

Efecto de la salinidad en la embriogénesis del erizo de mar *Arbacia stellata* (Blainville, 1825)

Salinity effect on the embryogenesis of the sea urchin *Arbacia stellata* (Blainville, 1825)

Autores: Ordoñez-Iglesias Juan^{1,2}
Zapata-Vívenes Edgar^{2,3} ORCID: 0000-0003-3720-5416
Sonnenholzner-Varas Jorge² ORCID: 0000-0003-0722-4907
Bernal José Félix³ ORCID: 0000-0003-2445-6638

Dirección para correspondencia: jordonez8958@utm.edu.ec

Recibido: 2021-01-30

Aceptado: 2021-05-11

Resumen

El erizo de mar *Arbacia stellata* puede habitar en ecosistemas estuarinos, pero se desconoce la salinidad crítica en las etapas iniciales de vida para su cultivo. Para ello se evaluó el porcentaje de fertilización, desarrollo embrionario y supervivencia de *A. stellata* en cuatro salinidades (ups): 5, 10, 20 y 32 (control). Los gametos se obtuvieron de erizos adultos vía inyección intracelómica de 0,55 M de KCl. Los estadios de desarrollo embrionario fueron registrados mediante fotomicrografías desde la fertilización hasta larva prisma. El control presentó 100% de fertilización y supervivencia, cuyo desarrollo embrionario se completó en 20 horas hasta la fase de larva prisma. En contraste, el porcentaje de fertilización disminuyó entre 5 y 10 ups (<70%) y hubo retraso en el desarrollo embrionario (fase de gástrula >24 h) sin formación de larva prisma. Los resultados sugieren que salinidades por debajo de 10 ups son críticas para el desarrollo embrionario de *A. stellata*. Esta información es clave para una

1 Programa de Maestría en Acuicultura, Instituto de Postgrado, Universidad Técnica de Manabí, Ecuador.

2 Grupo de Investigación en Biología y Cultivos de Equinodermos (INBICEQ). Departamento de Acuicultura y Pesca, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Técnica de Manabí, Ecuador

3 Departamento de Biología, Escuela de Ciencias, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente, Venezuela.

acuicultura viable de este erizo de mar cuando se utiliza agua de estuario en ecosistemas tropicales.

Palabras clave: Estenohalino, embrión, blástula, gástrula, estuario, larva prisma.

Abstract

The sea urchin *Arbacia stellata* can be found within estuarine ecosystems, but the critical salinity in the initial stages of life for its cultivation is unknown. Therefore, the percentage of fertilization, embryonic development and survival of *A. stellata* was evaluated in four salinities (ups): 5, 10, 20 and 32 (control). Gametes were obtained from adults via intracoelomic injection of 0.55 M KCl. The stages of embryonic development were recorded by photomicrographs from fertilization to prism larvae. Control showed 100% fertilization and survival, whose embryonic development was completed in 20 hours until the prism larva stage. In contrast, fertilization percentage decreased (<70%) between 5 and 10 ups, and there was delay in embryonic development (gastrula phase > 24 h) without prism larvae formation. The results suggest that salinities below 10 ups are critical for the embryonic development of *A. stellata*. This information is key to a viable aquaculture of this sea urchin when using estuarine water in tropical ecosystems.

Keywords: stenohaline, embryo, blastule, gastrule, estuary, aquaculture.

Introducción

La producción acuícola de erizos de mar a nivel mundial ha tenido un repunte importante en la última década por el aumento en la demanda del consumo de gónadas en fresco y extracción de sustancias nutra- y farmacéuticas (Archana & Babu, 2016; Cirino *et al.*, 2017; Lawrence, 2020). En Latinoamérica, la visión de desarrollar una acuicultura marina diversificada está en búsqueda de nuevas especies con alto potencial (FAO, 2016; Pullin, 2017; Sonnenholzner-Varas *et al.*, 2018), lo cual apunta a organismos con características idóneas para un cultivo factible. Una especie candidata para este propósito es *Arbacia stellata* (Blainville, 1823), la cual presenta atributos biológicos de interés, tales como alta capacidad de reproducción y crecimiento rápido (Lawrence, 2020). Además, posee amplia distribución en el Pacífico oriental y puede habitar ambientes costeros asociados a estuarios desde Baja California-México hasta el norte del Perú (Burcham y Caruso, 2015; Lessios *et al.* 2012).

La embriogénesis en los erizos de mar comprende una serie de procesos moleculares y celulares altamente sensibles al estrés ambiental, especialmente provocados por cambios de salinidad. Estudios previos reportan que bajas salinidades pueden retrasar el desarrollo de embriones de distintas especies de

equinoideos (Dupont & Throrndyke, 2009; Carballeira *et al.*, 2011; Russell, 2013; Abdel-Raheem, 2015; Díaz-Martínez *et al.*, 2019; Leobarda-Margarita *et al.*, 2019). A pesar que *A. stellata* puede habitar en ambientes estuarinos, se desconoce el rango de salinidad óptimo que puede tolerar durante su desarrollo embrionario temprano. Esta información es necesaria cuando se busca desarrollar cultivos de la especie en ambientes tropicales, sobre todo donde el abastecimiento de agua presenta fluctuaciones de salinidad marcadas por la estacionalidad. Por lo tanto, conocer su embriogénesis bajo condiciones experimentales moduladas por gradientes de salinidad es relevante para sumar información a los paquetes tecnológicos para su promoción acuícola.

El presente estudio tiene el propósito de medir el efecto del descenso de la salinidad sobre el desarrollo embrionario y supervivencia del erizo de mar *A. stellata*, desde la formación de cigoto hasta larva prisma.

Metodología

Recolección y aclimatación de organismos

Se recolectaron erizos de mar adultos *Arbacia stellata* (n=20; diámetro de testa promedio: 5,2±1,2 cm) desde una plataforma de madera flotante (facilidad pesquera) localizada en el estuario del Río Cojimíes (80° 1' 59.99" O, 0° 22' 59.99" N), Manabí-Ecuador. Los erizos de mar fueron transportados en un recipiente isotérmico con agua de mar (25,0 ± 1,0 °C; pH 8,0 – 8,1; 32 ups) hasta el laboratorio y fueron colocados en un estanque de fibra de vidrio de 500 L con agua de mar filtrada (AMF), a una densidad de 1 animal por cada 50 litros y alimentados con trozos de cefalotórax de camarón *Litopenaeus vannamei* en condición *ad libitum*. Los erizos fueron acondicionados en un fotoperiodo 12 Luz:12 oscuridad por siete días.

Obtención de gametos

Se indujo el desove mediante aplicación de cloruro de potasio (KCl) 0,55 M en la cavidad celómica, por punción directa a través de la membrana peristomial (Strathmann 1987). Los oocitos (color rojo carmesí, esféricos de 75 µm) y espermatozoides (blanco cremoso con alta movilidad) fueron filtrados para eliminación de impurezas en una malla Nyltex de 30 µm, y posteriormente recolectados en un envase de vidrio de 300 mL con agua de mar (32 ups) estéril con luz ultravioleta y filtrada a 0,45 µm.

Viabilidad de gametos

La viabilidad celular de los gametos se comprobó mediante el uso de azul de tripano (AT) al 0,4% (Strober, 2001). Los rangos de porcentaje de viabilidad celular oscilaron entre 98 y 100%.

Fertilización y desarrollo embrionario

Para evitar la poliespermia, se utilizó una dilución (1:9 mL) de espermatozoides en agua de mar de un sólo individuo macho y se mezclaron con oocitos obtenidos de tres hembras. Se usó una proporción de 20 espermatozoides por

cada oocito en recipientes de vidrio de 500 mL. El porcentaje de fertilización se determinó en cada salinidad en un lapso de 10 min, al contar el número de huevos versus oocitos no fecundados en un total de 100. El tiempo en cada fase de desarrollo se estimó en treientos huevos fecundados por tratamiento hasta que alcanzaron el estadio prisma. Se recolectaron alicuotas con aproximadamente 30-50 embriones para caracterizar el desarrollo embrionario por tratamiento. El seguimiento fotográfico se realizó con una cámara marca Nikon adaptada a un fotomicroscopio compuesto Axiscop (Carl Zeiss). Se midió el diámetro de los embriones hasta gástrula y el largo del brazo post-oral en larva prisma, según lo sugerido por Scholtz *et al.* (2013) y Rahman *et al.* (2015). Para estimar las medidas de longitud se implementó el programa Motic Imagen Plus 2.0.

Porcentaje de supervivencia

Se estimó la supervivencia mediante el empleo de una cámara Neubauer, a través de conteo de la viabilidad del embrión usando AT. El conteo se realizó a las 00h30 min, 01h30 min, 02h30 min, 18h00, y 20h00.

Diseño experimental

Se consideraron cuatro tratamientos de salinidad (ups): 5, 10, 20 y 32. El control fue agua de mar (32 ups) filtrada y estéril. Se consideraron tres repeticiones por tratamiento. El desarrollo embrionario fue seguido por 30 h, desde cigoto hasta larva prisma. La salinidad se determinó mediante un refractómetro manual marca Isolab. El procedimiento seguido en este estudio fue ético en el uso de los animales vivos para experimentación (Rubilar & Crespi-Abril, 2017; ASAB/ABS, 2018).

Análisis Estadístico

El test de Shapiro-Wilk y Levene se empleó para evaluar las suposiciones de normalidad y homocedasticidad, respectivamente (Sokal & Rohlf, 2012). Se utilizó un análisis de varianza de una vía y el test de Tukey como prueba de rangos múltiples. Las diferencias estadísticas entre las medias de los tratamientos fueron probadas con un alfa de 0,05.

Resultados

Fecundación

El porcentaje de fecundación mostró diferencias significativas entre los tratamientos de salinidad ($F=3,23$; $p<0,05$). Los promedios más altos de fecundación fueron encontrados en el control (90-96%) y 20 ups (88-95%). El promedio más bajo fue 69% en 5 ups (Tabla I).

Desarrollo embrionario y larva prisma

El desarrollo embrionario desde cigoto hasta larva prisma del erizo de mar *A. stellata* es presentado en la Figura 1. Entre la segunda y cuarta división celular del desarrollo embrionario, el diámetro osciló entre 75,5 y 86,8 μm . Las blástula y gástrula presentaron diámetros entre 85,8 y 88,1 μm ,

respectivamente. No hubo diferencias entre los tratamientos ($F=1,32$; $p>0,05$; Tabla II). Es de notar que posterior a la fecundación, la primera división celular ocurrió entre los 20 a 30 min. La formación de 4 células ocurrió en 01h30 min y el clivaje a 8 células ocurrió a las 03h30 min. Los estadios de mórula-blástula ocurrieron entre 6 y 8 h y la gástrula de 12 a 14 h (Tabla III). El desarrollo embrionario fue retardado en salinidades de 10 y 5 ups (tiempo promedio mayor de 28 h). Los estadios de gástrula y larva prisma no ocurrieron en 5 ups.

Las mediciones de la longitud del brazo post-oral de la larva prisma fueron entre 89,1 y 92,4 μm en salinidades de 20 y 32 ups, respectivamente. En salinidades de 10 y 5 ups los embriones no llegaron a la fase de larva prisma. No hubo diferencias significativas entre los tratamientos ($F=1,32$; $p>0,05$, Tabla II). Larva prisma se desarrolló entre 18 y 20 h en salinidades de 32 y 20 y osciló entre 20h 30 min y 24h 10 min, en salinidades de 10 y 5 (Tabla III).

Supervivencia

La mayor supervivencia (80-90%) se registró en las salinidades de 20 y 32 ups durante el desarrollo embrionario y larva. En salinidades de 10 y 5, la supervivencia disminuyó de modo progresivo desde el primer clivaje celular hasta formación de la gástrula temprana ($F= 32,33$; $p<0,001$) (Figura 2).

Discusión

Los resultados de este estudio sugieren que la salinidad es un factor fundamental para el óptimo desarrollo embrionario temprano y supervivencia de la larva de *A. stellata* en condiciones de laboratorio. Salinidades mayores a 20 ups permiten alta supervivencia (80 %) y óptimo desarrollo embrionario. Sin embargo, una condición por estrés hiposalino causado por salinidades inferiores a 10 generó retraso en el desarrollo normal de los embriones y disminución de la supervivencia; incluso sin alcanzar la formación de larvas prisma. Este hallazgo muestra la sensibilidad de los embriones a concentraciones de baja salinidad, característicos de una especie estenohalina.

Bressan *et al.* (1995) mencionaron que la salinidad afecta directamente a la supervivencia y desarrollo embrionario en equinodermos. Se ha evidenciado cambios en el desarrollo embrionario a variaciones de la salinidad en especies afines tales como la estrella de mar *Luidia clathrata* (Forcucci & Lawrence, 1986), el erizo de mar *Sterechinus neumayeri* (Cowart *et al.*, 2009) y la galleta de mar *Echinarachnius parma* (Allen & Pechenik, 2010). La baja supervivencia de larvas prisma en salinidades por debajo de 10 ups parece ser una respuesta común entre distintas especies de erizos, tanto tropicales como subtropicales. Así se ha denotado en *Echinometra lucunter* (Metaxas, 1998; Ghorani *et al.*, 2012), *Salmacis sphaeroides* (Sarifudin *et al.*, 2013), *Lytechinus variegatus* (Roller & Stickle, 1993). Adicionalmente, se conoce también que condiciones hipersalinas tienen efectos sobre el tiempo de desarrollo de embriones de

algunas especies de erizos de mar, tales como ocurre en *Echinocardium cordatum* (Kashenko, 2007).

El descenso en la proporción de huevos fecundados de *A. stellata* en salinidades menores a 10 ups pudiera estar relacionado con una posible disminución de la capacidad de movilidad espermática ocasionada por estrés osmótico, y a la vez, perturbaciones de los mecanismos de regulación osmótica en los oocitos fecundados. La mortalidad de los cigotos, al menos después de la primera media hora, incrementó gradualmente a partir de las salinidades más bajas, por debajo de 5 ups.

La formación de la larva prisma se logró entre las 19 a 20 h posteriores a la fertilización en los tratamientos de 32 y 20 ups. Sin embargo, fue evidente la inhibición en la formación de larva prisma (~28-30 h) en los tratamientos de baja salinidad. Similarmente a la salinidad, algunas investigaciones han demostrado que otros factores tales como los cambios de pH y temperatura generan efectos adversos sobre la fertilización y el desarrollo temprano en equinoideos (Olaechea et al., 2006; Dupont et al., 2008; Dupont & Thorndyke, 2009, González-Delgado et al., 2014). En *Paracentrotus lividus* se ha demostrado efectos antagónicos sobre la fertilización y el desarrollo temprano producidos por el calentamiento del agua, que tienden a acelerar estos procesos, y la acidificación a retrasar su desarrollo (Sala & Zabala, 1996; Díaz-Pérez & Carpizo-Ituarte, 2011). Los hallazgos de esta investigación muestran que es factible utilizar rangos de salinidades entre 20 y 32 ups para el normal desarrollo de los embriones de *A. stellata*. Al mismo tiempo, se crea la expectativa de investigar los posibles efectos en el desarrollo de etapas larvianas maduras y metamorfosis.

Conclusiones

Las salinidades entre 20 y 32 ups favorecen el desarrollo y supervivencia de los embriones (desde blástula hasta alcanzar la fase de larva prisma) del erizo de mar *A. stellata*. Sin embargo, la salinidad de 10 ups retarda el desarrollo y supervivencia de los embriones y en 5 ups no se forma larva prisma. La salinidad es un factor determinante para el cultivo del erizo de mar *A. stellata* en ambientes de estuarios.

Agradecimientos

Este estudio forma parte del proyecto: “Desarrollo de protocolos de producción de juveniles y de extracción-caracterización de sustancias nutraceuticas del erizo de mar *Arbacia stellata* (Blainville, 1823) para diversificación acuícola en Manabí, Ecuador”, financiado por la Universidad Técnica de Manabí bajo el código PYT1344-CONV2019-FCV0023. A los investigadores, Fernando Isea León y Yanis Cruz Quintana por su asistencia técnica.

Referencias bibliográficas

- Abdel-Raheem, S. (2015). Developmental responses to fluctuations in environmental conditions in echinoid echinoderms. Undergraduate Honors Theses. Paper 200. <https://scholarworks.wm.edu/honorstheses/200>
- Allen, J. D. & Pechenik, J. A. (2010). Understanding the effects of low salinity on fertilization success and early development in the Sand Dollar *Echinarachnius parma*. *Biology Bulletin*, 218, 189–199. DOI: 10.1086/BBLv218n2p189
- Archana, A., & Babu, K. R. (2016). Nutrient composition and antioxidant activity of gonads of sea urchin *Stomopneustes variolaris*. *Food Chem.*, 197, 597–602. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.11.003
- ASAB/ABS (2018). Guidelines for the treatment of animals in behavioral research and teaching, *Animal Behav.*, 135, 1-10. DOI: 10.1016/j.anbehav.2017.10.001
- Bressan, M., Marin, M. & Brunetti, R. (1995). Influence of temperature and salinity on embryonic development of *Paracentrotus lividus* (Lmk, 1816). *Hydrobiologia*, 304, 175–184.
- Burcham, D. & Caruso, N.L. (2015) Abundance, size, and occurrence of *Arbacia stellata* in Orange County, California. *California Fish and Game*, 101, 184–187.
- Cirino, P., Brunet, C., Ciaravolo, M., Galasso, C., Musco, L., Vega Fernández, T., Sansone, C. & Toscano, A. (2017). The sea urchin *Arbacia lixula*: A novel natural source of astaxanthin. *Marine Drugs*, 15(6), 187. DOI:10.3390/md15060187
- Carballeira, C., Martín-Díaz, L. & DelValls, T. A. (2011). Influence of salinity on fertilization and larval development toxicity tests with two species of sea urchin. *Mar. Environ. Res.*, 72(4), 196–203. DOI: 10.1016/j.marenvres.2011.08.008
- Cowart, D. A., Ulrich, P. N., Miller, D. C. & Marsh A. G., (2009). Salinity sensitivity of early embryos of the Antarctic sea urchin, *Sterechinus neumayeri*. *Polar Biol.*, 32, 435 –441.
- Díaz-Martínez J.P., Carpizo-Ituarte E. D. J. & Benítez-Villalobos, F. (2019). Reproductive patterns of the black starry sea urchin *Arbacia stellata* in Punta Blanda, Baja California, Mexico. *J. Mar. Biol. Association UK.*, 99, 1379-1391. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0025315419000316>
- Díaz-Pérez, L. & Carpizo-Ituarte, E. (2011). Effect of thermal stress on survival and delay of metamorphosis in larvae of the purple sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus*. *Ciencias Marinas*, 34 (4A), 403–414.

- FAO (2016). FAO yearbook. In: Fishery and Aquaculture Statistics. 2014. Rome, Italy.
- Dupont, S., Havenhand, J., Thorndyke, W., Peck L. & Thorndyke, M. (2008). CO₂-driven ocean acidification radically affects larval survival and development in the brittle star *Ophiothrix fragilis*. *Mar. Ecol. Prog. Series*, 373: 285-294.
- Dupont, S. & Thorndyke, M. (2009). Impact of CO₂-driven ocean acidification on invertebrates early life-history—what we know, what we need to know and what we can do. *Biogeosci. Discuss.*, 6: 3109-3131.
- Forcucci, D. & Lawrence J. M. (1986). Effect of low salinity on the activity, feeding, growth and absorption efficiency of *Luidia clathrata* (Echinodermata: Asteroidea). *Mar. Biol.*, 92,315–321
- González-Delgado, S., Clemente, S., Hernández, J.C. & García, E., (2014). efecto del cambio climático en la fertilización y embriogénesis de *Paracentrotus lividus*. *Rev. Real Acad. Canar. Cienc.*, 26, 201-212.
- Ghorani, V., Mortazavi M. S., Mohammadi E., Sadripour E., Soltani M., Mahdavi Shahri N. & Ghassemzadeh F. (2012). Determination of developmental stages of embryo in the sea urchin, *Echinometra mathaei*. *Iran. J. Fish. Sci.*, 11(2) 294-304.
- Kashenko, S. D. (2007). Adaptive responses of embryos and larvae of the hearted- shaped sea urchin *Echinocardium cordatum* to temperature and salinity changes. *Rus. J. Mar. Biol.*, 33(6), 381–390.
- Lawrence, J. (2020). Sea Urchins, Volume 43 4th Edition, 730 pp.
- Leobarda-Margarita, M.G., Francisco, B.V., & Julia Patricia, D.M. (2019). Effect of temperature increase on fertilization, embryonic development and larval survival of the sea urchin *Toxopneustes roseus* in the Mexican south Pacific. *J. Therm. Biol.* DOI: 10.1016/j.jtherbio.2019.05.011
- Lessios, H. A., Lockhart S., Collin R., Sotil G., Sanchez-Jerez P., Zigler K. S., Perez A. F., Garrido M. J., Geyer L. B., Bernardi G., Vacquier V. D., Haroun R., & Kessing B. D. (2012). Phylogeography and bindin evolution in *Arbacia*, a sea urchin genus with an unusual distribution. *Mol. Ecol.*, 21:130–144. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2011.05303.x
- Metaxas A. (1998). The effects of salinity on larval survival and development in the sea urchin *Echinometra lucunter*. *Inver. Rep. Dev.*, 34(2-3), 323 330.
- Olaechea, P., Panéz, J.J. & Gonzáles-Figueroa, H. (2006). Desarrollo embrionario de *Tetrapygus niger* (Molina, 1782) “erizo negro” en diferentes

temperaturas. *Biotempo*, 6 (27): 27 – 31. DOI: 10.31381/biotempo.v6i0.879

Pullin, R.S.V. (2017). Diversification in aquaculture: species, farmed types and culture systems. In: Harvey, B., Soto, D., Carolsfeld, J., Beveridge, M., Bartley, D.M. (Eds.), *Planning for Aquaculture Diversification: The Importance of Climate Change and Other Drivers*. FAO Technical Workshop, 23-25 June 2016, Rome Italy, p. 15–36.

Rahman, M. A., Yusoff, F. M., Arshad, A., Shamsudin, M. N., & Amin, S. M. N. (2012). Embryonic, larval, and early juvenile development of the tropical sea urchin, *Salmacis sphaeroides* (Echinodermata: Echinoidea). *Sci. World J.*, 1–9. DOI:10.1100/2012/938482

Roller R. A. & Stickle W. B. (1993). Effects of temperature and salinity acclimation of adults on larval survival, physiology, and early development of *Lytechinus variegatus* (Echinodermata: Echinoidea). *Marine Biology*, 116, 583–591.

Rubilar, T. & Crespi-Abril, A. (2017). Does Echinoderm research deserve an ethical consideration?. *Rev. Biol. Trop.*, 65(1): 11-22.

Russell, M. P. (2013). Echinoderm responses to variation in salinity. *Advances in Marine Biology*, 171–212. DOI:10.1016/b978-0-12-408096-6.00003-1

Sala, E. & Zabala, M. (1996). Fish predation and the structure of the sea urchin *Paracentrotus lividus* populations in NW Mediterranean. *Mar. Ecol. Prog. Series* 140: 71–81.

Sarifudin, M., Aminur Rahman, M., Yu, S. H., Yusoff, F. M. & Arshad, A. (2013). Effects of salinity on embryonic and early larval development of a tropical sea urchin, *Salmacis sphaeroides*. *Iran. J. Fish. Sci.*, 13(2)456 -468 2014

Scholtz, R., Blton, J.J. & Macey, B.M. (2013). Effects of different microalgal feeds and their influence on larval development in the white-spined sea urchin *Tripneustes gratilla*. *Afr. J. Mar. Sci.* 35, 25–34.

Sokal R. & Rohlf J. (2012). *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*, Fourth edition. WH Freeman and Company. San Francisco.

Sonnenholzner-Varas J., Tournon N. & Panchana Orrala M. (2018). Breeding, larval development, and growth of juveniles of the edible sea urchin *Tripneustes depressus*: A new target species for aquaculture in Ecuador. *Aquaculture*, 496 134–145. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.07.019>

Strathmann, M.F. (1987). Phylum Echinodermata: Class Echinoidea. In: Strathmann, M.F. (ed.), *Reproduction and Development of Marine Invertebrates of the Northern Pacific Coast*. Univ. of Washington Press, Seattle, Washington, pp. 511–534.

Strober, W. (2001). Trypan Blue Exclusion Test of Cell Viability. *Curr. Protoc. Immunol.*, 111, A3-B. DOI: <https://doi.org/10.1002/0471142735.ima03bs111>

	Salinidad (ups)			
	32	20	10	5
Fertilización (%)	95,6±4,1	91,5±3,5	84,0±6,1	80,0±10,5*
Rango	90-98	88-95	80-92	69-90

Tabla I. Porcentaje y rango de fertilización de oocitos (\pm desviación estándar) del erizo de mar *Arbacia stellata* a distintas salinidades. (*) significancia $p < 0,05$ con respecto al control.

Fase	Salinidad (ups)			
	5	10	20	32
2da. División	79,5±0,08	75,5±0,03	78,10± 0,04	76,7±0,03
4ta. División	86,20±0,05	84,20±0,15	83,20±0,05	86,83±0,06
Blástula	88,08±0,11	88,10±0,10	85,80± 0,05	87,33±0,04
Gástrula	89,0±0,05	87,20±0,15	86,10±0,09	87,86±0,08
Prisma	-	-	89,10±0,10	92,40±0,08

Tabla II. Diámetro del embrión (desde segunda división hasta gástrula) y longitud del primordio del brazo post-oral de larva prisma. (-) no alcanzaron esta etapa.

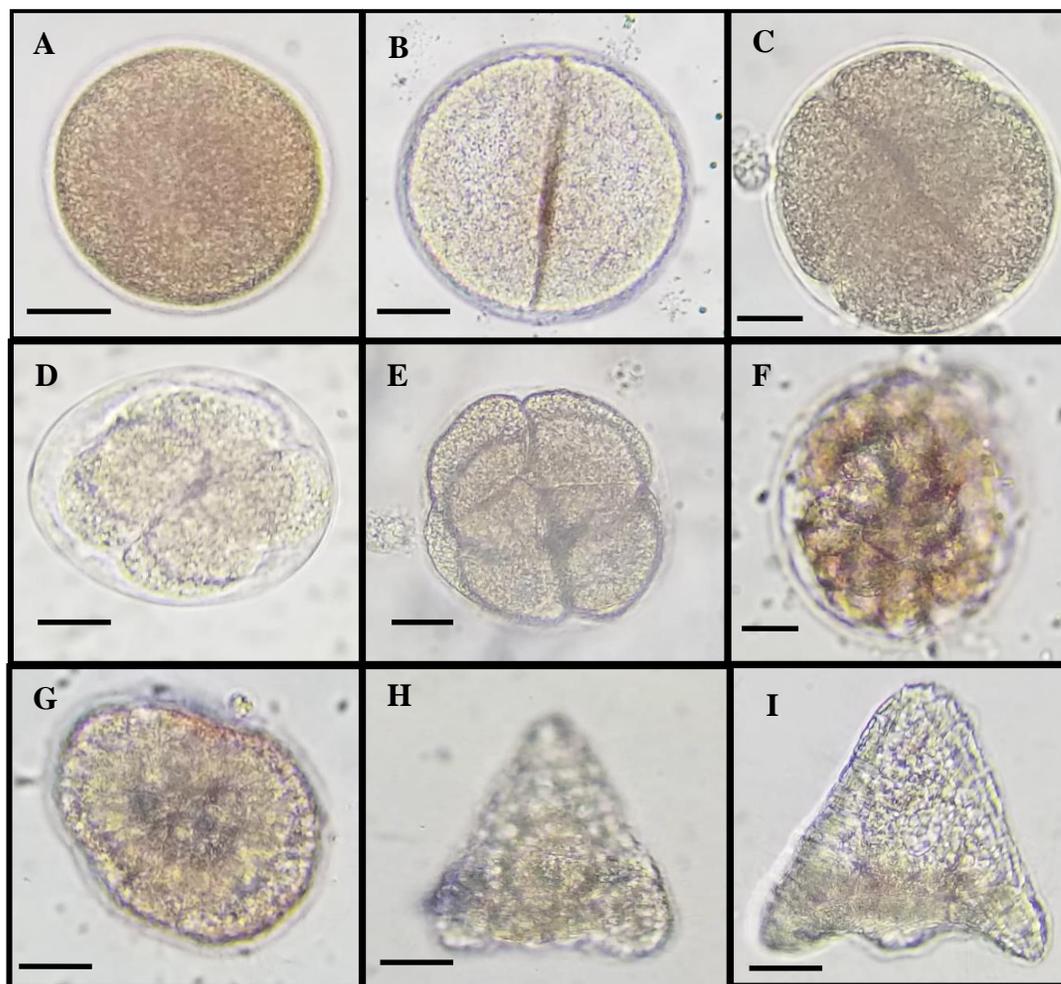


Figura 1. Embriogénesis hasta la formación de la larva prisma del erizo de mar *Arbacia stellata*. (A) Formación de la membrana de fertilización, (B) 2 células, (C) 4 células, (D) 8 células, (E) 16 células, (F) blástula, (G) gástrula temprana, (H y I) Larva prisma. Barra de escala= 25 μ m.

Salinidades (ups)	2 da División	4ta División	Blástula	Gástrula	Prisma
32	1 h 47 min	2 h 32 min	3 h 31 min	19 h 20 min	20 h 30 min
20	1 h 49 min	2 h 45 min	3 h 41 min	19 h 34 min	24 h 10 min
10	2 h 10 min	2 h 58 min	4 h 50 min	23 h 50 min	28 h 30 min
5	2 h 29 min	3 h 10 min	4 h 30min	-	-

Tabla III. Estimación del tiempo transcurrido en las etapas de desarrollo embrionario del erizo de mar *Arbacia stellata* a distintas salinidades. (-) no fue alcanzada la etapa.

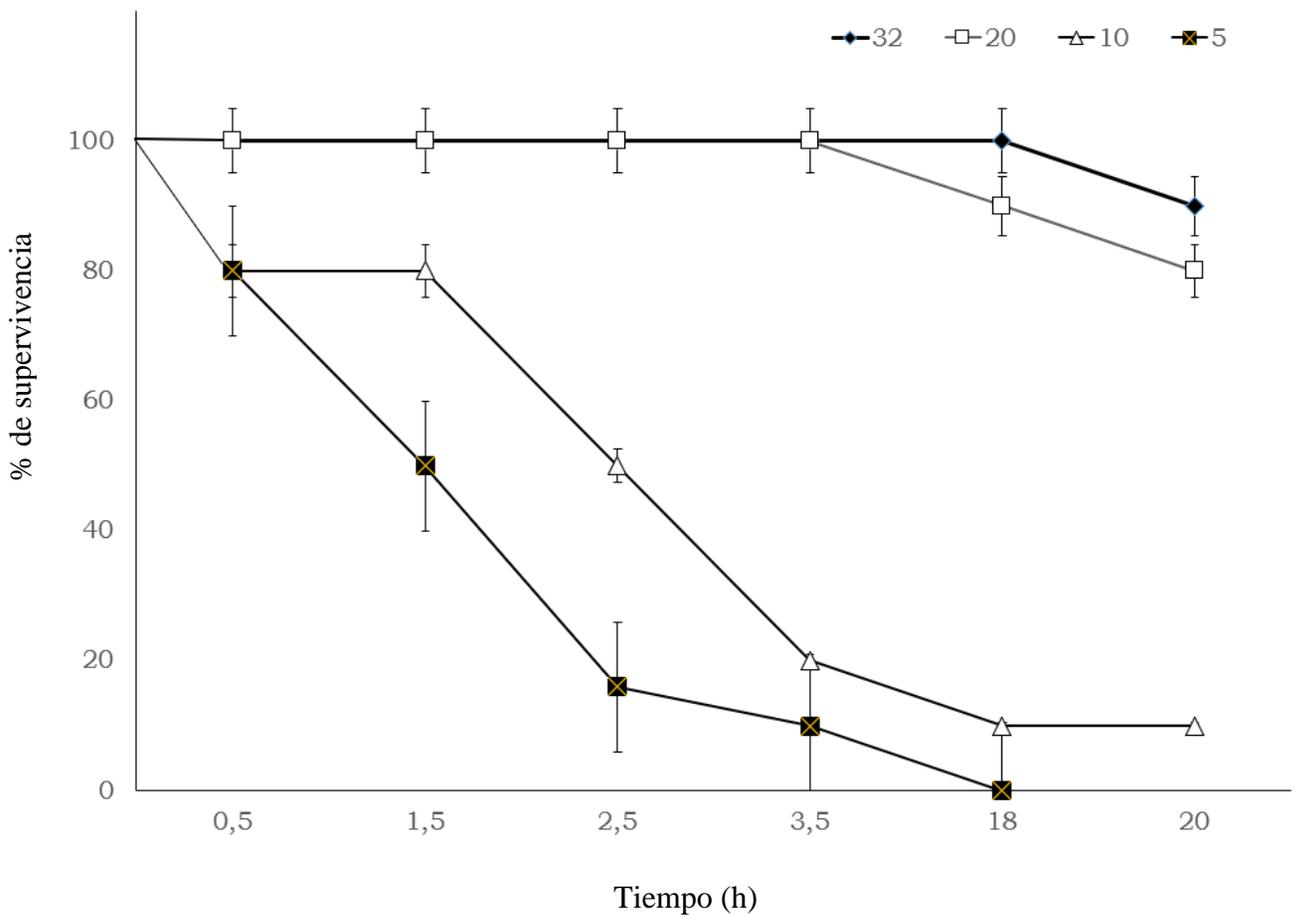


Figura 2. Supervivencia de embriones del erizo de mar *Arbacia stellata* sometidos a distintas salinidades. Las barras representan la desviación estándar.