

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO

Colegio de Ciencia Biológicas y Ambientales

**Impacto de la Temperatura en el Desarrollo Larvario del Erizo Verde de
Galápagos, en la Isla San Cristóbal**

Dennisse Gabriela Vallejo Herrera

Luis Vinueza, PhD., Director de Tesis

Tesis de Grado Presentada como Requisito para la Obtención del Título de Licenciatura en
Ecología Marina

Quito, mayo 2015

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO

Colegio de Ciencia Biológicas y Ambientales

HOJA DE APROBACIÓN DE TESIS

**Impacto de la Temperatura en el Desarrollo Larvario del Erizo Verde de
Galápagos, en la Isla San Cristóbal**

Dennisse Gabriela Vallejo Herrera

Luis Vinueza, PhD.,

Director de Tesis

Margarita Brandt, PhD.,

Miembro del Comité de Tesis

Carlos Mena, PhD.

Miembro del Comité de Tesis

Stella de la Torre, PhD.,

Decano del Colegio de Ciencias

Biológicas y Ambientales

Quito, mayo de 2015

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído la Política de Propiedad Intelectual de la Universidad San Francisco de Quito y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo de investigación quedan sujetos a lo dispuesto en la Política.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo de investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma:

Nombre: Dennisse Gabriela Vallejo Herrera

C. I.: 1722198890

Fecha: mayo 2015

Dedicatoria

El océano es un lugar único y excepcional lleno de secretos por descubrir, revelar cada uno de ellos es mi pasión y ambición. Por eso, esta tesis la dedico a todas aquellas personas que pasan su vida tras un nuevo hallazgo, una nueva verdad, sin que nada los detenga. Sin que nada les impida ver más allá de lo imposible.

Agradecimientos

Agradezco a Dios y a mi familia que siempre me han apoyado y guiado en todo momento. A mi mamá por realizar hasta lo imposible para dejarme el mejor legado, la educación y su amor. A mis hermanos, abuelitos y tía Mónica por haberme enseñado que puedo contar con ellos en todo momento y en cualquier etapa de mi vida. Soy lo que soy por ustedes.

A Rafael, quien ha sido mi apoyo y compañero constante, quien ha sabido ayudarme en todo lo que ha estado a su alcance y me ha enseñado a ser perseverante.

A mis compañeros de colegio y universidad que en cada etapa de mi vida supieron llenar de alegrías y bellos recuerdos mi vida. Espero poder siempre contar con su hermosa amistad por que ahora ya forman parte de mi familia.

A la USFQ, COCIBA y GAIAS; instituciones donde me pude formar profesionalmente y donde conocí a personas extraordinarias como mi tutor Luis Vinueza, quien me apoyó para realizar un gran proyecto, un gran sueño que se pudo concretar. Diego Quiroga, Steve Walsh y Carlos Mena a través de GAIAS y del GSC por su apoyo constante para llevar a cabo este trabajo.

Finalmente quiero agradecer a Richard Strathman, científico extraordinario, que me apoyo con conocimiento y técnicas de investigación para culminar el proyecto.

Resumen

La temperatura es uno de los factores abióticos de mayor importancia en la naturaleza debido a su influencia directa e indirecta sobre la dinámica poblacional, la estructuración y el funcionamiento de los ecosistemas. Esto se da porque la temperatura controla la velocidad de los procesos bioquímicos fundamentales como el metabolismo y por ello regula de manera indirecta ciertos atributos de los organismos como sus tasas de desarrollo, de consumo y de supervivencia (O'Connor et al. 2006). Por ello, se vuelve importante entender como las variaciones de temperatura afectan a especies como los erizos de mar que por su abundancia pueden modificar la estructura de los ecosistemas marinos, sobre todo en una zona como Galápagos con constantes variaciones de temperatura.

Por lo tanto esta investigación pretende determinar el efecto de la temperatura en las tasas de desarrollo y supervivencia de las larvas del erizo marino *Lytechinus semituberculatus*, que es uno de los erizos mas abundantes de las islas Galápagos.

Para realizar este experimento se construyó un laboratorio de peceras, que contiene un sistema de tuberías, sistema de aireación, cuarto de máquinas y un tablero eléctrico; que en conjunto formaron el sistema adecuado para controlar la temperatura del agua y ver que sucede con las larvas de los erizos.

Por otro lado, para obtener las larvas de los erizos, se procedió a inyectarles cloruro de potasio para obtener oocitos y esperma. Los gametos se fecundaron para obtener embriones que posteriormente se colocaron en una incubadora, para obtener las larvas.

Las larvas sometidas a diferentes temperaturas mostraron diferencias morfológicas desde el primer día, siendo las larvas de temperaturas frías (19-22 °C) las que tenían una forma globular mientras que las de temperaturas calientes (26-28 °C) una forma triangular. Por otro lado, se encontró que las larvas de temperaturas calientes tuvieron una mayor tasa de supervivencia que las larvas de temperaturas frías. Todas las medidas que se tomaron de las larvas fueron proporcionales unas con otras. Todas las larvas murieron antes de culminar la etapa del desarrollo aglutinándose unas con otras. Esto puede explicarse por contaminación en las muestras de agua o por una excesiva cantidad de larvas colocadas por tazón.

Abstract

Temperature is one of the most important abiotic factors in nature due to its direct and indirect influence on the population dynamics, structure and functioning of ecosystems. This is because the temperature controls the speed of the fundamental biochemical processes such as metabolism and thus indirectly regulates certain attributes of organisms as their cups of development, consumption and survival (O'Connor et al. 2006). Therefore, it becomes important to understand how temperature changes affect species such as sea urchins, with high abundance that may change the structure of marine ecosystems, especially in an area like Galapagos with constant temperature variations.

Therefore this research aims to determine the effect of temperature on development and survival rates of sea urchin larvae *Lytechinus semituberculatus*, which is one of the most abundant urchins of the Galapagos Islands.

To perform this experiment laboratory tanks containing a pipe system, aeration system, engine room and switchboard was built; together this equipment formed an appropriate system to monitor the temperature of the water and see what happens to the larvae of sea urchins. Furthermore, for obtain urchin larvae, we proceeded to inject potassium chloride to get oocytes and sperm. Gametes were fertilized for have embryos, that then were placed in an incubator, for finally obtain the larvae.

The larvae exposed to different temperatures showed morphological differences from the first day, larvae in cold temperatures (19-22 °C) had a globular shape while larvae in hot temperatures (26-28 °C) had a triangular shape. Furthermore, it was found that larvae in hot temperatures had a higher survival rate than the larvae of cold temperatures. All measures taken in the larvae were proportional to each other. All larvae died before completing the development stage clumping together. This can be explained by contamination in water samples or excessive amount of larvae placed in bowl.

Tabla de Contenidos

1. INTRODUCCIÓN	11
1.1. ERIZO <i>LITECHYNUS SEMITUBERCULATUS</i>	12
1.2. ANTECEDENTES.....	11
1.3. LAS ISLAS GALÁPAGOS.....	11
2. JUSTIFICACIÓN	13
3. OBJETIVOS	14
4. MARCO TEÓRICO	14
5. ENFOQUE METODOLÓGICO	15
5.1. EXPERIMENTACIÓN.....	15
5.1.1. <i>Recolección de Muestras</i>	15
5.1.2. <i>Obtención de Larvas</i>	16
5.1.3. <i>Análisis de Calidad de los gametos</i>	16
5.1.4. <i>Fecundación</i>	17
5.1.5. <i>Éxito de Fecundación</i>	17
5.1.6. <i>Obtención de Larvas</i>	17
5.1.7. <i>Larvas a Distintas Temperaturas</i>	17
5.1.8. <i>Variables Dependientes</i>	18
5.2. PECERAS.....	18
5.2.1. <i>Sistema de Tuberías</i>	18
5.2.2. <i>Sistema de Aireación</i>	18
5.2.3. <i>Cuarto de Máquinas y Tablero Eléctrico</i>	19
6. RESULTADOS	19
7. DISCUSIÓN	21
8. CONCLUSIONES	22
9. RECOMENDACIONES	23
10. BIBLIOGRAFÍA	24
11. FIGURAS	29

Tabla de Figuras

Figura 1 Pasos para la obtención de larvas de Erizos	29
Figura 2 Bowls o tazones con larvas colocados en peceras a diferentes temperaturas, 19-22 grados C y 26-28 grados C. Sistema de tuberías con llaves para transporte de agua fría y caliente.	30
Figura 3 A. Longitud media del cuerpo considerando los brazos (LMCB) B. Longitud media del cuerpo sin considerar brazos (LMCSB) C. Distancia entre abertura de ambos brazos (DAB)	30
Figura 4 Sistema de Aireación A. Estructura PVC tipo columpio y barras de acrílico. B Motor empujando la estructura PVC y las barras de acrílico.	31
Figura 5 Cuarto de Máquinas donde se colocaron 2 bombas, 1 tanque, 1 calefón y el Chiller.	31
Figura 6 Tablero eléctrico desde donde se controla las bombas, Chiller y motores.	32
Figura 7 Fases de división celular tras horas fecundación	32
Figura 8 Muerte de los embriones por parte de Ciliados que se encontraban contaminando la muestra.	33
Figura 9 Larvas sometidas a diferentes temperaturas. A Larva sometida a temperaturas frías. B Larva sometida a temperaturas calientes	33
Figura 10 Medidas de la LMCB de las larvas tomadas en diferentes días de su etapa de desarrollo, en temperaturas calientes y frías	34
Figura 11 Medidas de la LMCSB de las larvas tomadas en diferentes días de su etapa de desarrollo, en temperaturas calientes y frías	34
Figura 12 Medidas de la DAB de las larvas tomadas en diferentes días de su etapa de desarrollo, en temperaturas calientes y frías	35
Figura 13 Correlación entre LMCSB vs LMCB en temperaturas calientes y frías	35
Figura 14 Correlación entre DAB vs LMCB en temperaturas calientes	36
Figura 15 Correlación entre DAB vs LMCSB en temperaturas calientes y frías	36

1. Introducción

1.1. Antecedentes

La temperatura es uno de los factores abióticos de mayor importancia dentro de los ecosistemas, ya que influencia directamente a cada una de las poblaciones de animales y plantas, afectando su dinámica poblacional, sus interacciones ecológicas y sus impactos en el funcionamiento del ecosistema. Esto se da porque la temperatura controla la velocidad de los procesos bioquímicos fundamentales como el metabolismo y por ello regula de manera indirecta ciertos atributos de los organismos como sus tasas de desarrollo y supervivencia (O'Connor et al. 2006).

En laboratorio se ha demostrado que la temperatura influencia directamente la velocidad del desarrollo embrionario y larvario, asentamiento, metamorfosis y supervivencia de las larvas de diversos invertebrados marinos (Díaz y Carpizo, 2011), incluyendo los erizos de mar (Fujisawa 1989; Rahman et al, 2009; Rosas et al, 2009). La duración del período larvario influye en la distancia de dispersión y la supervivencia de las larvas, por lo tanto los cambios en la temperatura del océano podrían tener una influencia directa y predecible sobre la conectividad de la población, estructura de la comunidad, y patrones de escala regional-mundial de la biodiversidad (O'Connor et al. 2006).

1.2. Las Islas Galápagos

El clima de las islas Galápagos, caracterizado por su gran variabilidad está determinado por la interacción de corrientes marinas frías y calientes. En Galápagos encontramos tres corrientes principales que circulan por la zona: la de Humboldt, la de Panamá y la de Cromwell. La influencia de estas corrientes varía espacial y temporalmente debido a fluctuaciones estacionales, anuales e interanuales. Así, de enero a junio (influenciado principalmente por la corriente de Panamá) encontramos un clima cálido en los

ecosistemas marinos; mientras que de junio a diciembre (influenciado por la corriente de Humboldt) encontramos aguas frías, ricas en nutrientes y oxígeno (Palacios, 2003; Toulkeridis, 2011).

Por otro lado, las islas también se ven influenciadas por ENOS (El Niño / Oscilación del Sur), un fenómeno oceánico-atmosférico relacionado con la variación en la intensidad y dirección de los vientos alisios que influye en la temperatura superficial del mar (TSM), el nivel de nutrientes, entre otros parámetros físicos y químicos que alteran la estructura y funcionamiento de los ecosistemas (Vinuela et al 2006). Manifestándose con dos fases correspondientes a El Niño (fase cálida) y La Niña (fase fría) (Castillo et al. 2004).

1.3 Erizo *Lytechinus semituberculatus*

El erizo verde se encuentra distribuido mundialmente desde las costas de Colombia hasta Ecuador y Perú; además de encontrarse en las islas Clarion en México y las islas Galápagos (Fundación Charles Darwin, 2013). Según Brand y Guarderas 2002, el erizo verde se ha reportado como la segunda especie más abundante de erizo marino de Galápagos, que se encuentra distribuido en las islas de temperaturas más frías con aguas con alta productividad y en hábitats poco profundos.

Por otro lado, el erizo *Lytechinus semituberculatus* en conjunto con el *Eucidaris galapagensis* y el erizo *Tripneustes depressus* representan el 91% de la biomasa de erizos de Galápagos (Brandt y Guarderas, 2002; Sonnenholzner et al, 2013); corroborando de ésta manera su gran importancia dentro de los ecosistemas marinos de las islas. Se ha determinado que el género *Lytechinus* puede desarrollarse en temperaturas que varían entre

los 11 a 35 grados centígrados, y tiene una dieta de algas de aproximadamente 34 especies distintas (Lawrence, 1975)

Hay escasa información acerca del desarrollo larval del erizo verde en específico, sin embargo, se pudo determinar al momento del estudio que el tipo de larva de esta especie era planctotrófica, en base a las características observadas. Como son el número elevado de huevos expulsados y por tanto nula inversión en reservas energéticas, haciendo necesario que las larvas requieran alimento de la columna de agua (plancton) (Nybakken y Bertness, 2005) .

2. Justificación

El cambio climático inducido por el hombre esta causando grandes impactos en los sistemas marinos. Por lo tanto, es de suma importancia el entender como los cambios de temperatura afectarán a organismos importantes del ecosistema marino, como son los erizos de mar que se caracterizan por ser herbívoros y en grandes densidades pueden regular a las poblaciones de algas. (Pearse, 2006; Hereu et al, 2005; Scheibling, 1986; Konar, 2000). Debido a esto pueden simplificar la estructura de las comunidades de algas a parches conocidos como barren grounds o desprovistos de algas lo que conduce a una simplificación de las comunidades marinas al eliminar el alimento y la complejidad estructural que proveen las algas marinas. (Carr y Bruno, 2013; Dee, Witman y Brandt, 2012).

En este sentido entonces al estudiarlos, obtendremos información valiosa que nos ayudará a entender el comportamiento y distribución de otras poblaciones de animales o plantas marinas.

3. Objetivos

Esta investigación tiene como objetivo determinar el efecto de la temperatura en el desarrollo y supervivencia de las larvas del erizo verde de Galápagos *Lytechinus semituberculatus*.

Específicamente se desea comparar las tasas de supervivencia y desarrollo larval del erizo verde a dos temperaturas, la caliente, de 26 a 28°C que se experimenta en Galápagos durante el fenómeno de El Niño y la fría, que va de 19 a 21°C y se experimenta durante el fenómeno de la Niña.

La Hipótesis que se plantea, en base a los antecedentes mostrados es que la temperatura altera las tasas de desarrollo y supervivencia larval del erizo verde *Lytechinus semituberculatus*.

4. Marco Teórico

Los erizos son excelentes organismos modelo para estudiar las etapas tempranas de desarrollo, ya que en poco tiempo se puede observar la transición de los embriones, así, en pocas horas se pueden observar varias etapas de desarrollo embrionario, como la escisión, la gastrulación, hasta la formación de la larva (Igelsrud, 1987).

La mayoría de erizos tienen una fase larvaria (pluteus) que debe ingerir alimento planctónico para crecer a un gran juvenil post metamórfico (Strahtmann, 1992; Cameron y Hinegardner, 1974; Hinegardner, 1975; Igeisrud, 1987). La metamorfosis es un evento clave en el ciclo de vida de varios invertebrados marinos; es un cambio de una larva de vida pelágica a un juvenil/adulto bentónico, esto incluye cambios en el comportamiento y morfología del individuo. La larva inicia la metamorfosis en respuesta a señales medio-ambientales, sean químicas o físicas, asociadas con el hábitat y/o la presencia de adultos de

la misma especie (Díaz y Carpizo, 2011).

Los erizos de mar han sido utilizados en gran medida para investigaciones científicas y como alimento para los seres humanos y otras especies de animales en cultivo. Es por ello que en los últimos años para suplir las demandas se han cultivado estos organismos con el fin de evitar la sobreexplotación de los stocks naturales (Figueira, 2003; Hinegardner, 1969; Bustos y Olave, 2001).

Estudios muestran que el erizo verde puede ser un bio-indicador importante de las perturbaciones humanas, pues suele tener efectos notables en sus poblaciones al enfrentarse a la contaminación, al cambio climático, entre otros factores causados por los humanos (Marshall y Edgar 2003 en Paredes, 2010).

Por lo tanto, el entender como la temperatura afecta las tasas de desarrollo, la plasticidad fenotípica y la sobrevivencia de las larvas de erizo de mar es de gran importancia debido al impacto que los erizos de mar pueden provocar en las comunidades bentónicas; particularmente cuando sus densidades son elevadas. Este escenario es probable debido a la eliminación de sus depredadores naturales y a las temperaturas elevadas que aceleran el desarrollo e incrementan la sobrevivencia de las larvas marinas.

5. Enfoque Metodológico

5.1. Experimentación

5.1.1. Recolección de Muestras

La recolección de adultos para inducirlos a la reproducción se realizó en la playa Lobería, ubicada en la isla San Cristóbal. Se tomaron 5 especímenes de Erizo verde, de edad adulta y de ambos sexos. Los erizos fueron colocados en un

recipiente con agua de mar y luego transportados al laboratorio de ecología Marina del Galápagos Science Center (Figura 1A).

5.1.2. Obtención de Larvas

Se colocaron los erizos en una bandeja con agua de mar y se registró la talla con un calibrador (Figura 1B). Se esperó 5 a 10 minutos para que los erizos se adaptaran al medio del laboratorio. Posteriormente se limpió a los erizos con agua de mar filtrada y esterilizada para retirar cualquier rastro de contaminación y obtener los gametos.

Los erizos adultos fueron inducidos a desovar al inyectarles 2 ml de cloruro de potasio (KCL) 0.5 M (Figura 1C) por la zona oral a través del peristoma (Grosjean et al. 1998; Schroeder, 1981). Se movió al erizo ligeramente para distribuir el químico y a los 5-8 minutos el esperma y óvulos fueron expulsados por la parte aboral.

Los gametos fueron colectados en recipientes con 250 ml de agua de mar filtrada y esterilizada (Figura 1D) (Buitriago y Seijo, 2005); los gametos sexuales se diferenciaron por color y textura, siendo los oocitos de un color amarillento-anaranjado y el esperma blanco-transparente (García et al, 2005).

5.1.3. Análisis de Calidad de los gametos

Se tomó mediante una Pipeta Pasteur una gota de esperma y una gota de oocitos. Estos oocitos se colocaron bajo el microscopio para analizar la calidad de los gametos. Se eligió el material que contenía óvulos redondos que se acercaban a las 100 μm de diámetro (Figura 1E) y los espermias de mayor movilidad para realizar la fecundación (Garmendia et al, 2009).

5.1.4. Fecundación

Al obtener los gametos se procedió a colocarlos en una probeta de 100 ml con agua de mar filtrada y esterilizada (Figura 1F). Se colocó aproximadamente de 4-5 ml de muestra de oocitos, viendo a simple vista y tras luz que exista una concentración homogénea y densa de los mismos, sin que el agua llegue a tener una coloración naranja. Luego se agregó 1 gota de esperma y se agitó la probeta tapada con parafilm suavemente durante 5-10 minutos para facilitar la fecundación (Garmendia et al, 2009).

5.1.5. Éxito de Fecundación

Para comprobar el porcentaje de éxito de fecundación se colocó 20 μ l de la muestra sobre un porta cuadrulado (hemacitómetro), donde se midió la tasa de huevos con membrana de fertilización con respecto al total de huevos observados (Figura 1G). Si el porcentaje era igual o superior al 90 % entonces el material era válido y se podía continuar con el experimento (Garmendia et al, 2009).

5.1.6. Obtención de Larvas

Los huevos fecundados se repartieron en 5 vasos de precipitación con 20 ml de solución cada uno (Figura 1H). Cada vaso fue tapado con parafilm y colocado en una incubadora a 20°C. (Figura 1I). Luego de 24 horas se obtuvieron larvas tipo prisma (Figura 1J) y tras las 48 horas se obtuvieron larvas de dos brazos (Figura 1K) (Garmendia et al, 2009).

5.1.7. Larvas a Distintas Temperaturas

Las larvas obtenidas se colocaron en 10 tazones con agua de mar filtrada a través de una rejilla de 65 μ m. Por cada tazón se colocaron 100 larvas aproximadamente. Y

los tazones se colocaron en 10 peceras con temperaturas distintas (Figura 2). Cinco tazones se colocaron en peceras que tenían temperaturas frías de 19-21 °C; mientras que los otros cinco en peceras con temperaturas calientes de 26-28 °C. Las medias de temperatura de las peceras se tomaron con ayuda de varios termómetros de mercurio.

5.1.8. Variables Dependientes

Cada día durante la fase larvaria del erizo verde, se midieron 5 larvas de cada tazón. A cada larva se le midió la longitud del cuerpo, considerando los brazos (LMCB); la longitud media del cuerpo, sin considerar los brazos (LMCSB), y la distancia entre las aberturas de ambos brazos (DAB) (Figura 3).

5.2. Peceras

5.2.1. Sistema de Tuberías

Para realizar el experimento se construyó un laboratorio con 20 peceras independientes, conectadas por medio de un sistema de tuberías que transportaba agua fría desde un chiller o enfriador y agua caliente que era obtenida desde un calefón. En cada pecera habían dos llaves, una para agua fría y otra para agua caliente y la temperatura se ajustaba con el volumen de flujo de cada fuente, fría y caliente (Figura 2).

5.2.2. Sistema de Aireación

En cada pecera, además se colocó una estructura de tubos PVC tipo columpio (Figura 4A), que sostenía barras de acrílico y las movía con ayuda de un motor mecánico (Figura 4B). Las barras de acrílico caían directamente en el agua dentro

de cada tazón, simulando el movimiento de las olas y aireando de esta manera el sistema donde se encontraban las larvas.

5.2.3. Cuarto de Máquinas y Tablero Eléctrico

Se construyó un cuarto de máquinas (Figura 5) para colocar las bombas de agua, el tanque de almacenamiento, el calefón y el chiller; y un tablero eléctrico desde donde se controlaron todos los equipos incluidos los motores de las estructuras PVC (Figura 6).

6. Resultados

Tras las primeras horas de la fecundación se veían las primeras divisiones celulares y etapas de desarrollo embrionario acorde a lo esperado (Figura 7), sin embargo en los experimentos iniciales se encontró un contaminante dentro de las muestras (Figura 8). El contaminante se identificó como un ciliado, que se alimentaba de los embriones de las larvas, por lo tanto se tomaron medidas para evitar esta contaminación. La medida principal fue lavar minuciosamente a los erizos adultos con agua de mar filtrada y esterilizada antes de coleccionar los gametos, para eliminar a cualquier organismo que pudiera contaminar la muestra.

Después de someter a las larvas a distintas temperaturas se observaron formas y tallas diferentes. Así las larvas sometidas a temperaturas frías adoptaron una forma globular (Figura 9A), mientras que las larvas sometidas a temperaturas calientes adoptaron una forma triangular (Figura 9B). Las larvas sometidas a temperaturas frías el primer día tuvieron tallas superiores en todas las medidas corporales de longitud media del cuerpo incluido brazos (LMCB), longitud media del cuerpo sin contar brazos (LMCSB) y medida de apertura entre los brazos (DAB), con respecto a las larvas de temperaturas calientes.

Teniendo como resultado para la LMCB en temperaturas frías una talla promedio de 318 μm (SE $\pm 5,83$) y en temperaturas calientes una talla promedio de 231,2 μm (SE $\pm 13,5$) (Fig 10). Para LMCSB en temperaturas frías se obtuvo una talla promedio de 214 μm (SE $\pm 3,63$) y en temperaturas calientes una talla promedio de 130,8 μm (SE $\pm 7,4$) (Fig 11). Y en DAB en temperaturas frías se obtuvo una talla promedio de 261,6 μm (SE $\pm 14,4$) mientras que en temperaturas calientes una talla promedio de 174,8 μm (SE $\pm 13,4$) (Fig 12).

Posteriormente, al transcurrir los días podemos ver que las medidas de longitud media del cuerpo incluido brazos (LMCB), y longitud media del cuerpo sin contar brazos (LMCSB) de las larvas de temperaturas frías descienden progresivamente hasta su muerte en el día 7; mientras que las larvas de temperaturas calientes mantienen sus tallas y a partir del día 7 empiezan a crecer hasta el día 9 y en el día 10 mueren (Figura 10, Figura 11). Entonces parecería ser que las larvas de temperaturas elevadas tuvieron una mayor tasa de supervivencia que las larvas de temperaturas frías.

En cuanto a la medida de apertura entre los brazos (DAB), las larvas de temperaturas calientes tuvieron una tendencia similar con las otras medidas. Es decir, a mantener su tamaño en los días iniciales y luego crecer; no obstante en el caso de las larvas de temperaturas frías se encontró que las tallas en los días finales empezaron a incrementar a diferencia de las otras tallas (LMCB y LMCSB) (Figura 12). Esto se puede explicar porque al momento de medir a las larvas se observó que los brazos se encogían con un ángulo hacia los extremos, aumentando de esa manera su distancia.

De igual manera, se determinó la relación entre las tallas corporales de las larvas. Todas las mediciones tuvieron una relación directamente proporcional, sin embargo, el ángulo de la pendiente fue diferente y en función de la temperatura para cada caso.

Al comparar las tallas de LMCB y LMCSB observamos que las larvas sometidas a temperaturas frías tienen una pendiente más elevada que las larvas de temperaturas frías (Figura 13). En el caso de las tallas DAB y LMCB se encontró que las larvas sometidas a temperaturas calientes fueron las que tuvieron una pendiente más elevada (Figura 14). Y en el caso de las tallas DAB y LMCSB se obtuvo pendientes similares para las larvas sometidas a ambas temperaturas (Figura 15).

7. Discusión

En base a varios estudios se ha demostrado que el incremento de temperatura acelera el desarrollo larvario. Además se ha encontrado que a excesivas temperaturas, se afecta negativamente al desarrollo y supervivencia de las larvas, pues las elevadas temperaturas poseen un efecto letal a nivel celular (Hammond y Hofmann, 2010; Padilla-Gamiño, 2013).

En el presente estudio las larvas fueron sometidas a temperaturas registradas durante los eventos extremos de El Niño y la Niña, sin embargo estas temperaturas no son letales. Aunque se esperaba que las larvas de temperaturas calientes se desarrollaran más rápido, esto no ocurrió al principio. Algunos factores pudieron haber incidido en el retraso en el crecimiento de las larvas en agua caliente. Contaminación, falta de aclimatación o falta de alimento. La hipótesis de aclimatación toma más fuerza porque posteriormente las larvas bajo tratamiento caliente crecieron más rápido que las larvas sometidas a temperatura frías. En el caso de las larvas de temperaturas frías hubo un desarrollo elevado en el primer día, que fue disminuyendo progresivamente. Esto podría deberse a que esta especie se desarrolla de mejor manera en aguas frías y ricas en nutrientes. Sin embargo, puede ser que

la escasez de alimento y la contaminación del agua hayan incidido en su involución y muerte temprana.

Al final, todas las larvas se aglutinaron unas con otras, en este estado, las larvas no pudieron ser contabilizadas, ni medidas.

Finalmente, las larvas sujetas a temperaturas elevadas tuvieron un mayor índice de sobrevivencia que las larvas de temperaturas frías, sin embargo, esto se necesita estudiar a futuro hasta el final del desarrollo larvario para poder llegar a una conclusión más robusta.

Al igual que otros estudios, las larvas presentaron plasticidad fenotípica en respuesta a la temperatura. En otros estudios las larvas que no poseen una cantidad adecuada de alimento empiezan a alargar sus brazos con el fin de captar más alimento (Strathmann et al 1992; Hart y Scheibling 1988; Byrne et al, 2008). Este patrón fue corroborado en este estudio, las larvas sometidas a temperaturas calientes tuvieron un desarrollo más notorio de estas extremidades a comparación con otras partes del cuerpo.

8. Conclusiones

- Las larvas tienen una plasticidad notoria, ya que optan por diferentes formas al someterse a temperaturas distintas. La trayectoria de esta plasticidad cambia con el paso del tiempo.
- Las larvas de temperaturas cálidas tuvieron una mayor tasa de supervivencia que las de temperaturas frías.
- Las larvas de temperaturas calientes a partir del día 7 empiezan a crecer acorde a lo esperado, y además sus brazos crecen en mayor cantidad con respecto a otras partes de la larva.
- Las larvas sometidas a las dos temperaturas no llegaron a completar su desarrollo.

- Estos resultados podrían deberse a dos cosas importantes, la primera la cantidad de larvas colocada por tazón que al parecer fue alta y por eso al final las larvas se aglutinaron. Y la segunda que el agua recolectada para los tazones provenía de una fuente contaminada, ya que se colectaron las muestras de agua cerca de la orilla.

9. Recomendaciones

- Para una mejor obtención de resultados, es recomendable coleccionar diariamente el agua de mar con el alimento planctónico para las larvas en zonas con poca contaminación. Zonas que se recomienda sean lejos de puertos, playas y bahías (Strathmann, 2014).
- De igual manera, se recomienda colocar una menor cantidad de larvas por tazón (Strathmann, 2014), siendo una cantidad recomendable 1 larva por cada 10 ml de agua de mar filtrada.
- Para tener un mayor control sobre la temperatura se recomienda cambiar el calefón por un Hitter, que va a poder ajustarse de una forma más óptima a las temperaturas deseadas.
- Se podrá controlar mejor la temperatura al usar termómetros que registren la temperatura de manera automática y cada hora. Esto es particularmente importante en el contexto de Galápagos debido a problemas técnicos, como cortes de luz.
- Finalmente, para evitar la contaminación se recomienda que se adquieran filtros para cada pecera para reducir la contaminación. Esto incidirá de manera positiva en la sobrevivencia de las larvas.

10. Bibliografía

- Brandt, M., & Guarderas, P. (2002). Erizos de Mar. In *Reserva Marina de Galápagos. Línea Base de la Biodiversidad* (pp. 396–418).
- Brandt, M., Witman, J. D., & Chiriboga, A. I. (2012). Influence of a dominant consumer species reverses at increased diversity. *Ecology*, 93(4), 868–78. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22690637>
- Buitrago, E., & Seijo, C. L. (2005). Producción de larvas y postlarvas del erizo verdiblanco del Caribe *Lytechinus variegatus* (Echinodermata : Echinoidea) en condiciones de cultivo. *Biología Tropical*, (1969), 319–328.
- Byrne, M., Sewell, M. ., & Prowse, T. A. . (2008). Nutritional ecology of sea urchin larvae: influence of and exogenous nutrition on echinopluteal growth and phenotypic plasticity in *Tripneustes gratilla*. *Functional Ecology*, 22(4), 643–648.
- Cameron, R. A., & Hinegardner, R. T. (1974). Initiation of Metamorphosis in Laboratory Cultured Sea Urchins Author. *Biological Bulletin*, 146(3), 335–342.
- Carr, L. A., & Bruno, J. F. (2013). Warming increases the top-down effects and metabolism of a subtidal herbivore. *PeerJ*, 1. doi:10.7717/peerj.109
- Dee, L. E., Witman, J. D., & Brandt, M. (2012). Refugia and top-down control of the pencil urchin *Eucidaris galapagensis* in the Galápagos Marine Reserve. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 416-417, 135–143. doi:10.1016/j.jembe.2012.02.016

- Díaz-Pérez, L., & Carpizo-Ituarte, E. (2011). Efecto del estrés térmico en la supervivencia y el retraso de la metamorfosis en larvas del erizo morado *Strongylocentrotus purpuratus*. *Ciencias Marinas*, 37(4A), 403–414. doi:10.7773/cm.v37i4A.1903
- Fujisawa, H. (1989). Differences in Temperature Dependence of Early Development of Sea Urchins with Different Growing Seasons. *Biological Bulletin*, 176, 96–102.
- Fundación Charles Darwin. (11 de 01 de 2013). *Lista de Especies de Galápagos*. Recuperado el 04 de 05 de 2015, de *Lytechinus semituberculatus*: <http://www.darwinfoundation.org/datazone/checklists/7981/>
- García, M., Rosas, J., Hernández, I., Velásquez, A., Cabrera, T., & Maneiro, C. (2005). Supervivencia y crecimiento larval de *Arbacia punctulata* (Echinodermata : Echinoidea) alimentada con cinco microalgas a dos salinidades. *Biología Tropical*, 53, 329–336.
- Garmendia, J.M., I. Menchaca, M.J. Belzunce, M. Revilla. (2009). Protocolo del test de toxicidad de sedimentos marinos con larvas del erizo de mar *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816). *Revista de Investigación Marina*.11: 25 pp.
- Hammond, L. M., & Hofmann, G. E. (2010). Thermal tolerance of *Strongylocentrotus purpuratus* early life history stages: mortality, stress-induced gene expression and biogeographic patterns. *Marine Biology*, 157, 2677–2687.
- Hereu, B., Zabala, M., Linares, C., & Sala, E. (2005). The effects of predator abundance and habitat structural complexity on survival of juvenile sea urchins. *Marine Biology*, 146, 293–299.

- Hinegardner, R. T. (1969). Growth and Development of the Laboratory Cultured Sea Urchin. *Biological Bulletin*, 137(3), 465–475.
- Hinegardner, R. T. (1975). Morphology and Genetics of Sea-Urchin Development. *American Zoologist*, 15(3), 679–689.
- Igeisrud, D. (1987). Labs Sea Urchins. *The American Biology Teacher*, 49(7), 446–450.
- Konar, B. (2000). Seasonal Inhibitory Effects of Marine Plants on Sea Urchins: Structuring Communities the Algal Way. *Oecología*, 125(2), 208–217.
- Lawrence, J. (1975). On the relationship between marine plants and sea urchins. *Oceanography Marine Biology Annual Review*, 13, 213–286.
- Marshall, P., & Edgar, G. J. (2003). The effect of the Jessica grounding on subtidal invertebrate and plant communities at the Galapagos wreck site. *Marine Pollution Bulletin*, 47, 284–295.
- Nybakken, J., & Bertness, M. (2005). *Marine Biology an Ecological Approach* (Sixta ed.). San Francisco, U.S.A: Pearson Benjamin Cummings.
- O'Connor, M. I., Bruno, J. F., Gaines, S. D., Halpern, B. S., Lester, S. E., Kinlan, B. P., & Weiss, J. M. (2006). Temperature control of larval dispersal and the implications for marine ecology, evolution, and conservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(4), 1266–1271.
- Palacios, D.M. (2004). Seasonal patterns of sea-surface temperatura and ocean color around the Galápagos: regional and local influences. *Deep-sea Research II*, 51,43-57

- Padilla-gamiño, J. L., Kelly, M. W., Evans, T. G., & Hofmann, G. E. (2013). Temperature and CO₂ additively regulate physiology, morphology and genomic responses of larval sea urchins, *Strongylocentrotus purpuratus*. *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences*.
- Paredes L, R. L. (2010). Erizos de mar: Dinámica poblacional y reclutamiento de larvas en la isla San Cristóbal en el Archipiélago de Galápagos-Ecuador.
- Pearse, J. S. (2006). Sea Urchin Genome, Ecological Role of Purple Sea Urchins, The Genome of the Sea Urchin *Strongylocentrotus*. *Science, New Series*, 314(5801), 940–941.
- Rahman, S., Tsuchiya, M., & Uehara, T. (2009). Effects of temperature on hatching rate, embryonic development and early larval survival of the edible sea urchin, *Tripneustes gratilla*. *Biología*, 64(4), 768–775.
- Rosas, J., Aidé, V., Fernández, S., Mata, E., & Cabrera, T. (2009). Desarrollo larvario y supervivencia hasta la metamorfosis del erizo *Tripneustes ventricosus* (Lamarck) (Echinodermata: Echinoidea) alimentado con microalgas a dos temperaturas. *Biología Marina Y Oceanografía*, 44(2), 387–396.
- Sachs, J. P., & Ladd, S. N. (2010). Climate and Oceanography of the Galapagos in the 21st Century: Expected Changes and Research Needs. *Galapagos Research*, 67, 50–54.
- Scheibling, R. (1986). Increased macroalgal abundance following mass mortalities of sea urchins (*Strongylocentrotus droebachiensis*) along the Atlantic coast of Nova Scotia. *Oecología*, 68(2), 186–198.

- Schroeder, T. (1981). Development of a “ Primitive ” Sea Urchin (*Eucidaris tribuloides*): Irregularities in the Hyaline Layer, Micromeres, and Primary Mesenchyme. *Biological Bulletin*, *161*(1), 141–151.
- Sonnenholzner, J., Brandt, M., Francisco, V., Hearn, A., Luzuriaga, M., Guarderas, P., & Navarro, J. C. (2013). *Echinoderm Research and Diversity in Latin America*. (J. J. Alvarado & F. A. Solis-Marin, Eds.) (pp. 183–233). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. doi:10.1007/978-3-642-20051-9
- Strathmann, R., Fenaux, L., & Strathmann, M. (1992). Heterochronic Developmental Plasticity in Larval Sea Urchins and its Implications for Evolution of Nonfeeding Larvae. *Evolution*, *46*(4), 972–986.
- Strathmann, R. (2014). Developmental Biology of the Sea Urchin and Other Marine Invertebrates: Methods and Protocols. *Methods in Molecular Biology*, *1128*.
- Toulkeridis, T. (2011). *Volcanic Galápagos Volcanico* (Ecuador., p. 364). Quito, Ecuador.

11. Figuras

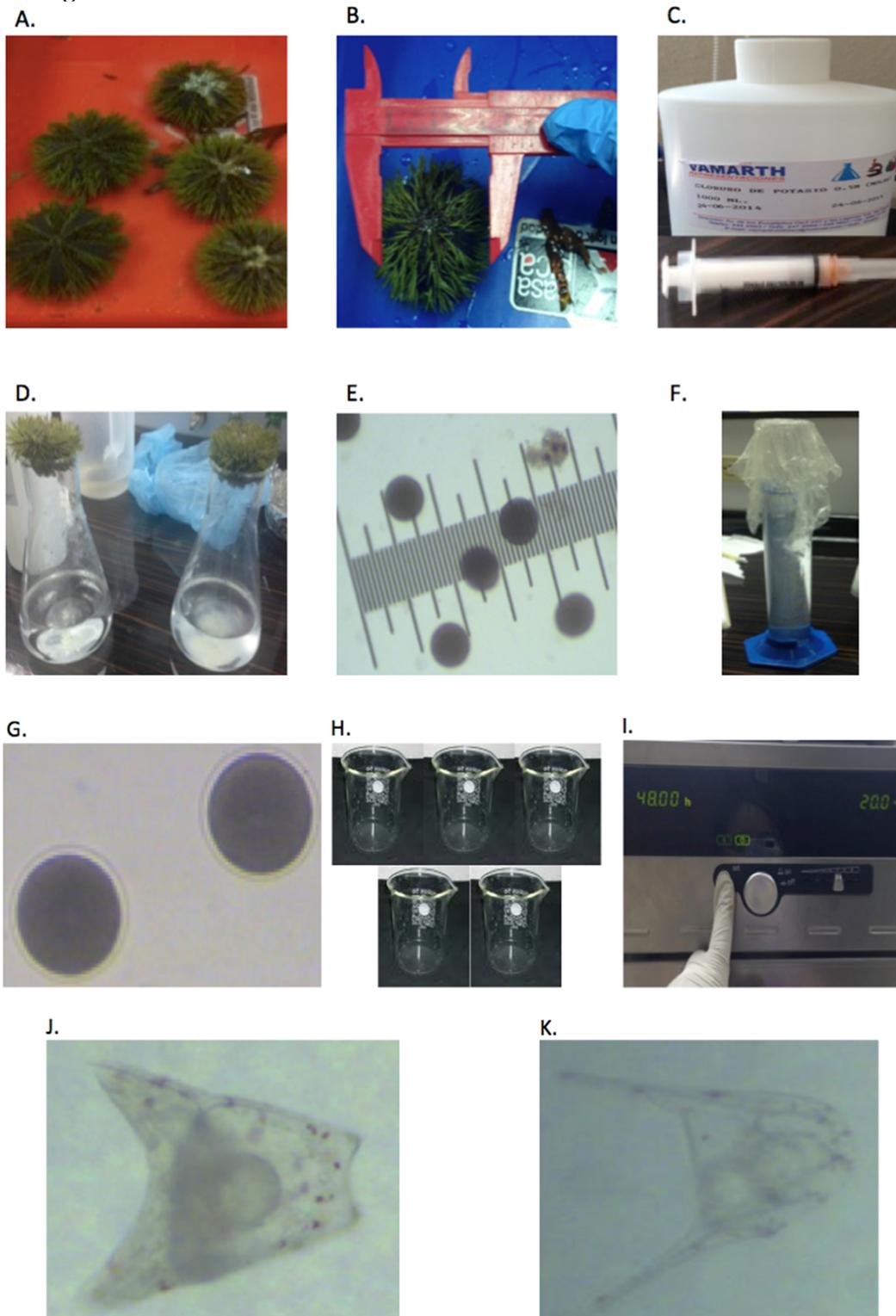


Figura 1 Pasos para la obtención de larvas de Erizos A. Recolección de Erizos Adultos B. Toma de medidas C. Inducción al desove KCL 0,5 M D. Recolección de gametos en frascos con 250 ml agua de mar filtrada y esterilizada E. Análisis de calidad de los gametos F. Fecundación G. Análisis

éxito fecundación. H. Se dividió la muestra de la probeta en 5 réplicas, con 20 ml I. Se colocaron las muestras en una incubadora a 20 C J. Larva prisma tras 24 H de fecundación K. Larva con dos brazos tras 48 H de fecundación



Figura 2 Bowls o tazones con larvas colocados en peceras a diferentes temperaturas, 19-22 grados C y 26-28 grados C. Sistema de tuberías con llaves para transporte de agua fría y caliente.

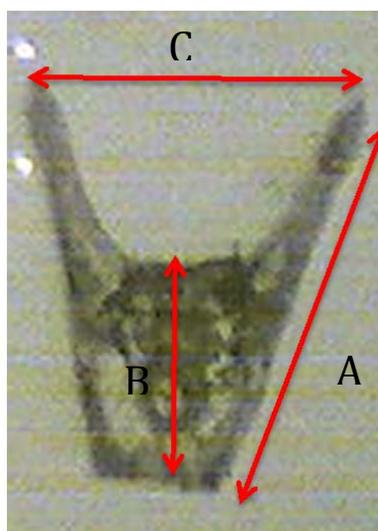


Figura 3 A. Longitud media del cuerpo considerando los brazos (LMCB) B. Longitud media del cuerpo sin considerar brazos (LMCSB) C. Distancia entre abertura de ambos brazos (DAB)

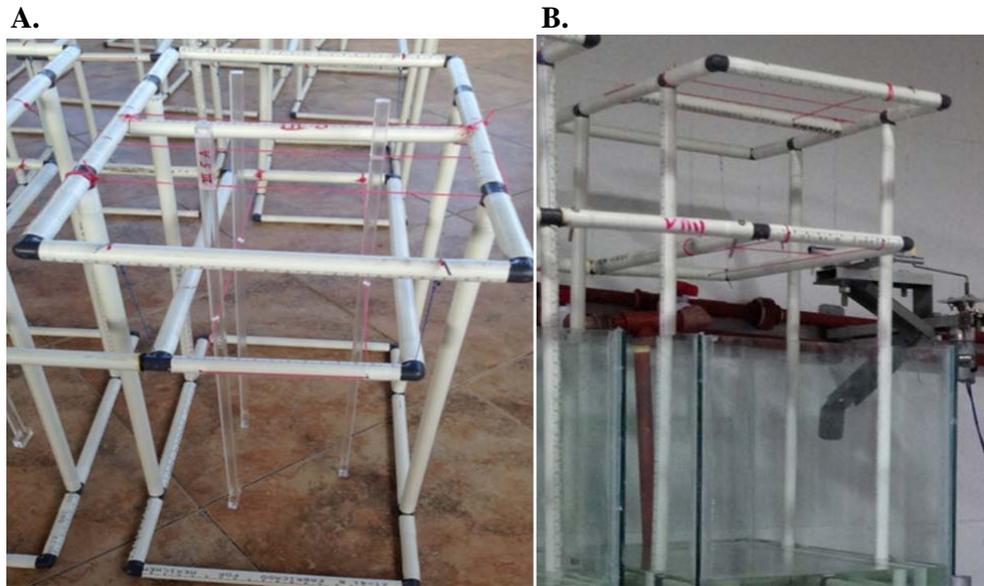


Figura 4 Sistema de Aireación A. Estructura PVC tipo columpio y barras de acrílico. B Motor empujando la estructura PVC y las barras de acrílico.



Figura 5 Cuarto de Máquinas donde se colocaron 2 bombas, 1 tanque, 1 calefón y el Chiller.



Figura 6 Tablero eléctrico desde donde se controla las bombas, Chiller y motores.

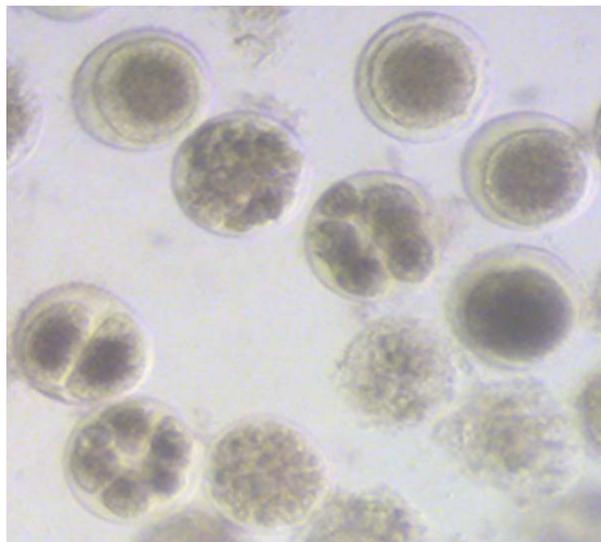


Figura 7 Fases de división celular tras horas fecundación

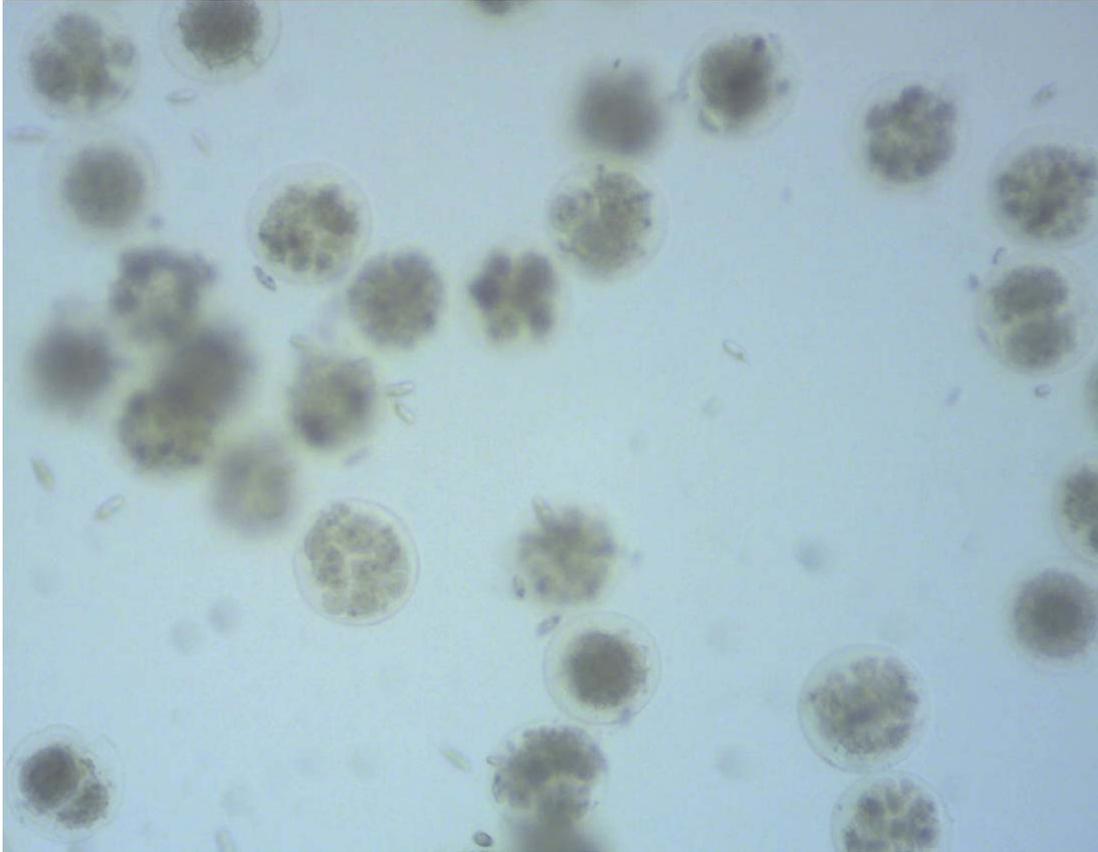


Figura 8 Muerte de los embriones por parte de Ciliados que se encontraban contaminando la muestra.

A.



B.



Figura 9 Larvas sometidas a diferentes temperaturas. A Larva sometida a temperaturas frías. B Larva sometida a temperaturas calientes

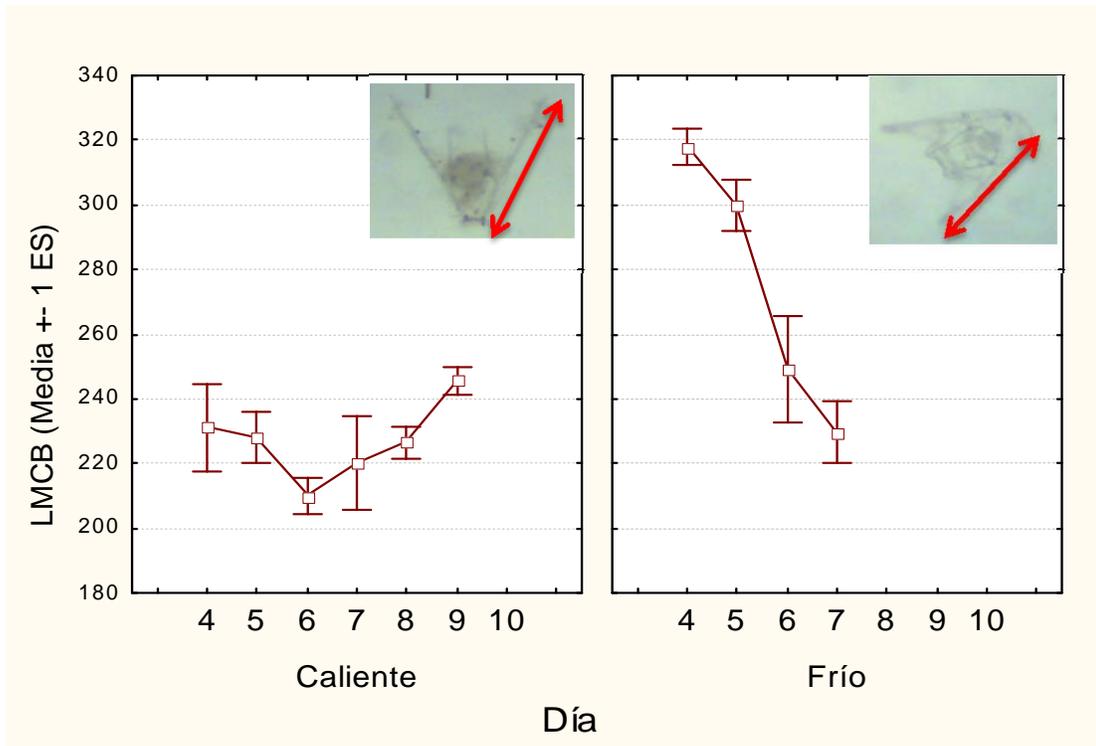


Figura 10 Medidas de la LMCB de las larvas tomadas en diferentes días de su etapa de desarrollo, en temperaturas calientes y frías

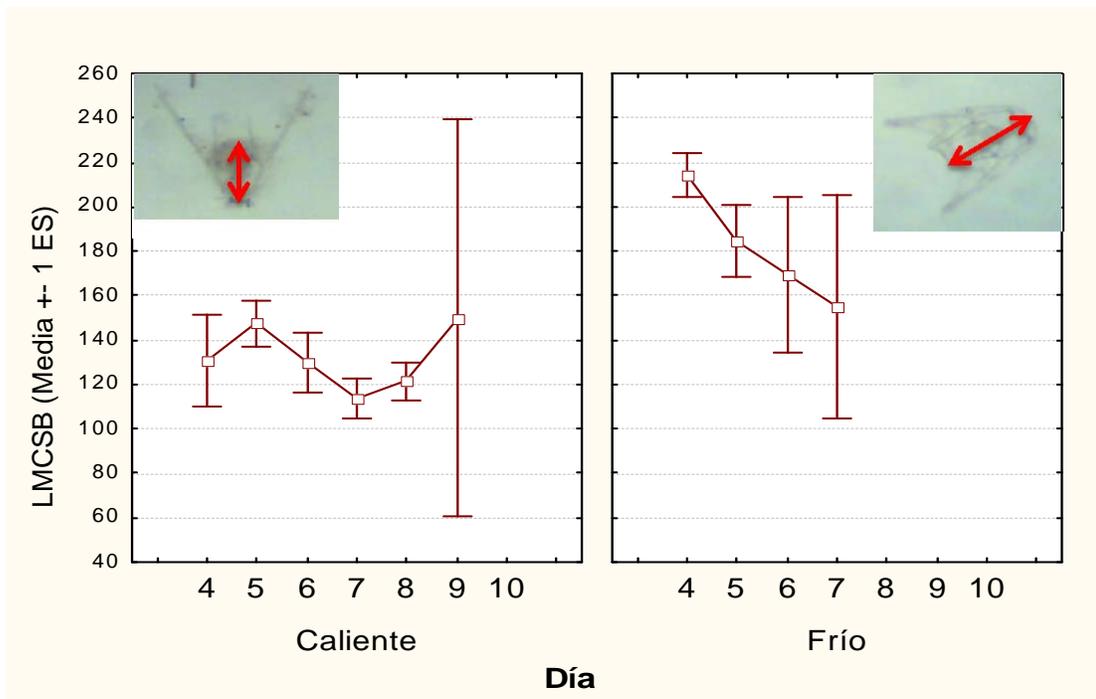


Figura 11 Medidas de la LMCSB de las larvas tomadas en diferentes días de su etapa de desarrollo, en temperaturas calientes y frías

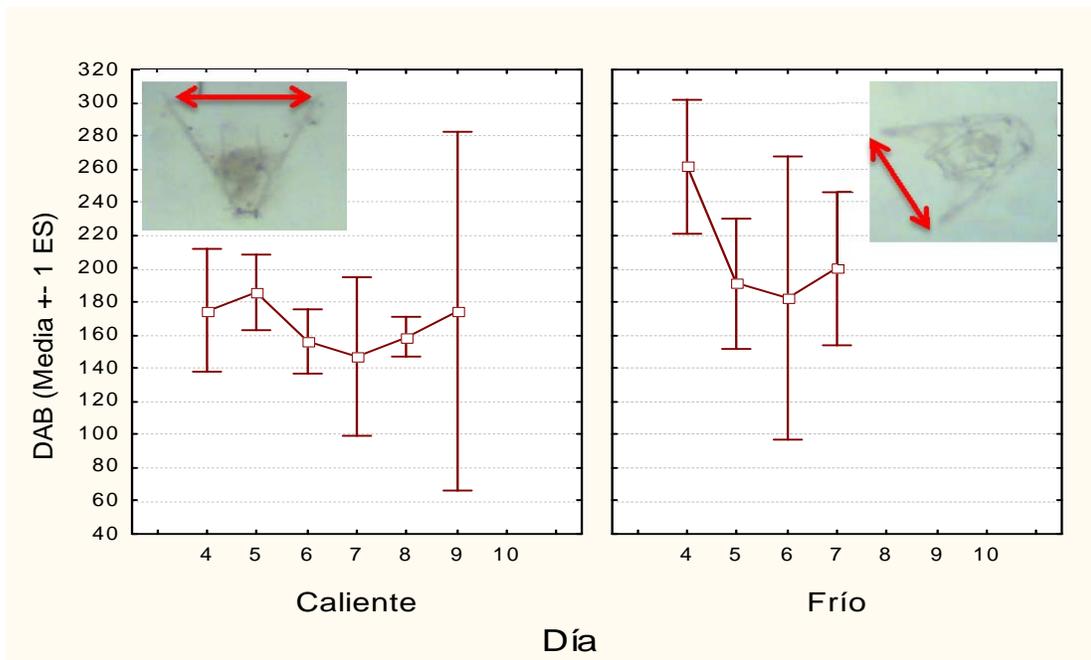


Figura 12 Medidas de la DAB de las larvas tomadas en diferentes días de su etapa de desarrollo, en temperaturas calientes y frías

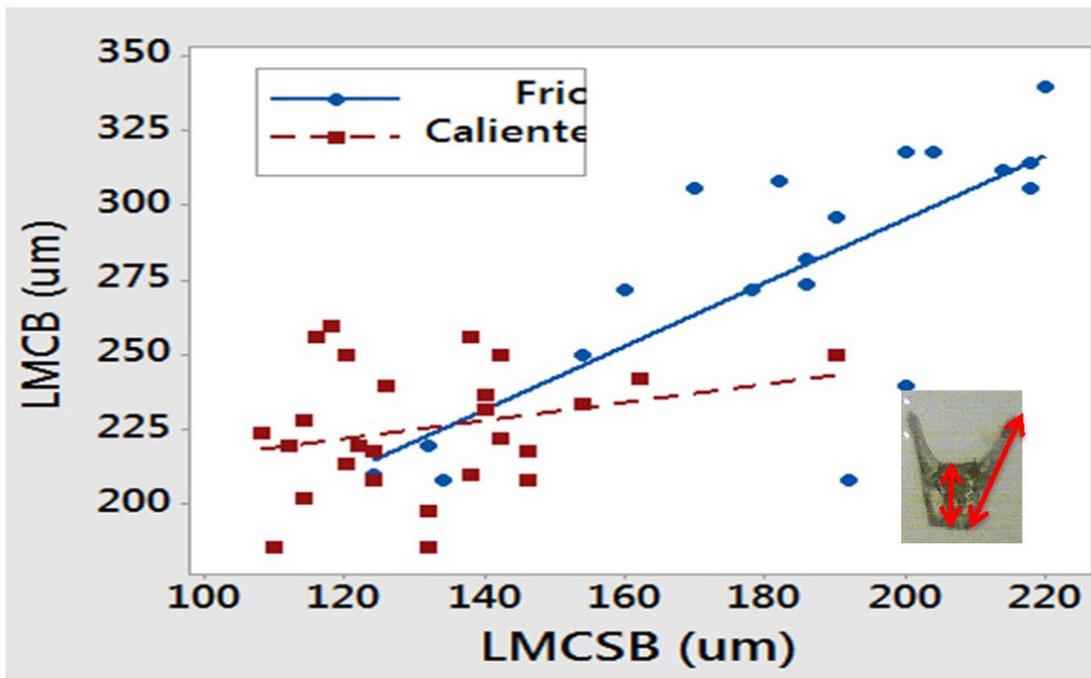


Figura 13 Correlación entre LMCSB vs LMCB en temperaturas calientes y frías

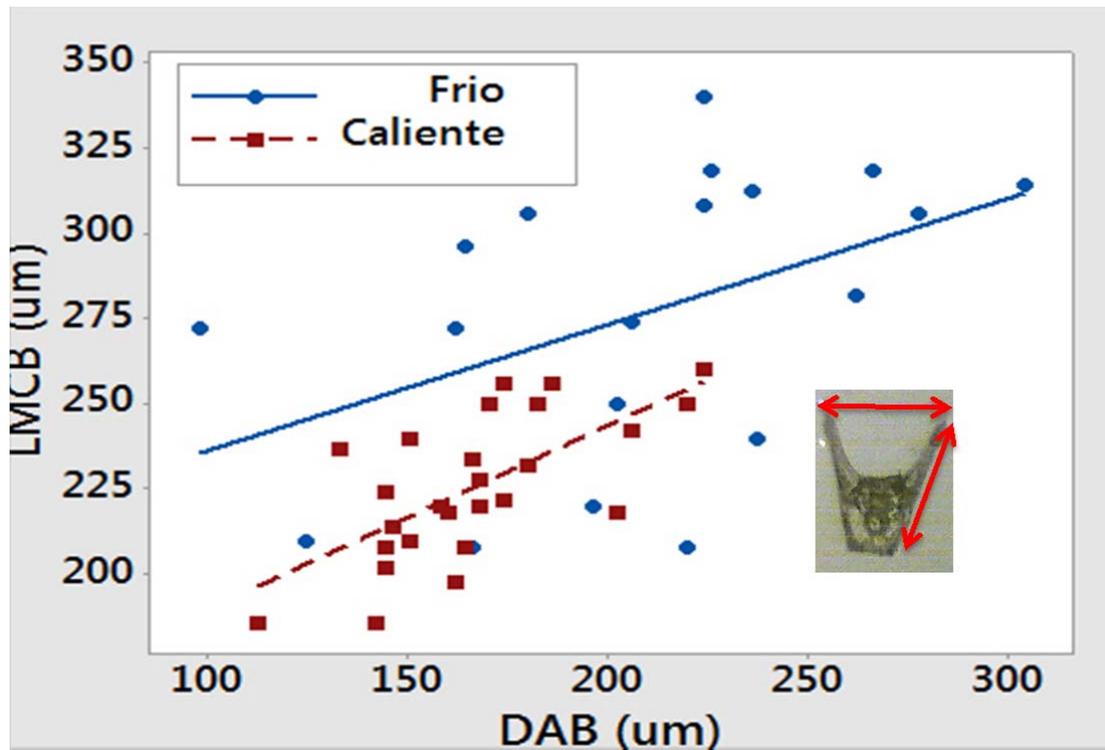


Figura 14 Correlación entre DAB vs LMCB en temperaturas calientes

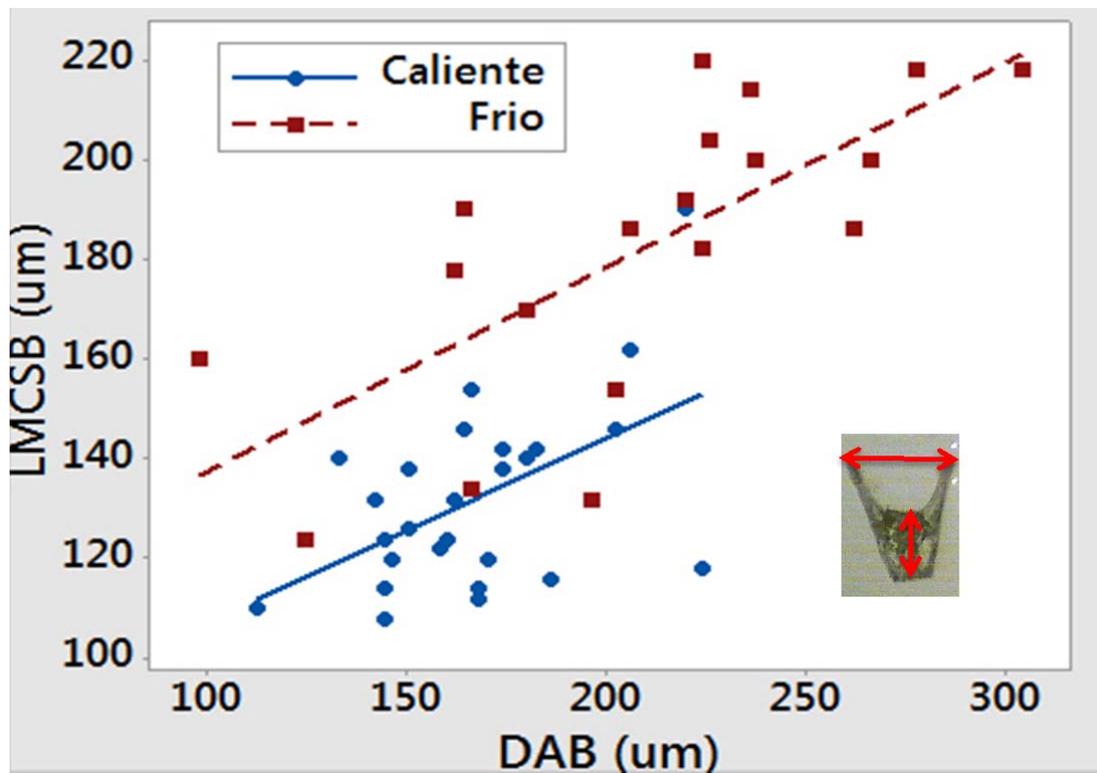


Figura 15 Correlación entre DAB vs LMCSB en temperaturas calientes y frías