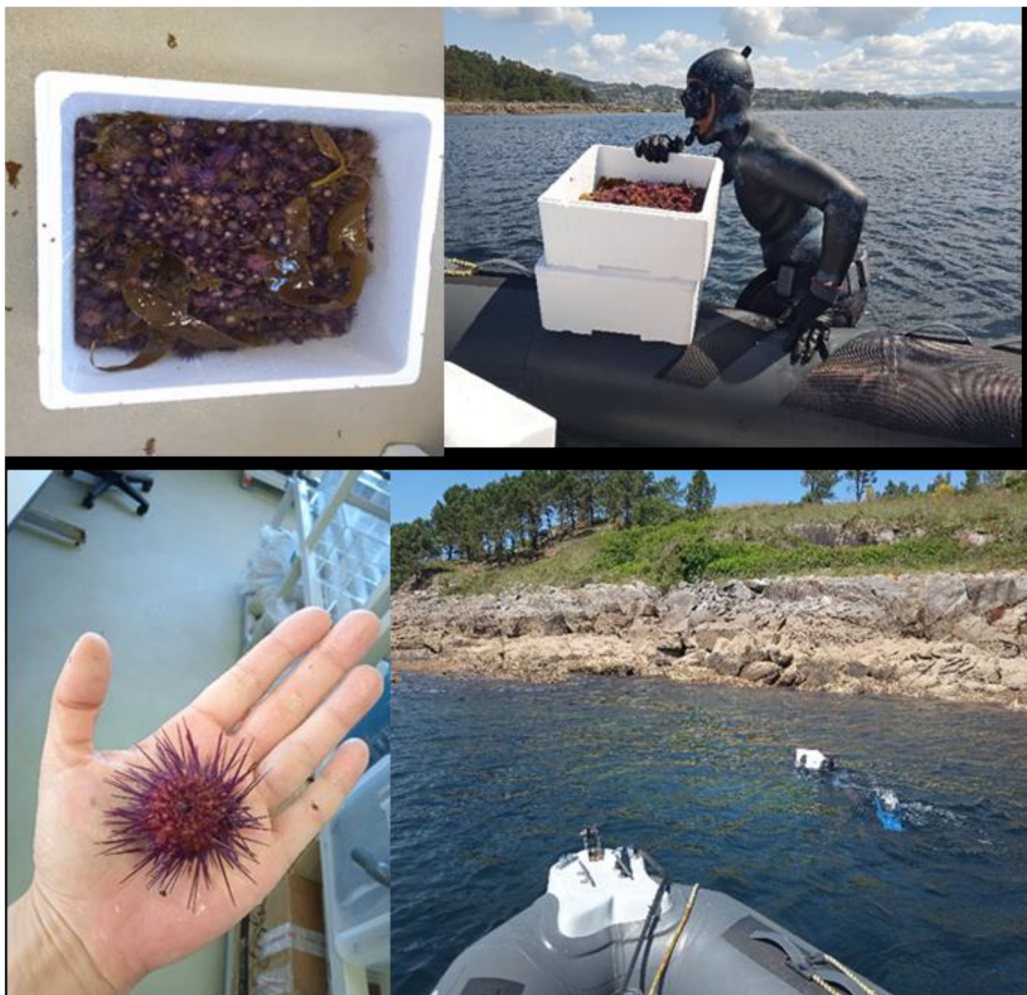
<b>Metodología de repoblación</b> .....	12
..... <b>¡Error! Marcador no definido.</b>	
<b>Bibliografía</b> .....	22
Índice.....	24
Introducción.....	25
Cultivos larvarios.....	26
<b>Supervivencia</b> .....	27
<b>Estudio de los parámetros de cultivo larvario y margen de mejora</b> .....	32
<b>Salinidad</b> .....	32
<b>Temperatura</b> .....	35
<b>Densidad y dieta</b> .....	37
<b>Cultivo abierto</b> .....	38
<b>Cultivo cerrado</b> .....	40
Ph.....	42
FIJACIÓN Y METAMORFOSIS .....	45
CRECIMIENTO DE ERIZOS JUVENILES .....	50
<b>Crecimiento de juveniles obtenidos en los cultivos larvarios</b> .....	50
<b>Estudio de la dispersión de tamaño de juveniles de erizo de mar (segundo cultivo larvario) obtenidos en laboratorio previa suelta en el mar</b> .....	51
<b>Tasa de crecimiento de Juveniles en cautividad</b> .....	54
Conclusiones Generales.....	59
<b>Bibliografía</b> .....	59
<b>Metodología de preparación de las dietas de engorde</b> .....	61
En la tabla 1 podemos ver los ingredientes que componen las dietas de engorde elaboradas para incrementar el ritmo de crecimiento de individuos juveniles de <i>P. lividus</i> obtenidos en criadero..	62
<b>Índice</b> .....	65
<b>Introducción</b> .....	65
<b>Material y métodos</b> .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>Resultados y discusión</b> .....	71
<b>1. Evolución del diámetro de los erizos con cada dieta.</b> .....	71
<b>2. Evolución del peso de los erizos con cada dieta.</b> .....	73
<b>3. Incremento de la Talla de los erizos juveniles con cada dieta.</b> .....	73
<b>4. Incremento del Peso de los erizos juveniles con cada dieta.</b> .....	74
<b>5. Tasa de crecimiento lineal obtenido con cada dieta.</b> .....	75
<b>6. Tasa de crecimiento específico obtenido con cada dieta.</b> .....	76
<b>7. Análisis estadísticos de los resultados obtenidos.</b> .....	77

Se liberaron un total de 50000 erizos juveniles de la especie *P. lividus* en la zona litoral de ‘Os Castros’ de Cangas do Morrazo, demarcada por las coordenadas que se especifican en la Tabla 1 y protegida de la pesca extractiva por la Cofradía de Pescadores San Xosé de Cangas. .... 92

La repoblación se hizo en 3 tandas diferentes, la primera de ellas se llevó a cabo el día 30 de abril de 2021, liberándose aproximadamente 8500 individuos juveniles en grietas de la zona a repoblar, con una talla media de 20 mm de diámetro de testa y en una franja de 0 a 1'5 m de profundidad, abarcando la zona intermareal; en la figura 8 se pueden ver algunas fotos del transporte de los erizos hasta la zona y de la liberación de los mismos en el litoral, el reportaje fotográfico completo se adjunta como fuente de verificación FV 5.2. .... 93

**Fig. 8.- A) Caja de poliexpan de transporte de los erizos juveniles ; B) Buzo repoblando las charcas del intermareal ; C) Embarcación de la Cofradía de Pescadores San Xosé ; D) Tareas de repoblación de los dos buzos. .... 93**

La segunda repoblación se realizó el día 09 de Julio de 2021 en la misma zona, tal como nos indicó la Cofradía de Cangas como entidad socia del proyecto OCIMER, aunque a mayor profundidad (1'5 a 3 m); se liberaron aproximadamente 21000 erizos juveniles con una talla media de 20 mm de diámetro de testa (Figura 9). .... 94



**Fig. 9.- A y B) Cajas de poliexpan para el transpote de los erizos juveniles ; C) ejemplar juvenil para repoblación ; D) Buzo transportando una de las cajas con juveniles hasta el área a repoblar. .... 94**

La última repoblación se llevó a cabo el día 27 de Octubre de 2021 en la misma zona, a una profundidad media de 2'5 m; se liberaron aproximadamente 20000 erizos juveniles con una talla media de 20 mm de diámetro de testa (Figura 10). ..... 95

**Fig. 10.- A y B) Cajas de poliexpan para el transporte de los erizos juveniles cubiertas con un paño húmedo ; C) transporte de las cajas hasta la zona a repoblar ; D) Buzos realizando tareas de repoblación.**..... 95

No se pudieron llevar a cabo las tareas de seguimiento de las repoblaciones realizadas por falta de tiempo debido al retraso derivado de la pandemia, se espera poder terminar esta tarea en el marco del nuevo proyecto OCIMER +. .... 95

**Actividad 6.** ..... 96

**Desarrollo larvario de *S. granularis*** ..... 98

**Cultivo larvario de *S. granularis* durante 22 dias (Tº 18º)** ..... 98

**Actividad 7. Comunicación y divulgación** ..... 99

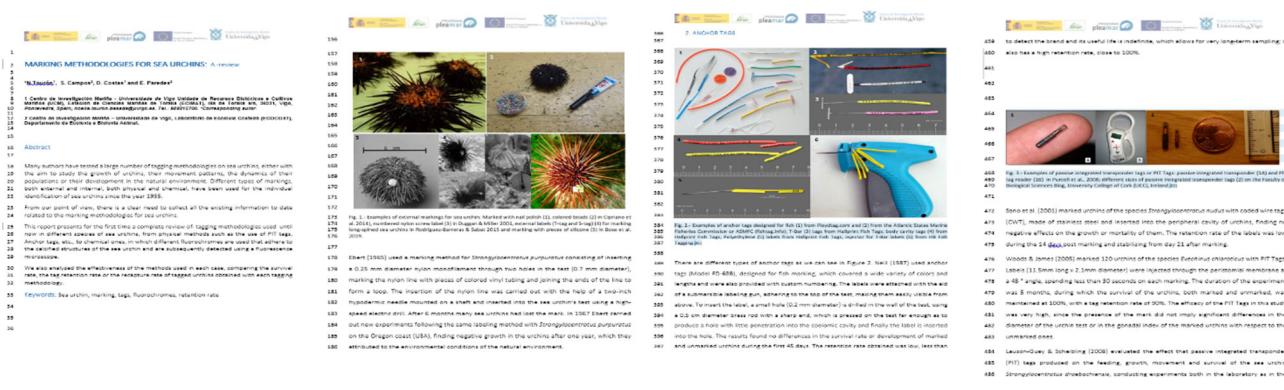
# Actividad 1. Identificación y revisión bibliográfica para la puesta en marcha

## 1.1. Índice de fuentes consultadas

Se elaboró un documento en el que se recogen las fuentes consultadas para elaborar la revisión bibliográfica previa al desarrollo de las actividades del proyecto.

## 1.2. Documento review elaborado a partir de la revisión de fuentes consultadas

Se redactó una revisión bibliográfica de todas las técnicas de marcaje existentes para erizos de mar hasta la fecha.



# Actividad 2. Diseño y puesta en marcha de pruebas piloto para repoblación del erizo de mar *P. lividus*.

## 2.1. Elaboración de un estudio para la identificación de la zona a repoblar.

Se elaboró un estudio bibliográfico completo con el fin de caracterizar la zona más adecuada para llevar a cabo la repoblación con juveniles de *P. lividus* producidos en la ECIMAT ; a partir de datos recopilados previamente por la Cofradía de Pescadores de Cangas, que incluye la composición de especies de la zona a repoblar, así como las interacciones biológicas entre ellas.

## 2.2. Informe de metodología y resultados de la prueba piloto de repoblación (que incluye los resultados del estudio de la zona a repoblar, las variables, las tallas óptimas y los marcajes)

### Índice

<b>Estudio de especies autóctonas e interacciones entre ellas en la zona a repoblar ... ¡Error! Marcador no definido.</b>	
Estudio de las variables abióticas y bióticas del área a repoblar.....	7
Características abióticas.....	7
Características bióticas .....	8
Metodología de repoblación.....	9
Transporte de los erizos desde las instalaciones de cultivo.....	9
Talla mínima de juveniles de <i>P. lividus</i> para repoblación.....	10
<b>Marcaje de individuos juveniles de <i>P. lividus</i> para repoblación.....</b>	<b>11</b>
Introducción.....	11
Metodología de marcaje.....	12
Resultados.....	15
Talla mínima de marcaje.....	17
Conclusión.....	17
<b>Repoblación con juveniles de <i>P. lividus</i> en el litoral de Cangas do Morrazo (Ría de Vigo).....</b>	<b>18</b>
<b>Bibliografía .....</b>	<b>21</b>

## Estudio de especies autóctonas e interacciones entre ellas en la zona a repoblar.

La realización de un estudio previo de la composición de especies presentes en la zona que se pretende repoblar y sus interacciones es crucial para realizar una repoblación exitosa con individuos juveniles de erizo de mar, en nuestro caso de la especie *Paracentrotus lividus*, permitiendo una recuperación paulatina del banco natural que se encuentre gravemente disminuido.

En ningún caso se debe liberar una cantidad importante de juveniles de erizo de mar en un hábitat donde no existieran previamente, ya que al ser los grandes reguladores de la biomasa del fondo marino y los principales consumidores de macroalgas del litoral, esta acción desembocaría en un desequilibrio total del ecosistema donde se introduzcan, que sería difícilmente recuperable.

Durante los primeros meses de desarrollo del proyecto OCIMER (Optimización del cultivo integral del erizo de mar *Paracentrotus lividus*) se realizó un estudio bibliográfico de las especies presentes en el área que se pretendía repoblar y de sus interacciones, que junto con datos de la Cofradía de Pescadores San Xosé de Cangas do Morrazo (entidad socia del proyecto) nos permitió verificar la idoneidad de la zona litoral de 'Os Castros' en Cangas do Morrazo como candidata para realizar una repoblación con un número considerable (50000) de individuos juveniles de *P. lividus*, de una talla adecuada para poder defenderse de los depredadores y sobrevivir a largo plazo, al menos 15-20 mm de diámetro de testa; además se comprobó la presencia de algunos individuos adultos en la zona, que también servirán de protección para los juveniles frente a los depredadores. En las figuras 1 y 2 aparece la localización concreta donde se realizó la liberación de los juveniles de *P. lividus*, en el litoral de 'Os Castros' en Cangas do Morrazo. En este litoral existía un banco importante de esta especie de erizo de mar según datos de la Cofradía de Pescadores de Cangas, que se encuentra muy mermado actualmente como consecuencia de la excesiva presión extractiva que se produjo en esa zona durante los últimos años, debido al importante incremento de la demanda de esta especie en el mercado (González-Irusta, 2009; Liu et al., 2010; James et al., 2016).



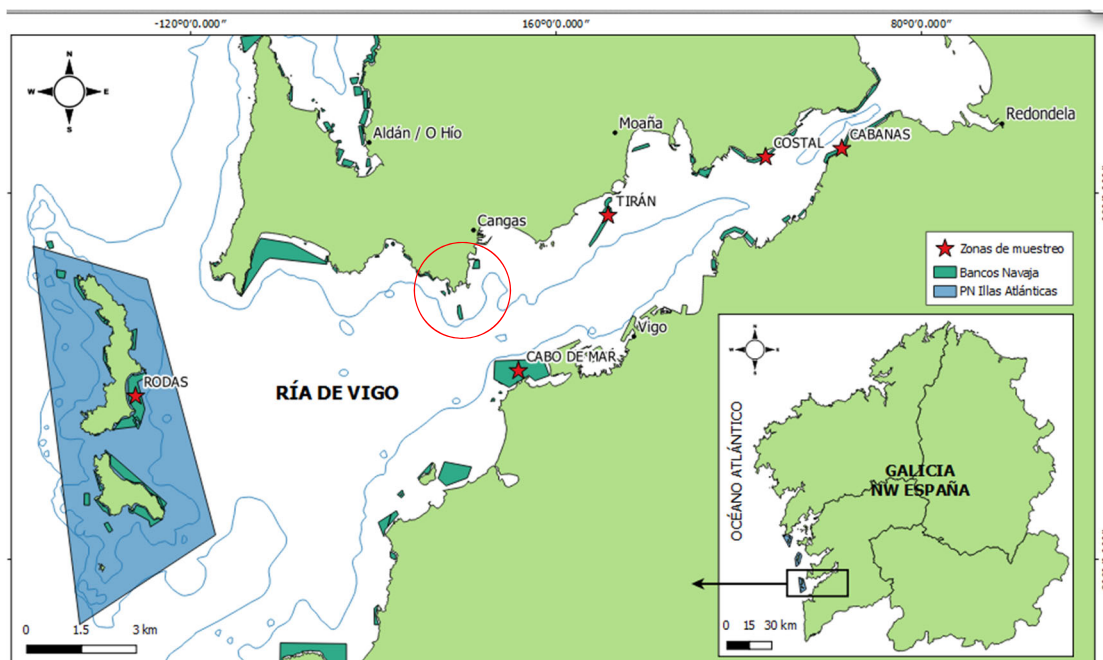


Fig. 1: Vista aérea de los bancos de erizo de mar en la Ría de Vigo ([www.sigremar.com](http://www.sigremar.com)), con la zona a repoblar marcada en el círculo rojo.



Fig. 2: Vista aérea satelital de la delimitación territorial del área a repoblar.

Tabla 1: Coordenadas que delimitan el área a repoblar.

PUNTOS	LATITUD	LONGITUD
1	42º15'11,45''	08º49'28,25''
2	42º15'9,74''	08º49'32,05''
3	42º15'7,76''	08º49'26,95''
4	42º15'8,75''	08º49'21,84''

En la Tabla1 se especifican las coordenadas exactas que delimitan el área donde se realizó la repoblación con individuos juveniles de *P. lividus*.

### Estudio de las variables abióticas y bióticas del área a repoblar

Se debe verificar la idoneidad de la zona a repoblar mediante un estudio de sus características bióticas y abióticas, que pudieron haber variado desde la existencia de una población abundante de *P. lividus* en el pasado, y que pueden afectar a la óptima supervivencia de los individuos juveniles liberados. A continuación, se describen las principales variables de la zona que se repobló en el marco del proyecto OCIMER.

#### 1- Características abióticas:

La costa de 'Os Castros' de Cangas do Morrazo es una costa situada en el exterior de la ría y en tramos de mar abierto, aunque con cierto grado de protección. Se trata, por tanto, de una zona muy próxima a las costas expuestas pero que presenta cierto grado de protección.

En las Rías Baixas de Galicia se encuentra el límite norte del sistema de surgencia del noroeste de África. El viento y la topografía costera generan un sistema dinámico de surgencia en la plataforma continental, que generalmente ocurre entre marzo y septiembre, cuando predominan los vientos del norte, aunque existe una gran variabilidad en estos eventos de un año a otro (Figueiras et al., 2002). Generalmente, en las Rías se establece una circulación estuarina compuesta por dos capas, una corriente superior y una corriente inferior de diferentes densidades; sin embargo, la existencia de afloramientos costeros o hundimientos modifica la distribución de la presión hidrostática en el interior de la Ría, controlando la circulación estuárica (Rosón et al., 2008). Normalmente cuando los vientos son de componente

norte (afloramiento), el agua de la ría circula hacia el exterior en la superficie y hacia el interior por el fondo, mientras que con los vientos de componente sur la circulación es la contraria.

En la Ría de Vigo la marea tiene una amplitud meso-mareal (menos de 4 m de diferencia) y su periodicidad es semidiurna, es decir, hay dos mareas al día. Durante la primavera y el verano los vientos del norte y noreste empujan la capa superficial del océano hacia el sur y suroeste sobre la plataforma continental de la costa gallega, actuando como contracorriente en las capas subsuperficiales, esta corriente converge en las proximidades del cabo Fisterra con la del Cantábrico, constituyendo un frente subsuperficial, lo que favorece la subida de las aguas frías en la época estival. En otoño e invierno predominan los vientos del sur y suroeste, reforzando y extendiendo el frente de corrientes a la capa superficial, notoriamente más cálida y salina y que pasa muy cerca de la desembocadura de la Ría de Vigo o incluso se detecta en las proximidades de la Islas Cíes (Rosón et al., 2008). La circulación por la plataforma continental gallega no está dominada por ninguna corriente permanente definida, siendo la marea y el viento los elementos más importantes en la circulación de la Ría de Vigo.

## 2- Características bióticas:

Las costas semi-expuestas se caracterizan por su gran riqueza en carragenatos, en particular *Mastocarpus stellatus* y *Chondrus crispus*, y en el agarófito *Gelidium sesquipedale* (Veiga, 1999). Una especie muy característica de las costas semi-expuestas es *Mesophyllum lichenoides*, una especie coralina que puede cubrir grandes áreas del infralitoral inferior y superior. La presencia de esta especie puede explicar muy probablemente la riqueza de este tipo de litoral en *Gigartina pistillata* carragenina y, especialmente, en *Gelidium sesquipedale*, ya que es conocida la afinidad que tiene esta última especie por adherirse a sustratos calcáreos. Como en las costas de transición, aquí también podemos encontrar cinturas de *Fucus vesiculosus* e *Himanthalia elongata*, pero con una presencia mucho menor. Esta similitud florística se manifiesta sobre todo por la frecuencia de aparición en ellas de horizontes de *Bifurcaria bifurcata*, *Chondracanthus acicularis*, *C. baccata* o *Laminaria ochroleuca*. Esta última especie es una de las más consumidas por *P. lividus*, que también se alimenta de otras especies de algas preferentemente pardas y de algas incrustantes.

## Metodología de repoblación

### Transporte de los erizos desde las instalaciones de cultivo

Es importante realizar un transporte lo más rápido posible desde las instalaciones de cultivo donde se produjeron los erizos hasta la zona costera donde se van a liberar, con el objetivo de minimizar al máximo el estrés que pueda ocasionarles la manipulación y el transporte hasta la

zona de liberación. Además, es necesario disponer de cajas u otros recipientes impermeables que permitan introducir agua en su interior, manteniendo así unas condiciones mínimas de humedad que optimizarán la supervivencia de los ejemplares transportados.

En nuestro caso los erizos se introdujeron en cajas de poliexpan provistas de una tapa (Fig. 3), lo que protege a los erizos juveniles de la incidencia directa de la luz solar, que les causaría un estrés añadido que podría afectar a su óptima supervivencia. Las cajas se con una altura de agua de al menos 3 cm antes de introducir los erizos que van a transportar

En resumen, los puntos imprescindibles a tener en cuenta para realizar un transporte óptimo de los erizos juveniles son los siguientes:

- Duración del traslado a la zona de liberación lo más rápida posible.
- Cajas de transporte provistas de al menos 2-3 cm de altura de agua en su interior.
- Recipientes de transporte con tapa/paño húmedo que impida la incidencia directa de la luz solar.
- A ser posible introducir láminas de algas pardas entre las capas de erizos juveniles que se transportan (que ayudarán a mantener la humedad y reducir el estrés producido durante el transporte).

En caso de que la duración del transporte no pueda ser menor a 3 horas, es recomendable introducir entre los erizos bolsas de aire, que actuarán impidiendo que se dañen las espinas de los erizos de las capas inferiores del recipiente de transporte y reducirán en gran medida la mortalidad de los juveniles transportados.



Fig. 3.- A y B) Cajas de transporte de erizos juveniles provistas de agua y algas; B y C) Transporte de las cajas con los erizos hasta la costa de 'Os Castros' (Cangas do Morrazo).

#### Talla mínima de individuos juveniles de *P. lividus* para repoblación

En la literatura se encuentran diversos trabajos donde se establece que la talla mínima óptima que deben tener los individuos juveniles de *P. lividus* para sobrevivir en el medio natural una vez liberados debe ser de entre 15 y 20 mm de diámetro de testa, aunque se hicieron repoblaciones con individuos de 10 mm de diámetro de testa en el marco del proyecto JACUMAR (Marino & Ejecutivo) ; los erizos juveniles con un diámetro de testa de al menos 15 mm podrán defenderse/esconderse de los depredadores de esta especie, y por lo tanto sobrevivir hasta alcanzar la talla comercial de 55 mm de diámetro de testa para *P. lividus*.

Los principales depredadores de esta especie son los peces lábridos (sargo, pez ballesta, etc.), los crustáceos (en especial los centollos, seguidos de las nécoras) y en menor medida las estrellas de mar, según datos del experimento de depredación realizado en el marco del proyecto OCIMER que se encuentra pendiente de publicación.



La liberación de los ejemplares juveniles obtenidos en las instalaciones de la ECIMAT (en el litoral de 'Os Castros' de Cangas do Morrazo) se realizó en una zona con presencia de individuos adultos de *Paracentrotus lividus*, lo cual aumenta la protección de los juveniles frente a los mayores depredadores de esta especie (los erizos más pequeños se esconden debajo de los adultos) y asegura un mayor porcentaje de supervivencia de los erizos juveniles en el medio natural.

## Marcaje de individuos juveniles de *P. lividus* para repoblación

### Introducción

Hasta la fecha se realizaron escasos trabajos de marcaje con marcas externas en esta especie: Chelazzi et al. (1997) marcaron individuos de *P. lividus* con una etiqueta de plástico numerada, que resultó eficaz para estudiar la distribución de erizos en el medio ambiente, pero no hay datos sobre la tasa de retención o de recuperación de la marca.

Generalmente las marcas externas son más efectivas para especies de erizo de mar de espina larga, debido a que presentan tasas de retención de la marca más elevadas (Carpenter, 1984).

Hereu (2005) utilizó etiquetas de anclaje para marcar "in situ" 80 erizos de la especie *Paracentrotus lividus* de entre 50 y 60 mm de diámetro en las Islas Medas, mediante la inserción de una etiqueta de nylon a través de un agujero de 3 mm de diámetro realizado en la parte aboral de la testa del erizo mediante una pistola sumergible. Esta técnica resultó apropiada para el experimento, que buscaba estudiar los movimientos de los erizos, aunque la mortalidad resultante fue muy elevada (24% de los erizos marcados), no siendo adecuada para monitorizar erizos de pequeño tamaño debido a la elevada mortalidad que produciría, ni para estudios que impliquen el marcaje de un número considerable de erizos.

Las etiquetas de anclaje no son muy efectivas para marcar erizos de mar, debido a su baja tasa de retención a largo plazo y a que producen una tasa de mortalidad significativa en los individuos marcados, causada por la necesidad de perforar la testa del erizo para introducir la etiqueta.

En el caso de los PIT Tags sólo existe un trabajo realizado con *Paracentrotus lividus* hasta la fecha, Cipriano et al. (2014) marcaron con PIT Tags erizos de esta especie de dos tamaños: 20 y 40 mm de diámetro, obteniendo una alta tasa de mortalidad en ambos casos: 22,5% y 52,5% respectivamente después de 8 semanas en el medio natural.

El estudio más exitoso realizado con *P. lividus* hasta el momento fue el llevado a cabo por de la Uz et al. (2018), que utilizaron etiquetas de alambre codificadas (CWT) para marcar erizos liberados en el entorno natural durante 4 meses. Dividieron los individuos marcados en tres rangos de talla: grupo 1 (10-15 mm), grupo 2 (15-20 mm) y grupo 3 (20-25 mm). Obtuvieron



tasas de retención significativamente diferentes entre los erizos del grupo 1: tasa de retención del 62% de la marca y la de los grupos 2 y 3, que fue del 80% en condiciones de cautividad. En el grupo de erizos de mar liberados al medio natural, obtuvieron una tasa de recaptura del 12% después de 14 semanas y una tasa de retención de la marca del 100%.

El marcaje con etiquetas PIT es un método relativamente eficaz para el seguimiento a largo plazo de juveniles de erizo de mar en el medio natural, aunque el porcentaje de retención de la etiqueta y la mortalidad varían mucho según la especie de erizo de mar marcado; además tiene la limitación de que no es una etiqueta adecuada para marcar erizos de pequeño tamaño.

Una vez elaborada la revisión bibliográfica de las diferentes marcas existentes en el mercado para identificar erizos de mar, se realizaron experimentos de marcaje en cautividad **(A)**, en una estructura de cultivo suspendida de una batea (propiedad de la Cofradía de pescadores San Xosé de Cangas do Morrazo) **(B)** y en el medio natural, marcando 490 erizos que se liberaron en la costa de la playa de Barra (Cangas do Morrazo) **(C)**, dejándolos durante un mes en el medio natural; por último se marcaron 300 erizos con la marca con la que se obtuvieron mejores resultados (minitransponder de Trovan) y se liberaron encima de una piedra rodeada de arena de la costa de Liméns, en el litoral de Cangas do morrazo, dejándolos durante 2 meses en el medio natural **(D)**.

Posteriormente se realizaron pruebas de marcaje con los dos tipos de marcas que mejor funcionaron en la fase **(A)** del experimento (las secciones de alambre galvanizado y los Minitransponder de Trovan) en erizos juveniles de diferentes tallas, con el fin de identificar la talla mínima de marcaje de individuos de esta especie con las distintas marcas probadas.

### *Metodología de marcaje*

**A)** En junio del año 2020 se recibieron 400 erizos juveniles (*P. lividus*) procedentes de la costa de Cangas do Morrazo (Pontevedra, Galicia): 42°16'40"N 8°47'23"O, con un promedio de talla de 20 mm de diámetro y un peso promedio de 5,4 g.

Los erizos se distribuyeron en cajas de 60 litros de capacidad, a una densidad de 20 erizos por caja, con agua de mar filtrada en circuito abierto, aireación continua y alimentación "ad libitum" con macroalgas pardas del género *Laminaria sp.*

La duración del experimento fue de un mes (inicio el 23 de junio de 2020, fin el 24 de julio de 2020).

Se utilizaron 5 tipos de marcas para erizo de mar diferentes: Pegatinas de colores (marca Hallprint), etiquetas T-Bar (marca Hallprint), Minitransponder (marca Trovan), trozos de alambre galvanizado (3-4 mm de longitud y 1 mm de grosor) y PIT Tags (marca Hallprint) con tres réplicas por marca y un control consistente en erizos sin marcar.

Como se puede observar en la figura 4, las pegatinas se adhirieron a la testa de los erizos con ayuda de pegamento de la marca Loctite, en una zona de la testa donde previamente se seccionaron las espinas de esa área. Los Minitransponder y las PIT Tags de Hallprint se introdujeron a través de la membrana peristomial del erizo con ayuda de un inyector específico para cada tipo de marca. Las etiquetas T-Bar se introdujeron de dos formas en los erizos, la mitad de las etiquetas se introdujeron a través de la membrana peristomial y la otra mitad a través de un agujero perforado en la mitad aboral de la testa.



Fig. 4.- A) Pegatinas adheridas a la testa de los erizos por medio de pegamento Loctite; B) Introducción aboral de las etiquetas T-Bar. C) Erizos marcados con etiquetas T-Bar. D) Introducción de la sección de alambre galvanizado a través de la membrana peristomial. E) Introducción de los Minitransponder (Trovan) con ayuda de un inyector. F) Introducción de los PIT Tags (Hallprint) mediante un inyector específico.

B) Los 270 erizos supervivientes del experimento de marcaje en cautividad se estabularon en una batea perteneciente al polígono de bateas de la Cofradía de pescadores San Xosé de Cangas do Morrazo (Figura 5), el día 09 de octubre de 2020, con talla media de 18 mm de diámetro y peso medio de 2,98 g, con el fin de obtener la tasa de recaptura de las marcas en el medio natural.

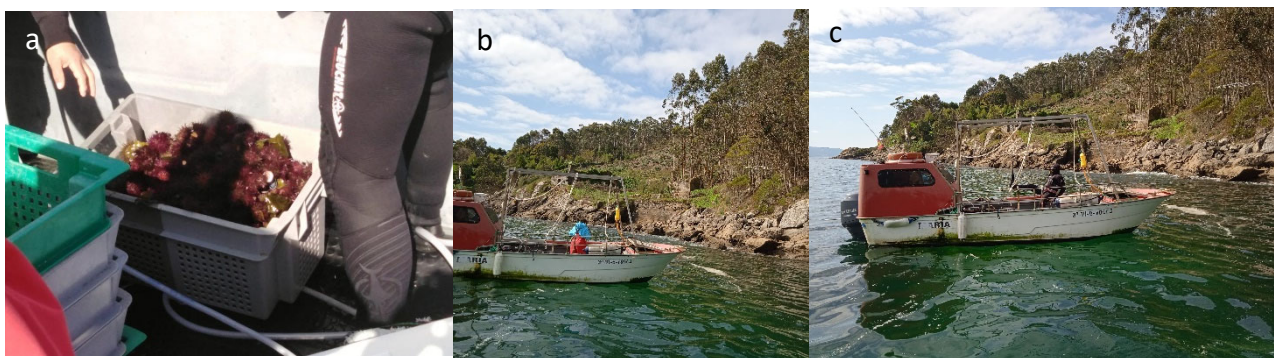
Los erizos se alimentaron quincenalmente con algas pardas del género *Laminaria sp.*

La duración del experimento fue de cinco meses (inicio el 09 de Octubre de 2020, fin el 09 de Abril de 2021).



Fig. 5.- a) Erizos establecidos en la linterna de la batea; b) erizos extraídos de la linterna; c) lector de Minitransponder de Trovan; d) detector de metales.

C) El día 23/10/20 se marcaron otros 250 erizos de talla grande (25-35 mm) y 240 erizos de talla pequeña (15-25 mm), en total 490 erizos, con los 5 tipos de marcas, con una talla media de 26,5 mm de diámetro de testa y un peso medio de 13,81 g, y se liberaron en una zona localizada de la costa de la playa de Barra (litoral de Cangas do Morrazo), junto con otros 364 individuos sin marcar como acompañantes, con el fin de maximizar su futura supervivencia (Fig. 6). Los erizos se dejaron durante 5 semanas en el medio natural, después de lo cual se volvió a la zona para recapturarlos.



D) La última parte del experimento de marcaje consistió en marcar otros 200 erizos juveniles con los Minitransponder de Trovan (la marca que mejores resultados dio en las experiencias A y B), con una talla media de 22 mm de diámetro y un peso medio de 4,67 g, y liberarlos sobre una piedra localizada en el litoral de la playa de Liméns (Cangas do Morrazo) el día 30 de Abril de 2021, dejándolos durante 2 meses en el medio natural con el fin de comprobar la tasa de recaptura de los erizos marcados después de ese tiempo.

## Resultados

A)

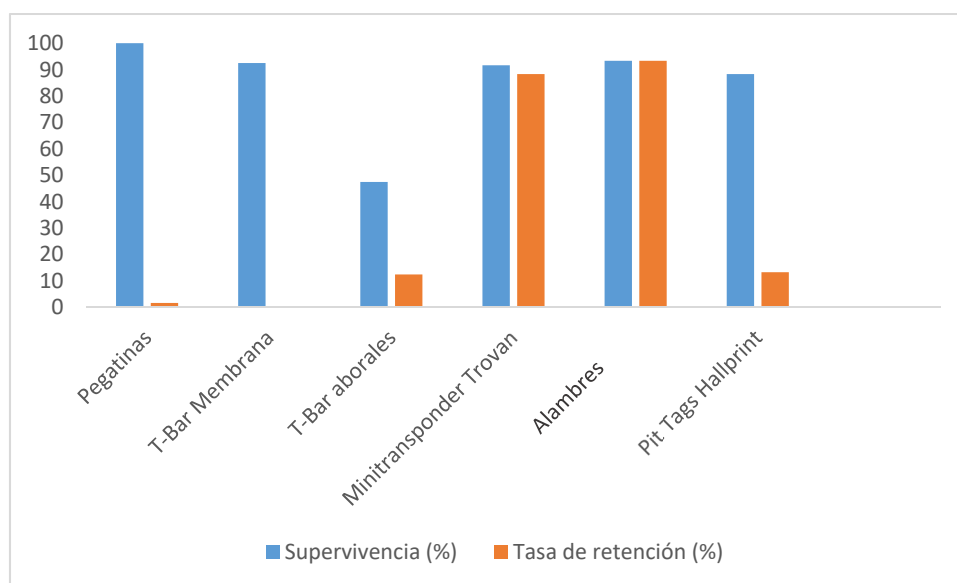


Fig. 7.- Tasa de supervivencia y tasa de retención de la marca de los erizos marcados en condiciones de laboratorio con cada tipo de marca.

Mediante la comparación de los diferentes tipos de marcas utilizadas en este estudio para identificar individuos de la especie de erizo de mar *Paracentrotus lividus*: externas (pegatinas), de anclaje (etiquetas T-Bar) e internas (alambres y PIT Tags) se obtuvieron diferentes resultados: en la primera parte del experimento (A) se comparó su efectividad en condiciones de cautividad; con todas las marcas se obtuvieron buenos resultados en cuanto a tasa de supervivencia de los erizos marcados (Figura 7), excepto en el caso del marcaje con las etiquetas de anclaje T-Bar introducidas por el polo aboral del erizo, con el que se obtuvo una tasa de supervivencia de sólo el 47'5% de los individuos marcados, probablemente debido a la excesiva perforación de la testa necesaria para la colocación de la etiqueta.

La tasa de retención obtenida con cada marca en condiciones de cautividad varió en gran medida, siendo insignificante en el caso de las pegatinas de colores y de las etiquetas T-Bar

introducidas a través de la membrana peristomial del erizo, que fueron expulsadas en su totalidad a los pocos días, y muy elevada en el caso de las secciones de alambre (93,33%) y de los Minitransponder de Trovan (83,33%), lo que sugiere la adecuación de estos dos tipos de marca para el marcaje de individuos de *P. lividus* en condiciones de cautividad.

**B)** Resultados obtenidos con las diferentes etiquetas después de estabular los erizos marcados durante 5 meses en una estructura de cultivo (Figura 5 a) suspendida de una batea perteneciente al polígono de bateas de la Cofradía de Pescadores San Xosé, de Cangas do Morrazo (Ría de Vigo).

#### **TASA DE RECAPTURA:**

- PIT Tags Trovan: 71%
- PIT Tags Hallprint: 15%
- Alambres de acero inoxidable: 0%
- Pegatinas: 0%
- Etiquetas T-Bar: 0%

**TASA DE SUPERVIVENCIA TOTAL: 98,89%**

En la segunda parte del estudio realizada con los erizos estabulados en una linterna suspendida de la batea en el medio natural se obtuvieron tasas de supervivencia muy elevadas, siendo la tasa de supervivencia total de un 98'89% de los erizos estabulados en la batea. Las tasas de recaptura de la marca obtenidas fueron muy bajas después de cinco meses, excepto en el caso de los Minitranspoder de Trovan, con los que se obtuvo una tasa de recaptura del 71%, y una tasa de retención de la marca del 100% en los erizos recapturados, lo que los convierte en el tipo de marca más apropiada para monitorizar erizos de mar de la especie *Paracentrotus lividus*, tanto en condiciones de cautividad como en el medio natural y en estudios a corto y largo plazo.



C) El día 24/03/21 se volvió a la costa de la playa de Barra con el fin de recapturar los erizos marcados liberados 5 semanas antes, y aunque el buzo capturó aproximadamente 300 erizos juveniles ninguno de ellos presentaba la marca, se cree que pudieron desplazarse considerablemente de la zona en ese periodo de tiempo.

D) Los erizos marcados con los Minitransponder de Trovan liberados en la piedra del litoral de la playa de Liméns no se pudieron recapturar, debido a un error en la localización del GPS que no permitió registrar las coordenadas exactas de la piedra donde se liberaron. El día 09/07/21 se volvió a la zona junto con personal de la Cofradía de Pescadores San Xosé y se realizó una inmersión en la que se extrajeron 200 erizos con el fin de intentar recuperar los erizos marcados, aunque sin éxito.

### Talla mínima de marcaje

Después de comprobar que las dos marcas que mejor resultado dieron en términos de supervivencia y tasa de retención de la marca fueron los alambres y los Minitransponder de Trovan, se realizaron pruebas consistentes en marcar erizos juveniles de diferentes tallas, en un rango de 10-30 mm de diámetro, con el fin de determinar la talla mínima que deben tener los erizos juveniles para poder ser marcados con éxito sin presentar mortalidad, obteniendo un resultado de 13 mm de diámetro mínimo en el caso de los Minitransponder de Trovan (8 mm de longitud) y de sólo 11 mm de diámetro en el caso de las secciones de alambre galvanizado de 4-5 mm de longitud.

Estas tallas mínimas de marcaje son inferiores a las que se encuentran en la literatura para etiquetas físicas, que generalmente no es inferior a 20 mm de diámetro sin que se produzca excesiva mortalidad (Cipriano et al., 2014), y está en el rango de 10 a 15 mm de talla de los erizos que marcaron de la Uz et al. (2018) con etiquetas de alambre codificadas (CWT), permitiendo monitorizar individuos juveniles de *P. lividus* desde los 5-6 meses de edad.

### Conclusión

Los resultados obtenidos en este trabajo nos permiten concluir que los Minitransponder de Trovan son una marca adecuada para monitorizar erizos de mar de la especie *Paracentrotus lividus* en estudios a corto y a largo plazo, tanto en cautividad como en el medio natural, presentando una elevada tasa de retención y de recaptura en estructuras de cultivo, y además



son aptos para marcar juveniles de *P. lividus* a partir de 13 mm de diámetro de testa, con una edad aproximada de 5-6 meses.

## Bibliografía

Cipriano, A., Burnell, G., Culloty, S., & Long, S. (2014) Evaluation of 3 tagging methods in marking sea urchin, *Paracentrotus lividus*, populations under both laboratory and field conditions. *Journal of Aquaculture Research and Development*, 5(6).

De La Uz, S., Carrasco, J. F., & Rodríguez, C. (2018) Temporal variability of spawning in the sea urchin *Paracentrotus lividus* from northern Spain. *Regional Studies in Marine Science*, 23: 2-7.

Figueiras, F. G., Labarta, U. & Reiriz, M. J. F. (2002) Coastal upwelling, primary production and mussel growth in the Rías Baixas of Galicia. *Hydrobiologia*, 484: 121-131. doi:10.1023/a:1021309222459.

González-Irusta, J. M. (2009). *Contribución al conocimiento del erizo de mar Paracentrotus lividus (Lamarck, 1816) en el Mar Cantábrico: ciclo gonadal y dinámica de poblaciones* (Doctoral dissertation, Tesis doctoral, Departamento de Ciencias y técnicas del agua y del medio ambiente, Universidad de Cantabria).

James, P., Noble, C., Hannon, C., Stefansson, G., Þórarinsdóttir, G., Sloane, R., Ziemer, N., Lochead, J. (2016) Sea urchin fisheries, management and policy review (Activity A4.2.1 of the URCHIN project), Nofima Report 18/2016. pp. 18.

Liu, H., Zhu, J., Kelly, M.S. (2010) Recent advances in sea-urchin aquaculture and enhancement in China. *Bull. Aquacult. Ass. Can.*, 108: 30-37.

Marinos, P. N. D. C., & Ejecutivo, I. Título: CULTIVO Y GESTIÓN DEL ERIZO DE MAR.

Rosón, G., Cabanas, J.M. & Pérez, F.F. (2008) Hidrografía y dinámica de la Ría de Vigo, in La Ría de Vigo, edited by A. Gonzales-Garces Santiso, F. Vilas Martín, and X. A. Alvarez-Salgado, Instituto de Estudios Vigueses, Vigo, Spain.

Veiga Villar, A. J. (1999). Caracterización de la flora y vegetación bentónica marina intermareal y de su riqueza en recursos explotables en las Rías Baixas gallegas (NO Península Ibérica).

## Actividad 3. Definición de protocolos de manejo para la mejora de la fase de criadero de *P. lividus*: cultivo larvario y fijación-metamorfosis

3.1. Se elaboró un manual de cultivo integral de *P. lividus* que se adjunta aparte en la carpeta correspondiente.

3.2. En uno de los cultivos larvarios realizados en las instalaciones de la ECIMAT se obtuvo una tasa de supervivencia de las larvas del 76%, lo que supone un incremento del 26% en la fase larvaria frente a la obtenida con protocolos anteriores.

### 3.3. Elaborado 1 estudio comparativo de los resultados de supervivencia y estado de desarrollo de las post- larvas de eriZO

#### Índice

Índice.....	24
Introducción.....	25
CULTIVOS LARVARIOS .....	26
Supervivencia .....	27
Estudio de los parámetros de cultivo larvario y margen de mejora.....	32
Salinidad.....	32
Temperatura .....	35
Densidad y dieta.....	37
Ph .....	42
FIJACIÓN Y METAMORFOSIS .....	45
CRECIMIENTO DE ERIZOS JUVENILES .....	50
Crecimiento de juveniles obtenidos en los cultivos larvarios.....	50
Estudio de la dispersión de tamaño de juveniles de erizo de mar (segundo cultivo larvario) obtenidos en laboratorio previa suelta en el mar .....	51
Tasa de crecimiento de Juveniles en cautividad: (Julien) .....	54
Conclusiones Generales.....	59
Bibliografía .....	59

## Introducción

La brusca disminución de las capturas de las especies más comerciales de erizo de mar en los principales países productores, así como el fuerte incremento de la demanda de este producto marino durante las últimas décadas promovió el desarrollo de numerosos estudios científicos enfocados a mejorar el proceso de producción de las especies más comerciales de erizos de mar (Keesing & Hall, 1998; Buitrago et al., 2005), ya que para reducir la presión de la pesca extractiva sobre estas especies es necesario realizar procesos de cultivo completos en condiciones de cautividad, que sean totalmente independientes de las poblaciones naturales (Grosjean et al., 1998).

Es necesario mejorar los protocolos de cultivo en las etapas en las que se produce mayor mortalidad en el cultivo del erizo de mar (cultivo larvario y etapa de metamorfosis) con el fin de incrementar la producción de las especies más comerciales de erizo de mar en cautividad y de reducir a su vez los costes de producción de las mismas, lo cual incentivará la producción acuícola de estas especies.

Existen numerosos factores que pueden influir en el crecimiento y la supervivencia de las larvas y los individuos juveniles de erizo de mar, como son el tipo y concentración de la dieta suministrada a las larvas, la densidad de cultivo, la temperatura, los parámetros del agua (pH, salinidad, O<sub>2</sub> disuelto), el sustrato de asentamiento, etc., aunque el efecto de la mayoría de estos factores sobre el cultivo de las especies más comerciales de equinodermos en general no se ha estudiado en profundidad (Azad et al., 2010).

En el caso de la especie *Paracentrotus lividus*, encontramos diferentes resultados en cuanto a la supervivencia de las larvas hasta alcanzar el estado premetamórfico, desde supervivencias de un 13-25% (Castilla-Gavilán et al., 2018) hasta supervivencias del 44% como la que se obtuvo en el trabajo de Ojea et al. (2009); Domínguez et al. (2007) obtuvieron también un 44% de supervivencia larvaria para la especie *Lytechinus variegatus*.

La composición y la concentración de alimento suministrado al cultivo larvario tiene un gran efecto también en el crecimiento, el desarrollo larvario y la posterior metamorfosis. Basch (1996) estudió el crecimiento y el desarrollo de larvas de asteroides, concluyendo que las mezclas de algas se parecían mucho más a las condiciones naturales de los alimentos planctónicos y además mejoraban el desarrollo larvario en comparación con las dietas unialgales; es necesario diseñar una mezcla de microalgas que provean a las larvas de los nutrientes y los ácidos grasos esenciales necesarios para su óptimo desarrollo. La concentración de la dieta varía en función de la etapa de desarrollo larvario, adaptándose a las necesidades de cada etapa y a las observaciones diarias del tracto digestivo de las larvas.

Otro factor importante es la densidad de cultivo larvario, las larvas de erizo de mar se han cultivado con éxito a densidades que oscilan entre los 0,25 a 5,00 individuos/mL, aunque el nivel óptimo parece ser 1-2 individuos/ mL (Azad et al., 2010).

La mayoría de las investigaciones sobre larvas y erizos juveniles se realizaron con salinidad y temperatura ambiente, pero algunos estudios demostraron la importancia de la temperatura en la tasa de crecimiento larvario, ya que la variación de temperatura del cultivo puede influir en los procesos fisiológicos y la estructura física de las larvas de invertebrados. La temperatura ejerce una influencia clave en el desarrollo larvario, ya que el rendimiento óptimo del cultivo se obtiene dentro de un rango estrecho de temperatura para cada especie particular de invertebrado marino (Anil et al., 2001; Ouellet & Chabot, 2005).

Existen gran variedad de especies de diatomeas bentónicas que se utilizan como sustrato para la fijación de las larvas en la etapa de metamorfosis, particularmente *Navicula sp.* puede servir como el fuente de alimento inicial para los juveniles (Azad et al., 2010). En los cultivos larvarios realizados en al marco del proyecto OCIMER se probaron diferentes sustratos como inductores del asentamiento larvario, incluyendo la macroalga verde *Ulvela lens*, que sirve también como primer alimento para las postlarvas de erizo recién transformadas.

El objetivo de este trabajo es optimizar los protocolos de cultivo para *P. lividus*, aportando información valiosa que sirva de base para futuras investigaciones en este campo.

## Cultivos larvarios

Se realizaron un total de 4 cultivos larvarios durante el desarrollo del proyecto OCIMER en las instalaciones de la ECIMAT. Durante el primero de ellos se sufrió un episodio de contaminación en los tanques de cultivo y no llegó a su fin, por lo que no se incluyen datos sobre el mismo en este informe.

El protocolo de recambio de agua fue el mismo para todos los cultivos, haciéndose un recambio total del agua de los tanques cada 3 días hasta el traslado de las larvas a los tanques de fijación. Se realizó una medición de parámetros del agua (Tª, Salinidad, pH y O<sub>2</sub> disuelto) semanalmente.

La alimentación se basó en una mezcla de 4 especies de microalgas para todos los cultivos: *Isochrysis galbana* (T-ISO), *Rhodomonas lens*, *Chaetoceros gracilis* y *Phaeodactylum tricornutum*, en la misma proporción, a una concentración que varió desde los 40 equivalentes durante los primeros días del desarrollo larvario hasta los 100 equivalentes en los días previos

a su traslado a los tanques de fijación. La cantidad de alimento diario se ajustó dependiendo de las observaciones del tracto digestivo de las larvas.

## Supervivencia

A continuación, se muestra la supervivencia obtenida en cada cultivo larvario realizado.

### 1<sup>er</sup> CULTIVO LARVARIO

El primer cultivo larvario realizado con éxito se inició con un desove realizado el día 13/07/2020, en el que se obtuvieron 5000000 de ovocitos aproximadamente, con un porcentaje de fecundación del 98%. Al día siguiente se trasladaron 320000 larvas por tanque a los 5 tanques de cultivo larvario de 100 L de capacidad.

Los valores medios de las condiciones de este cultivo fueron los siguientes:

- pH: 7,67
- Temperatura: 18'69º C
- Salinidad: 36,34 ppt
- O<sub>2</sub> disuelto: 7,52 mg/L
- Densidad inicial: 3'2 larvas/mL





Fig. 1.- Número de larvas supervivientes a lo largo del primer cultivo larvario.

Podemos observar en la Figura 1 que la supervivencia de las larvas de este primer cultivo estuvo por debajo de la media de la que se obtiene generalmente, con un valor final del 31'25% de supervivencia larvaria en la etapa pre-metamórfica con respecto al número de larvas iniciales.

Las larvas tardaron 25 días en alcanzar la etapa de desarrollo pre-metamórfica, con un rudimento equiniano de tamaño igual o superior a un tercio del estómago de la larva. Se trasladaron a fijación 25.000 larvas por tanque aproximadamente.

## 2º CULTIVO LARVARIO

Realizamos un desove el día 23/09/2020, en el que se obtuvieron 10000000 de ovocitos aproximadamente, con un porcentaje de fecundación del 99%. Al día siguiente se trasladaron a 2 tanques de cultivo larvario de 450 L de capacidad, a razón de 1000000 de larvas por tanque, con una densidad inicial de 2'2 larvas/tanque.

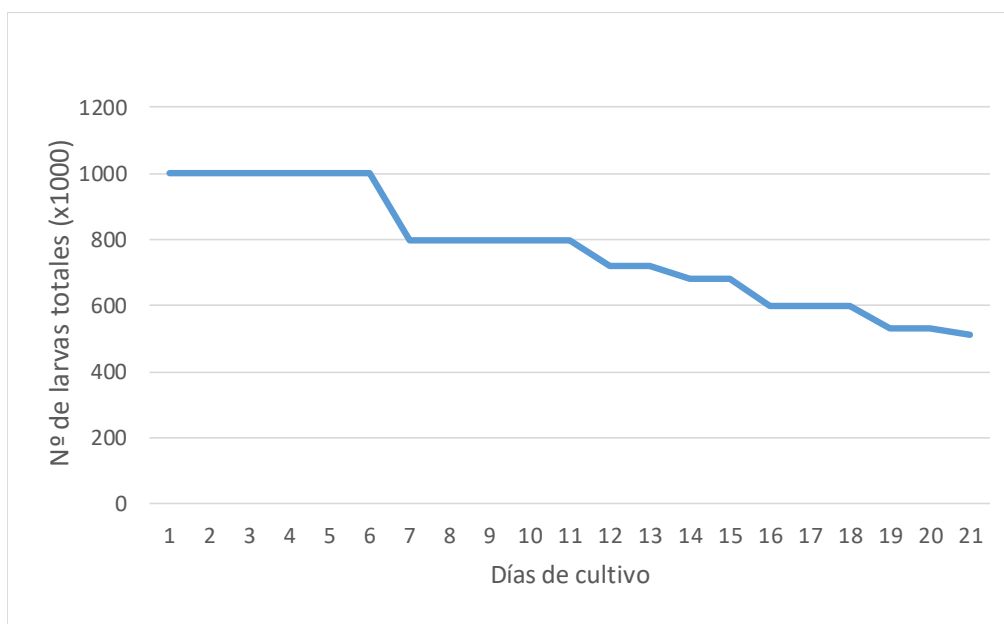


Fig. 2.- Número de larvas supervivientes a lo largo del segundo cultivo larvario.

Este cultivo alcanzó la etapa de desarrollo pre-metamórfica el día 20 de cultivo, momento en que se trasladaron las larvas a los tanques de fijación, en los que se sembraron aproximadamente 125000 larvas por tanque. Como podemos ver en la figura 2, en este caso la supervivencia al final del cultivo larvario fue del 51%, más acorde con la supervivencia media descrita en la literatura especializada.

Los valores medios de las condiciones de este cultivo fueron:

- pH: 8,14
- Temperatura: 18'57 °C
- Salinidad: 35,45 ppt
- O<sub>2</sub> disuelto: 8,09 mg/L
- Densidad inicial: 2'2 larvas/mL

### 3<sup>er</sup> CULTIVO LARVARIO

Se realizó un desove el día 05/05/2021, en el que se obtuvieron 850000 ovocitos aproximadamente, con un porcentaje de fecundación del 98% en este caso. Al día siguiente se trasladaron a 2 tanques de cultivo larvario de 300 L de capacidad, a razón de 250000 larvas por tanque, a una densidad inicial de 0'83 larvas/mL. Los tanques de cultivo larvario se cubrieron en esta ocasión con una tapa provista de una malla de sobra, que impidió la incidencia directa de la luz sobre las larvas.

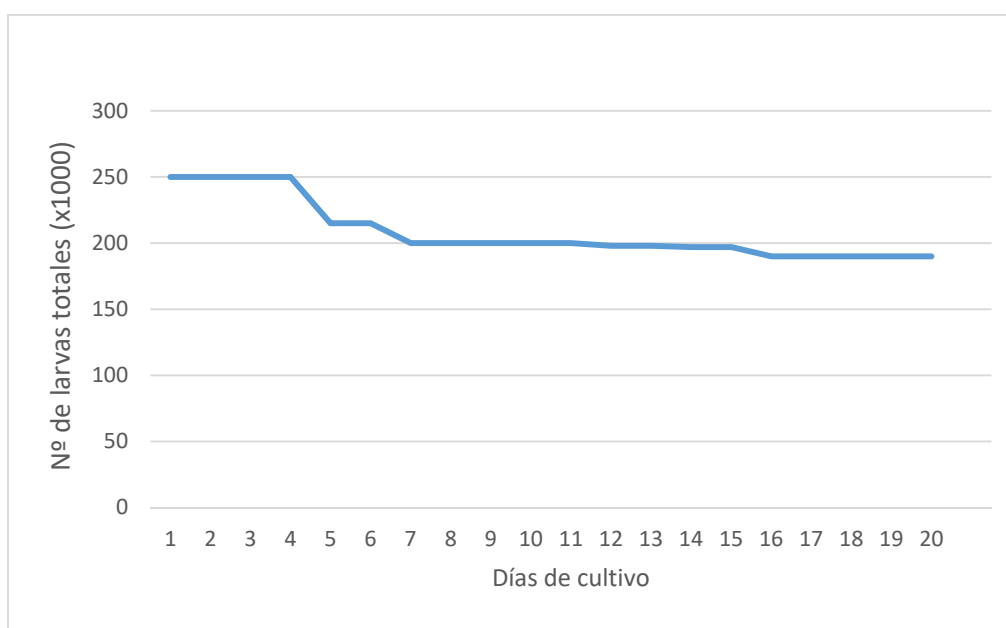


Fig. 3.- Número de larvas supervivientes a lo largo del tercer cultivo larvario.

En la Figura 3 observamos que en este caso la mortalidad de las larvas a lo largo del cultivo fue mucho menor, manteniéndose más estable y alcanzándose una supervivencia del 76% de las larvas al final del cultivo, lo que supone un incremento del 32% sobre la supervivencia media de los cultivos que se recogen en la literatura.

Por otra parte, en este cultivo había aproximadamente un 60% de larvas competentes el día 15 del cultivo, aunque se esperó unos días más para realizar el traslado a los tanques de fijación con el fin de que estuvieran bien cubiertos de cada microalga utilizada como inductora para la fijación de las larvas, se sembraron 25000 larvas por tanque aproximadamente.

Los valores medios de las condiciones de este cultivo fueron:

- pH: 7,75
- Temperatura: 18'89 ° C
- Salinidad: 36,04 ppt
- O<sub>2</sub> disuelto: 7,86 mg/L
- Densidad inicial: 0'83 larvas/mL

Tabla 1.- Tabla comparativa de los parámetros de cultivo larvario.

	pH	T <sup>a</sup>	Salinidad	O <sub>2</sub> disuelto	Densidad inicial (larvas/mL)	Supervivencia (%)
1 <sup>er</sup> Cultivo larvario	7,5-8	18'69 <sup>o</sup> C	36,34 ppt	7,52 mg/L	3,2	31,25
2 <sup>o</sup> Cultivo larvario	8-8,5	18'57 <sup>o</sup> C	35,45 ppt	8,09 mg/L	2,2	55
3 <sup>er</sup> Cultivo larvario	7,5-8	18'89 <sup>o</sup> C	36,04 ppt	7,86 mg/L	0,83	76

Creemos que la supervivencia obtenida durante el tercer cultivo larvario, significativamente mayor que la de los otros cultivos realizados (y que la descrita en la literatura, con un máximo del 44% de supervivencia) está relacionada principalmente con la densidad inicial a la que se siembran las larvas en los tanques de cultivo, que según la mayoría de los autores debe estar entre 1-2 larvas/mL (Azad et al., 2010), aunque el hecho de tapar los tanques con una malla de sobra probablemente ejerció a su vez un efecto positivo sobre la rapidez del desarrollo y la mayor supervivencia del cultivo, ya que las condiciones de manejo, la composición y frecuencia de la dieta suministrada y los valores de los parámetros de cultivo fueron similares en los tres cultivos desarrollados.

## Conclusión

La supervivencia de las larvas de *Paracentrotus lividus* se puede incrementar significativamente mediante la siembra de las larvas a una densidad inferior a 2 larvas/mL, y cubriendo los tanques de cultivo con una malla oscura que impida la incidencia directa de la luz. Son necesarios más estudios en este campo para concretar los valores óptimos de los parámetros de cultivo más limitantes, como son la temperatura, el pH, etc. La dieta suministrada demostró ser eficaz para alcanzar un buen desarrollo larvario en 15 días de cultivo.

## Estudio de los parámetros de cultivo larvario y margen de mejora

Se realizaron diferentes bioensayos de desarrollo y crecimiento larvario con un amplio rango de valores de los principales parámetros de cultivo, con el objetivo de determinar los rangos óptimos dentro de los cuales las larvas alcanzan un mayor tamaño y se desarrollan en el menor tiempo posible, estableciendo además los márgenes de estos valores dentro de los cuales se podrían mejorar las condiciones del cultivo larvario y obtener mayor supervivencia y rapidez del desarrollo larvario.

Los parámetros analizados en los bioensayos fueron la salinidad, la temperatura y el pH del agua del cultivo larvario.

### Salinidad

Se han evaluados los efectos de la exposición a distintas salinidades, que van desde la salinidad del agua de mar (35‰), tomada como salinidad control, hasta 3,5‰. En total se han evaluado los efectos de 10 salinidades distintas (3,5‰, 7‰, 10,5‰, 14‰, 17,5‰, 21‰, 24,5‰, 28‰, 31,5‰ y 35‰). Las larvas dispuestas en botes cerrados de 20 ml, fueron incubadas para su crecimiento durante 48 horas en una cámara isotérmica a 20°C.

El resultado de este bioensayo muestra que existen diferencias significativas en longitud entre las larvas desarrolladas a salinidad control (35‰) y aquellas que lo hicieron en el resto de las salinidades. Puede observarse, como desde 3,5‰ hasta 24,5 ‰ no existe crecimiento y los huevos apenas comienzan su transformación a larva, por lo que su tamaño no sobrepasa los 90 µm. Sin embargo, a salinidad 28‰ ya se aprecia un crecimiento y desarrollo importante, cerca de los 400 µm, pero que no alcanza a la longitud de las larvas que se desarrollaron a mayores salinidades. Por último, no se aprecian diferencias significativas en longitud entre 31,5‰ y la salinidad control (Figura 4).

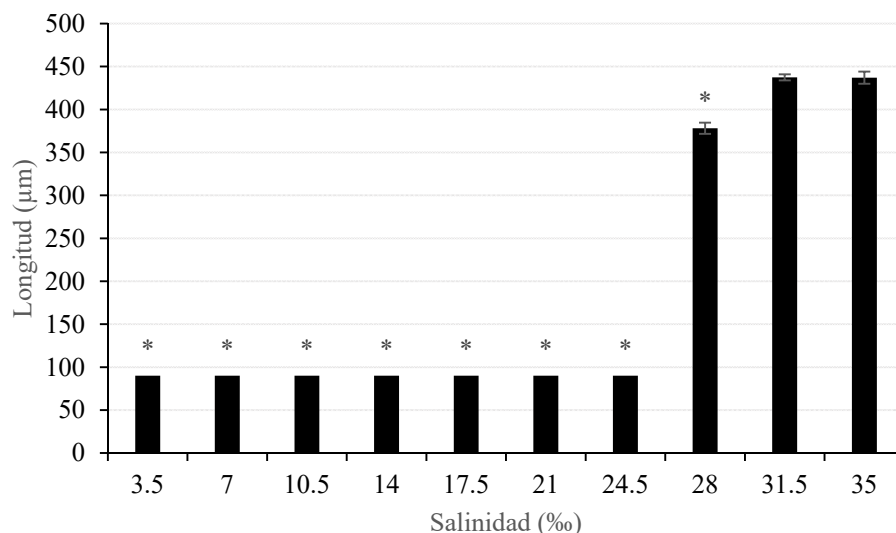


Figura 4. Gráfico de salinidad (eje X) y longitud (eje Y) en µm. Se aprecian diferencias significativas en la longitud de las larvas en µm, entre las larvas desarrolladas a salinidad control 35‰ y el resto de las salinidades menos en el caso de 31,5‰ en donde no se aprecian diferencias significativas.

Los mismo ocurre en el caso del % normalidad, donde existen diferencias significativas en el % de normalidad entre el control y todas las salinidades, desde 3,5‰ hasta 28 ‰ y no apreciándose diferencias entre 31,5‰ con el control (Figura 5).

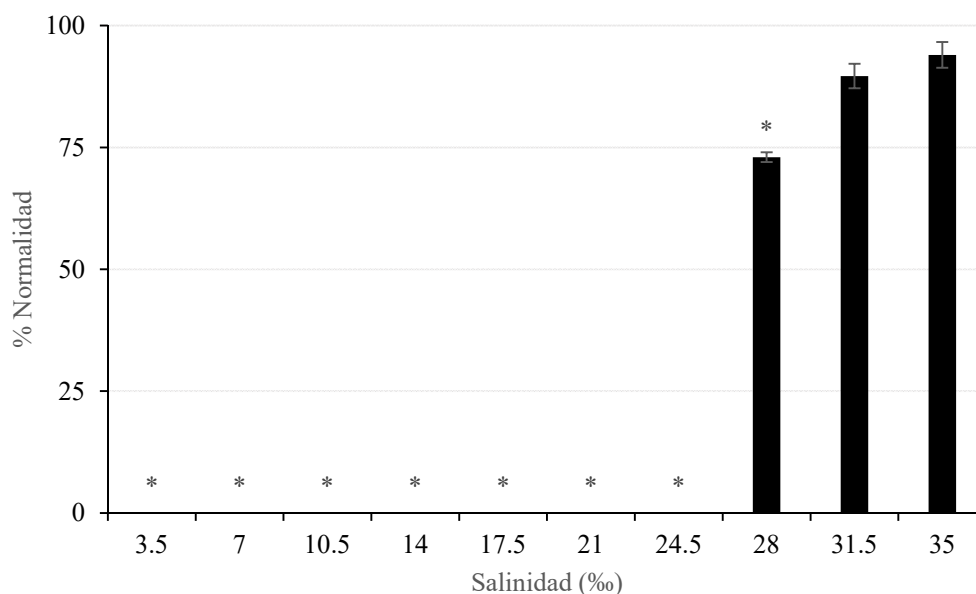


Figura 5. Gráfico de salinidad (eje X) y % normalidad (eje Y). Se aprecian diferencias significativas en el porcentaje de normalidad de las larvas desarrolladas a distintas salinidades que van desde 3,5‰ hasta 28‰ frente a las desarrolladas a salinidad control 35‰, salvo en el caso de 31,5‰ en donde no se aprecian diferencias significativas.



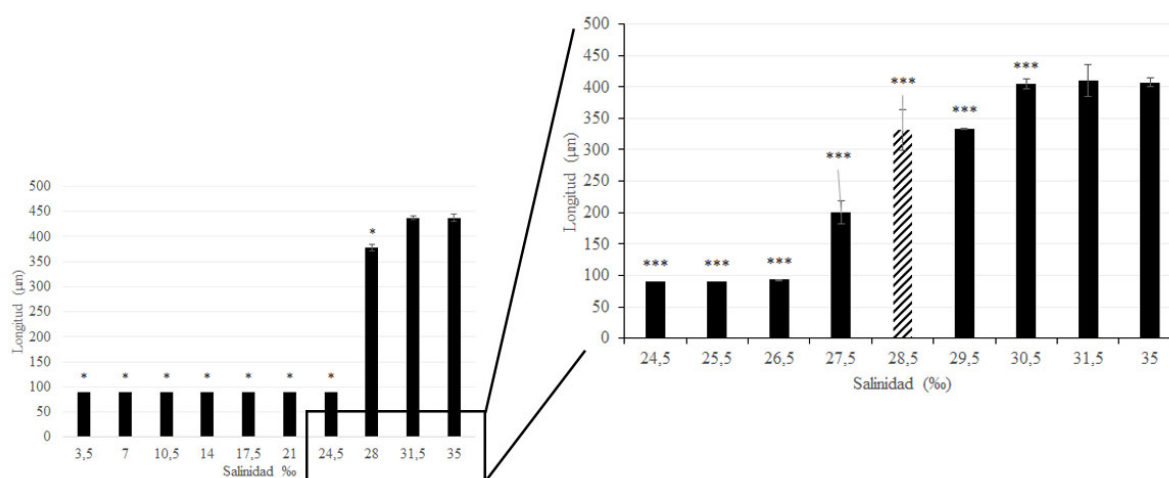
El segundo bioensayo de salinidad se realiza en las mismas condiciones que el anterior, pero en este caso con salinidades distintas y más próximas entre sí, con el fin de determinar, el punto de inflexión en el cual comienzan a apreciarse efectos significativos en las larvas.

En total se han evaluado los efectos de 9 salinidades distintas (3,5‰, 7‰, 10,5‰, 14‰, 17,5‰, 21‰, 24,5‰, 28‰, 31,5‰ y 35‰). Las larvas dispuestas en botes cerrados de 20ml, fueron incubadas para su crecimiento durante 48 horas en una cámara isotérmica a 20°C.

Como resultado se aprecian diferencias altamente significativas en la longitud de las larvas (en  $\mu\text{m}$ ) entre las larvas desarrolladas a salinidad control 35‰ y el resto de las salinidades menos en el caso de 31,5‰ en donde no se aprecian diferencias significativas. En el caso de la salinidad de 28,5‰, (con trama de líneas) solo presenta una réplica con un total de n=35 larvas debido a un fallo en la experimentación (Figura 6).

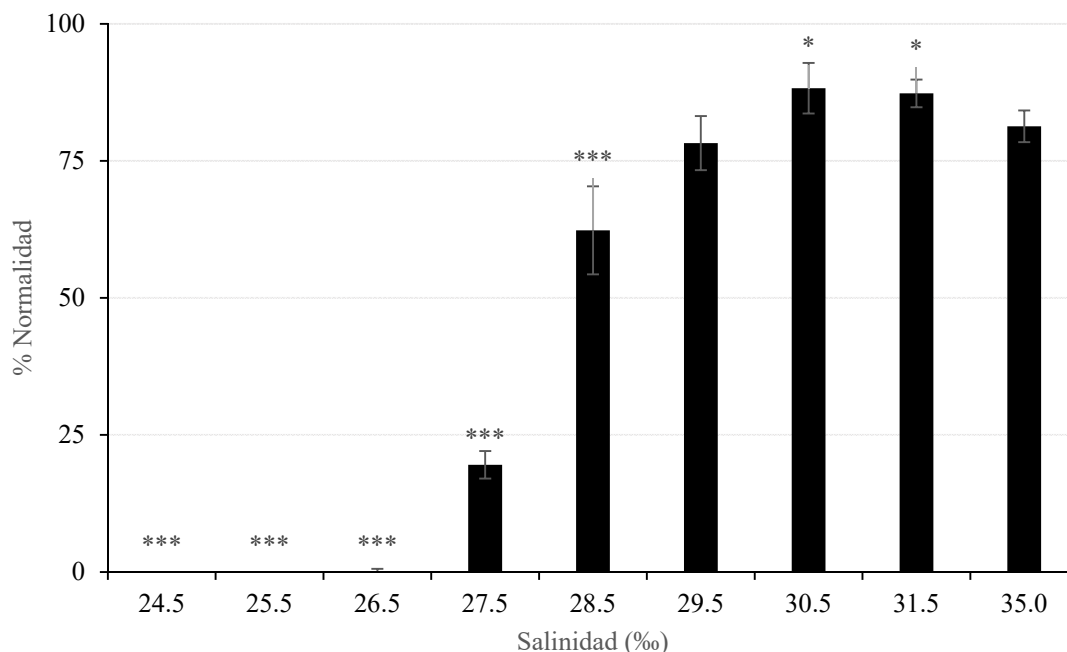
Como resultado del % de normalidad existen diferencias altamente significativas entre las larvas desarrolladas a distintas salinidades que van desde 24,5‰ hasta 28,5‰ frente a las larvas control a 35‰. Sin embargo, no se aprecian diferencias significativas en el caso de 29,5‰ y 31,5‰ (Figura 7).

Análisis de los resultados de estos bioensayos apuntan a que a salinidades por encima de 28,5‰ el crecimiento y desarrollo de las larvas *P.lividus* es similar al control. Por lo tanto las larvas de *P.lividus* soportan un descenso de la salinidad que de alrededor del 18,57% en los primeras 48 horas de su desarrollo. Este descenso en la salinidad podría ser producido por efectos en el cultivo de *P.lividus*. El factor de la salinidad del agua condicionará la localización de la hatchery, ya que no podrá estar localizada en zonas con variaciones de salinidad elevadas como el fondo de las Rías.



**Figura 6.** Gráfico de estudio de salinidad más detallada (eje X) y longitud (eje Y) en  $\mu\text{m}$  que se ha desarrollado a partir del estudio preliminar en la figura 4 (izquierda). Se aprecian diferencias altamente significativas en la longitud de las larvas en  $\mu\text{m}$ , entre las larvas desarrolladas a salinidad control 35‰ y el

resto de las salinidades menos en el caso de 31,5‰ en donde no se aprecian diferencias significativas. En el caso de la salinidad de 28,5‰, (con trama de líneas) solo presenta una réplica con un total de n=35 debido a un fallo en la experimentación.



**Figura 7. Gráfico de salinidad (eje X) y % normalidad (eje Y). Se aprecian diferencias altamente significativas en el porcentaje de normalidad de las larvas desarrolladas a distintas salinidades que van desde 24,5‰ hasta 28,5‰ frente a las desarrolladas a salinidad control 35‰. Sin embargo, no se aprecian diferencias significativas en el caso de 29,5‰ y 31,5‰.**

## Temperatura

En este bioensayo se han evaluados los efectos de la exposición a distintas temperaturas, desde 15°C hasta los 30°C, tomando como temperatura control los 20°C. En total se han evaluado los efectos de 7 temperaturas distintas (15°C, 18°C, 20°C, 22.5°C, 25°C, 27.5°C y 30°C). Las larvas dispuestas en botes cerrados de 20ml, fueron incubadas para su crecimiento durante 48 horas en distintas cámaras isotérmicas con las temperaturas descritas anteriormente.

Como resultado de este bioensayo puede apreciarse cómo las larvas que presentan un mayor tamaño son aquellas que se han desarrollado 20°C, la cual sería la temperatura control. Observándose diferencias en la longitud significativas ( $p < 0.01$ ) entre las larvas desarrolladas a la temperatura control 20°C y el resto de las temperaturas (Figura 8). Según criterios de

expertos (Saco-Álvarez *et al.*, 2010) se consideran larvas normales a las 48 horas si superan la longitud de 218 $\mu$ m, lo cual se cumple para las temperaturas de 18 $^{\circ}$ C hasta 25 $^{\circ}$ C.

Sin embargo, no sólo tenemos que atender a la longitud larvaria, la normalidad en el desarrollo de las larvas también debe tenerse en cuenta (Figura 9). Desde nuestro criterio no se puede considerar que un cultivo con menos de un 80% de larvas normales ha tenido éxito. En el caso del análisis de la normalidad se puede ver que de 18 a 20 $^{\circ}$ C superamos este baremo, con 22.5 con una normalidad cercana y 25 $^{\circ}$ C con una normalidad muy baja, lo cual excluiría esta temperatura de futuros experimentos a pesar de que las larvas tenían un buen tamaño.

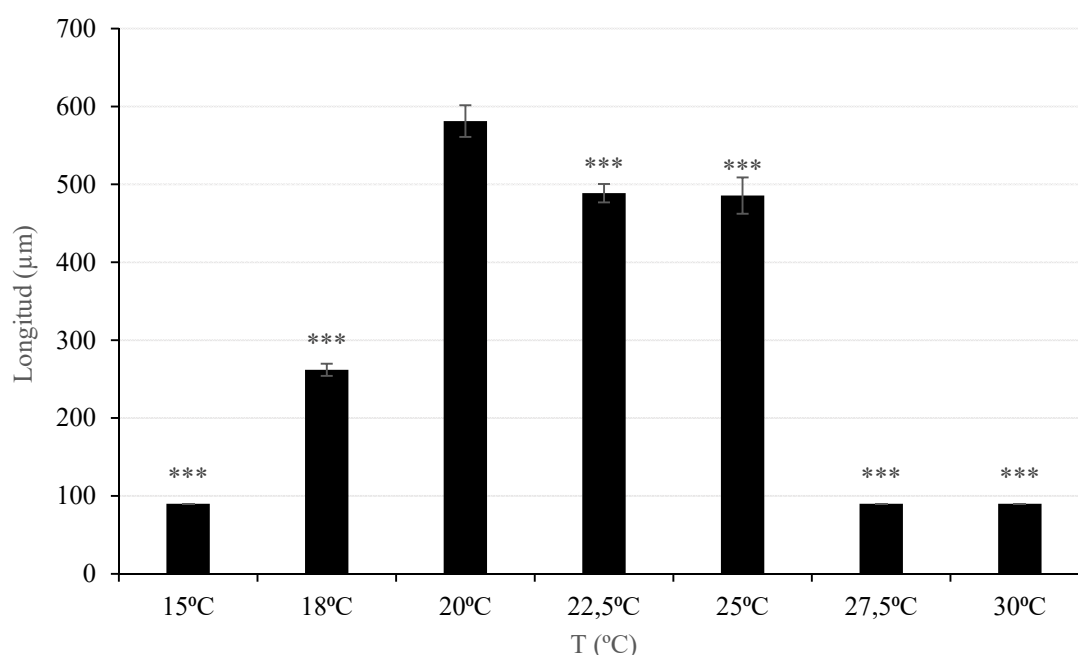


Figura 8. Gráfico de temperatura (eje X) y longitud (eje Y) en  $\mu$ m. Se aprecian diferencias en la longitud de las larvas significativas entre las larvas desarrolladas a la temperatura control 20 $^{\circ}$ C y el resto de las temperaturas ( $p < 0.01$ ).

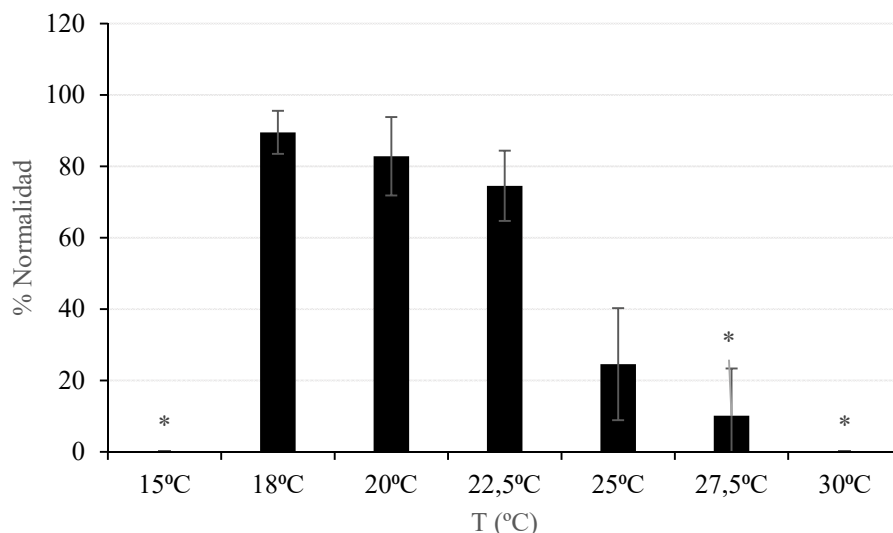


Figura 9. Gráfico de temperatura (eje X) y % normalidad (eje Y). Se aprecian diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre el control de 20°C y las temperaturas más extremas del test.

## Densidad y dieta

En este ensayo se han analizado el efecto de múltiples factores sobre huevos fertilizados de *P. lividus* y su posterior desarrollo larvario a lo largo de 21 días. Concretamente, se han evaluado la exposición a 10 tratamientos diferentes (con 2 réplicas por cada uno), compuestos por factores tales como: sistemas de renovación de agua, densidad, dieta, y exposición a luz solar. Para ello, se han dispuesto de 18 tanques troncocónicos, con un volumen máximo de 150L, a una temperatura de  $20^{\circ}\text{C} \pm 1$  donde se desarrolló el cultivo larvario. Debido a la complejidad de las combinaciones de factores posibles se da dispuesto de un cuadro explicativo con los 9 tratamientos utilizados, con el fin de facilitar la comprensión del modelo de experimentación (Tabla1).

Se han un probado dos sistemas de renovación de agua, uno en circuito abierto, con una tasa de renovación de 150L en 24h (0.10 L/min) y otro en circuito cerrado. Para ambos sistemas se realizó una limpieza semanal. Para los tanques circuito abierto la limpieza y desinfección de los tanques se produjo, posterior a la retirada de las larvas, una vez por semana, mientras que en el caso de circuito cerrado esta limpieza y desinfección se realizó 3 veces por semana.

Para evaluar el factor densidad se han dispuesto las larvas en tanques a dos densidades distintas, densidad  $\leq 1$  (D1) y densidad  $\geq 3$  (D2), permitiendo evaluar si existe un efecto denso-dependiente o de competencia entre las larvas durante los primeros días del desarrollo. A día 6 de cultivo se produjo un reajuste de las densidades, con el fin de ajustar la densidad a las requeridas para este experimento. Las larvas necesarias para este reajuste de la densidad permanecieron en condiciones control hasta el momento de ser inoculadas en el tratamiento correspondiente.

Además, se ha evaluado el efecto de la dieta en su desarrollo, alimentando las larvas con dos dietas distintas, una monoalgal y otra tetralgal. La primera de ellas está compuesta solamente por la especie *Rhodomonas lens* Pascher & Ruttner, 1913, con un total de 60 equivalentes por ml para circuito abierto y 40 para circuito cerrado. Por el contrario, la dieta tetralgal está compuesta por las especies *Isochrysis galbana* Parke, 1949, *Phaeodactylum tricorutum* Bohlin, 1897, *Rhodomonas lens* Pascher & Ruttner, 1913 y *Chaetoceros*, con un total de 60 equivalentes en circuito abierto, repartidas equitativamente en 15 equivalentes por cada especie, mientras que en circuito cerrado la dieta estaba compuesta por 40 equivalentes, a 10 equivalentes por especie. El número de equivalentes fue modificado acorde con las demandas alimenticias de las larvas para su correcto desarrollo, pero siempre manteniendo dicha proporción hasta un máximo de 100 equivalentes. Por último, se ha evaluado el efecto a luz solar, peseteando tratamientos con luz con un fotoperiodo 16:8, y otro con 24 horas de oscuridad.

Tabla 1. Tabla explicativa de factores a los que se han sometido las larvas de *P.lividus* durante 21 días de cultivo larvario. El símbolo X indica los factores realizados en cada tratamiento.

Tratamientos	CC	CA	Luz	Oscuridad	Dieta mono	Dieta tetra	D1	D2
1		X	X			X	X	
2		X	X			X		X
3		X	X		X		X	
4		X	X		X			X
5	X		X			X	X	
6	X		X			X		X
7	X		X		X		X	
8	X		X		X			X
9	X			X		X	X	

A lo largo de estos 21 días se han recogido muestras de las larvas, coincidiendo con el momento de la bajada de los tanques para su limpieza y desinfección. Los efectos de estas exposiciones se han evaluado tomando como referencia la longitud de las larvas, así como el % de normalidad de las mismas siguiendo el método descrito por Saco-Álvarez *et al.*, 2010.

Debido a la complejidad estadística que presenta el análisis de forma conjunta, todos los datos obtenidos en este apartado se presentan sin un análisis estadístico y en estos momentos se trabaja en para obtener un correcto análisis.

### Cultivo abierto

Si observamos los datos obtenidos en circuito abierto podemos ver cómo, aunque en un primer momento si existe pequeñas diferencias en el tamaño de las larvas durante los primeros días,

a día 21 estas diferencias son mínimas. Tomándose como tratamiento control para circuito abierto, el tratamiento que incluye dieta tetralgal, luz (16:8) y D1 podemos concluir que en circuito abierto no existen diferencias en las larvas, independientemente de su dieta y densidad, frente al control (Figura 10).

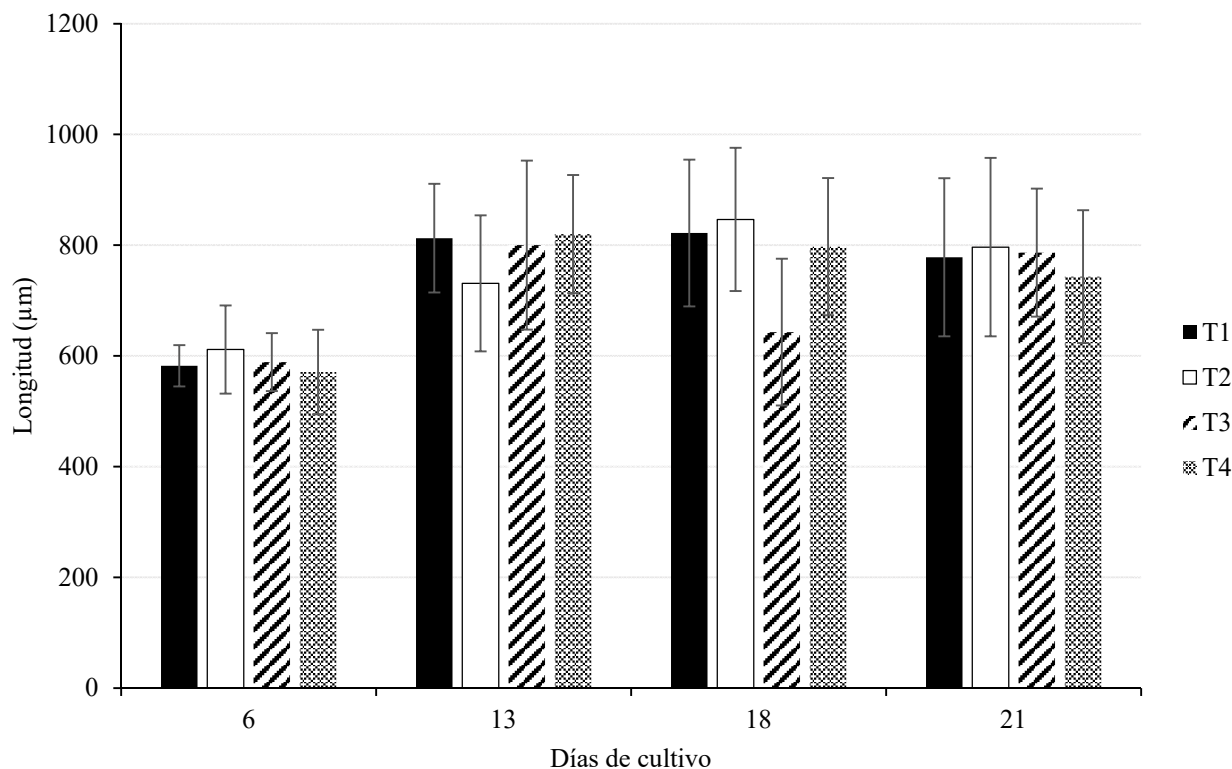


Figura 10. Gráfico de días de cultivo (eje X) y longitud (eje Y) en  $\mu\text{m}$ . Se aprecian pequeñas diferencias en la longitud de las larvas en los primeros días de cultivo entre los distintos tratamientos. Sin embargo, a día 21 esta diferencia es mínima y podemos concluir que en circuito abierto no existen diferencias en las larvas, independientemente de su dieta y densidad, frente al control.

Como medida de la tasa de supervivencia se ha utilizado la tasa relativa de las larvas por ml. Esta ha sido calculada a partir de la densidad obtenida en cada tratamiento por día, y ponderada posteriormente al 100%, tomando como referencia el día 6 de cultivo. Aunque en un primer momento puede apreciarse diferencias en la densidad de los tratamientos, a día 21 el tratamiento, T4 junto al control (T1), seguidos del T3, son aquellos que muestran un mayor porcentaje de supervivencia. Por lo tanto, podemos concluir que en circuito abierto el tratamiento monoalgal a densidad  $\geq 3$  (D2) presenta un porcentaje de supervivencia mayor que los demás tratamientos, seguido de cerca del tratamiento control. Además, ha de tenerse en cuenta que el único tratamiento cercano al 80% de supervivencia requerido para un larvario válido y competente es el tratamiento (T4) (Figura 11).



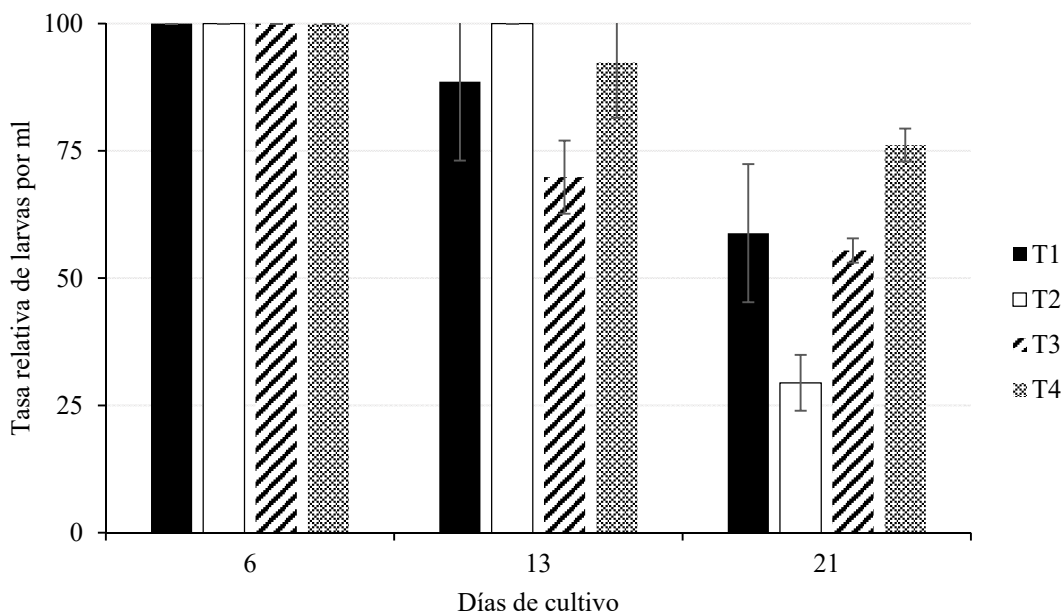


Figura 11. Gráfico de días de cultivo (eje X) y tasa relativa de larvas por ml (eje Y) en  $\mu\text{m}$ . La tasa relativa de las larvas por ml se ha calculado a partir de la densidad obtenida en cada tratamiento ponderada al 100%, tomando como referencia el día 6 de cultivo. Puede apreciarse diferencias en la densidad de los tratamientos. Sin embargo, a día 21 el tratamiento T4, junto al control (T1), seguidos del T3, son aquellos que muestran un mayor porcentaje de supervivencia. Por lo tanto, podemos concluir que en circuito abierto el tratamiento monoalgal a densidad 2 es el más efectivo, seguido del tratamiento control.

## Cultivo cerrado

Como puede apreciarse en la figura 9, en el caso de circuito cerrado vemos como existe en todos los tratamientos un evidente aumento en la longitud de las larvas a medida que transcurren los días de cultivo. Sin embargo, al llegar el día 21 se observa un pequeño descenso. Este descenso es fruto del proceso de transformación de las larvas *pluteus*, para poder llevar a cabo el proceso de asentamiento. Si comparamos el tratamiento control (T5) para circuito cerrado, tratamiento que incluye dieta tetralgal, luz (16:8) y D1, con los demás tratamientos con luz (16:8), podemos apreciar como uno de los tratamientos (T7) parece tener un efecto mayor en la longitud que el resto, seguido del tratamiento T8 y el tratamiento control (T5). A modo de conclusión podemos afirmar que en circuito cerrado y luz (16:8), las condiciones más favorecen el crecimiento de las larvas son una dieta monoalgal y densidad. Sin embargo, el tratamiento (T9) en el cual las larvas se desarrollan en total oscuridad, las larvas presentan todavía mayor longitud que el tratamiento T8.

Si observamos los datos de supervivencia en forma de tasa relativa de larvas por ml, vemos cambios en dicha tasa a lo largo de los días en los diferentes tratamientos. Sin embargo, a día 21 el tratamiento T8, muestran un porcentaje de supervivencia mucho mayor que el resto. Por lo tanto, podemos concluir que en circuito cerrado el tratamiento T8, el cual incluye dieta monoalgal, densidad  $\geq 3$  (D2), y luz (16:8), presenta una tasa de supervivencia mayor, cerca del 100% de las larvas, frente al resto de los tratamientos, siendo el único que presenta una supervivencia mayor del 80%, requisito requerido para un larvario válido y competente. En este caso al contrario con lo que ocurría con la longitud, el tratamiento T9, presenta una tasa de supervivencia muy baja inferior al 50%. (Figura 10).

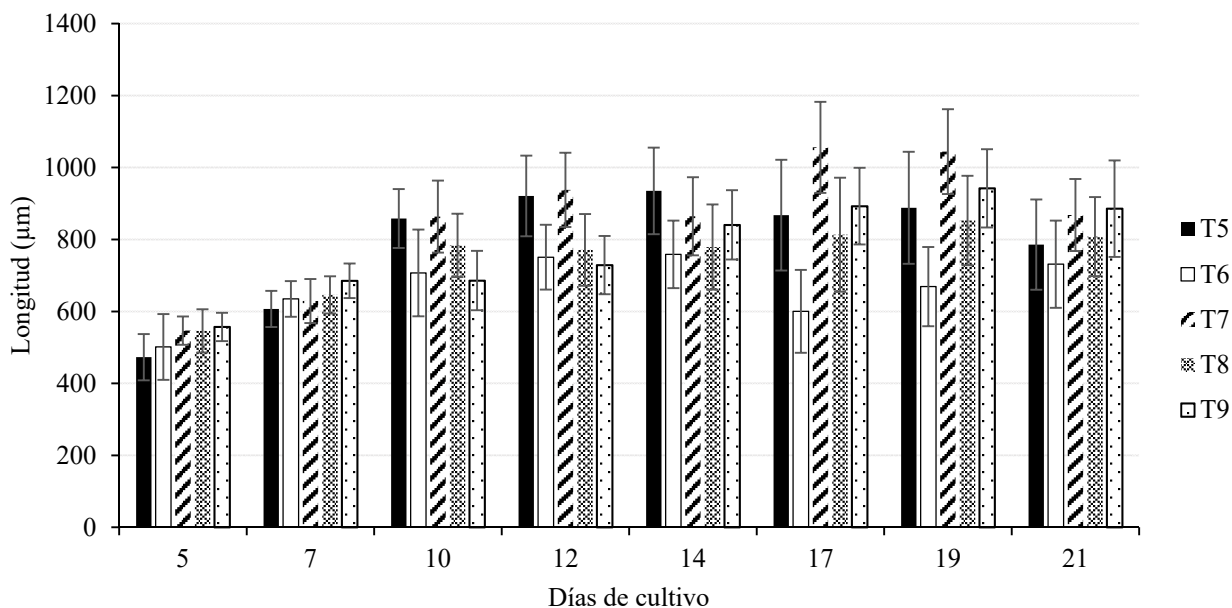


Figura 12. Gráfico de días de cultivo (eje X) y longitud (eje Y) en  $\mu\text{m}$ . Se aprecian pequeñas diferencias en la longitud de las larvas en los primeros días de cultivo entre los distintos tratamientos. Sin embargo, a día 21 existen pequeñas diferencias entre los tratamientos, aunque el tratamiento (T7) parece tener un mayor efecto que el resto de los tratamientos, superando al tratamiento control.

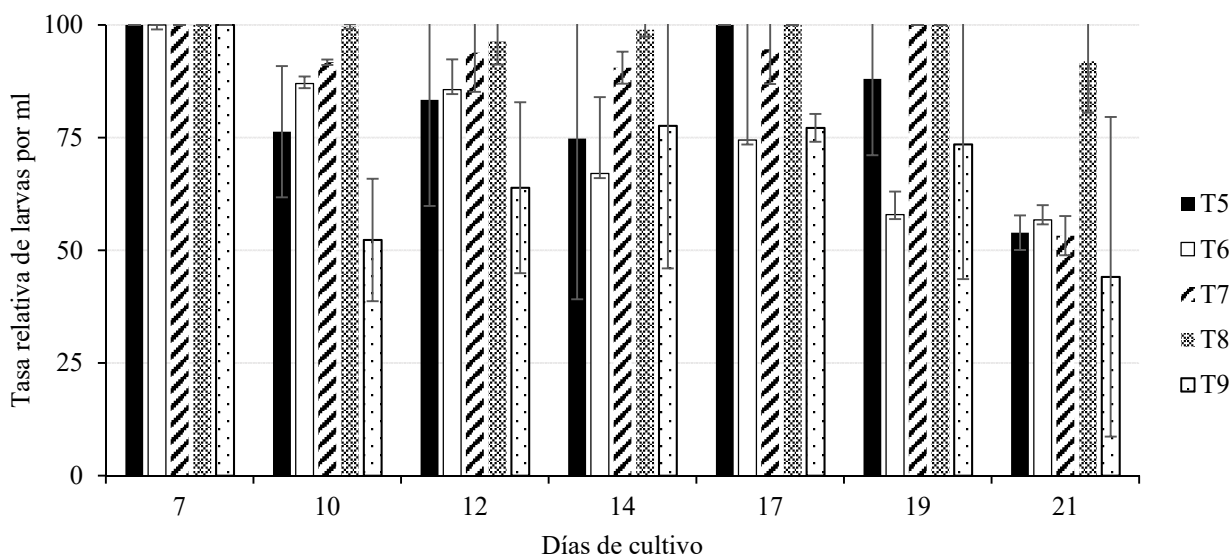
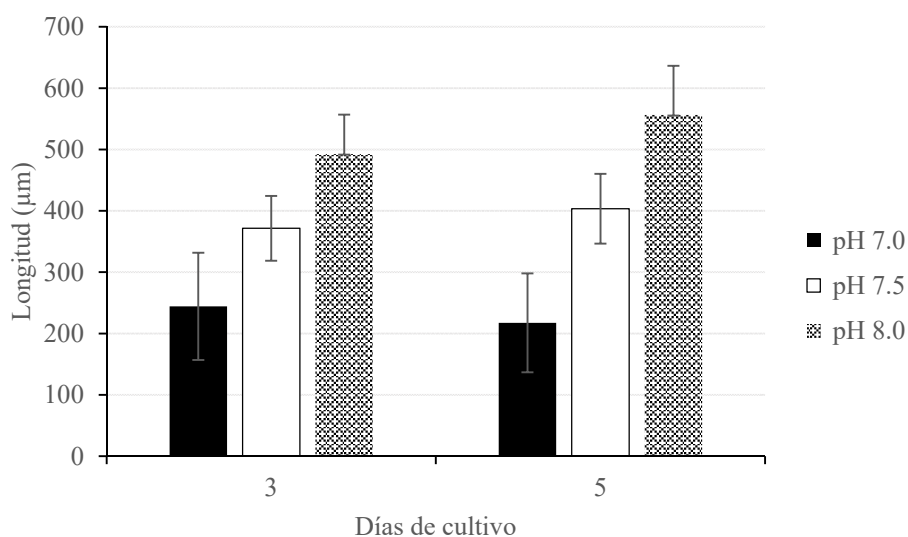


Figura 13. Gráfico de días de cultivo (eje X) y tasa relativa de larvas por ml (eje Y) en  $\mu\text{m}$ . La tasa relativa de las larvas por ml se ha calculado a partir de la densidad obtenida en cada tratamiento ponderada al 100%, tomando como referencia el día 7 de cultivo. Puede apreciarse diferencias en la densidad de los tratamientos. Sin embargo, a día 21 el tratamiento T8, muestran un porcentaje de supervivencia mucho mayor que el resto. Por lo tanto, podemos concluir que en circuito cerrado el tratamiento T8, el cual incluye dieta monoalgal, densidad  $\geq 3$  (D2), y luz (16:8), presenta una tasa de supervivencia mayor, cerca del 100% de las larvas, frente al resto de los tratamientos.

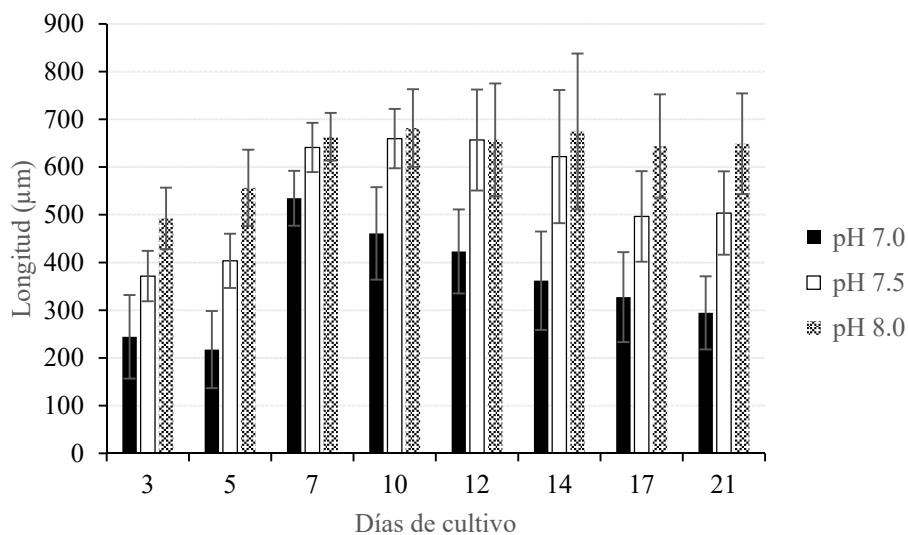
## Ph

En este ensayo se ha querido probar el efecto que presenta el pH en la supervivencia y desarrollo de la larvas de *P.lividus*. Concretamente se han el efecto de tres pH distintos, pH 7.0, pH 7.5 y pH 8.0, en dos procesos experimentales, uno desde huevo a larva pluteus de 5 días, y otro con larva pluetus de 6 días desarrollada en condiciones control, similares a las del ensayo de densidad y dieta hasta los 21 días de crecimiento. Ambos procesos experimentales se han llevado a cabo dentro columnas de 60L, que componían un FotoBioreactor, ya que esta estructura presenta un control exhaustivo del pH mediante la inyección de CO2 en tiempo real, lo que permite un mayor control sobre el pH que otros sistemas, y por lo tanto permite trabaja con volúmenes de agua mucho más grandes. Ambos procesos experimentales han transcurrido con una densidad densidad  $\leq 1$  (D1), y las larvas han sido alimentadas con una dieta tretragal de 60 equivalentes similar a la dieta del ensayo anterior de densidad y dieta, aumentando el número de equivalentes hasta un máximo de 100 siguiendo la demanda de alimento de las larvas que permitiese su correcto desarrollo y crecimiento.



Días Crecimiento	pH 7.5 C1 y C2/C4	pH 7.0 C5 y C6	pH 8.0 C7 y C8
0	7,61	6,87	8,1
1	7,7	7,03	8,08
2	7,34	7,33	8,04
3	7,3	6,5	8,19
4	7,49	6,46	8,07
5	7,58	6,54	8,12
0	7,43	6,91	8,07
1	7,5	7,33	8,15
2	7,49	7,18	8,15
3	7,45	6,72	8,19
4	7,6	6,51	8,07
5	7,54	6,86	8,13
<b>Media</b>	7,50	6,85	8,11
<b>Desviación típica</b>	0,11	0,32	0,05
<b>Desviación Real</b>	0,09	0,29	0,11
<b>Desviación Esperada</b>	0,50	0,50	0,50

Figura 14.- Longitud larvaria ( $\mu\text{m}$ ) a lo largo de los primeros 5 días de desarrollo larvario para los 3 pH estudiados, resultados presentados son media de  $n=35$  larvas y dos replicas por tratamiento. Tabla muestra la evolución media del pH en cada una de las columnas a lo largo de los 5 días y su desviación real frente a la desviación esperada de  $\pm 0.5$ .



Días Crecimiento	pH 7.5 C1 y C2/C4	pH 7.0 C5 y C6	pH 8.0 C7 y C8
6	7,5	7	8
7	7,29	6,95	8,08
8	7,18	7,2	7,99
9	6,91	7,08	8,01
10	7,72	6,98	8,1
11	7,07	6,99	8,06
12	7,34	6,97	7,99
13	7,53	6,77	8,11
14	7,82	7,05	8,09
15	7,93	6,81	8,03
16	7	6,81	8,03
17	7,79	6,65	7,93
18	6,8	6,84	8,11
19	7,05	6,89	8,09
20	7,15	7,3	8,12
21	7,14	6,89	8,11
6	7,5	7	8
7	7,4	7,22	8,12
8	7,49	7,3	8
9	7,5	7,36	8,11
10	7,48	7,12	8,17
11	7,52	7,2	8,08
12	7,49	7,14	8,07
13	7,59	7,01	7,93
14	7,69	7,07	7,78

15	7,77	6,97	8,04
16	7,77	6,9	8,04
17	8,03	6,98	7,93
18	8,05	7,3	8,12
19	7,66	7,06	8,13
20	7,6	7,34	8,1
21	7,64	6,85	8,13
Media	7,5	7,0	8,1
Desviación típica	0,3	0,2	0,1
Desviación Real	0,2	0,1	0,1
Desviación Esperada	0,5	0,5	0,5

Figura 15.- Longitud larvaria ( $\mu\text{m}$ ) a lo largo de los días 6 a 21 desarrollo larvario para los 3 pH estudiados, resultados presentados son media de  $n=35$  larvas y dos replicas por tratamiento. Tabla muestra la evolución media del pH en cada una de las columnas a lo largo de los 15 días y su desviación real frente a la desviación esperada de  $\pm 0.5$ .

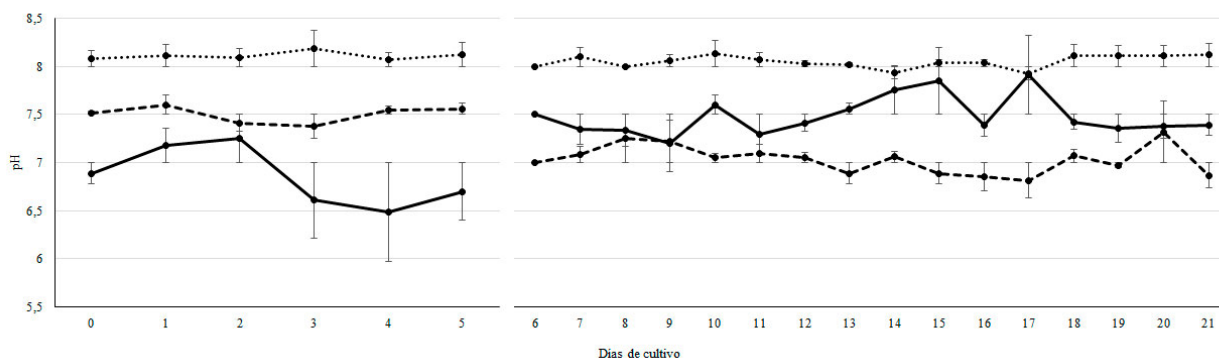


Figura 16.- Evolución del pH en ambos experimentos a lo largo del tiempo, media  $\pm$  DE

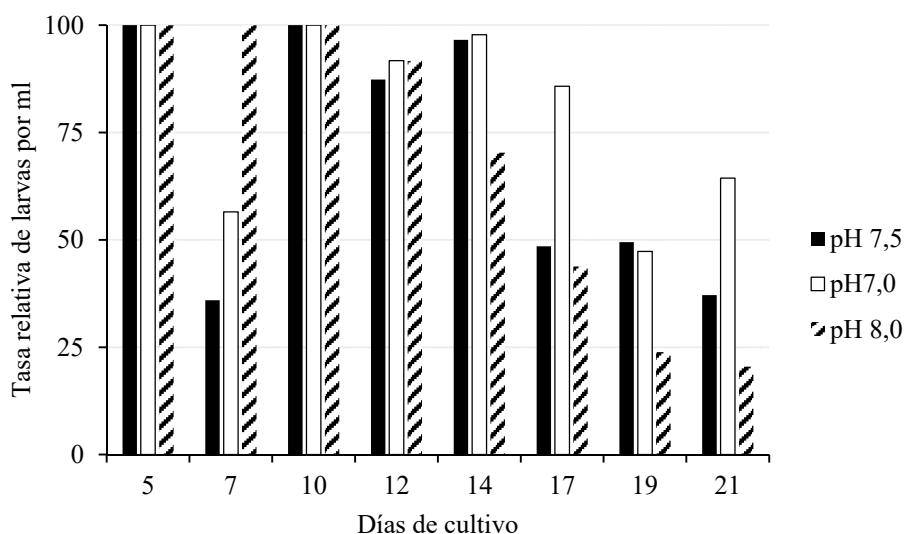
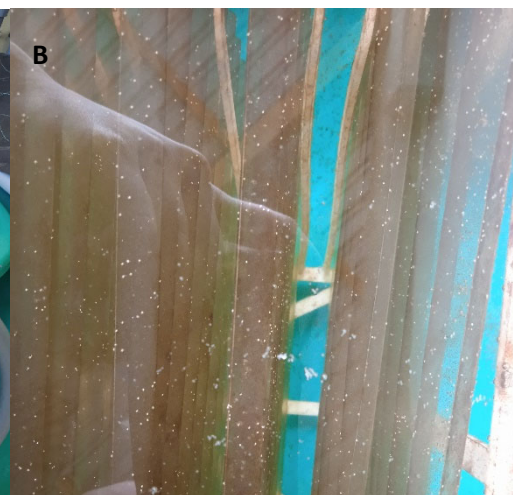
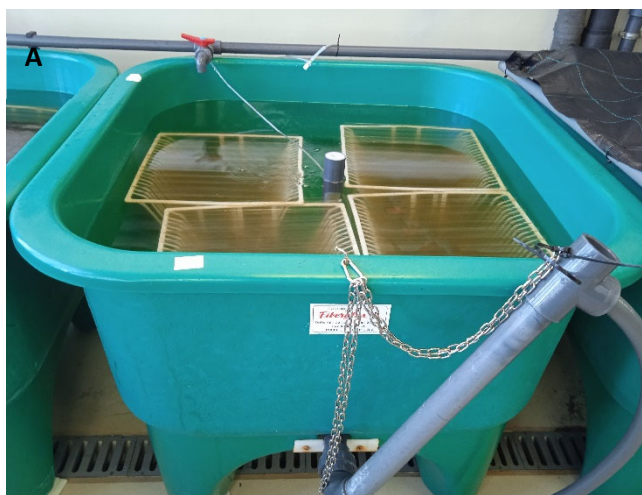


Figura 17.- Tasa de supervivencia relativa (supervivencia a día 5 considerada como 100%). Incremento a día 10 debido al recálculo de las densidades y reajuste para las 3 densidades).

### Conclusiones específicas:

## FIJACIÓN Y METAMORFOSIS

Se introdujeron cestillas provistas de placas de policarbonato en cada tanque de fijación con el objetivo de incrementar la superficie de asentamiento disponible para las larvas (Figura 4).



asentamiento, así como la adición de nutrientes y silicatos al agua, con el fin de que las placas de policarbonato y las paredes de los tanques se vayan recubriendo con una capa de

erizo

ario  
e de



diatomeas/algas bentónicas que induzcan la fijación de las larvas a la superficie donde van a realizar la metamorfosis para convertirse en postlarvas de *P. lividus*.

El protocolo general para los tanques de asentamiento es el siguiente:

1- Al menos 7 días antes de que las larvas alcancen el estado de competencia pre-metamórfica se llenan los tanques de fijación con agua de mar filtrada (1  $\mu\text{m}$ ) y esterilizada con luz UV.

2- Se añaden nutrientes (medios de cultivo Goldmedium A + Goldmedium B) y silicatos a los tanques y posteriormente se inocula la diatomea/alga correspondiente en cada tanque, con el flujo de agua cerrado para que se vayan cubriendo las superficies de asentamiento.

3- Se colocan focos sobre cada tanque las 24 h (intensidad entre 1000-1500 luxes), que ayudarán a las algas a reproducirse a mayor velocidad y a cubrir mejor las superficies de asentamiento.

4- El día previo a la siembra de las larvas competentes se hace una renovación total del agua de los tanques para eliminar posibles impurezas.

5- Si hay demasiada luz natural en la sala de fijación es conveniente cubrir los tanques de asentamiento con una malla oscura que impida la incidencia directa de la luz sobre ellos, lo que podría reducir el porcentaje de asentamiento de las larvas.

6- El día de la siembra de las larvas se comprueban previamente los parámetros del agua de los tanques; una vez sembradas las larvas se añade también la mezcla de microalgas empleada para alimentar el cultivo larvario a los tanques (a una concentración inicial de 100 equivalentes, que se irá incrementando progresivamente hasta 180 equivalentes) con el fin de alimentar a las larvas que quedan nadando y a las postlarvas transformadas que todavía no abrieron la boca y absorben nutrientes a través de los pies ambulacrales hasta el momento de apertura de la boca, a partir del cual ya son individuos juveniles completos y se alimentan de macroalgas de textura suave durante los primeros 15 días de vida.

7- Los tanques de fijación se dejan sin flujo de agua ni aire y en semioscuridad durante 48-72 horas, tiempo suficiente para que la mayoría de las larvas haya realizado la metamorfosis (con una duración aproximada de 1 hora) y se conviertan en postlarvas de erizo.

Una vez pasado ese plazo de tiempo se retira la cubierta/malla oscura de los tanques, dejándolos con el fotoperiodo natural, se coloca un tamiz central de 300  $\mu\text{m}$  que impida la fuga de las larvas y se abre el flujo de agua a razón de una renovación diaria; este flujo se irá aumentando progresivamente a medida que crecen las postlarvas de erizo.

## FIJACIÓN DEL 1<sup>er</sup> CULTIVO LARVARIO

A continuación, se presentan los resultados del asentamiento de las larvas procedentes del primer cultivo larvario, para el que se utilizaron 4 tanques de 400 L de capacidad:

- **Tanque 1:** Mezcla de microalgas que proliferan de forma natural en los tanques del Módulo 2 (pendientes de identificación).
- **Tanque 2:** *Cylindrotheca closterium*
- **Tanque 3:** Natural (agua del pantalán).
- **Tanque 4:** *Ulvea lens*

El día 03/08/2020 se añadieron 250000 larvas a cada tanque aproximadamente.

Los parámetros registrados en los tanques de asentamiento oscilaron entre los siguientes rangos :

- pH: 7,49 – 7,69
- Temperatura: 18 ° C
- Salinidad: 35,47 - 36,49 ppt
- O<sub>2</sub> disuelto: 7,12 - 7,53 mg/L

Se comprobó que el inductor de asentamiento que mejor funcionó fue la mezcla de microalgas utilizada para inocular el Tanque 1, en el que se obtuvieron 4500 individuos juveniles aproximadamente, seguido del tanque 4 (inoculado con *Ulvea lens*), en el que se obtuvieron unos 3500 juveniles; del T3 (inoculado con una concentración de agua de mar de la zona filtrada a 20 µm) se obtuvieron 2500 individuos juveniles aproximadamente, y finalmente se obtuvieron unos 2000 individuos juveniles del T2, inoculado con *Cylindrotheca closterium*. En total se obtuvieron 11500 juveniles aproximadamente, aunque unos 2500 murieron posteriormente por un accidente con un tanque de engorde de juveniles. Se obtuvo una supervivencia de un 1'15% una vez superada la fase de metamorfosis.

El tiempo medio de apertura de la boca de las postlarvas obtenidas fue de 14 días.

## FIJACIÓN DEL 2º CULTIVO LARVARIO

Para el asentamiento de este cultivo larvario se prepararon 6 tanques de 400 L de capacidad:

- **Tanque 1:** *Cylindrotheca closterium*
- **Tanque 2:** Mezcla de microalgas que proliferan de forma natural en los tanques del Módulo 2 (pendientes de identificación). Lo abreviaremos como Mezcla del M2.
- **Tanque 3:** Mezcla del M2
- **Tanque 4:** Natural (agua del pantalán)
- **Tanque 5 :** *Ulveella lens*
- **Tanque 6 :** Mezcla del M2

Los parámetros registrados en los tanques de asentamiento oscilaron entre los siguientes rangos :

- pH: 7,49 - 8,05
- Temperatura: 18-19 ° C
- Salinidad: 35,72 - 36,4 ppt
- O<sub>2</sub> disuelto: 7,51 - 7,62 mg/L

En este caso se añadieron aproximadamente 100000 larvas a cada tanque. Se unificaron las larvas de los tanques inoculados con la mezcla del M2 en un sólo tanque, ya que había bastantes larvas nadando en dos de ellos el tercer día del asentamiento, por lo que quedaron finalmente 4 tanques de asentamiento.

Se comprobó que el inductor de asentamiento que mejor funcionó fue con mucha diferencia la mezcla de microalgas del Módulo 2, con el que se obtuvieron 10612 individuos juveniles, seguido de la macroalga verde *Ulveella lens*, con la que se obtuvieron 3823 juveniles; con la inoculación de *Cylindrotheca closterium* se obtuvieron 2851 individuos juveniles, y finalmente se obtuvieron 2750 individuos juveniles del T4, inoculado con agua de mar natural filtrada. El número total de juveniles obtenidos fue de 20036 individuos juveniles, lo que supone una tasa de supervivencia desde la fase larvaria de un 3'33%.

El tiempo medio de apertura de la boca de las postlarvas obtenidas en este caso fue de 15 días.

## FIJACIÓN DEL 3<sup>er</sup> CULTIVO LARVARIO

Para el asentamiento de este cultivo larvario se prepararon 7 tanques de 400 L de capacidad:

- **Tanque 1:** *Cylindrotheca closterium*
- **Tanque 2:** *Ulvella lens*
- **Tanque 3:** Mezcla del M2
- **Tanque 4:** Natural (agua del pantalán)
- **Tanque 5 :** Mezcla del M2
- **Tanque 6 :** Mezcla del M2
- **Tanque 7 :** Mezcla del M2

Los parámetros registrados en los tanques de asentamiento oscilaron entre los siguientes rangos :

- pH: 7,44 - 7,88
- Temperatura: 17-18'5 °C
- Salinidad: 35,59 - 36,33 ppt
- O<sub>2</sub> disuelto: 7,28 - 7,77 mg/L

Se añadieron aproximadamente 120000 larvas a cada tanque el día 26/05/21. Después de 72 h se comprobó que todavía había muchas larvas nadando, por lo que se trasladaron las larvas del T3 al T5 y las del T7 al T6, dejando sólo dos tanques inculados con la mezcla de diatomeas del M2.

En este cultivo se obtuvieron 2350 ejemplares juveniles procedentes del tanque inculado con *Cylindrotheca closterium* (T1), además la talla de estos juveniles era visiblemente menor que los del T2 (*Ulvella lens*), que presentaban una talla considerablemente mayor a simple vista; 3467 juveniles en el T2, inculado con *Ulvella lens*; 3460 juveniles en el T4 (inoculación Natural) y en los tanques T3, T5, T6 y T7 (inculados con la Mezcla del M2) se obtuvieron 2985, 4837, 3764 y 3810 individuos juveniles respectivamente. Nuevamente el tanque inculado con *Cylindrotheca closterium* fue el que menor número de juveniles produjo; los tanques inculados con *Ulvella lens* (T2) e inoculación Natural (T4) estuvieron a la par en cuanto a número de juveniles obtenidos, aunque en el T2 el diámetro de los juveniles era visiblemente

mayor; finalmente donde mayor número de erizos juveniles se obtuvo fue en los tanques inoculados con la mezcla del M2.

En total se obtuvieron un total de 24673 individuos juveniles en este cultivo, que supone una supervivencia en esta fase de un 2'94% con respecto al número de larvas premetamórficas.

El tiempo medio de apertura de la boca de las postlarvas obtenidas fue de 13 días.

## CRECIMIENTO DE ERIZOS JUVENILES

### Crecimiento de juveniles obtenidos en los cultivos larvarios

En las Figuras X podemos ver la evolución de la talla (mm) y del peso (g) de los erizos juveniles procedentes del primer cultivo larvario durante los primeros meses de vida ; observamos que la dispersión de tallas es considerable, así como la desviación estándar de los datos, que aumenta a medida que crecen los erizos. En un plazo de 7 meses los erizos juveniles del primer cultivo larvario alcanzaron una talla de 12'4 mm de diámetro de testa y un peso de 1'23 g.

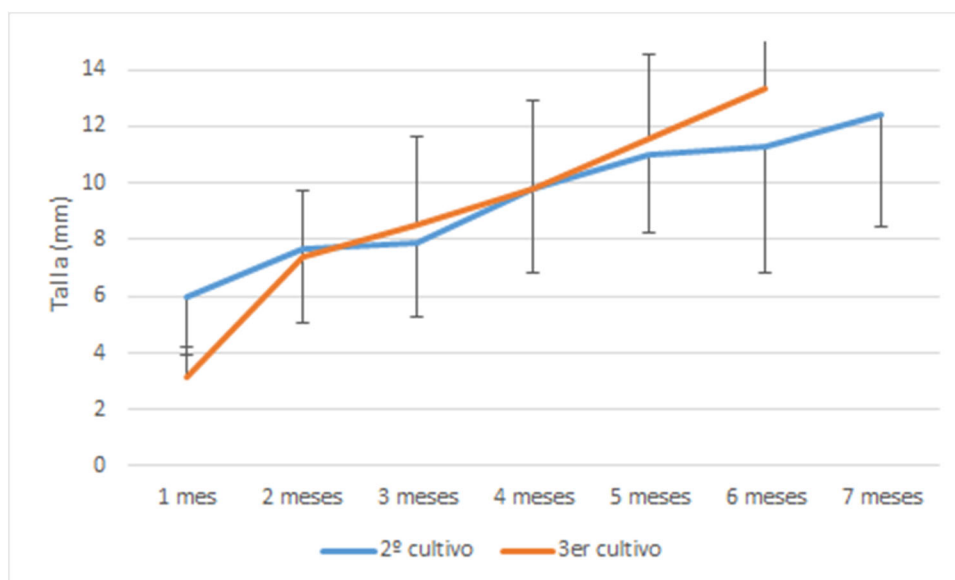


Fig. 19.- Evolución de la talla de los erizos juveniles obtenidos en el segundo y el tercer cultivo larvario.

Se puede observar en la Figura 19 que aunque la talla media inicial de los erizos del segundo cultivo era menor, éstos alcanzaron mayor diámetro en 6 meses que los del primer cultivo en 7 meses.

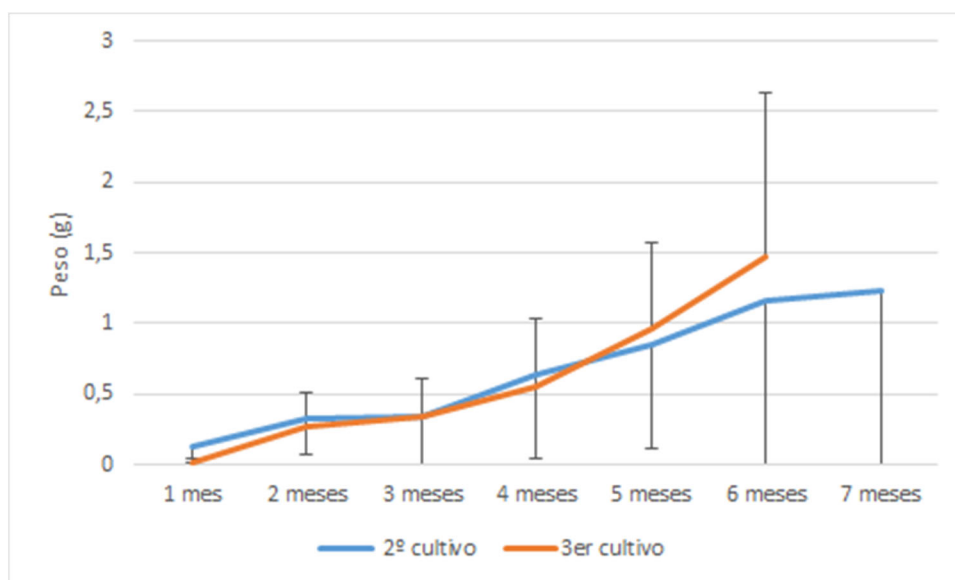


Fig. 20.- Evolución del peso de los erizos juveniles obtenidos en el primer y el segundo cultivo larvario.

En la Figura 20 vemos la evolución del peso de los erizos juveniles obtenidos a partir del segundo y el tercer cultivo larvario; en este caso la evolución del peso es similar, aunque nuevamente los erizos procedentes del tercer cultivo larvario alcanzan un peso mayor en 6 meses que los del segundo cultivo en 7 meses, aunque la dispersión de los datos es muy grande.

Los erizos del tercer cultivo larvario superan la talla y el peso de los erizos obtenidos en el segundo cultivo a la edad de 7 meses, alcanzando una talla de 13,34 mm de diámetro de testa y un peso de 1'46 g en sólo 6 meses.

### Estudio de la dispersión de tamaño de juveniles de erizo de mar (segundo cultivo larvario) obtenidos en laboratorio previa suelta en el mar

Edad: 9 meses (Larvario Agosto 2020, primer cultivo)

Metodología de muestreo:



Teníamos unos 10,000 erizos juveniles repartidos en 4 tanques de engorde, se recolectaron todos y se colocaron en una caja. De la caja se retiró una muestra al azar y se puso en una bandeja con agua para asegurarnos que podíamos separarlos todos, incluso los más pequeños, y se midió el diámetro de 150 erizos de modo seriado. Este proceso se repitió aleatoriamente cuatro veces en diferentes zonas de la caja y se comprobó mediante la visualización de dispersión de datos que las series recogían todos los tamaños.

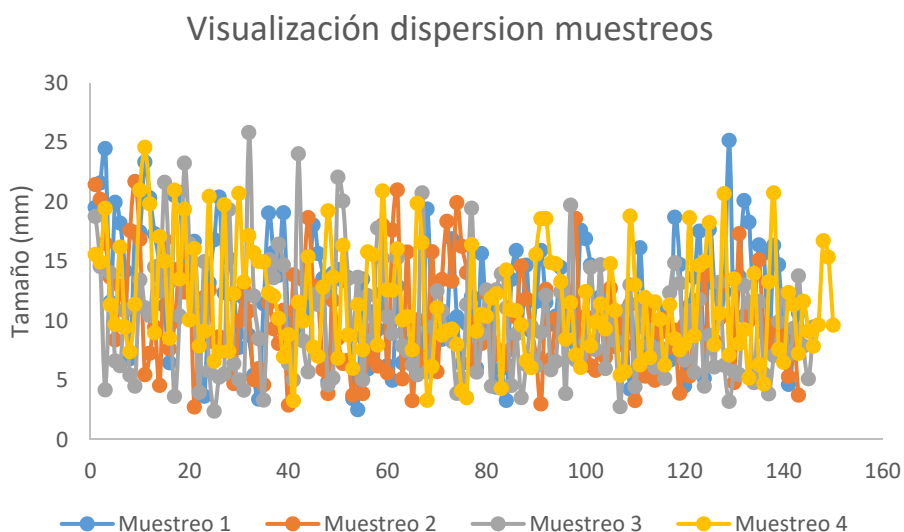


Fig. 21.- Gráfica de dispersión de tallas de los juveniles obtenidos en el segundo cultivo larvario.

## Histograma

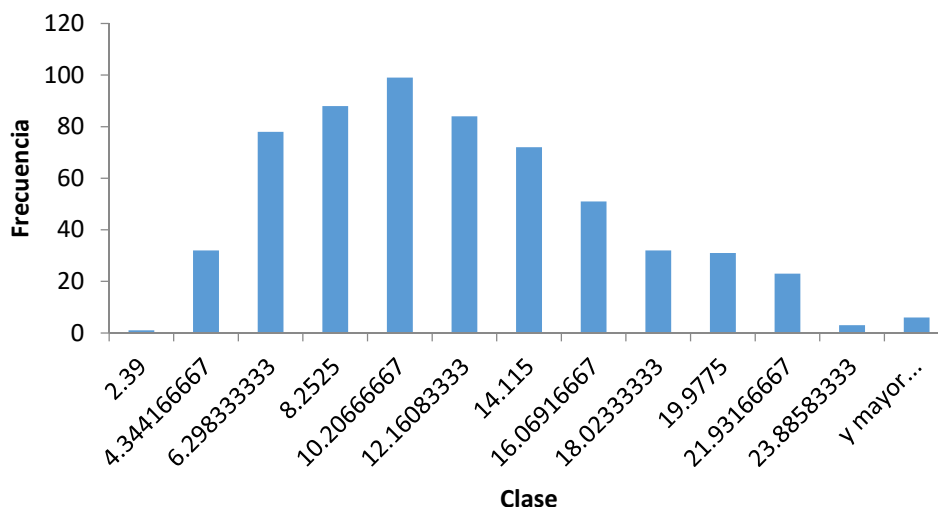
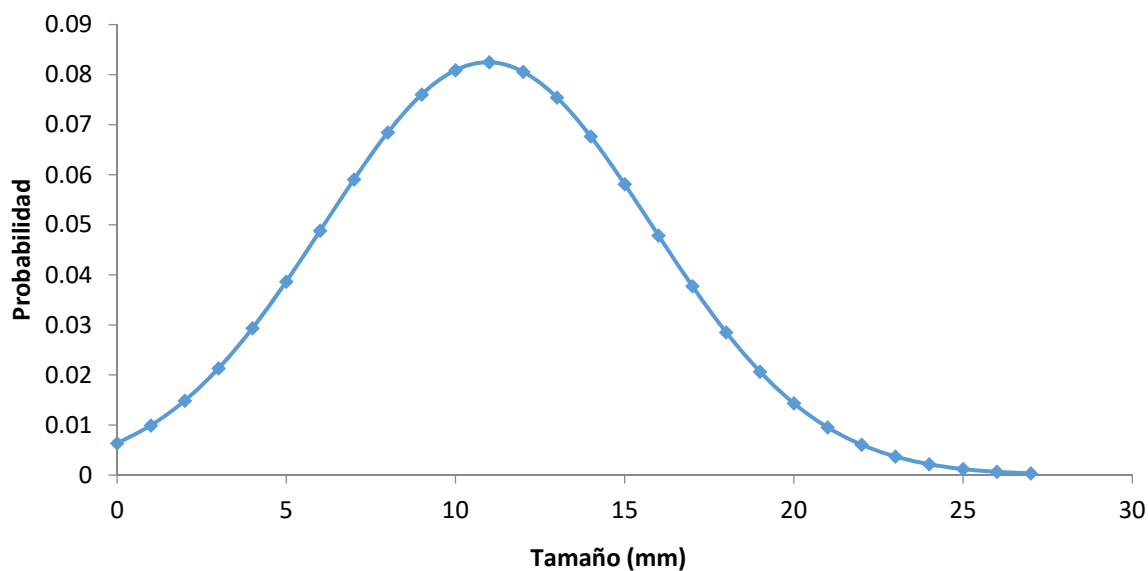


Fig. 22.- Histograma de frecuencias de las tallas de los juveniles obtenidos en el segundo cultivo larvario.

En las Figuras 21 y 22 observamos la elevada dispersión de tallas de los erizos juveniles obtenidos en el segundo cultivo larvario, así como los rangos de talla más frecuentes.

## Distribución normal del tamaño



	Clase	Frecuencia
Mediana	8.2525	88
Moda	10.20667	99

Fig. 23.- Histograma de frecuencias de las tallas de los juveniles obtenidos en el segundo cultivo larvario.

En la Figura 23 se muestra la distribución de tallas de los erizos juveniles a los 9 meses de edad, podemos ver que la talla más frecuente a esta edad es alrededor de 11 mm de diámetro de testa.

### Tasa de crecimiento de Juveniles en cautividad

Para este experimento se tomaron organismos infantiles de dos rangos de peso/tamaño con 60 individuos en cada categoría de estudio en tres réplicas de  $n=20$ . El tamaño de la categoría pequeña (Denominado Inf) tenía un diámetro de testa de 7.7 mm (peso inicial de  $3,27 \pm 1,98$  g) y el tamaño siguiente (Denominado Juv) fue de 39.59 mm de diámetro de testa ( $11,73 \pm 3,14$  g). Se colocaron los individuos en botes de 2,5L con circuito abierto ( $T^a = 20^{\circ}\text{C}$  y luz natural) y se hizo un seguimiento de varios parámetros (tasa de supervivencia (S), Peso húmedo (Wgain), Índice conversión comida (FCR), Índice consumo (CI) y Tasa de crecimiento (G) con muestreos cada 2 semanas durante 45 días. Los erizos de ambas categorías se alimentaron con 4 dietas diferentes.

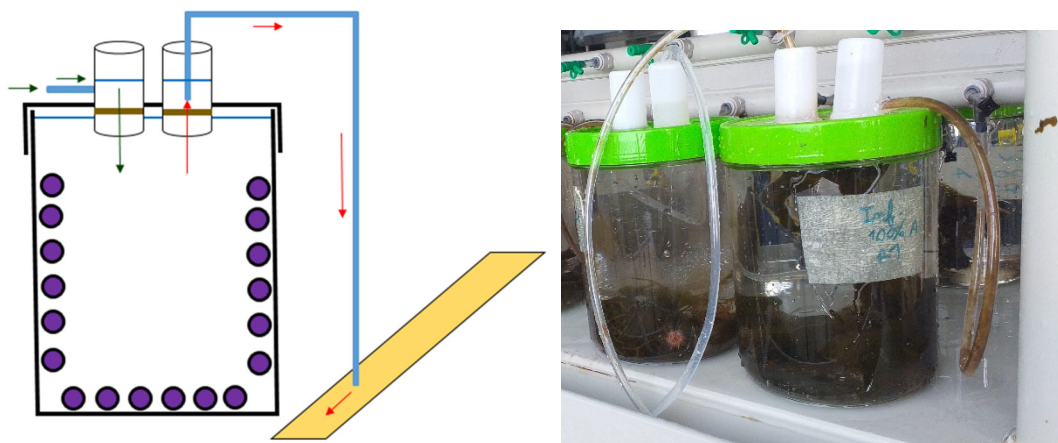


Figura 24.- Diseño de incubadoras para juveniles que permiten tener un control completo sobre el estado y parámetros de individuos de pequeño tamaño de forma muy detallada. Circuito abierto con malla de retención de  $40\mu\text{m}$ .

### Tasa de supervivencia: (S)

La S expresa el porcentaje de animales que sobreviven un periodo de tiempo determinado. Donde  $S_n$  representa el número de animales vivos al final del periodo e  $I_n$  el número inicial en el mismo periodo.

$$S = \frac{Sn}{In} \times 100$$

### Peso Seco: (Wgain)

El Wgain (en gramos) muestra el cambio de peso de los animales durante un periodo de tiempo. Wfinal es la media del peso de los animales al final del periodo y Winicial es el peso medio al inicio. Dividido por el número de días que tiene el periodo de tiempo de estudio.

$$Wgain = \frac{Wfinal (g) - Winicial (g)}{days}$$

### Índice de conversión de alimento: (FCR)

El FCR representa la relación entre la cantidad de comida administrada y el aumento de peso en un tiempo determinado:

$$FCR = \frac{\text{Total feed intake on a period (g)}}{\text{Total weight gain on a period (g)}}$$

### Índice de consumo: (CBW)

El índice de consumo medio CI por individuo (en % de peso corporal) se calcula considerando el peso del alimento utilizado dividido por la media del peso corporal por el número de individuos que han sobrevivido a lo largo de los días del experimento.

$$CBW = \frac{\text{Food}}{(BW \times n)} / 45$$

### Tasa de crecimiento: (G)

La G muestra el crecimiento en diámetro (mm) durante un periodo de tiempo. Donde Gf es la media del diámetro de testa y Gi es el diámetro medio inicial.

$$G = Gf - Gi$$

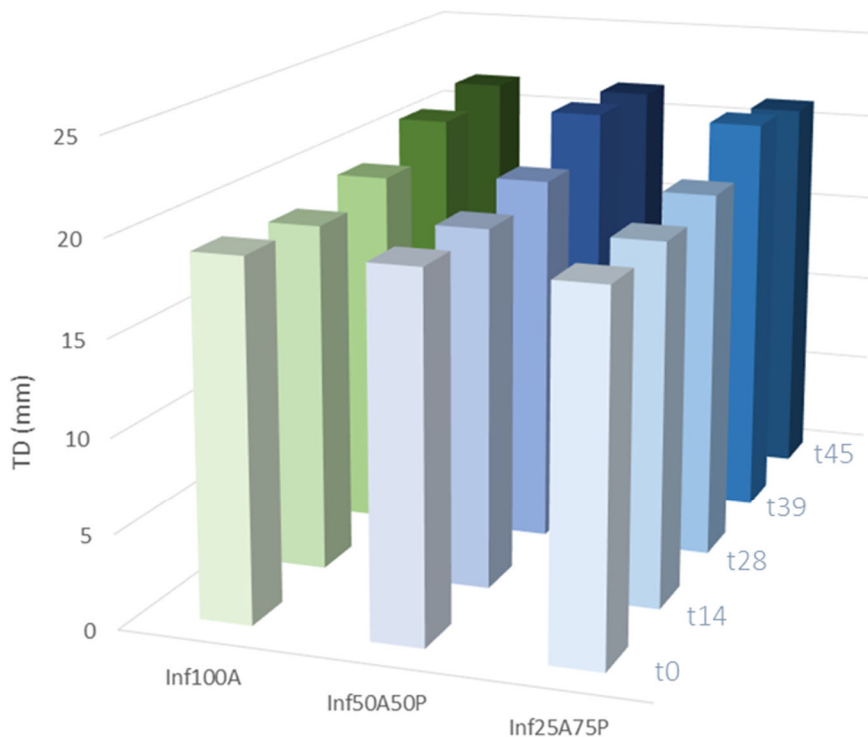


Figura 25.- Diámetro de la testa (TD en mm) de individuos Inf. a lo largo de 45 días tras alimentarse de 3 dietas: dieta Inf100%Algas, Inf50%Algas y 50%Pienso y dieta Inf25%Algas y 75% Pienso.

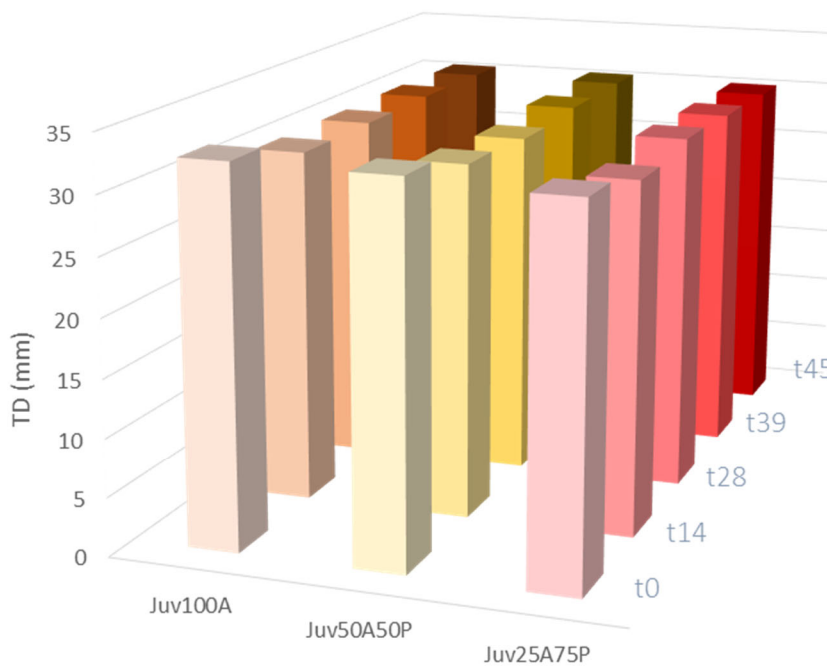
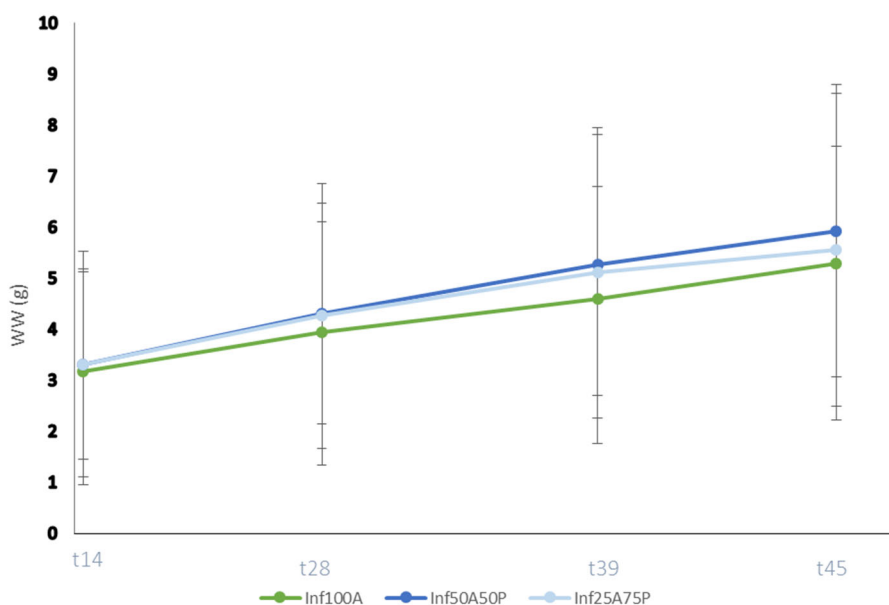


Figura 26.- Diámetro de la testa (TD en mm) de individuos Juv. a lo largo de 45 días tras alimentarse de 3 dietas: dieta Juv100%Algas, Juv50%Algas y 50%Pienso y dieta Juv25%Algas y 75% Pienso.

En ambos casos Juv o Inf., e independientemente de la dieta el parámetro TD (Diámetro de la testa) no nos da mucha información de cómo varía el crecimiento con el tiempo. El aumento del tamaño de los erizos de hace de forma muy lenta y por lo tanto no es buen indicador del crecimiento a corto plazo para asesorar la calidad de las dietas en juveniles. Sin embargo, cuando examinamos la evolución del peso húmedo (Ww) se puede ver una tendencia de ganancia de peso con las semanas, además se puede apreciar una gran dispersión de tamaños. A pesar de que inicialmente los erizos tenían un tamaño similar, rápidamente se amplía la diferencia entre individuos dentro de cada una de las incubadoras reflejo del mismo fenómeno que hemos visto en el estudio de dispersión previa suelta de juveniles al mar.



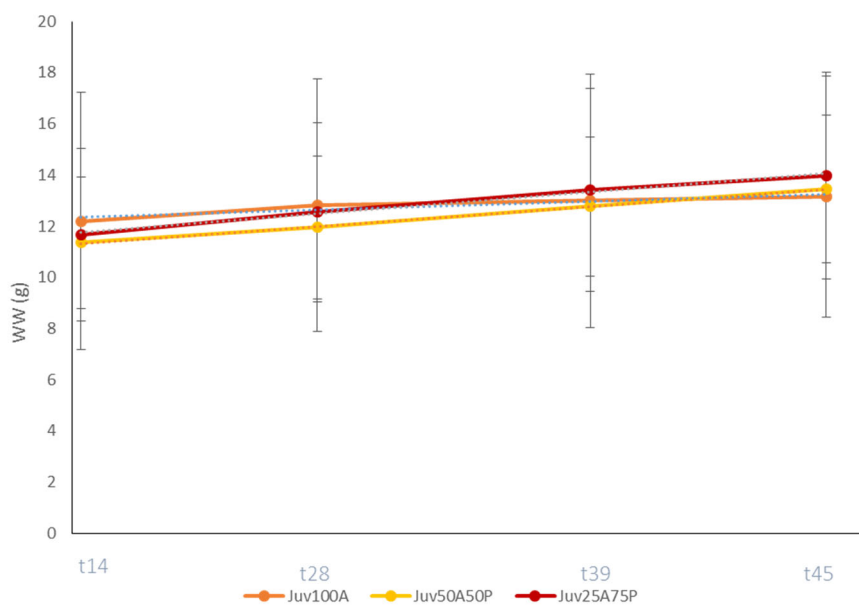


Figura 27.- Evolución del peso húmedo a lo largo de 45 días (Ww en gr) para las tres dietas, grafico superior para categoría Inf. E inferior para Juv.

	Cantidad de Alga semanal (g/100g erizo)	Cantidad semanal de peso (g/100g erizo)	Wgain semanal (g/individuo)	FCR	CBW (%)
Inf100A	140	0	0,35 – 0,45	10 - 15	18 - 22
Inf50A50P	70	70			
Inf25A75P	35	105			
Juv100A	49	0	0,35 – 0,45	15	6 - 7
Juv50A50P	24,5	24,5			
Juv25A75P	12,25	36,75			

Tabla 2.- Resultados obtenidos del estudio de los parámetros biológicos a lo largo de 45 días de erizos juveniles.



## Conclusiones específicas:

La dispersión de tallas es considerable, así como la desviación estándar de los datos, que aumenta a medida que crecen los erizos. En erizos juveniles el diametro de la testa no es un buen parametro de reflejo de crecimiento debido a la dispersion. Sin embargo el aumento del peso humedo si refleja mejor el crecimiento.

## Conclusiones Generales

- Los cultivos larvarios tienen mucha variabilidad de resultados que dependen del manejo y de los reproductores de origen.
- Hemos afinado parametros optimos de temperatura, salinidad y pH que no solo nos van a permitir trabajar de forma más segura en los cultivos si no que tiene aplicaciones en la selección de posibles localizaciones de plantas de acuicultura segun control de estos parametros y tiene aplicaciones en consideraciones de cambio climático.
- La fase de metamorfosis y asentamiento es de las menos trabajadas y más desconocida, a pesar de nuestros timidos avances en este tema más investigación es necesaria en esta fase crucial del cultivo.
- La dispersión de tallas de los erizos generados en cultivo es considerable, así como la desviación estándar de los datos, que aumenta a medida que crecen los erizos.
- En erizos juveniles el diametro de la testa no es un buen parametro de reflejo de crecimiento debido a la dispersion. Sin embargo el aumento del peso humedo si refleja mejor el crecimiento
- 

## Bibliografía

Anil, A.C., Desai, D., Khandeparker, L. (2001) Larval development and metamorphosis in *Balanus amphitrite* Darwin (Cirripedia; Thoracica): significance of food concentration, temperatura and nucleic acids. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 263: 125–141.

Azad, A. K., McKinley, S. & Pearce, C.M. (2010) Factors influencing the growth and survival of larval and juvenile echinoids. *Reviews in Aquaculture*, 2: 121-137. DOI: 10.1111/j.1753-5131.2010.01030.x

Basch, L.V. (1996) Effects of algal and larval densities on development and survival of asteroid larvae. *Marine Biology*, 126: 693–701.

Buitrago, E., Lodeiros, C., Luner, K., Alvarado, D., Indore, F., Frontado, K. et al. (2005) Mass production of competent larvae of the sea urchin *Lytechinus variegatus* (Echinodermata: Echinoidea). *Aquaculture International*, 13: 359–367.

Cárcamo, P.E., Candia, A.I., Chaparro, O.R. (2005) Larval development and metamorphosis in the sea urchin *Loxechinus albus* (Echinodermata: Echinoidea): effects of diet type and feeding frequency. *Aquaculture*, 249: 375–386.

Castilla-Gavilán, M., Buzin, F., Cognie, B., Dumay, J., Turpin, V., & Decottignies, P. (2018). Optimising microalgae diets in sea urchin *Paracentrotus lividus* larviculture to promote aquaculture diversification. *Aquaculture*, 490, 251-259.

Domínguez, A., Rosas, J., Velásquez, A., Cabrera, T., & Mata, E. (2007) Desarrollo, supervivencia y crecimiento del erizo *Lytechinus variegatus* (Lamarck, 1816)(Echinodermata: Echinoidea) alimentado con microalgas a dos salinidades y temperaturas diferentes. *Revista de biología marina y oceanografía*, 42(1) : 49-57.

Grosjean, P., Spirlet, C., Gosselin, P., Vaitilingon, D., Jangoux, M. (1998) Land-based, closed-cycle echinoculture of *Paracentrotus lividus* (Lamarck) (Echinoidea: Echinodermata): a long-term experiment at a pilot scale. *Journal of Shellfish Research*, 17: 1523–1531.

Keesing, J.K., Hall, K.C. (1998) Review of harvest and status of world sea urchin fisheries points to opportunities for aquaculture.. *Journal of Shellfish Research*, 17: 1597–1604.

Ojea, J., Martínez-Patiño, D., Nóvoa, S., & Catoira, J. L. (2009) Cultivo de erizo de mar en criadero: desoves y desarrollos larvarios. In *Abstracts Congreso Nacional de Acuicultura* (pp. 282-283).

Ouellet, P., Chabot, D. (2005) Rearing *Pandalus borealis* (Krøyer) larvae in the laboratory. Development and growth at three temperatures. *Marine Biology*, 147: 869-880.

Saco-Álvarez, L., Durán, I., Lorenzo, J. I., & Beiras, R. (2010) Methodological basis for the optimization of a marine sea-urchin embryo test (SET) for the ecological assessment of coastal water quality. *Ecotoxicology and environmental safety*, 73(4): 491-499.

## Actividad 4. Mejora de la fase de preengorde de *P. lividus*

### 4.1 Informe técnico sobre metodología de preparación de las dietas de engorde de *P. lividus*

Metodología de preparación de las dietas de engorde

#### 1. Ingredientes

Tabla 1. Composición de las dietas de engorde para juveniles de *P. lividus*

	Cantidad total: 400 g	Porcentaje (%)
Harina de maíz	36	9
Harina de trigo	36	9
Harina de soja	25	6,25
Harina de atún/insecto	20	5
Algas ( <i>Laminaria sp</i> )	10	2,5
Gelatina neutra de cerdo/Agar	10	2,5
CaCO <sub>3</sub>	6	1,5
Aceite de girasol	4	1
Fosfato de Na	4	1
Fosfato de K	4	1
Mix de vitaminas y minerales	2	0,5
β - caroteno	0,2	0,05
Aceite esencial (Té/Albahaca)	0,2	0,05
Espirulina	0,2	0,05
Agua	242,4	60,6
TOTAL	400 g	100

#### 2. Elaboración de las 4 dietas.

En la tabla 1 podemos ver los ingredientes que componen las dietas de engorde elaboradas para incrementar el ritmo de crecimiento de individuos juveniles de *P. lividus* obtenidos en criadero.

Se elaboraron 4 dietas diferentes, 2 de ellas con harina de atún y otras 2 con harina de insecto en su composición; de las dos dietas elaboradas con cada tipo de harina se utilizó gelatina en una de ellas como elemento gelificante, mientras que en la otra se empleó Agar agar.

En el caso de las dietas elaboradas con harina de atún, se utilizó el aceite esencial de té como ingrediente, mientras que en el caso de las dietas elaboradas con harina de insecto se utilizó aceite esencial de albahaca, ya que estos aceites enmascaran el olor de las harinas de atún e insecto y las hacen más apetecibles para los erizos.

En resumen, se elaboraron periódicamente estas 4 dietas para alimentar a los juveniles de *P. lividus*:

1. Harina de atún + Gelatina + aceite esencial de té.
2. Harina de atún + Agar + aceite esencial de té.
3. Harina de insecto + Gelatina + aceite esencial de albahaca.
4. Harina de insecto + Agar + aceite esencial de albahaca.

El proceso de elaboración de las dietas comienza con el pesado de los ingredientes en una balanza de precisión 0,01 g; una vez pesados, los ingredientes se mezclan en un recipiente y se procede a la disolución del elemento gelificante en el agua en otro recipiente. La disolución de la gelatina en el agua se lleva a cabo en una tartera/ recipiente de cocina, debe dejarse hidratar durante unos minutos en el agua antes de llevarse a ebullición durante 2-3 minutos, dejándolo enfriar posteriormente y procediendo finalmente a mezclar bien los ingredientes sólidos con el gelificante disuelto en agua, con este fin se utiliza una batidora que nos permitirá homogenizar bien la mezcla; en el caso de las dietas elaboradas con Agar agar, éste debe hervirse en agua caliente durante unos 5 minutos, debido a que si el agua hierve mucho tiempo se romperían los enlaces moleculares que otorgan la capacidad gelificante al Agar.

Una vez integrados todos los ingredientes, la mezcla se deposita en un recipiente y se deja enfriar lo suficiente para que solidifique (si es posible en una nevera), dividiéndola después en las raciones pertinentes con las que se alimentará a los erizos juveniles. Estas raciones se

envuelven en plástico film con el fin de que conserven su textura sin deshidratarse, y se conservan en un congelador a - 20°C hasta el momento en que se necesiten.

### 3. Fotografías de las dietas elaboradas.



Figura 1.- A y B) Dietas elaboradas solidificadas; C y D) porciones de las dietas envueltas en film y preparadas para congelar.

### 4. Composición química de las dietas elaboradas.

Las cuatro dietas elaboradas para el engorde de juveniles, así como muestras de la dieta mejicana comercial y las algas utilizadas en el experimento de engorde se liofilizaron y se enviaron a analizar al CACTI de la Universidad de Vigo; además se enviaron muestras de cada dieta y de las algas liofilizadas después de pasar 24 y 48 horas sumergidas en agua de mar.

Tabla 2. Contenido de las dietas de engorde para juveniles de *P. lividus*.

Muestra	Referencia	% Lípidos	% N	% C	% Proteína
1	Gelatina+Insecto	8,48	5,00	44,14	31,3
2	Gelatina+Atún	5,70	5,06	38,30	31,6
3	Agar+Atún	6,13	3,45	40,96	21,6
4	Ag+Insecto	8,55	3,49	43,02	21,8
5	Mejicana	2,72	5,66	39,31	21,81
6	Nofima	4,57	3,88	36,52	20,95
5	Gelatina+Insecto 24h	5,85	3,17	39,31	19,8
6	Gelatina+Insecto 48h	5,23	4,58	40,71	28,6
7	Gelatina+Atún 24h	5,16	5,20	39,08	32,5
8	Gelatina+Atún 48h	5,62	5,25	41,77	32,8
9	Agar+Atún 24h	6,91	4,01	41,80	25,1
10	Agar+Atún 48h	4,70	3,24	38,21	20,3
11	Agar+Insecto 24h	7,58	3,13	42,45	19,6
12	Agar+Insecto 48h	8,48	2,88	40,36	18,0
13	Dieta Mexicana 24h	0,80	4,91	36,58	30,7
14	Dieta Mexicana 48h	6,14	5,03	37,06	31,4
15	Algas 24h	10,59	1,58	24,04	9,9
16	Algas 48h	4,40	1,56	23,06	9,8

En la Tabla 2 podemos ver la composición de residuos, lípidos, proteínas, etc., de cada dieta elaborada con el fin de reducir el tiempo de crecimiento de los juveniles de *P. lividus* producidos en criadero (muestras 1-4); las muestras 5 a 16 contienen muestras de cada dieta después de pasar 24 y 48 horas respectivamente en agua de mar.

Los resultados del experimento de dietas realizado se recogen en el informe comparativo de resultados de la actividad 4 o FV 4.2.

#### 4.2 Informe comparativo de resultados de crecimiento y de consumo de juveniles *P. lividus* con 6 dietas de engorde experimentales y comerciales.

## Índice

<b>Índice .....</b>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>Material y métodos .....</b>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>Resultados y discusión .....</b>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>1. Evolución del diámetro de los erizos con cada dieta. ....</b>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>2. Evolución del peso de los erizos con cada dieta. ....</b>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>3. Incremento de la Talla de los erizos juveniles con cada dieta.....</b>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>4. Incremento del Peso de los erizos juveniles con cada dieta.....</b>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>5. Tasa de crecimiento lineal obtenido con cada dieta.....</b>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>6. Tasa de crecimiento específico obtenido con cada dieta. ....</b>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>7. Análisis estadísticos de los resultados obtenidos. ....</b>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>Conclusiones.....</b>	<b>28</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>28</b>

## Introducción

El objetivo del desarrollo de la acuicultura del erizo de mar a nivel industrial es tener la capacidad de abastecer la demanda creciente de gónadas de erizo en el mercado, especialmente en países como Japón, Canadá, Francia o Estados Unidos, que en un futuro no muy lejano no podrán abastecer con los bancos naturales. Si se pretenden conseguir resultados óptimos a nivel tanto de crecimiento somático como de incremento del índice gonadal, reduciendo así el tiempo de los erizos juveniles en el criadero, es necesario elaborar diferentes tipos de dietas de engorde que nos permitan realizar un estudio comparativo del crecimiento/incremento del índice gonadal obtenidos con cada una de ellas, con el fin de obtener un patrón alimenticio que nos asegure una producción óptima de erizos de esta especie.

En este sentido se han llevado a cabo numerosos trabajos desarrollando dietas que cubren las necesidades energéticas de los erizos de mar (Klinger *et al.*, 1986), que promueven su crecimiento somático (McCarron *et al.*, 2009) y mejoran además las características de las gónadas de numerosas especies de erizos: *Paracentrotus lividus* (Lawrence *et al.*, 1991; Fernández & Caltagirone, 1994; Fernández *et al.*, 1995; Fernández & Pergent, 1998; Fernández & Bouderesque, 2000; Spirlet *et al.*, 2001; Cook *et al.*, 2007), *Lytechinus variegatus* (Klinger *et al.*, 1994; Hammer *et al.*, 2006), *Evechinus chloroticus* (Barker *et al.*, 1998; Woods *et al.*, 2008),



*Loxechinus albus* (Olave *et al.*, 2001), *Psammechinus miliaris* (Kelly *et al.*, 1998; Pantazis *et al.*, 2000; McLaughlin & Kelly, 2001; Cook *et al.*, 2007), *Strongylocentrotus droebachiensis* (De Jong-Westman *et al.*, 1995; Pearce *et al.*, 2002), *Strongylocentrotus pulcherrimus* (Nagai & Kaneko, 1975) y por último *Strongylocentrotus franciscanus* (McBride *et al.*, 1999).

Existen también numerosos estudios en la literatura que demuestran la influencia de la cantidad y calidad del alimento disponible sobre la morfología y la fisiología de los erizos de mar (Lawrence *et al.*, 1991; Fernández & Pergent, 1998; Daggett *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2007; Cook & Kelly, 2007), otros factores como las cualidades alimenticias de la dieta, el tamaño de los individuos y la duración del experimento afectan también a los requerimientos nutricionales.

El aporte proteico de la dieta suministrada es esencial para el crecimiento y desarrollo de los erizos de mar, especialmente durante las primeras etapas del desarrollo, ya que constituye el componente principal de todos sus órganos a nivel bioquímico (Fernandez & Pergent, 1998; Mc Bride *et al.*, 1998; Fernandez & Boudouresque, 2000; Kennedy *et al.*, 2001; Pearce *et al.*, 2002; Arce & Luna-Figueroa, 2003; Senaratna *et al.*, 2005; Schlosser *et al.*, 2005). Se cree que este elevado porcentaje de proteína en los primeros estadios del desarrollo es necesaria para la formación del exoesqueleto o bien sería requerida para la formación de una matriz intraestrómica en la cara interna del mismo (Dubois & Chen, 1989).

Las cualidades nutritivas de la dieta empleada para el engorde del erizo puede influir de manera determinante en la composición bioquímica del individuo adulto (Fernández, 1997); la utilización de una dieta con alto contenido proteico favorecerá el almacenamiento de sustancias de reserva en las gónadas en forma de lípidos y carbohidratos (McBride *et al.*, 1997), mientras que las dietas de engorde somático que mejor funcionan presentan un contenido proteico en torno al 20% de su composición total.

Previamente al diseño de la composición de la dieta es necesario tener en cuenta diversos factores, por ejemplo, que exista una proporción adecuada de proteínas, hidratos de carbono, pigmentos, sales minerales, etc., que repercutirán en el crecimiento posterior de los erizos y en la formación del exoesqueleto. El contenido en carbohidratos de la dieta, así como la tasa de ingestión del alimento están relacionados de forma inversamente proporcional al nivel de absorción de los nutrientes por parte de los erizos (Fernandez & Boudouresque, 2000). La composición de la dieta suministrada afecta a la composición bioquímica de los erizos, como demuestran diversos estudios en los que se compararon stocks recogidos del medio natural con otros procedentes de tanques de cultivo y alimentados con dietas elaboradas (Fernández & Caltagirone, 1994; McBride *et al.*, 2004). Los pigmentos como la equinonona o los carotenos son también fundamentales para obtener una buena coloración gonadal en los erizos cultivados (Pantazis, 2006; Symonds *et al.*, 2007).

Es necesario tener en cuenta además la estabilidad de los pellets en el agua, es decir, su capacidad para mantener la textura inicial y la insolubilidad de sus ingredientes, permaneciendo íntegros durante el mayor tiempo posible; además deben contar con una buena aceptación por parte de los erizos (Dworjanyn *et al.*, 2007).

En este estudio se diseñaron dietas experimentales enfocadas a incrementar el crecimiento somático de individuos juveniles de *P. lividus*, utilizando gelatina como elemento gelificante en la mitad de las dietas elaboradas y Agar agar en la otra mitad.

Se diseñaron 4 dietas experimentales dirigidas a incrementar el crecimiento somático (talla y peso) de erizos juveniles de la especie *Paracentrotus lividus* en cautividad. Se elaboraron 4 dietas diferentes, 2 de ellas con harina de atún y otras 2 con harina de insecto en su composición; de las dos dietas elaboradas con cada tipo de harina se utilizó gelatina en una de ellas como elemento gelificante, mientras que en la otra se empleó Agar agar.

La composición de las dietas y su metodología de preparación se especifica en el informe FV 4.1 de la actividad 4 del proyecto OCIMER; por otro lado, se compraron 2 dietas comerciales enfocadas al preengorde de erizo de mar y oreja de mar, una de ellas producida por el Instituto Noruego de Investigación en Alimentos, Pesca y Acuicultura (Nofima), dirigida al engorde de la especie de erizo de mar *Strongylocentrotus droebachiensis* y la otra producida en Méjico y orientada a la alimentación de oreja de mar (*Haliotis sp.*), consistente en galletas de algas prensadas y extruidas.

El diseño experimental se basó en 6 tratamientos o dietas de preengorde suministradas, con 4 réplicas y un control por tratamiento. Se seleccionaron 200 erizos juveniles por tratamiento, con una talla media de 4,76 mm de diámetro y un peso medio de 0,06 g, y se comprobó que no hubiera diferencias significativas estadísticamente entre las medidas iniciales del conjunto de los erizos juveniles introducidos en el experimento.

Posteriormente se introdujeron 40 erizos juveniles por réplica en cubiletes de PVC elaborados expresamente y provistos de una malla (luz de malla 1mm) en el fondo que impide el escape de los erizos, pero deja pasar los residuos del alimento no consumido evitando que se produzcan proliferaciones de bacterias dentro de los cubiletes experimentales.

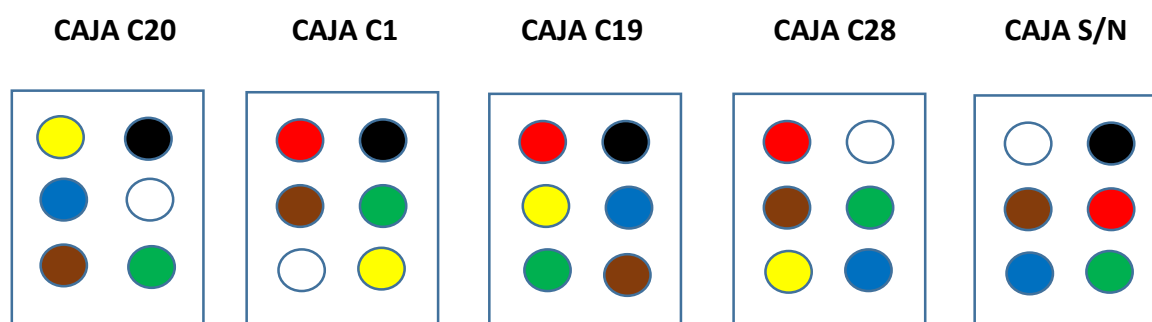
A cada tratamiento se le asignó un color diferente con el fin de facilitar las tareas de alimentación e identificación de los erizos, y se distribuyeron los cubiletes aleatoriamente en cajas de cultivo a razón de 6 cubiletes por caja, en circuito abierto y con una media de 18 renovaciones/día; se implementó un sistema de entrada de agua individual para cada cubilete experimental (Fig. 2C).

En la Figura 1 se puede ver la distribución de los cubiletes en las cajas de cultivo, así como el color asignado a cada una de las dietas y las abreviaturas utilizadas.

El experimento tuvo una duración de 6 meses, durante los cuales se alimentó a los erizos “ad libitum” con la dieta correspondiente 3 veces por semana en días alternos (lunes, miércoles y viernes), realizando previamente la limpieza de los residuos acumulados en las cajas de cultivo mediante un sifón.

Se recogieron datos bimensualmente del peso y la talla de los juveniles alimentados con cada dieta, así como datos mensuales del consumo de alimento (peso húmedo en g), y se analizaron una vez finalizado el experimento mediante el programa estadístico SPSS 15. Para el registro de las medidas de talla se utilizó un calibre digital de la marca Mitutoyo con 0’01 mm de precisión, y para los datos de peso se utilizó una balanza de precisión (0,001 g) de la marca Gram Precision, modelo Granatario Gram ST 360.

### DISTRIBUCIÓN DE CUBILETES EXPERIMENTO DIETAS



- GELATINA + INSECTO**      HI + G
- AGAR + INSECTO**      HI + A
- AGAR + ATÚN**      HA + A
- GELATINA + ATÚN**      HA + G
- DIETA MEJICANA**      MEJ
- DIETA DE NOFIMA**      NOF
- CONTROLES ALGAS**      CONTROL

Figura 1.- Distribución de los cubiletes experimentales en las cajas de cultivo y código de colores y letras utilizado para identificar las dietas.

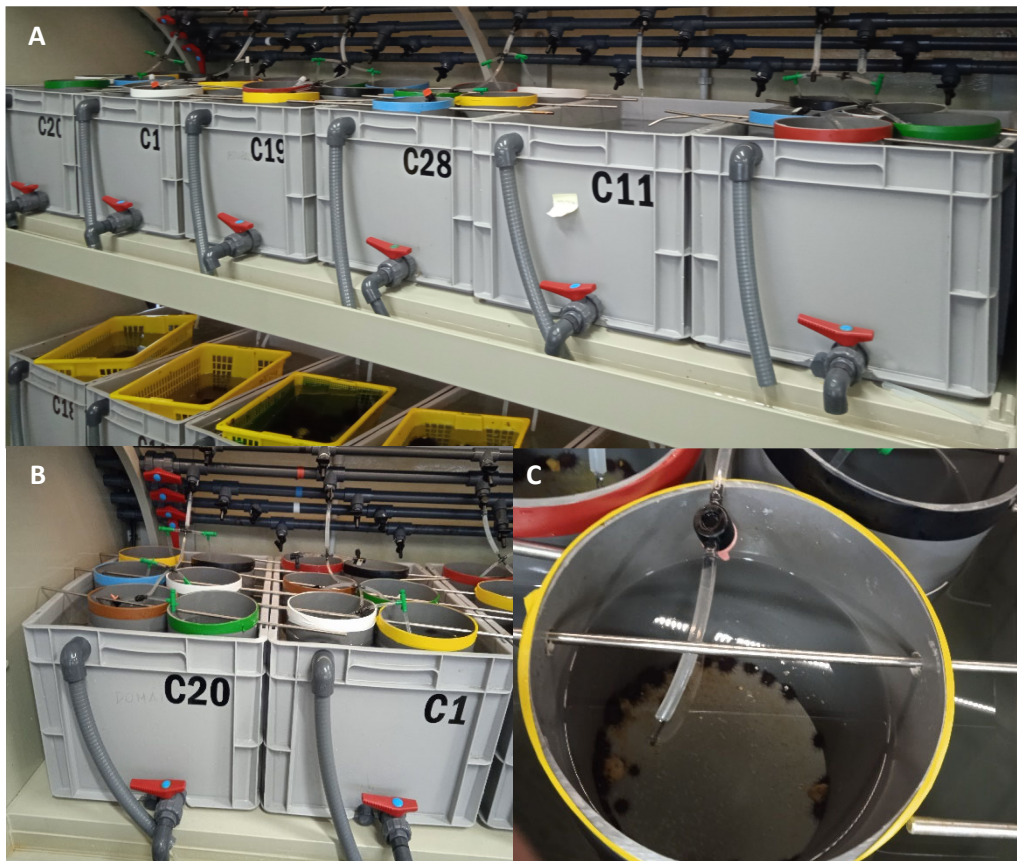


Figura 2.- A) Estantería con las cajas experimentales del experimento de dietas. B) Cajas con cubiletes experimentales. C) Cubilete experimental de la dieta HA + A (color amarillo).

Este experimento se basa en la comparación del crecimiento de los distintos grupos de erizos separados en función de la dieta de preengorde suministrada, con este fin se calcularon las tasas de crecimiento absoluto (TCA) de acuerdo a las fórmulas propuestas por Busacker *et al.*

(1990). Se calculó también la tasa instantánea de crecimiento (Ricker, 1979), la cual se denomina también tasa de crecimiento específico (TCE).

$$CA = Y_2 - Y_1$$

$$CR = \frac{CA}{Y_1} \cdot 100 = \frac{Y_2 - Y_1}{Y_1} \cdot 100$$

$$TCA = \frac{CA}{t_2 - t_1} = \frac{Y_2 - Y_1}{t_2 - t_1}$$

$$TCR = \frac{Y_2 - Y_1}{Y_1 \cdot (t_2 - t_1)} \cdot 100$$

$$TCE(\% / \text{día}) = \frac{(\ln Y_2 - \ln Y_1)}{t_2 - t_1} \cdot 100$$

Donde: CA es el crecimiento absoluto; CR el crecimiento relativo, TCA es la tasa de crecimiento absoluto o lineal expresada en  $\mu\text{m}/\text{día}$ ; TCR la tasa de crecimiento relativo expresada en porcentaje; TCE es la tasa de crecimiento específico, expresada en % de crecimiento/día;  $Y_1$  e  $Y_2$  son el diámetro o el peso al inicio y al final del período experimental;  $t_1$  y  $t_2$  son los tiempos inicial y final o la duración en días del experimento.

Se calculó también el factor de conversión del alimento ingerido en incremento de peso húmedo o Food Conversion Ratio: (FCR) para cada una de las dietas.

El FCR expresa la relación entre la cantidad de alimento que se les da a los animales y su crecimiento a lo largo de un período de tiempo. Lo calculamos usando la siguiente fórmula:

$$FCR = (\text{Ingesta total de alimento en un período (g)} / \text{Aumento de peso total en un período (g)})$$

## Resultados y discusión

**Tabla 1.- Medidas morfométricas de los erizos juveniles desde el inicio del experimento hasta su finalización.**

GRUPO	HA + G	HA + A	HI + G	HI + A	MEJICANA	NOFIMA	CONTROL
Diámetro inicial (mm)	4,8	4,78	4,8	4,9	4,63	4,62	4,78
Diámetro final (mm)	19,2	21,38	19,53	18,65	14,3	14,35	16,61
Peso húmedo inicial (g)	0,0616	0,0649	0,0638	0,0729	0,0508	0,0506	0,06
Peso húmedo final (g)	3,31	4,35	3,44	2,89	1,56	1,57	2,42
Tasa crecimiento lineal ( $\mu\text{m}/\text{día}$ )	78,98	92,2	81,84	76,4	53,67	54,06	65,73
Tasa crecimiento específico (%/día)	2,21	2,34	2,22	2,04	1,9	1,91	2,05

### 1. Evolución del diámetro de los erizos con cada dieta.

En la Figura 3 podemos ver la evolución del diámetro de los erizos con cada dieta a lo largo del experimento.

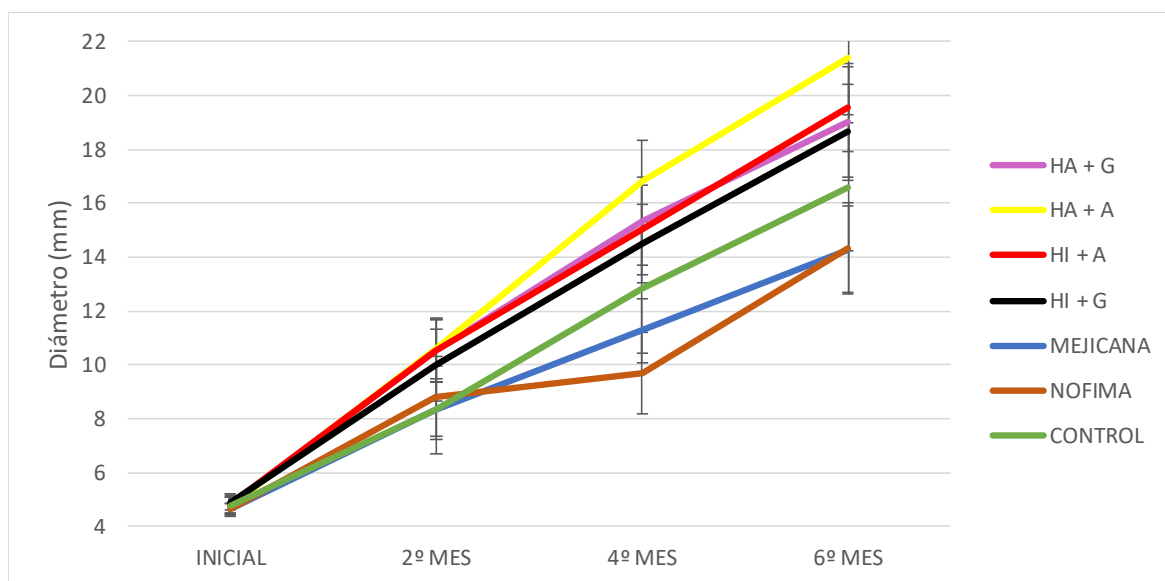


Figura 3.- Evolución del diámetro de los erizos con cada dieta.

Como se puede observar en la Figura 3, las tallas finales más elevadas se obtienen con las cuatro dietas diseñadas específicamente con el fin de incrementar el crecimiento somático de los erizos juveniles, especialmente con la dieta basada en harina de atún con Agar como elemento gelificante (HA + A); el diámetro de los erizos alimentados con las dietas Mejicana y Nofima es inferior al diámetro del grupo control (erizos alimentados con algas), probablemente por la menor ingestión de alimento asociada al gusto de los erizos, ya que son dietas diseñadas para el preengorde de oreja de mar y de otra especie de erizo de mar respectivamente.



## 2. Evolución del peso de los erizos con cada dieta.

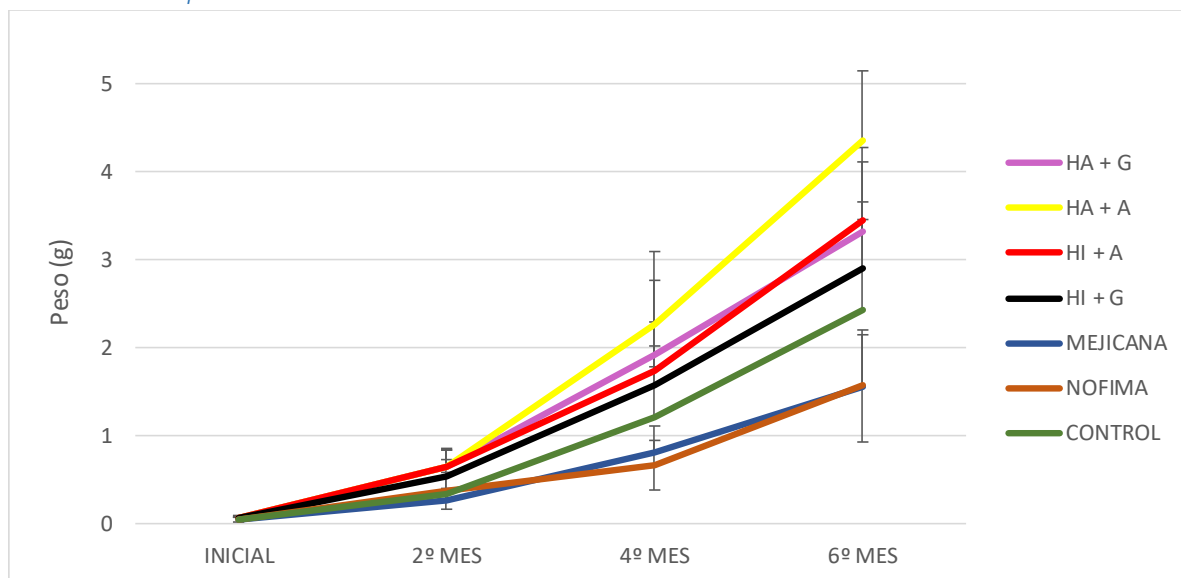


Figura 4.- Evolución del peso de los erizos con cada dieta.

En el caso de la evolución del peso se observa la misma tendencia que en los datos de evolución del diámetro, logrando un peso mayor los erizos alimentados con la dieta HA + A al final del experimento, seguidos por los erizos alimentados con las otras tres dietas diseñadas (HI + A, HA + G, HI + G); los erizos alimentados con las dietas Mejicana y de Nofima alcanzan un peso inferior al de los erizos alimentados con algas.

## 3. Incremento de la Talla de los erizos juveniles con cada dieta.

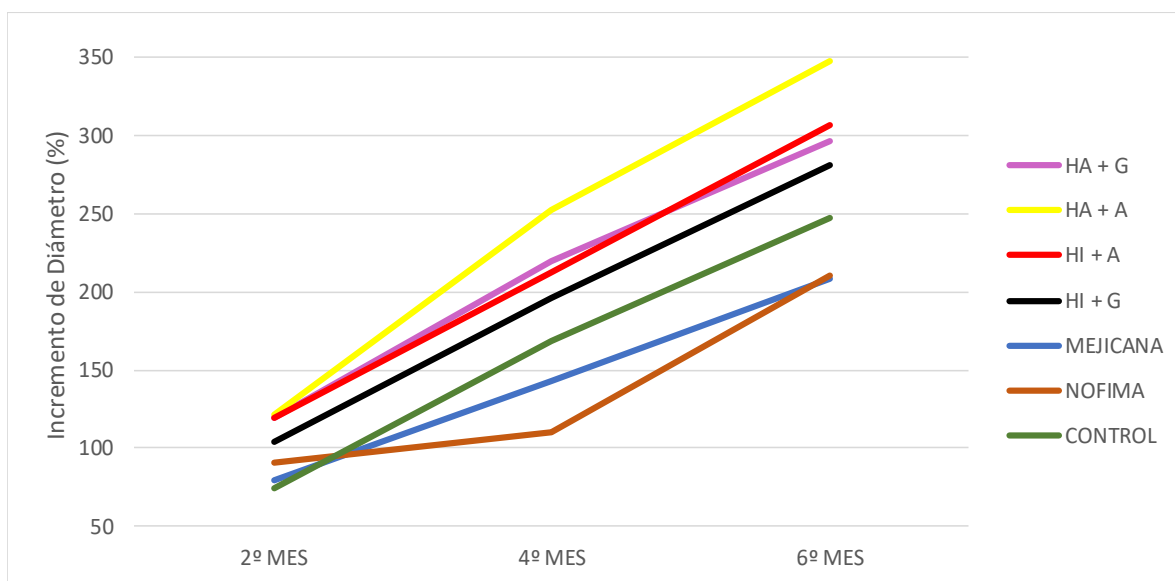


Figura 5.- Incremento del diámetro de los erizos con cada dieta.

#### 4. Incremento del Peso de los erizos juveniles con cada dieta.

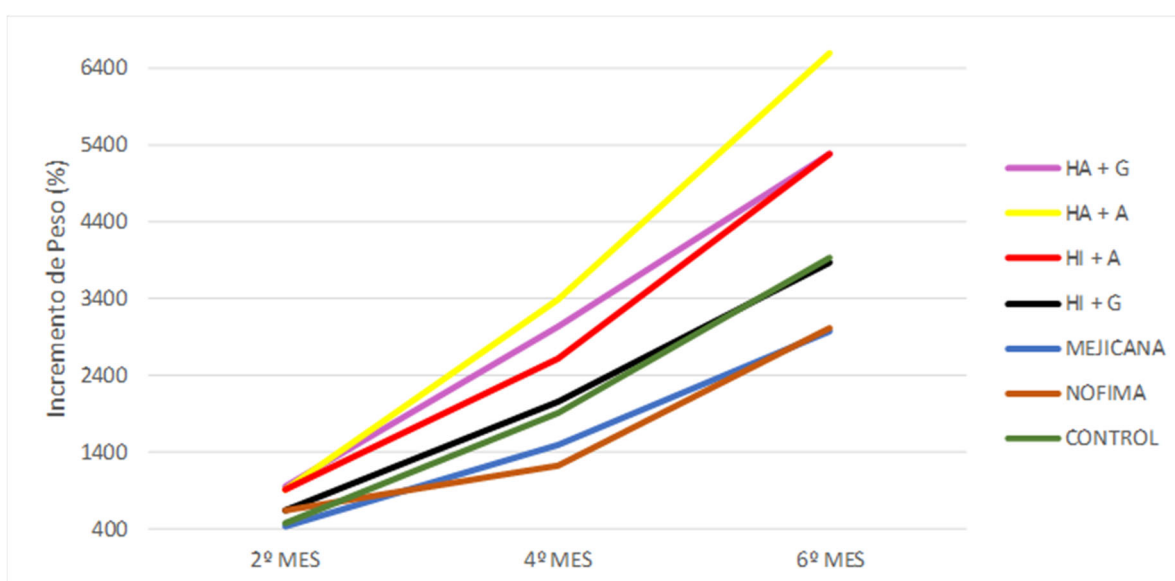


Figura 6.- Incremento del peso de los erizos con cada dieta.

En la Figura 5 observamos que, al calcular los incrementos de Talla y Peso correspondientes, el incremento de Talla obtenido con cada dieta sigue la misma tendencia que los datos de

evolución temporal del diámetro a lo largo del experimento, obteniéndose un incremento del peso significativamente mayor en los erizos alimentados con la dieta de Harina de atún con Agar como elemento gelificante; seguida de las otras 3 dietas diseñadas, el control y por último los menores incrementos de talla se obtienen con las dietas Mejicana y de Nofima.

Los datos de incremento del Peso en porcentaje a lo largo del experimento se recogen en la Figura 6, en la que se pueden observar 4 grupos de datos claramente diferenciados, el mayor incremento del peso de los erizos se obtiene una vez más con la dieta de Harina de atún + Agar (HA + A), mientras que los incrementos de peso obtenidos con las dietas HA + G y HI + A presentan valores de incremento de peso muy similares al final del experimento, por encima de los incrementos obtenidos con las dietas HI + G y Control (Algas), también con valores muy similares de incremento de peso; por último las dietas Mejicana y de Nofima se agrupan con los valores más bajos de incremento de peso al final del experimento.

##### 5. Tasa de crecimiento lineal obtenido con cada dieta.

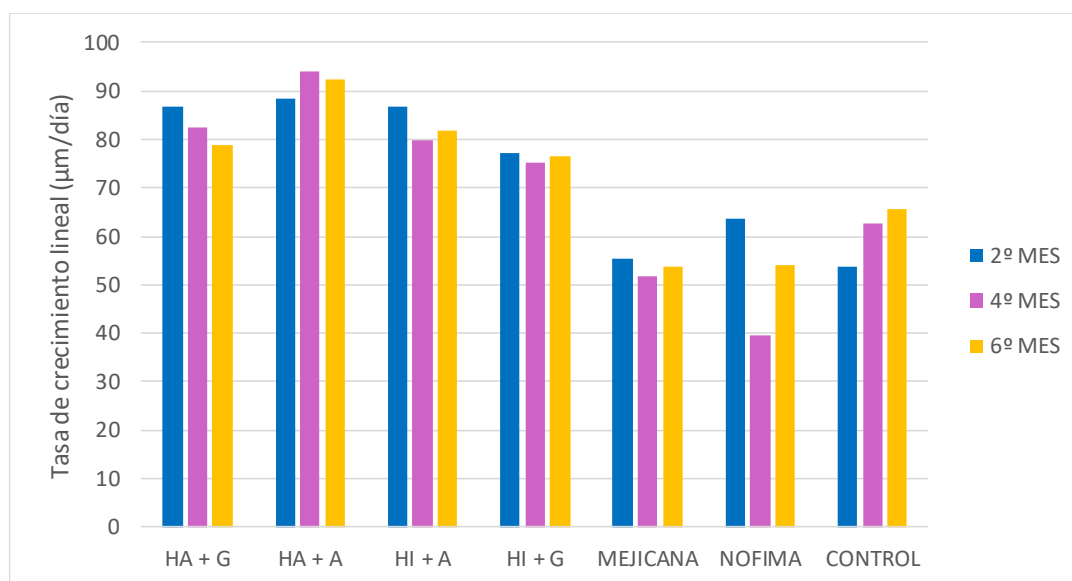


Figura 7.- Tasa de crecimiento lineal de los erizos con cada dieta.

En la Figura 7 se ven las tasas de crecimiento lineal, expresadas en  $\mu\text{m}/\text{día}$ , obtenidas con cada dieta en los momentos en los que se registraron las medidas morfométricas de los erizos a lo

largo del experimento; las tasas de crecimiento lineal más elevadas se obtienen en los erizos alimentados con la dieta HA + A, seguida de cerca por las otras 3 dietas diseñadas. Generalmente se observa un patrón de disminución temporal de esta tasa de crecimiento lineal en *P. lividus*, a partir de los 8 meses de edad la tasa de crecimiento lineal de esta especie va disminuyendo gradualmente hasta alcanzar la talla comercial (Rey-Méndez et al., 2015), aunque la duración de este experimento no fue la suficiente para que se observen diferencias temporales importantes.

#### 6. Tasa de crecimiento específico obtenido con cada dieta.

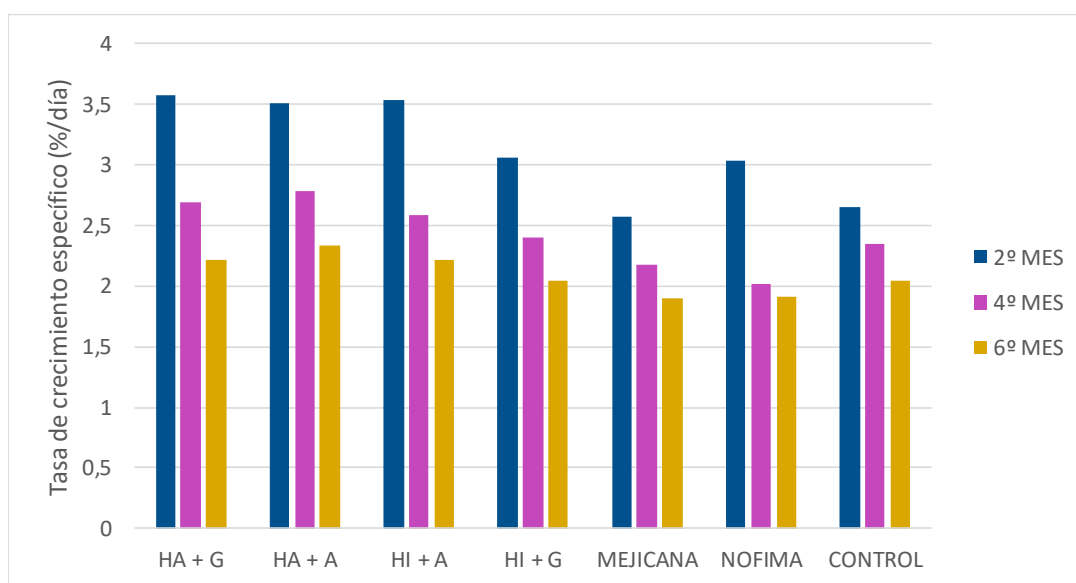


Figura 8.- Tasa de crecimiento específico de los erizos con cada dieta.

En la Figura 8 aparecen representadas las tasas de crecimiento específico (TCE), expresadas en porcentaje de incremento de peso por día (%/día), obtenidas con cada dieta a lo largo del experimento; esta tasa proporciona información sobre el porcentaje de incremento de peso diario que se obtiene en los juveniles alimentados con las diferentes dietas.

Las tasas de crecimiento específico finales más elevadas se obtienen en los erizos alimentados con la dieta HA + A, con un valor final de crecimiento específico del 2,34%, seguida por las dietas HI + A y HA + G con 2,22 y 2,21% de TCE respectivamente. Las TCE de las dietas Mejicana y de Nofima se encuentran por debajo del valor de los erizos alimentados con la dieta Control, con una TCE de 1,9 y 1,91 respectivamente.

En este caso se observa claramente la disminución de la TCE de los erizos juveniles a medida que van creciendo.

## 7. Análisis estadísticos de los resultados obtenidos.

Para realizar un análisis de la varianza (ANOVA) que nos permitiría comprobar la independencia de las variables continuas y las variables factor, los datos obtenidos deben cumplir los supuestos de normalidad, homocedasticidad e independencia de las observaciones (Cobo, 2007); el supuesto de normalidad es fundamental para que el ANOVA sea fiable.

Al realizar las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk correspondientes, que nos permiten saber si los datos cumplen o no el supuesto de normalidad, comprobamos que los datos de las variables continuas no cumplen este supuesto, por lo tanto tenemos que realizar un contraste de hipótesis empleando el test de Kruskal-Wallis para analizar los datos; este test es la alternativa no paramétrica al ANOVA, el único requisito necesario es la aleatoriedad en la obtención de los datos y ésta queda garantizada por el diseño del experimento. Los análisis se realizan para cada una de las dietas.

### *Estadísticos descriptivos*

En este apartado veremos un análisis descriptivo y gráfico de las principales variables objeto de estudio de nuestro trabajo. Incluiremos también la prueba de normalidad de las variables cuantitativas para saber si debemos aplicar test paramétricos o no paramétricos en futuros contrastes de hipótesis.

Tabla 2. Estadísticos descriptivos de cada dieta para la variable Talla.

	TIPO DIETA		Estadístico	Desv. Error	
Talla	HA+G	Media	11,6853	,22487	
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	11,2436	
			Límite superior	12,1269	
		Mediana	11,7450		
		Varianza	28,824		
		Desv. Desviación	5,36879		
		Mínimo	4,00		
		Máximo	24,17		
	HA+A	Media	12,6060	,26263	
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	12,0902	
			Límite superior	13,1218	
		Mediana	11,3300		
		Varianza	39,521		
		Desv. Desviación	6,28659		
Mínimo		4,00			
Máximo		28,21			
HI+A	Media	11,3672	,22802		
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	10,9192		
		Límite superior	11,8151		
	Mediana	11,2300			
	Varianza	28,128			
	Desv. Desviación	5,30359			
	Mínimo	4,10			
	Máximo	22,78			
HI+G	Media	11,5526	,21360		
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	11,1331		
		Límite superior	11,9721		
	Mediana	11,4900			
	Varianza	27,102			
	Desv. Desviación	5,20594			
	Mínimo	4,00			
	Máximo	21,54			
MEJICANA	Media	9,3279	,17897		
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	8,9763		
		Límite superior	9,6796		
	Mediana	9,8700			
	Varianza	15,406			

	Desv. Desviación	3,92506	
	Mínimo	4,27	
	Máximo	20,27	
NOFIMA	Media	9,1184	,17909
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior Límite superior	8,7665 9,4702
	Mediana	8,9450	
	Varianza	15,844	
	Desv. Desviación	3,98039	
	Mínimo	4,13	
	Máximo	19,02	

Tabla 3. Pruebas de normalidad para la variable Talla.

	TIPO DIETA	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Talla	HA+G	,156	570	,000	,930	570	,000
	HA+A	,150	573	,000	,926	573	,000
	HI+A	,163	541	,000	,928	541	,000
	HI+G	,149	594	,000	,930	594	,000
	MEJICANA	,189	481	,000	,910	481	,000
	NOFIMA	,168	494	,000	,915	494	,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

Como podemos observar en la tabla 3, ninguna de las dietas presenta una distribución normal para la variable Talla.

Tabla 4. Estadísticos descriptivos de cada dieta para la variable Peso.



	TIPO DIETA		Estadístico	Desv. Error	
Peso	HA+G	Media	1,2765	,05582	
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	1,1668	
			Límite superior	1,3861	
		Mediana	,8800		
		Varianza	1,776		
		Desv. Desviación	1,33274		
		Mínimo	,03		
		Máximo	12,14		
	HA+A	Media	1,6012	,07116	
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	1,4614	
			Límite superior	1,7410	
		Mediana	,8200		
		Varianza	2,901		
		Desv. Desviación	1,70328		
Mínimo		,01			
Máximo		9,79			
HI+A	Media	1,1841	,05248		
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	1,0811		
		Límite superior	1,2872		
	Mediana	,7500			
	Varianza	1,490			
	Desv. Desviación	1,22055			
	Mínimo	,03			
	Máximo	5,60			
HI+G	Media	1,1642	,04620		
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	1,0735		
		Límite superior	1,2550		
	Mediana	,7375			
	Varianza	1,268			
	Desv. Desviación	1,12589			
	Mínimo	,03			
	Máximo	5,04			
MEJICANA	Media	,6532	,03050		
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	,5933		
		Límite superior	,7132		
	Mediana	,5000			
Varianza	,448				

	Desv. Desviación	,66897	
	Mínimo	,03	
	Máximo	4,10	
NOFIMA	Media	,6483	,03161
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior Límite superior	,5861 ,7104
	Mediana	,4100	
	Varianza	,494	
	Desv. Desviación	,70266	
	Mínimo	,02	
	Máximo	4,21	

Tabla 5. Pruebas de normalidad para la variable Talla.

	TIPO DIETA	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Peso	HA+G	,174	570	,000	,833	570	,000
	HA+A	,183	573	,000	,846	573	,000
	HI+A	,172	541	,000	,852	541	,000
	HI+G	,156	594	,000	,875	594	,000
	MEJICANA	,174	481	,000	,844	481	,000
	NOFIMA	,185	494	,000	,828	494	,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

Los resultados de las pruebas realizadas indican que la distribución de los datos tampoco es normal para ninguna de las dietas con la variable Peso.

## Contraste de hipótesis

En este apartado veremos si las principales variables del experimento son independientes respecto a las variables factor, es decir, se comparan las medias de las distribuciones de la variable cuantitativa en los diferentes grupos establecidos por la variable cualitativa o categórica.

En nuestro caso debido a la no normalidad de las variables aplicaremos test no paramétricos; dentro de este tipo de análisis, cuando la variable categórica tiene 2 categorías utilizaremos el test U de Mann-Whitney y si son 3 o más grupos la prueba de Kruskal Wallis.

Tabla 6. Resultados del contraste de hipótesis de la Talla y el Peso en relación al tipo de dieta.

**Estadísticos de prueba<sup>a,b</sup>**

	Talla	Peso	CONTROL-Talla	CONTROL-Peso
H de Kruskal-Wallis	446,609	415,569	7,865	20,191
gl	5	5	5	5
Sig. asintótica	,000	,000	,164	,001

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: TIPO DIETA

Cuando el  $p$ -valor sale significativo ( $p < 0,05$ ) en las pruebas de independencia (marcado en verde) podemos aceptar la hipótesis de que si hay diferencia estadísticamente significativa en el valor medio de la variable entre al menos dos de las dietas con un 95% de confianza. Para saber en particular entre qué dietas existe esa diferencia significativa se hicieron las comparaciones dos a dos:

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

<b>HA+G vs HA+A</b>	Talla	Peso	CONTROL-Talla	CONTROL-Peso
U de Mann-Whitney	2331,500	2708,500	7080,000	6536,000
W de Wilcoxon	8002,500	8379,500	15336,000	14792,000
Z	-7,682	-6,866	-1,480	-2,421
Sig. asintótica(bilateral)	,000	,000	,139	,015

a. Variable de agrupación: TIPO DIETA

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

HA+G vs HI+A	Talla	Peso	CONTROL-Talla	CONTROL-Peso
U de Mann-Whitney	3496,500	3584,500	5364,000	5112,000
W de Wilcoxon	9167,500	9255,500	10314,000	10062,000
Z	-2,172	-1,932	-1,617	-2,144
Sig. asintótica(bilateral)	.030	.053	.106	.032

a. Variable de agrupación: TIPO DIETA

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

HA+G vs HI+G	Talla	Peso	CONTROL-Talla	CONTROL-Peso
U de Mann-Whitney	6203,000	5427,000	7040,000	6624,000
W de Wilcoxon	13829,000	13053,000	15296,000	14880,000
Z	-.632	-2,185	-1,549	-2,268
Sig. asintótica(bilateral)	.527	.029	.121	.023

a. Variable de agrupación: TIPO DIETA

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

HA+G vs MEJ	Talla	Peso	CONTROL-Talla	CONTROL-Peso
U de Mann-Whitney	559,500	648,500	6160,000	5984,000
W de Wilcoxon	6230,500	6319,500	11620,000	11444,000
Z	-11,327	-11,128	-.581	-.936
Sig. asintótica(bilateral)	.000	.000	.561	.350

a. Variable de agrupación: TIPO DIETA

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

HA+G vs NOF	Talla	Peso	CONTROL-Talla	CONTROL-Peso
U de Mann-Whitney	633,500	954,500	5800,000	5760,000
W de Wilcoxon	9544,500	9865,500	10456,000	10416,000
Z	-12,082	-11,478	-.325	-.410
Sig. asintótica(bilateral)	.000	.000	.745	.682

a. Variable de agrupación: TIPO DIETA

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

<b>HA+A vs HI+A</b>	Talla	Peso	CONTROL-Talla	CONTROL-Peso
U de Mann-Whitney	2183,500	2457,000	6090,000	6222,000
W de Wilcoxon	5504,500	5778,000	11040,000	11172,000
Z	-6,080	-5,361	-,501	-,232
Sig. asintótica(bilateral)	,000	,000	,616	,816

a. Variable de agrupación: TIPO DIETA

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

<b>HA+A vs HI+G</b>	Talla	Peso	CONTROL-Talla	CONTROL-Peso
U de Mann-Whitney	2155,000	2067,500	7984,000	7872,000
W de Wilcoxon	9781,000	9693,500	16240,000	16128,000
Z	-9,035	-9,204	-,351	-,540
Sig. asintótica(bilateral)	,000	,000	,725	,589

a. Variable de agrupación: TIPO DIETA

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

<b>HA+A vs MEJ</b>	Talla	Peso	CONTROL-Talla	CONTROL-Peso
U de Mann-Whitney	101,000	201,000	6368,000	5960,000
W de Wilcoxon	5772,000	5872,000	11828,000	14216,000
Z	-12,506	-12,290	-,567	-1,369
Sig. asintótica(bilateral)	,000	,000	,571	,171

a. Variable de agrupación: TIPO DIETA

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

<b>HA+A vs NOF</b>	Talla	Peso	CONTROL-Talla	CONTROL-Peso
U de Mann-Whitney	72,500	251,500	5048,000	4440,000
W de Wilcoxon	8983,500	9162,500	13304,000	12696,000
Z	-13,313	-12,987	-2,284	-3,551
Sig. asintótica(bilateral)	.000	.000	.022	.000

a. Variable de agrupación: TIPO DIETA

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

<b>HI+A vs HI+G</b>	Talla	Peso	CONTROL-Talla	CONTROL-Peso
U de Mann-Whitney	3760,000	3196,500	5994,000	5910,000
W de Wilcoxon	11386,000	10822,500	10944,000	10860,000
Z	-2,961	-4,327	-,697	-,868
Sig. asintótica(bilateral)	.003	.000	.486	.385

a. Variable de agrupación: TIPO DIETA

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

<b>HI+A vs MEJ</b>	Talla	Peso	CONTROL-Talla	CONTROL-Peso
U de Mann-Whitney	225,000	335,000	5070,000	4428,000
W de Wilcoxon	5896,000	6006,000	10020,000	9378,000
Z	-11,092	-10,792	-,186	-1,721
Sig. asintótica(bilateral)	.000	.000	.852	.085

a. Variable de agrupación: TIPO DIETA

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

<b>HI+A vs NOF</b>	Talla	Peso	CONTROL-Talla	CONTROL-Peso
U de Mann-Whitney	157,500	403,500	3756,000	3246,000
W de Wilcoxon	9068,500	9314,500	8706,000	8196,000
Z	-11,902	-11,342	-2,528	-3,823
Sig. asintótica(bilateral)	.000	.000	.011	.000

a. Variable de agrupación: TIPO DIETA

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

<b>HI+G vs MEJ</b>	Talla	Peso	CONTROL-Talla	CONTROL-Peso
U de Mann-Whitney	692,500	1011,000	6488,000	6240,000
W de Wilcoxon	6363,500	6682,000	11948,000	14496,000
Z	-11,656	-11,019	-,330	-,818
Sig. asintótica(bilateral)	,000	,000	,741	,413

a. Variable de agrupación: TIPO DIETA

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

<b>HI+G vs NOF</b>	Talla	Peso	CONTROL-Talla	CONTROL-Peso
U de Mann-Whitney	766,500	1384,000	5624,000	4656,000
W de Wilcoxon	9677,500	10295,000	13880,000	12912,000
Z	-12,524	-11,481	-1,084	-3,101
Sig. asintótica(bilateral)	,000	,000	,279	,002

a. Variable de agrupación: TIPO DIETA

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

<b>MEJ vs NOF</b>	Talla	Peso	CONTROL-Talla	CONTROL-Peso
U de Mann-Whitney	6859,000	6858,000	4032,000	4128,000
W de Wilcoxon	12530,000	15769,000	9492,000	9588,000
Z	-,358	-,360	-2,348	-2,113
Sig. asintótica(bilateral)	,720	,719	,019	,035

a. Variable de agrupación: TIPO DIETA

Al observar las comparaciones entre pares de dietas, vemos que la Talla y el Peso de los erizos alimentados con las dietas experimentales diseñadas son significativamente diferentes de los valores de Talla y Peso obtenidos en los erizos alimentados con la dieta Control y con las dietas Mejicana y de Nofima; estas dos dietas no presentan diferencias entre sí en cuanto a Talla y Peso de los erizos alimentados con ellas, y su valor está por debajo de los valores obtenidos con la dieta Control basada en macroalgas.



### Pruebas de muestras relacionadas

En este apartado intentaremos probar si podemos aceptar con un 95% de confianza que hay diferencia estadísticamente significativa entre las variables talla y peso con sus respectivas variables de control. Cuando no hay normalidad de la distribución, debemos aplicar el test no paramétrico de Wilcoxon, como es nuestro caso.

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

	CONTROL- Talla - Talla	CONTROL- Peso - Peso
<b>HA+A</b>		
Z	-4,451 <sup>b</sup>	-1,909 <sup>b</sup>
Sig. asintótica(bilateral)	,000	,056

- a. Prueba de rangos con signo de Wilcoxon
- b. Se basa en rangos positivos.

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

	CONTROL- Talla - Talla	CONTROL- Peso - Peso
<b>HA+G</b>		
Z	-9,027 <sup>b</sup>	-8,828 <sup>b</sup>
Sig. asintótica(bilateral)	,000	,000

- a. Prueba de rangos con signo de Wilcoxon
- b. Se basa en rangos positivos.

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

	CONTROL- Talla - Talla	CONTROL- Peso - Peso
<b>HI+A</b>		
Z	-7,465 <sup>b</sup>	-7,202 <sup>b</sup>
Sig. asintótica(bilateral)	,000	,000

- a. Prueba de rangos con signo de Wilcoxon
- b. Se basa en rangos positivos.

**Estadísticos de prueba<sup>a</sup>**

HI+G	CONTROL- Talla - Talla	CONTROL- Peso - Peso
Z	-7,691 <sup>b</sup>	-6,675 <sup>b</sup>
Sig. asintótica(bilateral)	,000	,000

- a. Prueba de rangos con signo de Wilcoxon  
b. Se basa en rangos positivos.

#### Estadísticos de prueba<sup>a</sup>

MEJ	CONTROL- Talla - Talla	CONTROL- Peso - Peso
Z	-6,779 <sup>b</sup>	-6,650 <sup>b</sup>
Sig. asintótica(bilateral)	,000	,000

- a. Prueba de rangos con signo de Wilcoxon  
b. Se basa en rangos negativos.

#### Estadísticos de prueba<sup>a</sup>

NOF	CONTROL- Talla - Talla	CONTROL- Peso - Peso
Z	-7,411 <sup>b</sup>	-6,874 <sup>b</sup>
Sig. asintótica(bilateral)	,000	,000

- a. Prueba de rangos con signo de Wilcoxon  
b. Se basa en rangos negativos.

Como observamos en las tablas anteriores, con todas las dietas suministradas se obtienen valores de Talla y Peso significativamente diferentes a los obtenidos con el control, aunque con las dietas Mejicana y de Nofima se obtuvieron valores de Talla y Peso final de los erizos significativamente inferiores a los valores obtenidos con la dieta Control basada en macroalgas. Creemos que las características organolépticas de las mismas pudieron influir en una menor ingesta por parte de los erizos.

## Conclusiones

- Las cuatro dietas elaboradas específicamente para incrementar el ritmo de crecimiento de individuos juveniles de *P. lividus* funcionaron mejor que la dieta Control, ya que se obtuvieron valores medios de Talla y Peso finales significativamente mayores que los obtenidos con esta dieta.
- La talla media de los erizos del grupo Control del experimento (alimentados “ad libitum” con macroalgas) fue de 16,61 mm de diámetro en 6 meses, mientras que la talla obtenida en los juveniles alimentados con la dieta HA + A fue de 21,38 mm en el mismo tiempo, lo que supone un incremento del **128,7%** sobre el grupo Control.
- El peso medio de los erizos del grupo Control (alimentados “ad libitum” con macroalgas) fue de 2,42 g de peso en 6 meses, mientras que el peso obtenido en los juveniles alimentados con la dieta HA + A fue de 4,35 g en el mismo tiempo, lo que supone un incremento del **179,8%** en el peso de los juveniles.
- Alimentando los erizos juveniles de esta especie con la dieta basada en Harina de atún y Agar como elemento gelificante, que fue la que más incrementó el peso y la talla de los erizos, se podría reducir en al menos un 40% el tiempo necesario para producir juveniles aptos para repoblación (20 mm de diámetro).

## Bibliografía

- Arce, E.; Luna-Figueroa, J. (2003). Efecto de dietas con diferente contenido proteico en las tasas de crecimiento de crías del Bagre del Balsas *Ictalurus balsanus* (Pisces: Ictaluridae) en condiciones de cautiverio. *Revista AquaTIC*, 18: 39-47.
- Barker, M. F.; Keogh, J. A.; Lawrence, J. M. & Lawrence, A. L. (1998). Feeding rate, absorption efficiencies, growth, and enhancement of gonad production in the New Zealand sea urchin *Evechinus chloroticus* Valenciennes (Echinoidea: Echinometridae) fed prepared and natural diets. *J. Shellfish Res.*, 17: 1583-1590.
- Cook, E.J. & Kelly, M.S. (2007). Enhanced production of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in integrated open-water cultivation with Atlantic salmon *Salmo salar*. *Aquaculture*, 273 (4): 573-585.
- Cook, E.J., Hughes, A.D., Orr, H., Kelly, M.S. & Black, K.D. (2007). Influence of dietary protein on essential fatty acids in the gonadal tissue of the sea urchins *Psammechinus miliaris* and *Paracentrotus lividus* (Echinodermata). *Aquaculture*, 273 (4): 586-594.

- Daggett, T.L., Pearce, C.M., Tingley, M., Robinson, S.M.C. & Chopin, T. (2005). Effect of prepared and macroalgal diets and seed stock source on somatic growth of juvenile green sea urchins (*Strongylocentrotus droebachiensis*). *Aquaculture*, 244 (1-4): 263-281.
- De Jong-Westman, M., March, B.E., Carefoot, T.H. (1995). The effect of different nutrient formulations in artificial diets on gonad growth in the sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Can. J. Zool.*, 73: 1495-1502.
- Dworjanyn, S. A.; Pirozzi, I.; Liu, W. (2007). The effect of the addition of algae feeding stimulants to artificial diets for the sea urchin *Tripneustes gratilla*. *Aquaculture*, 273: 624-633.
- Dubois, Ph., & Chen, C. (1989). *Calcification in echinoderms*. In: Jangoux, M., Lawrence, J.M. (eds). *Echinoderm studies*, 3. Balkema, Rotterdam: 109–178.
- Fernandez, C. (1997). Effect of diet on the biochemical composition of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) under natural and rearing conditions (effect of diet on biochemical composition of urchins). *Comp. Biochem. Physiol.*, 118A (4): 1377-1384.
- Fernandez, C. & Boudouresque, C.F. (2000). Nutrition of the sea urchin *Paracentrotus lividus* fed different artificial food. *Marine Ecology Progress Series*, 204: 131-141.
- Fernandez, C. & Caltagirone, A. (1994). Growth rate of adult *Paracentrotus lividus* in a lagoon environment : the effect of different diet types. In B. David, A. Guille, J.P. Féral & M. Roux (Eds.). *Echinoderms trough time*. Rotterdam: Balkema: 655-660.
- Fernandez, C., Dombrowski, E. & Caltagirone, A. (1995). Gonadic growth of adult sea urchin *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) in rearing: the effect of different diet type. In Emson R., Smith A., Campbell A. (Eds.). *Echinoderms Research 1995*. Rotterdam: Balkema: 269-275.
- Fernandez, C. & Pergent, G. (1998). Effect of different formulated diets and rearing conditions on growth parameters in the sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Journal of Shellfish Research*, 17 (5): 1571-1581.
- Hammer, B.W., Hammer, H.S., Watts, S.A., Lawrence, J.M., Lawrence, A.L. (2006). The effect of dietary protein and carbohydrate concentration on the biochemical composition and gametogenic condition of the sea urchin *Lytechinus variegatus*. *JEMBE*, 344: 109-121.
- Kelly, M.S., Brodie, C.C., McKenzie, J.D. (1998). Somatic and gonadal growth of the sea urchin *Psammechinus miliaris* (Gmelin) maintained in polyculture with the Atlantic salmon. *J. Shellfish Res.*, 17: 1557-1562.
- Kennedy, E.J., Robinson, S.M.C., Parsons, G.J., Castell, J. (2001). Studies on feed formulations to maximize somatic growth rates of juvenile green sea urchins (*Strongylocentrotus droebachiensis*). *Aquacult. Assoc. Can. Spec. Publ.*, 4: 68-71.

- Klinger, T.S., Hsieh, H.L., Pangallo, R.A. & Chen, C.P. and Lawrence, J.M. (1986). The effect of temperature on feeding, digestion and absorption of *Litechinus variegatus* (Lamark) (Echinodermata: echinoidea). *Physiol. Zool.*, 59 (3): 332-336.
- Klinger, T.S., Lawrence, J.M. & Lawrence, A.L. (1994). Digestive characteristics of the sea-urchin *Lytechinus variegatus* (Lamark) (Echinodermata: Echinoidea) fed prepared feeds. *Journal of the World Aquaculture Society*, 25 (4): 489-496.
- Lawrence, J.M., Fenaux, L., Corre, M.C., Lawrence, A. (1991). The effect of quantity and quality of prepared diets on production in *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea). Scalera-Liaci, L., Canicatti, C. (Eds.). *Echinoderm Research*, Balkema, Rotterdam: 107-110.
- Liu, H., Kelly, M.S., Cook, E.J., Black, K., Orr, H., Zhu, J.X., Dong, S.L. (2007). The effect of diet type on growth and fatty-acid composition of sea urchin larvae, I. *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) (Echinodermata). *Aquaculture*, 264 (1-4): 247-262.
- McBride, S.C., Pinnix, W.D., Lawrence, J.M., Lawrence, A.L., Mulligan, T.M. (1997). The effect of temperature on production of gonads by the sea urchin *Strongylocentrotus franciscanus* fed natural and prepared diets. *J. World Aquac. Soc.*, 28: 357-365.
- McBride, S.C., Lawrence, J.M., Lawrence, A.L., Mulligan, T.M. (1999). Ingestion, absorption, and gonad production of adult *Strongylocentrotus franciscanus* fed different rations of a prepared diet. *J. World Aquac. Soc.*, 30: 364-370.
- McCarron, E., Burnell, G., Mouzakitis, G. (2009). Growth assessment on three size classes of the purple sea urchin *Paracentrotus lividus* using continuous and intermittent feeding regimes. *Aquaculture*, 288: 83-91.
- McLaughlin, G. & Kelly, M.S. (2001). Effect of artificial diets containing carotenoid-rich microalgae on gonad growth and color in the sea urchin *Psammechinus miliaris* (Gmelin). *J. Shell. Res.*, 20 (1): 377-382.
- Nagai, Y. & Kaneko, K. (1975). Culture experiments on the sea urchin *Strongylocentrotus pulcherrimus* fed an artificial diet. *Mar. Biol.*, 29: 105-108.
- Olave, S., Bustos, E., Lawrence, J.M., Cárcamo, P. (2001). The effect of size and diet on gonad production by the Chilean sea urchin *Loxechinus albus*. *J. World Aquac. Soc.*, 32: 210-214.
- Pantazis, P.A., Kelly, M.S., Connolly, J.G., Black, D. (2000). Effect of artificial diets on growth, lipid utilization, and gonad biochemistry in the adult sea urchin *Psammechinus miliaris*. *J. Shell. Res.*, 19 (2): 995-1001.
- Pantazis, P.A. (2006). Carotenoid profiles of two echinoids from central Greece, *Psammechinus microtuberculatus* and *Echinus esculentus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 37 (3): 339-344.

- Pearce, C.M., Daggett, T.L. & Robinson, S.M.C. (2002). Effect of protein source ratio and protein concentration in prepared diets on gonad yield and quality of the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Aquaculture*, 214 (1-4): 307-332.
- Rey-Méndez, M., Tourón, N., Rodríguez-Castro, B., Rama-Villar, A., Fernández-Silva, I., González, N., ... & Catoira, J.L. (2015) Growth rate and gonadal index improvement in sea urchin culture *Paracentrotus lividus* (Echinoida: Echinidae). *Revista de Biología Tropical*, 63, 261-272.
- Schlosser, S.C., Lupatsch, I., Lawrence, J.M., Lawrence, A.L. & Shpigel, M. (2005). Protein and energy digestibility and gonad development of the European sea urchin *Paracentrotus lividus* fed algal and prepared diets during spring and fall. *Aquaculture Research*, 36 (10): 972.
- Senaratna, M., Evans, L.H., Southam, L. & Tsvetenko, E. (2005). Effect of different feed formulations on feed efficiency, gonad yield and gonad quality in the purple sea urchin *Heliocidaris erythrogramma*. *Aquaculture Nutrition*, 11: 199–207.
- Spirlet, C., Grosjean, P., Jangoux, M. (2001). Cultivation of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: echinoidea) on extruded feeds: digestive efficiency, somatic and gonadal growth. *Aquaculture Nutrition*, 7 (2): 91-99.
- Symonds, R.C., Kelly, M.S., Caris-Veyrat, C., Young, A.J. (2007). Carotenoids in the sea urchin *Paracentrotus lividus*: Occurrence of 9'-cis-echinenone as the dominant carotenoid in gonad colour determination. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 148 (4): 432-444.
- Woods, C.M.C., James, P.J., Moss, G.A., Wright, J., Siikavuopio, S. (2008). A comparison of the effect of urchin size and diet on gonad yield and quality in the sea urchin *Evechinus chloroticus* Valenciennes. *Aquaculture International*, 16: 49-68.

## Actividad 5. Obtención masiva de juveniles para repoblación

### 5.1. Documento final de resultados obtenidos

#### Repoblación con juveniles de *P. lividus* en el litoral de Cangas do Morrazo (Ría de Vigo)

Se liberaron un total de 50000 erizos juveniles de la especie *P. lividus* en la zona litoral de 'Os Castros' de Cangas do Morrazo, demarcada por las coordenadas que se especifican en la Tabla 1 y protegida de la pesca extractiva por la Cofradía de Pescadores San Xosé de Cangas.



La repoblación se hizo en 3 tandas diferentes, la primera de ellas se llevó a cabo el día 30 de abril de 2021, liberándose aproximadamente 8500 individuos juveniles en grietas de la zona a repoblar, con una talla media de 20 mm de diámetro de testa y en una franja de 0 a 1'5 m de profundidad, abarcando la zona intermareal; en la figura 8 se pueden ver algunas fotos del transporte de los erizos hasta la zona y de la liberación de los mismos en el litoral, el reportaje fotográfico completo se adjunta como fuente de verificación FV 5.2.

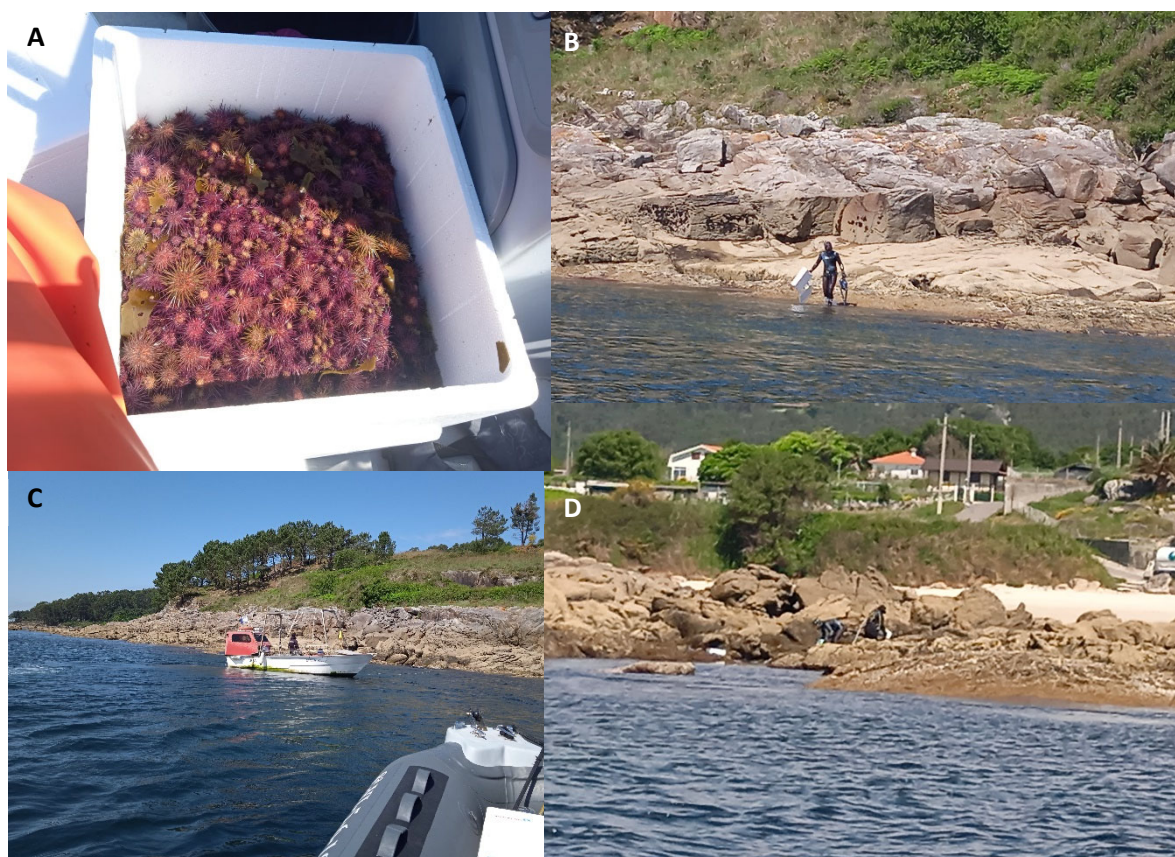


Fig. 8.- A) Caja de poliexpan de transporte de los erizos juveniles ; B) Buzo repoblando las charcas del intermareal ; C) Embarcación de la Cofradía de Pescadores San Xosé ; D) Tareas de repoblación de los dos buzos.



La segunda repoblación se realizó el día 09 de Julio de 2021 en la misma zona, tal como nos indicó la Cofradía de Cangas como entidad socia del proyecto OCIMER, aunque a mayor profundidad (1'5 a 3 m); se liberaron aproximadamente 21000 erizos juveniles con una talla media de 20 mm de diámetro de testa (Figura 9).

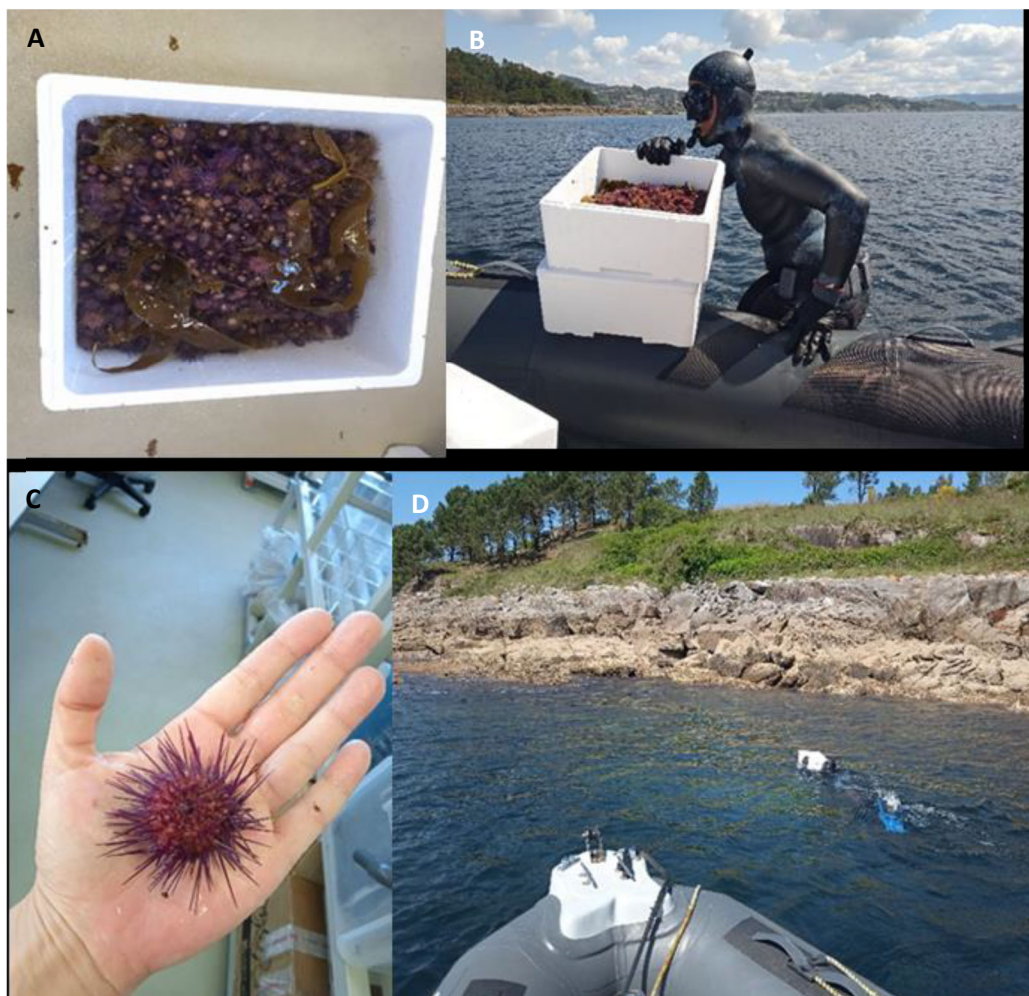


Fig. 9.- A y B) Cajas de poliestireno para el transporte de los erizos juveniles ; C) ejemplar juvenil para repoblación ; D) Buzo transportando una de las cajas con juveniles hasta el área a repoblar.

La última repoblación se llevó a cabo el día 27 de Octubre de 2021 en la misma zona, a una profundidad media de 2'5 m; se liberaron aproximadamente 20000 erizos juveniles con una talla media de 20 mm de diámetro de testa (Figura 10).

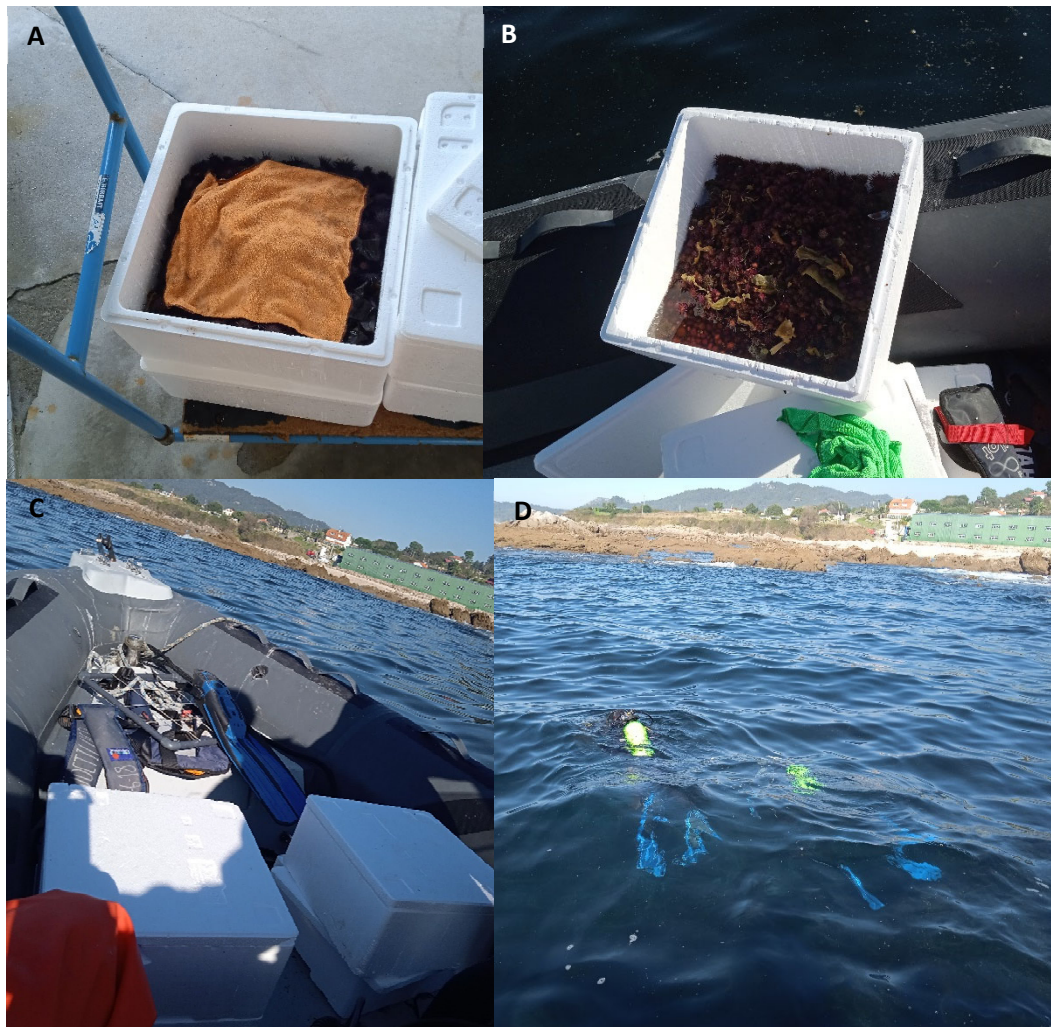


Fig. 10.- A y B) Cajas de poliexpan para el transporte de los erizos juveniles cubiertas con un paño húmedo ; C) transporte de las cajas hasta la zona a repoblar ; D) Buzos realizando tareas de repoblación.

No se pudieron llevar a cabo las tareas de seguimiento de las repoblaciones realizadas por falta de tiempo debido al retraso derivado de la pandemia, se espera poder terminar esta tarea en el marco del nuevo proyecto OCIMER +.



## Actividad 6. Creación de un biobanco de diversas especies de erizo de mar como herramienta para la conservación de la biodiversidad de las especies autóctonas de erizo de mar, en colaboración con el Parque Nacional de las Islas Atlánticas.

### 6.1 Libreto de protocolos



Los protocolos de estudio y desarrollo de protocolos de criopreservación para diferentes tipos celulares de las 3 especies de erizo de mar estudiadas: *P. lividus*, *S. granularis* y *E. cordatum* se han publicado en este libretto de protocolos técnicos, publicados en lenguaje científico cercano y comprensible para aquellos acercándose a la criobiología por primera vez.

### 6.2. Informe técnico sobre mejores prácticas en los biobancos de invertebrados marinos

Se realizó un trabajo de estudio y recopilación de la información necesaria para los primeros pasos de la creación de un biobanco y su mantenimiento con un estándar de calidad que

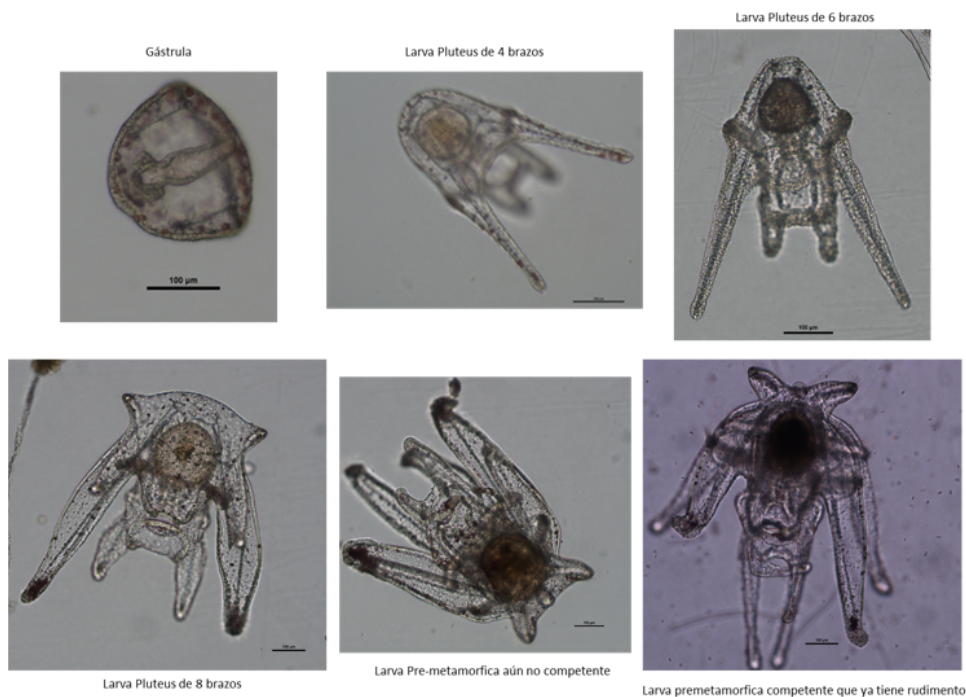
garantice que las células almacenadas mantienen su viabilidad. El índice de contados se muestra a continuación.

## Índice

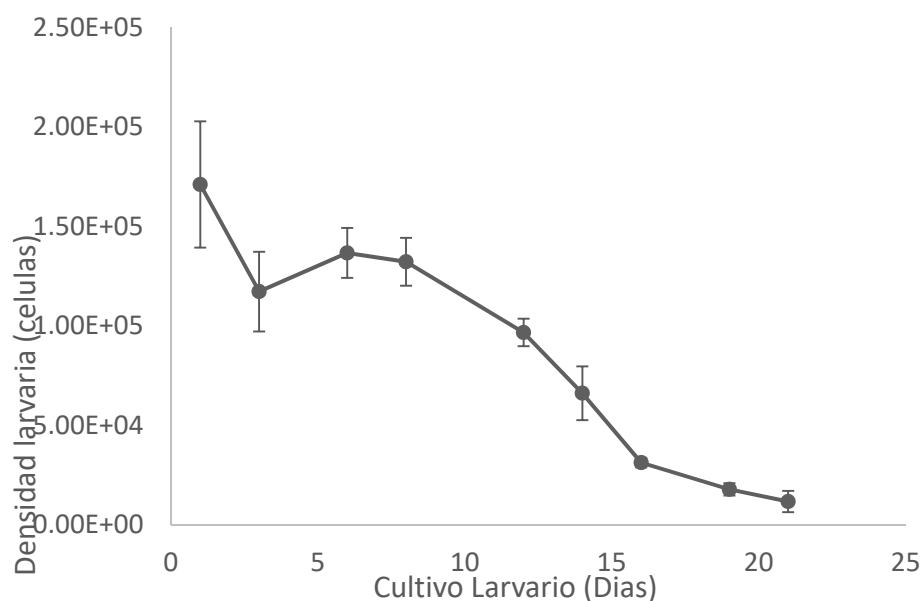
<b>Biobancos de organismos marinos</b> .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
¿Qué son los biobancos?.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Biobancos de invertebrados marinos criopreservados: el futuro ya está aquí .....	3
Criopreservación en biobancos.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Principios básicos de la criopreservación .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Almacenamiento criogénico: generalidades.....	10
<b>Mejores prácticas en biobancos de organismos marinos</b> .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Medidas de seguridad de los investigadores y personal relacionado .	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Medidas de seguridad de las muestras.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Sistemas de calidad en un biobanco.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Calidad de las muestras: armonización de criterios y métodos .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>El Futuro de los biobancos</b> .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Equipamiento del futuro.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>Bibliografía y links de apoyo</b> .....	15

### 6.3 Informe técnico sobre potencial de cultivo en hatchery de especies de erizo de mar difundido a través del servicio de comunicación de la ECIMAT y de la UVigo.

En este informe técnico se muestra información biológica de reproducción y cultivo de las dos especies alternativas a *P. lividus*: *S. granularis* y *E. esculentus*.



#### Desarrollo larvario de *S. granularis*



#### Cultivo larvario de *S. granularis* durante 22 días (Tº 18º)

## Actividad 7. Comunicación y divulgación



### Reunión Inaugural en la Sede de Parques Nacionales Febrero 2020

**Personal Presente:**

Estefania Paredes-Dirección Científica OCIMER

Damián Costas –Dirección Técnica OCIMER

Montserrat Martínez Morán - Directora Adjunta Parque Nacional marítimo-terrestre Illas Atlánticas de Galicia

**Orden del Día:** Muestreos para criopreservación de erizos e inclusión en biobanco.

Muestreos en el parque nacional de individuos de *Sphaerechinus granularis*



Muestreos en el parque nacional de individuos de *Echinocardium cordatum*



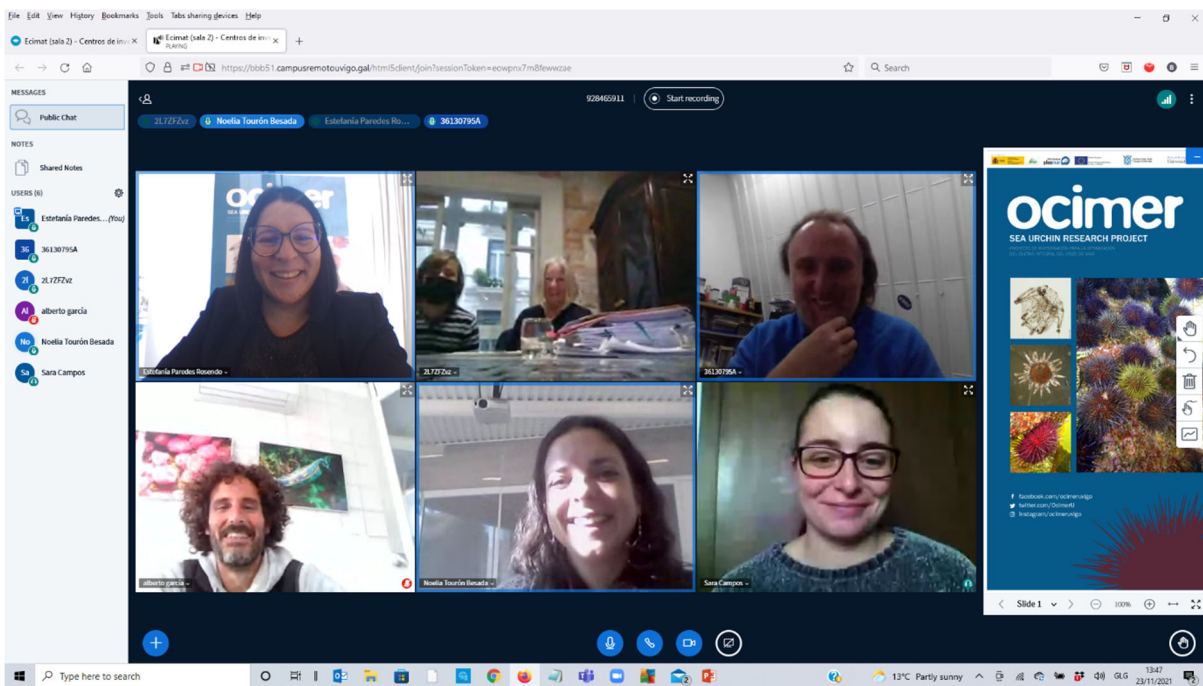
### Reunion Virtual con Parques Nacionales 2021





Asistencia al congreso de la European Aquaculture Society 2021





Reunion con Solavela S.L. (Pais Vasco) Noviembre 2021



## Reunion Cierre Noviembre 2021, sede de la Cofradia de Cangas

### A7 Comunicación y divulgación

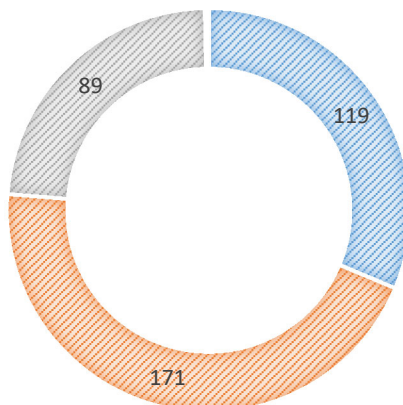
Accion 1.-Se promocionará el proyecto a través de la unidad de comunicación de la ECIMAT y de los recursos de la Universidad de Vigo;

R7.1 Elaboradas y publicadas 2 notas de prensa: puesta en marcha del proyecto y evento de cierre y presentación de resultados

El proyecto cuenta con una cuenta de Facebook y una de Twitter e Instagram respectivamente que se ha mantenido activa e interactiva desde el inicio del proyecto.

## SEGUIDORES REDES

■ Intagram ■ Facebook ■ Twitter ■



Se han realizado varias noticias de prensa general y medios especializados anunciando la concesión del proyecto, la realización de la jornada inaugural y recientemente hablando sobre la importancia del trabajo de OCIMER para el sector. Además de una breve aparición en la televisión local TVG.

1. <https://www.pescaconciencia.com/2019/12/19/galicia-ecimat-busca-la-sostenibilidad-del-erizo-de-mar-a-traves-del-proyecto-ocimer/>
2. <https://www.crtvg.es/informativos/presentase-en-vigo-o-proxecto-ocimer-para-optimizar-a-produccion-de-ourizo-de-mar-4308865>
3. [https://www.lavozdeg Galicia.es/noticia/vigo/2020/02/20/30000-ejemplares-erizo-mar-repoblar-zonas-sobreexplotadas-ria/0003\\_202002V20C4995.htm](https://www.lavozdeg Galicia.es/noticia/vigo/2020/02/20/30000-ejemplares-erizo-mar-repoblar-zonas-sobreexplotadas-ria/0003_202002V20C4995.htm)
4. <https://www.farodevigo.es/mar/2020/02/20/proyecto-uvigo-repoblara-ria-30-15326016.html>
5. [http://www.ipacuicultura.com/noticias/ultima\\_hora/75108/el\\_proyecto\\_ocimer\\_de\\_optimizacion\\_del\\_cultivo\\_integral\\_del\\_erizo\\_de\\_mar\\_celebra\\_su\\_jornada\\_de\\_apertura\\_esta\\_semana\\_en\\_vigo.html](http://www.ipacuicultura.com/noticias/ultima_hora/75108/el_proyecto_ocimer_de_optimizacion_del_cultivo_integral_del_erizo_de_mar_celebra_su_jornada_de_apertura_esta_semana_en_vigo.html)
6. <https://www.20minutos.es/noticia/4156049/0/uvigo-pone-en-marcha-un-proyecto-para-optimizar-el-cultivo-de-erizo-de-mar-cuyo-precio-crece-exponencialmente-cada-ano/>
7. <https://cim.uvigo.gal/2020/02/o-proxecto-ocimer-mellorara-o-cultivo-do-ourizo-de-mar-e-repoboara-con-30-000-exemplares-as-zonas-sobreexplotadas-da-ria-de-vigo/>
8. <https://www.diariodepontevedra.es/articulo/o-morrazo/repueblan-erizos-mar-zonas-sobreexplotadas-ria-vigo/202002192055481074167.html>
9. [http://www.crtvg.es/tvg/a-carta/vivir-o-mar-999-proxecto-ocimer-febreiro-mes-da-robaliza-4340877?t=0&fbclid=IwAR0Xbdh\\_Du9VHmsRaBIGOwdewTC0ZbcA7ctRmeInF-RuNxJS4c89UU1b9D0](http://www.crtvg.es/tvg/a-carta/vivir-o-mar-999-proxecto-ocimer-febreiro-mes-da-robaliza-4340877?t=0&fbclid=IwAR0Xbdh_Du9VHmsRaBIGOwdewTC0ZbcA7ctRmeInF-RuNxJS4c89UU1b9D0)
10. <https://www.facebook.com/watch/?v=381856602947616>
11. [http://www.ipacuicultura.com/noticias/en\\_portada/79027/el\\_proyecto\\_ocimer\\_repuebla\\_con\\_casi\\_30000\\_juveniles\\_de\\_erizo\\_de\\_mar\\_la\\_costa\\_de\\_cangas\\_do\\_morrazo.html](http://www.ipacuicultura.com/noticias/en_portada/79027/el_proyecto_ocimer_repuebla_con_casi_30000_juveniles_de_erizo_de_mar_la_costa_de_cangas_do_morrazo.html)
12. <https://industriaspesqueras.com/noticia-66818-sec-Portada>

13. <https://www.farodevigo.es/mar/2021/07/23/uvigo-repuebla-costa-cangas-30-55334626.html>
14. [https://www.abc.es/espana/galicia/abci-proyecto-repoblara-zonas-erizos-mar-sobreexplotadas-202002192043\\_noticia.html](https://www.abc.es/espana/galicia/abci-proyecto-repoblara-zonas-erizos-mar-sobreexplotadas-202002192043_noticia.html)