

Estudios Biológicos del Erizo
Loxechinus Albus, (Molina)
(Echinoidea Echinodermata)

I. Investigaciones Preliminares en
cultivos masivos de larvas de erizo.

F. BÜCKLE
CH. GUIADO
E. TARIFEÑO
A. ZULETA
L. CORDOVA
C. SERRANO
R. MALDONADO

CONTENIDO

	Pág.
I. Introducción . . . :	35
II. Materiales y Métodos . : . . :	36
III. Resultados : : . . . : : :	46
A.—Criterio de Análisis	
1.—Descripción del Sistema	
2.—Proposición de un modelo para el sistema	
IV. Discusión . : : : :	58
V. Resumen y Conclusiones : : :	61
VI. Agradecimientos : : : :	63
VII. Literatura citada . . : :	64

ESTUDIOS BIOLÓGICOS DEL ERIZO *LOXECHINUS ALBUS*, (Molina)

(Echinoidea Echinodermata).

I. INVESTIGACIONES PRELIMINARES EN CULTIVOS MASIVOS DE LARVAS DE ERIZO.

Bückle, F.*, Guisado, Ch.***, Tarifeño, E.****, Zuleta, A.***, Córdova, L.,
Serrano, C.***, Maldonado, R.***

ABSTRACT. Several experiments are described on larval development of *Loxechinus albus* (Molina) in order to determine methods of mass culture of this species.

I. INTRODUCCION

La acuicultura, que se ha desarrollado en muchos países del mundo ha adquirido en estos últimos años una importancia relevante. Esto lo confirman los diversos programas nacionales y regionales que sustenta FAO en Ecuador, Irán, Nepal, Túnez, Tailandia y otros (FAO 1971). Por lo general estos proyectos que son de alto costo, dedican su inversión a la piscicultura; sin embargo la Equinicultura (cultivo de erizos) ha tenido sólo en Japón la atención requerida. Tal es así, que las investigaciones realizadas en ese país como también la organización y planificación de la explotación, permiten a través de cooperativas, mantener este importante rubro a un nivel de producción elevado. Como la disponibilidad natural de este recurso es insuficiente para la demanda del mercado, Japón importa grandes cantidades de gónadas de erizos semielaboradas. Este déficit en la oferta ha sido aminorado con importaciones desde Méjico, Taiwan, Corea, China y últimamente de Chile.

La alta producción japonesa se basa esencialmente en el transplante de poblaciones de erizos, Kawana (1938) demostró la factibilidad de este método, que en esencia es la reubicación de animales en diferentes áreas. En estas experiencias se ha demostrado que los erizos transplantados en algunos casos se desarrollan mejor que los nativos del área.

Ya en 1910 los japoneses hicieron los primeros ensayos para elevar la producción de erizos empleando, además del método de transplante, una nueva modalidad que consistió en aumentar con rocas el fondo marino. Para ello se tuvo entre 1928 y 1932 financiamiento estatal, demostrándose claramente el éxito de este método (Oshima et al. 1962 en Matsui, 1968).

Aun cuando estas pesquerías en el Japón tienen una notable organización, el cultivo artificial de larvas de erizo es relativamente reciente, y parece ser lo suficientemente avanzado para que pueda ser en un futuro próximo utilizado como procedimiento de repoblación.

Al relacionar brevemente el nivel de la Equinicultura japonesa y las perspectivas que ésta tendría en nuestro país, podría considerarse en general el carácter isleño del Japón similar a la región de Chiloé, por algunas características de latitud y fondo, de tal manera que existiría la posibilidad de

(*) Kristinebergs Zoologiska Station, Fiskedäskil, Sweden.

(**) Instituto de Fomento Pesquero, Santiago, Chile.

(***) Ayudantes técnicos.

(****) Institute of Experimental and Evolutionary Biology University of California, Los Angeles, U.S.A.

aplicar los mismos métodos o algunos equivalentes para aumentar la producción en el sur del territorio. Pero el problema es diferente en el Centro y Norte donde las costas están expuestas al sistema de corrientes del Pacífico Sur Oriental. En estas áreas parece improbable aplicar los mismos métodos de propagación.

Se sabe positivamente que en el Centro del país hace muchos años hubo suficientes erizos, como para solventar el consumo de las poblaciones adyacentes. La sobreexplotación disminuyó el recurso hasta tal punto, que los erizos actuales posiblemente no proporcionen un número adecuado de huevos al medio como para que los factores adversos, ya sean estos físico-químicos o biológicos, permitan una sobrevivencia adecuada de larvas metamorfoseadas. Es posible que en algunas épocas del año las corrientes costeras influyan negativamente en la repoblación, llevándose las larvas a regiones distantes de la costa, de tal manera que éstas, en el momento de su metamorfosis, no encuentren el sustrato adecuado para su fijación.

El desarrollo larval del erizo comestible fue realizado por Arrau, L. (1958), quien acotaba que esas experiencias tenían el doble propósito de asegurar la posición sistemática de la especie y también dar las pautas para iniciar la Equinicultura. La autora logró obtener erizos que cultivó hasta un año después de la metamorfosis de las larvas. Además trabajó con pocos animales (0.3 larvas por cc) lo que justificaba su propósito primario, dando algunas indicaciones sobre el cultivo experimental de las larvas. Si bien la técnica descrita por Arrau es válida para cultivos menores, ésta es diferente cuando se propone realizarlos en forma masiva, como lo requiere la Equinicultura.

Nuestras experiencias de cultivo artificial de larvas de erizo en el Departamento de Oceanología de la Sede de Valparaíso, se iniciaron en 1968 con ensayos pequeños en acuarios de 24 litros que posteriormente, en los años siguientes, se fueron proyectando hacia cultivos masivos con acuarios más grandes para tratar de criar el mayor número posible de larvas y obtener gran cantidad de erizos. En todos los ensayos sólo se ha logrado estabilizar los cultivos masivos en un número apreciable de larvas (dos a tres millones, en acuarios de 360 lts.), pero la metamorfosis completa de ellas no ha sido posible hasta el momento. En las investigaciones realizadas en 1971 se pudo observar estados avanzados de larvas en vías de metamorfosear y posteriormente se continuará experimentando hasta resolver el problema.

Los trabajos de Brooks; Garman y Colton (en Matsui, 1968) indican que "las larvas finalizan con una metamorfosis total, aún sin proporcionar alimento alguno", pero subsisten algunas dudas al respecto, pues el agua pudo contener alimento. McPherson (1968) experimentó en el desarrollo larval y post-larval de *Eucidaris tribuloides* (Lamarck) entre 1964 y 1966, y tuvo éxito sólo en octubre de 1964 (:429) cuando se metamorfoseó una larva; otras detuvieron su desarrollo en estadios intermedios.

Onoda (1932, en Matsui, 1968) logró la metamorfosis de *Mespilia globulus* alimentándola con diversas diatomeas. Matsui (1968) informa que Yamabe (1962) cultivó larvas de *Pseudocentrotus depressus* durante cuarenta días hasta la metamorfosis completa logrando un rendimiento de un 42%.

II. MATERIALES Y METODOS

El presente capítulo necesita la siguiente explicación: debido a que se hicieron cuarenta y nueve fecundaciones, tratando de vislumbrar en general la problemática que encerraban los cultivos masivos, es que fue necesario elegir las más representativas. Las experiencias se han ordenado primero en años de observación, seguidamente se especifican aquellas que fueron seleccionadas para esta presentación como "experimentos", catorce en total, numerados y con su respectiva fecha de iniciación.

Al término del capítulo se muestra un cuadro resumen de todos los experimentos que se analizaron en este trabajo.

Año 1970 — Enero 1971

EXPERIMENTO N° 1 (13 de octubre)

El desarrollo de larvas de erizo se realizó en un acuario cilíndrico de acrílico (Fig. 1) de 91 cm. de alto por 116 cm. de diámetro, con paredes de 0.4 cm. de espesor. La capacidad era de aproximadamente 1 m³ de agua de mar. En el interior del acuario se instaló una hélice de dos paletas levemente curvadas en sus extremos, de 72 cm. de largo y 15 cm. de alto, sujeta al centro por un eje (cañería de cloruro de polivinilo de 3/4") con un punto de apoyo en un rodamiento (S.K.F. 6305-Z). Por el interior del eje se montó un tubo de vidrio de 0.6 cm. de diámetro externo que desembocaba al a altura de la hélice, bifurcándose en una manguera de plástico hacia ambos extremos de la hélice de acrílico y terminando en dos piedras de aireación. En el extremo del tubo de vidrio de calzó uno del mismo material pero más corto (6

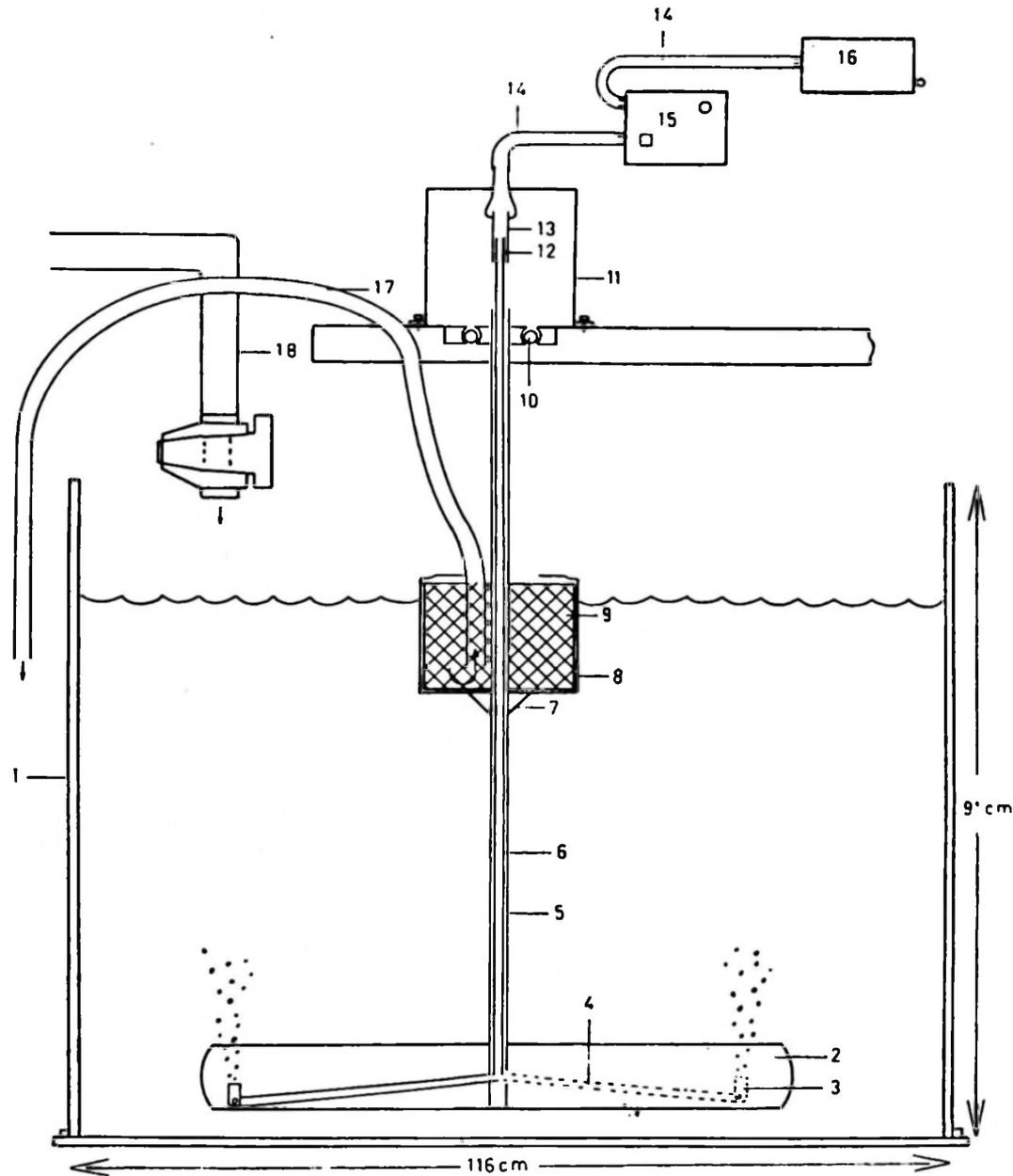


Fig. 1. Esquema.— Acuario cilíndrico de acrílico. El esquema no está a escala. 1, acuario; 2, hélice de dos paletas; 3, piedras para aireación; 4, manguera de plástico; 5, tubo-eje de cloruro de polivinilo; 6, tubo de vidrio de 0.6 cm de diámetro externo; 7, tapón de goma perforado que sostiene el canastillo; 8, canastillo de plástico; 9, malla de acero inoxidable; 10, rodamiento; 11, estructura de metal que sostiene la pieza 13; 12, grasa de silicona; 13, tubo de vidrio de 0.8 cm de diámetro externo; 14, manguera de plástico; 15, ozonizador; 16, bomba de aireación; 17, manguera para succionar agua; 18, cañería de plástico con llave de paso para el agua de mar.

cm. de largo) de un diámetro externo levemente superior (0.8 cm.), dejando entre ambos un espacio libre que se rellena con grasa de silicona. En el extremo del tubo se ajustó una manguera plástica que pasando

por un ozonizador (marca OZON KING de ZOOBEKO) se conectaba a una bomba de aireación (marca WISA).

En el eje central (cañería de polivinilo) se ajustó un canastillo de plástico

de 18 cm. de alto y 14 cm. de diámetro (Fig. 1-8), recubierto con una malla de acero inoxidable de 100 μ de apertura (Fig. 1-9), con el fin de extraer agua del acuario y evitar que las larvas fueran arrastradas por la succión de una manguera (Fig. 1-17) que retiraba el agua de mar continuamente. Con una cañería provista de una llave de paso se reguló la entrada de agua al acuario (Fig. 1-18).

El funcionamiento de esta unidad es la siguiente: la presión que genera la bomba de aire (Fig. 1-16) se libera en las piedras de aireación (Fig. 1-3); el burbujeo que se produce en este lugar y en concomitancia con la curvatura que tiene la paleta (Fig. 1-2), hace que ésta gire lentamente, de tal manera que se produce una distribución uniforme del cultivo de larvas en el acuario. La velocidad de giro de la paleta, funciona en relación al flujo de burbujas de aire expelidas.

Las dificultades que se observaron durante el cultivo de larvas fueron en el canastillo del acuario, cuya malla por ser tan fina se obstruía rápidamente. Esto se puede soslayar con facilidad si a medida que las larvas crecen, la malla se va sustituyendo por una de abertura mayor.

Paralelamente al uso de este acuario se utilizaron otros más pequeños de acrílico de 24 lts. de capacidad para hacer cultivos.

Los erizos utilizados en las fecundaciones fueron colectados de los alrededores de Montemar. Extraídas las gónadas de los animales, se controló el sexo y grado de madurez según la escala de Fuji (1960); seguidamente se extendieron sobre un cordel para ser amarradas y suspendidas de tal manera que los elementos gonádicos cayeran en un vaso de precipitado de 500 cc conteniendo agua de mar fresca. En esta forma se operó separadamente para machos y hembras. Por lo general después de media hora en los vasos de precipitado se habían acumulado suficientes ovios o espermios, como para succionarlos con una pipeta y hacer la fecundación en otro vaso con agua de mar. La fecundación es inmediata (Arrau, 1958). Los huevos fecundados se repartieron en tres acuarios de una capacidad de 24 lts. cada uno. Esto se hizo con el fin de separar los huevos del cultivo que no se desarrollaban y que podrían alterarlo. Después de dos días, cuando las blástulas eran claramente identificables, se transvasaban al acuario antes descrito (Fig. 1).

Al comienzo de las numerosas experiencias realizadas en el año 1970, se controló en forma continua el pH y la temperatura del agua. Como el pH no tenía variaciones no-

tables, el trabajo se limitó a controlar la temperatura y a alimentar las larvas.

El muestreo para determinar la densidad de las larvas se hizo primero tomando una muestra de 2 cc. Posteriormente, se controló con un muestreador de 34 cc, modificado y basado en el modelo de la Botella van Door (Fig. 2 y 3). A las muestras se les agregó formalina al 5% neutralizada con bórax. El recuento de las larvas se realizó bajo una lupa.

Varios cultivos anteriores a este experimento, se contaminaron con un anti-óxido (W D 40, spray, de Rocket Chemical Company, San Diego, California, U.S.A.) que se utilizó para proteger el rodamiento de la hélice del acuario. Las larvas al parecer eran afectadas a nivel del sistema nervioso, ya que al entrar en contacto con la sustancia tóxica, dejaban de mover sus cilios, cayendo al fondo del acuario, por esta razón se evitó el uso del compuesto en el Exp. 1.

También se observó que cuando el aire se insuflaba con mucha fuerza las larvas se acumulaban en el fondo de la cuba. Una adecuada regulación del burbujeo mantuvo el cultivo bien repartido en el medio.

En todas las experiencias se proporcionó dos tipos de alimento. Por lo general se combinó fitoplancton de las afueras de Montemar con una mezcla de las algas *Lyngbya confervoides*, *Scytosiphon lomentaria*, *Ulva lactuca f. lacinulata*, *Ulva lactuca*, *Porphyra columbina*, *Lessonia nigrescens*, *Corallina chilensis* y *Chaetomorpha intestinalis* previamente molidas en una licuadora y filtrada posteriormente por una malla de fitoplancton para seleccionar el tamaño de las partículas de este macerado de algas.

Junto al fitoplancton proporcionado, se introdujeron a veces, involuntariamente, animales como poliquetos, eufausidos y larvas de crustáceos que permanecían en el acuario sin dificultad.

EXPERIMENTOS N° 2, 3 (10 de nov.) y

4 (17 de diciembre)

Los experimentos realizados en noviembre y diciembre fueron diferentes. Se simplificó el sistema de aireación utilizando sólo una piedra en el centro del acuario, eliminando con esto la paleta. Se inyectaba aire al cultivo sólo cuando se renovaba el agua. El recambio de agua se redujo a succionarla con una manguera a través del canastillo con malla de acero inoxidable, antes descrito. Durante la operación el canastillo se movía manualmente en un semicírculo

para evitar que las larvas, por el efecto de la succión, quedaran adheridas a la malla. Con estas variaciones al sistema original el cultivo de los Experimentos 2 y 3 se desarrollaron bastante bien, pero las larvas al día 30 aún no formaban el esbozo equiniano. En base al trabajo de Scheltema (1961) se pensó que la no formación del esbozo equiniano pudiera tener sus raíces en la ausencia de un sustrato adecuado que indujera la metamorfosis, por esta razón se colocaron dentro del acuario algunas piedras previa-

mente lavadas, pero el experimento no tuvo éxito.

En el fitoplancton proporcionado en noviembre a los cultivos de larvas, se destacaron como especies dominantes *Biddulphia longicruris*, *Rhizosolenia fragillissima* y *Chaetoceros debilis*, este último sostuvo su dominancia hasta los primeros días de diciembre siendo reemplazado por *Chaetoceros socialis* (com. pers. S. Avaria).

En los Experimentos 3 y 4 la densidad de larvas se determinó con el muestreador de

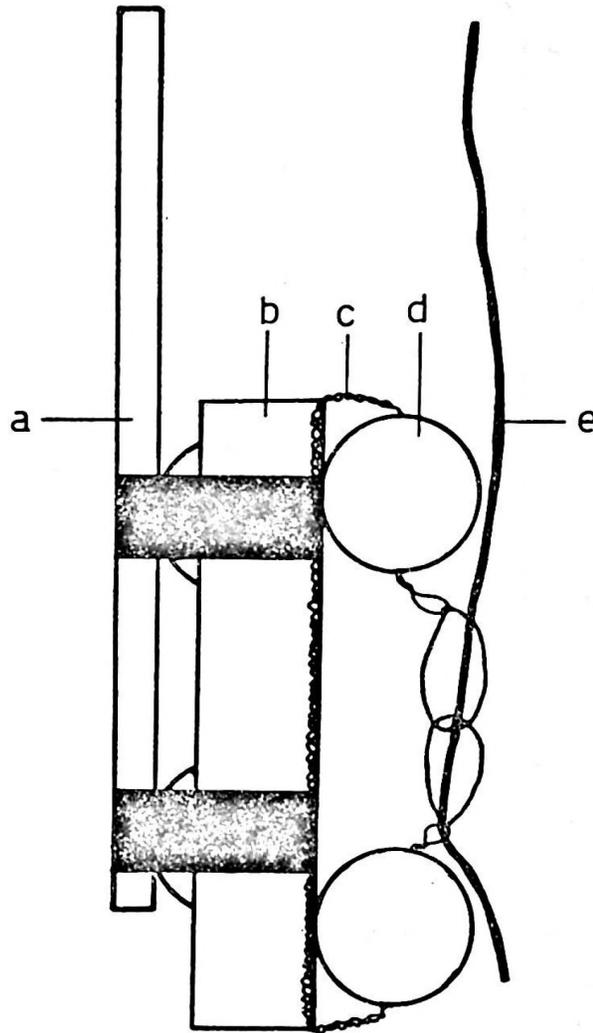


Fig. 2. Muestreador de 35 cc abierto. a, tubo de vidrio; b, cilindro de acrílico; c, elástico; d, pelota de goma; e, nylon.

34 cc. descrito en el Experimento 1.

En el Exp. 2 se extrajo sólo una muestra de 2 cc., método que sin duda introdujo mucho error en el muestreo. El error no fue calculado.

Año 1971 — Enero 1972

Para este periodo de investigación se construyeron tres cubas de acrílico transparente de 90 cm. de alto, 78 cm. de diámetro y 0.4 cm. de espesor. Una de ellas (cuba 1, de

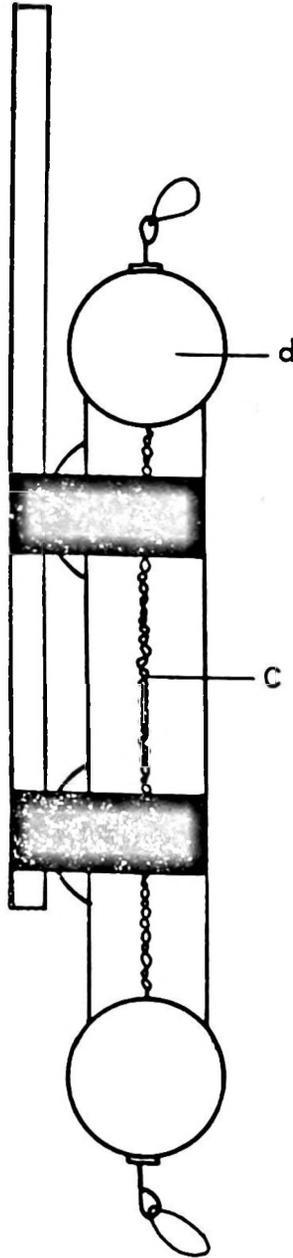


Fig. 3. Muestreador de 35 cc cerrado.

360 lts.) era de color verde transparente y se ubicó en un estanque de agua de circulación permanente, de una tonelada de capacidad. Con esta modalidad se mantuvo el agua de la cuba con mínimas diferencias de temperatura en relación a la temperatura del mar (Foto 1). Las cubas 2 y 3 (de 360 y 300 lts., respectivamente) no fueron refrigeradas externamente.

En cada cuba se instaló una piedra de aireación fija a un tubo de vidrio. Una bomba de aire WISA proporcionaba el oxígeno

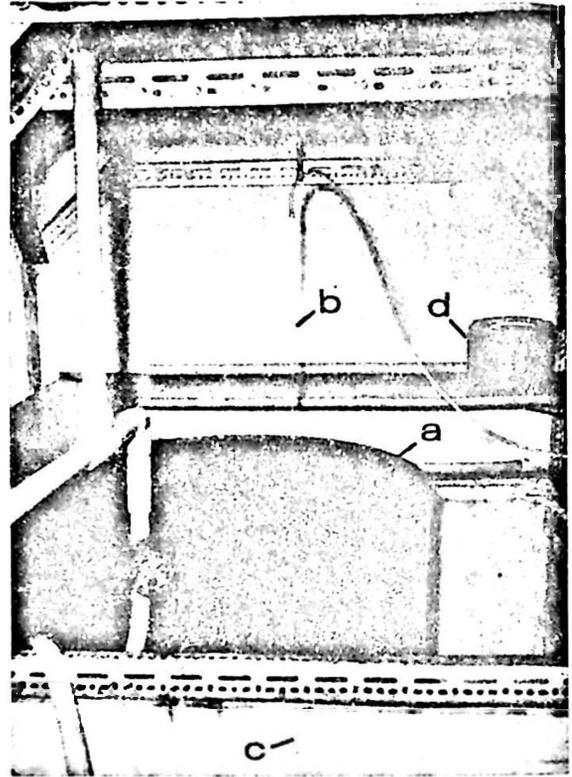


Foto 1. Cuba 1; a, cuba de acrílico de 360 lts. de capacidad; b, tubo de vidrio para aireación; c, estanque con circulación permanente de agua; d, canastillo para succionar agua manualmente.

suficiente para la respiración de las larvas y además coadyudaba a mantener la circulación interna del agua de las cubas. Todas estas cubas fueron ubicadas en el acuario experimental del edificio (Bückle, et al. 1976). Además de la luz artificial en dicho acuario se sumó la de una ampollita de 250 watt. Esto significó que durante el día la iluminación de la cuba 1 era de 8.7 lux y en las cubas 2 y 3 de 14.7 lux en la superficie del agua. En la noche la iluminación se dejaba en 2.7 lux para la cuba 1 y en 11.9 lux en las cubas 2 y 3. Para algunas experiencias fue necesario instalar una de las cubas en las inmediaciones del edificio con el fin de cultivar larvas con luz natural.

Diariamente se hacían controles de temperatura, se reemplazaba el agua y se proporcionaba alimento en base a algas unicelulares de *Phaeodactylum* sp., *Dunallieila* sp., *Isochrysis* sp. y *Monochrysis* sp. Los monocultivos se prepararon con los nutrientes que describe Walne (1966 :6, M. Garretón, com. pers.). En esta oportunidad no fue posible determinar la densidad de los cultivos

de algas unicelulares, por lo tanto se ignora la concentración que alcanzaban una vez adicionadas al agua de las cubas de cultivo.

Debido a que después de un cierto tiempo el cultivo acumulaba detritus en la cuba, fue necesario transvasar las larvas y limpiar cuidadosamente el fondo. La limpieza se hacía con un paño empapado en alcohol de 90 grados enjuagándolo posteriormente con agua de mar. El alcohol fue después sustituido por una solución concentrada de permanganato de potasio (KMnO₄).

Año 1971 — Enero 1972.

Las experiencias de 1971 fueron variadas; por esta razón se describe, en forma separada, la metodología correspondiente a cada una de las fecundaciones realizadas.

EXPERIMENTO N° 5 (18 de agosto)

En esta experiencia se utilizaron seis erizos que habían estado más de un año en cautiverio. Todos fueron marcados en las púas con anillos de diferentes colores para identificarlos después del desove. A los animales introducidos en una de las cubas de acrílico se les diluyó en el agua un macerado (aproximadamente 6 cc. en 360 lts., o sea una concentración de $1.66 \times 10^{-3}\%$) de gónada femenina estadio IV según Fuji (1960). El desove sólo pudo verificarse 12 hrs. después. La hembra que desovó tenía 5.85 cm. de diámetro con un peso total de 71.66 grs. antes del desove y 68.42 grs. después de éste. El macho alcanzaba un diámetro de 5.83 cm. y su peso inicial de 87.81 grs. bajó con el desove a 84.71 grs.

La gran cantidad de espermios expulsados dieron al agua un color blanquecino. Junto a los huevos se observaron en el fondo de la cuba muchas excretas. El macerado se concentró en la superficie del agua, posiblemente debido al fuerte burbujeo producido por la piedra de aireación ubicada en el centro de la cuba. Por estas razones se procedió a extraer 4/5 partes del agua y limpiar las paredes con un paño para eliminar los restos de macerado. Los lípidos del macerado que se adhirieron a las paredes del acuario se trataron de suprimir con un paño embebido en alcohol. Hecha esta operación, la cuba se llenó de agua nuevamente.

Al tercer día cuando las larvas estaban en estado de gástrula ciliada, el cultivo se transvasó a la cuba 1 donde continuaron su desarrollo.

Desde el día 4 al 11 se proporcionó al cultivo como alimento, un macerado de algas macroscópicas combinado con monocultivos de algas unicelulares continuándose al día 13 sólo con este último. Todas las mañanas

se concentraban las larvas sifoneando 3/5 del total del agua, a través de un canastillo con malla de acero inoxidable de 100 μ de abertura. Después se suministraba algas unicelulares manteniendo el nivel del agua durante dos horas, para asegurarse que las larvas estuvieran en un ambiente concentrado de alimento. Luego se agregaba agua nuevamente hasta completar la capacidad de la cuba. A partir del día 25 se sustentaron las larvas también en la tarde.

El control de la densidad de larvas se hizo una vez al día (Fig. 2 y 3), tomando dos alícuotas después de realizado el cambio de agua, que fue de un promedio de 216 lts. diarios durante todo el experimento.

Como el agua que se proporcionaba al cultivo no era filtrada, con ella se agregaba fitoplancton, que en agosto tuvo como especies dominantes a *Skeletonema costatum* y *Chaetocerus debilis* (S. Avaria, com. pers.)

EXPERIMENTOS N° 6 y 7 (9 de septiembre)

Con las gónadas de 12 machos y 12 hembras se procedió separadamente para obtener el mayor número de elementos gonádicos posibles. Una vez que las gónadas femeninas y masculinas eran extraídas del erizo se controlaba su grado de madurez por medio de un frotis. Después se cortaban con una tijera en varios trozos perpendiculares al eje mayor de ellas, con el propósito de abrir varios frentes de expulsión de ovios. Estas gónadas tratadas se dejaban en un acuario de vidrio con 20 lts. de agua de mar, donde lentamente se liberaba un buen número de ovios. Una vez acumulados los gametos femeninos en el fondo de los acuarios de vidrio, el contenido se transvasaba a una cuba con 360 lts. de agua de mar, pero antes se filtraba por una malla fina que sólo permitía el paso de los ovios, reteniendo gran parte del tejido gonádico. Seguidamente se agregaba una dilución de espermios. Hecha la fecundación los huevos caían al fondo de la cuba más o menos en una hora, después de la cual se renovaba 4/5 de agua, para extraer el exceso de espermios y dejar el agua lo más transparente posible. Ya en el primer día se extrajeron dos alícuotas con un muestreador (Fig. 2 y 3), operación que se repitió durante los 30 días que duró el experimento. La temperatura se registró diariamente.

Al segundo día se comprobó que había un número excesivo de larvas en la cuba por lo que se hizo necesario dividir el cultivo trans-

firiendo larvas a otra de 300 lts. con características similares.

Desde el tercer día se controlaba en la misma forma ambos cultivos. Se renovó el agua una vez en la mañana y otra en la tarde, controlando la temperatura antes y después de cada cambio de agua. El alimento de algas unicelulares se proporcionó dos veces al día pero el agua utilizada para el desarrollo agregó también fitoplancton compuesto por *Rhizosolenia fragillissima*, *Leptocylindrus danicus* y *Schroderella delicatula f. schroderi* especies que fueron dominantes en la Bahía de Valparaíso (S. Avaria, com. pers.)

EXPERIMENTOS N° 8, 9 y 10 (18 de octubre)

La forma en que se hicieron estas experiencias, es similar a la de los Exps. 6 y 7. El método para liberar los ovios y espermios de las gónadas de los erizos fue el mismo. El control de la densidad de larvas fue igual. La experiencia se inició en el Exp. 8, que

se hizo en la cuba 1, y donde a las larvas se les proporcionó el alimento en la mañana y en la tarde antes de ser renovada el agua. Con el agua que no era filtrada se dio una alimentación adicional de *Schroderella delicatula f. schroderi*, especie que en el mes de octubre fue dominante (S. Avaria, com. pers.).

Además de utilizar la cuba 1 para el cultivo, se construyó una jaula con un bidón de plástico de 30 lts. de capacidad recubierto con malla de una abertura de 150μ (Foto 2). El bidón se instaló dentro de una cuba de 300 lts. con un flujo constante de agua libre en las inmediaciones del edificio del Departamento. Al bidón se le introdujeron al décimo día, algunas larvas del Exp. 8.

A partir del día 16 no se le proporcionó más alimento de algas unicelulares, porque se observó que en su interior se había desarrollado suficiente cantidad de diatomeas sésiles. Estas diatomeas también se asentaron en la pared interna de la cuba.

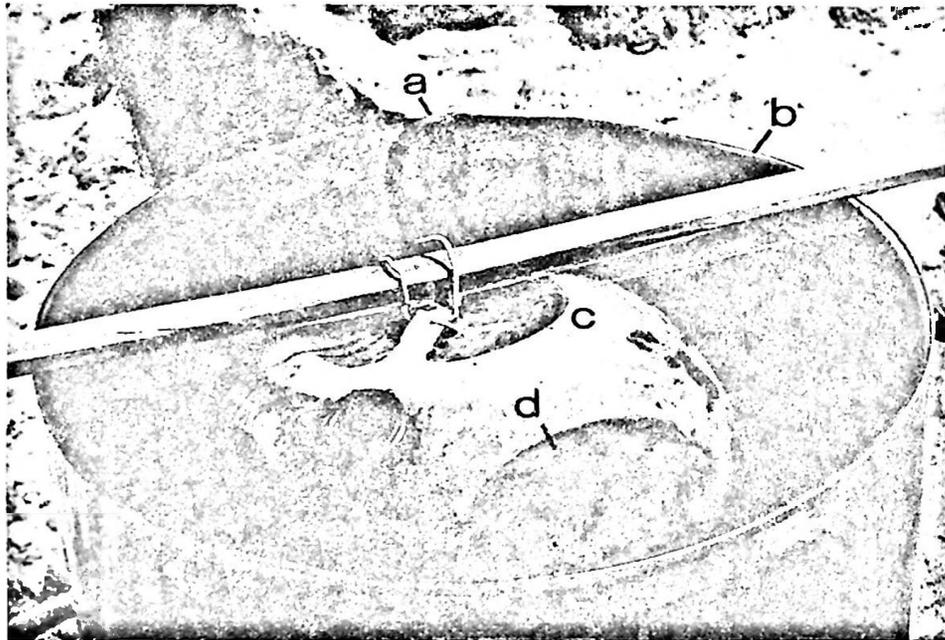


Foto 2. Se observa en el interior del acuario un bidón de plástico para cultivar larvas. a, manguera que proporciona agua; b, cuba de acrílico; c, bidón; d, malla.

Otra jaula (Foto 3) similar a la anterior pero de 50 lts. de capacidad y con una malla de 132μ de abertura, se instaló en un estanque (500 lts.) del acuario experimental con circulación de agua permanente (Exp. 10).

Al cuarto día de desarrollo cierta cantidad de larvas se transvasaron del Exp. 8 a este bidón, manteniendo su alimentación con algas unicelulares hasta el día 16.

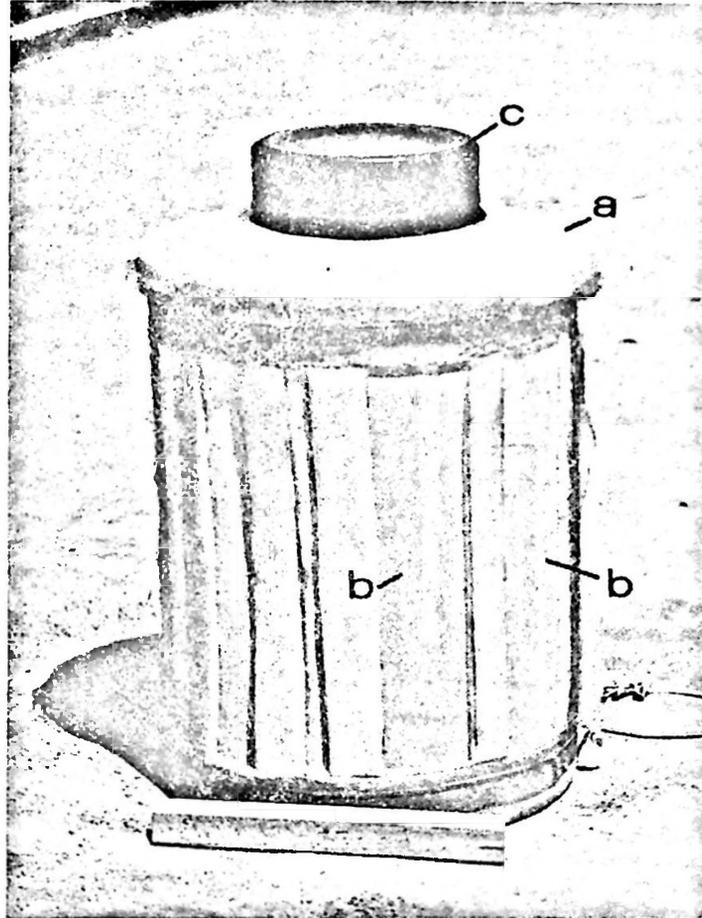


Foto 3. Bidón de plástico adaptado como jaula de cultivo. a, bidón; b, malla; c, tapa.

EXPERIMENTOS N° 11, 12 y 13 (10 de noviembre)

Para esta fecundación se sacrificaron dos hembras de 6.82 y 7.03 cm. y un macho de 7.96 cm. de diámetro. La metodología para acumular ovios y espermios se realizó de la misma forma como se describe anteriormente (Exps. 6 y 7). También aquí se utilizaron las cubas y los bidones descritos en los Exps. 8, 9 y 10.

Las larvas que se desarrollaban en la cuba 1 (Exp. 11), recibieron alimento de algas unicelulares desde el quinto día hasta el día 27. Este alimento se combinó con diatomeas que se asentaron en las paredes de la cuba del Exp. 9. El agua se renovó diariamente una vez en la mañana y otra en la tarde.

Al noveno día de desarrollo, se transvasaron de la cuba 1 al bidón con malla de 150 μ , larvas que fueron alimentadas con algas unicelulares y diatomeas (Exp. 12). Este bidón se instaló de la misma forma como se describe en el Exp. 9.

Al octavo día se introdujeron larvas en el bidón de malla de 132 μ (Exp. 13) siguiendo la técnica del Exp. 10.

Debido al bajo número de animales que contenían los bidones de los Exps. 12 y 13 el control de la densidad no se hizo a diario.

EXPERIMENTO N° 14 (14 de diciembre)

Los animales que se sacrificaron para esta fecundación estaban prácticamente desovados. Sus gónadas estaban colapsadas, pero aún tenían en su interior algunos ovios, al parecer viables y muchos en franca degradación. En la cuba 2, que se caracterizaba por no estar refrigerada exteriormente como la cuba 1, se controló la temperatura y se cambió el agua una sola vez al día. El muestreo se realizó aproximadamente cada tres días. Las diatomeas que se proporcionaron a este cultivo se obtuvieron agitando y exprimiendo el alga *Lingbya confervoides*, que se desarrolla en las pozas de los alrededores de Montemar, hasta que el agua de un vaso

de precipitado de 500 cc. quedaba de color café. El agua se filtró con su contenido por una malla de 150 μ de abertura, para eliminar las impurezas y los animales que viven sobre esta alga. Después que se reemplazaba el agua de la cuba, se agregaba el concentrado de diatomeas. Se pudo observar después de un tiempo que las diatomeas se fijaron en la pared de la cuba.

ESTIMACION DE ERRORES

Los valores del número de larvas en cada control, tienen básicamente dos fuentes de

error: a) la incerteza de un 1.5% introducida (en volumen) por el muestreador (Fig. 2) y b) la incerteza en el conteo (bajo lupa) de las larvas contenidas en las muestras (1%).

La determinación del número total de larvas en el instante del muestreo, se hizo suponiendo que la densidad era uniforme a través de todo el volumen de la cuba. Luego los valores indicados deben entenderse afectados a lo menos de un error cuadrático medio de 2.1%.

RESUMEN DE LOS EXPERIMENTOS

Experimento N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Características														
1970										
1971				
Agosto					.									
Septiembre					.	.	.							
Octubre				
Noviembre
Diciembre	
Enero				.										.
Naturalidad del Desove:														
Desove mecánico	0	□	□	[]		(*)	(*)	«	«	«	(.)	(.)	(.)	[]
Desove inducido														[X]
NOTA: Los símbolos iguales indican la misma fecundación.														
Tipo de recipiente:														
Cuba
Acuario		.												
Eidón									
Volumen recipiente:														
789 lts.			
360 "					.	.		.						
300 "							.							
50 "										.		.	.	
30 "									.					
24 "		.												
Cambio de agua:														
Continuo	
Diario	
Refrigeración externa				
Temperatura C°														
12 a 13					.	.	.							
13 a 15								
15 a 17
Iluminación:														
Luz natural									.			.		
Luz artificial
Alimento:														
Macerado algas superiores
Fitoplancton
Algas unicelulares puras				
Diatomeas								
Volumen muestreador:														
2,0 cc	.	.		.										
34,0 "	.		.	.										
35,0 "				

III. RESULTADOS

EXPERIMENTO N° 1 (13 de octubre — 2 de noviembre)

Los primeros ensayos de cultivos de larvas fueron negativos ya que al día 18 del cultivo, la densidad disminuyó apreciablemente, de 0.2 a 0.1 larvas por cc. El alimento que se proporcionó consistió en algas macrocospicasmolidas (Mat. y Met.). El cambio de agua (504 lts. diarios, promedio) fue adecuado dada la capacidad del acuario. El promedio de temperatura del cultivo en 20 días acusó 16.75°C, que en relación al promedio del mar que tuvo 11.43°C, fue alta. Esto se debió esencialmente al diseño del acuario que no tenía una refrigeración adecuada. Un flujo continuo externo o interno de agua habría mantenido la temperatura normal. La causa fundamental de la temprana mortalidad observada fue el antióxido que se agregó al rodamiento del acuario (Fig. 1 — 10). Para confirmar esta aseveración se hizo un ensayo rociando con el antióxido la superficie de un vaso de precipitado que contenía larvas, comprobándose a las pocas horas, que todas ellas estaban vivas e inmóviles en el fondo del vaso. La observación microscópica de las larvas detectó que los cilios ya no eran funcionales.

En este experimento no se formó el esbozo equiniano, pero al día 13 se observó una concentración celular que corresponde al mesocelo izquierdo (Kaestner, 1963). Esta estructura no prosperó.

EXPERIMENTOS N° 2 y 3 (10 de noviembre → 13 y 18 diciembre, respectivamente).

En este ensayo se obtuvo una cantidad apreciable de larvas que fueron depositadas en dos acuarios de acrílico y en una cuba del mismo material (Mat. y Met.) correspondiendo, a los Exps. 2 y 3 respectivamente.

También aquí la temperatura media de los cultivos fue alta con 16.40°C en los acuarios y 16.69°C en la cuba, en relación a la del

mar que tuvo 13.65°C como promedio. El alimento fue el mismo que se proporcionó en el Exp. 1; estos cultivos sobrevivieron hasta el día 30 (Exp. 2) y día 28 (Exp. 3).

Una de las diferencias más notables que se advierte entre ambos experimentos es la densidad de larvas, puesto que el día 15 en el Exp. 2 la concentración de larvas era de 17 larvas por cc. y en el Exp. 3 de 0.7 por cc. (Fig. 4 y 5).

EXPERIMENTO N° 4 (17 de diciembre → 9 de enero de 1971).

Es similar al Exp. 3 pero la diferencia estriba esencialmente en la época en que fue realizado, ya que diciembre-enero son meses en que los erizos prácticamente han desovado. El experimento se consideró negativo debido a que al compararlo con los experimentos que le anteceden se observa una mortalidad notablemente elevada y continua (Fig. 6). Esto afirmaría la posibilidad de experimentar en los años venideros hasta los meses antedichos.

Aquí también la "media luna" del mesocelo izquierdo se detectó al día 17, pero no progresó en su desarrollo.

Año 1971.

EXPERIMENTO N° 5 (18 de agosto → 1 de octubre).

La primera fecundación de este año con un desove inducido hormonalmente con el fin de evitar artificio de técnica. Posteriores ensayos de inducción demostraron la factibilidad de utilizar indistintamente como estímulo, un macerado de gónada femenina o masculina. Paralelamente se insistió en realizar fecundaciones artificiales que también fueron viables.

Los seis millones de larvas que se controlaron al cuarto día disminuyeron notablemente hasta el día 11 (1.6×10^6 larvas) donde el alimento de algas molidas, fue reemplazado por una dosis diaria de 6.7 lts. de

monocultivos de algas unicelulares. A partir de este día la densidad de larvas del cultivo se mantuvo estable hasta el día 41, oscilando entre 5.2 y 3.5 larvas por cc (Fig. 7). La diferencia entre la temperatura promedio del agua del cultivo y el mar fue de 0.04°C. En este experimento se pudo obser-

var nuevamente el comienzo de la formación de la "media luna" del mesocelo izquierdo al día 18, manteniéndose así sin progresar. Es interesante considerar que al día 41 habian 1.2×10^6 larvas, periodo en que según Arrau (1958) ya estarían metamorfoseadas.

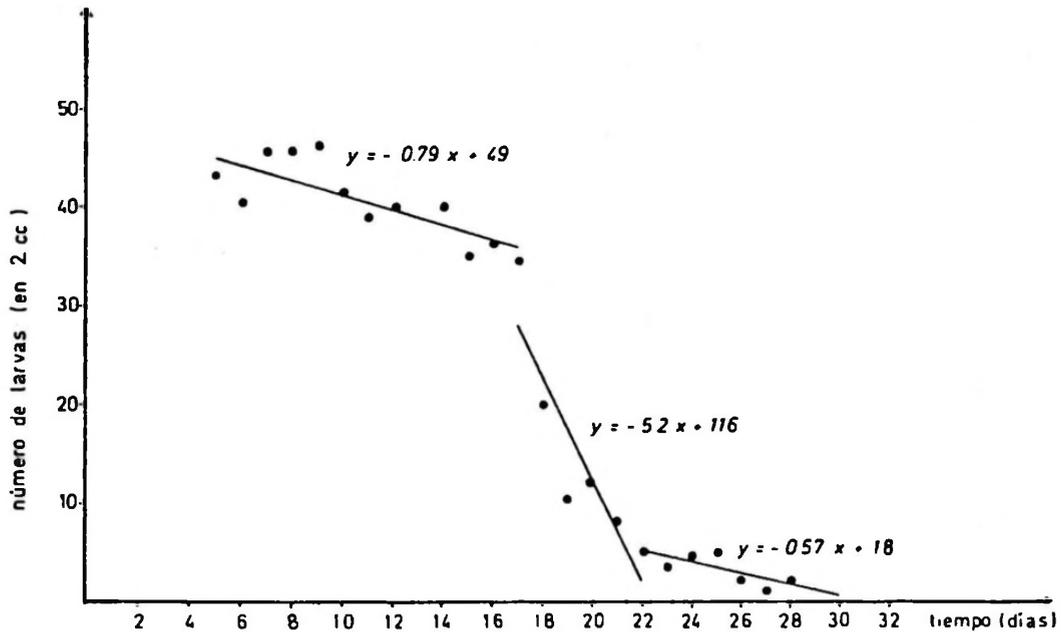


Fig. 4. Experimento No 2 (10-Noviembre-1970)

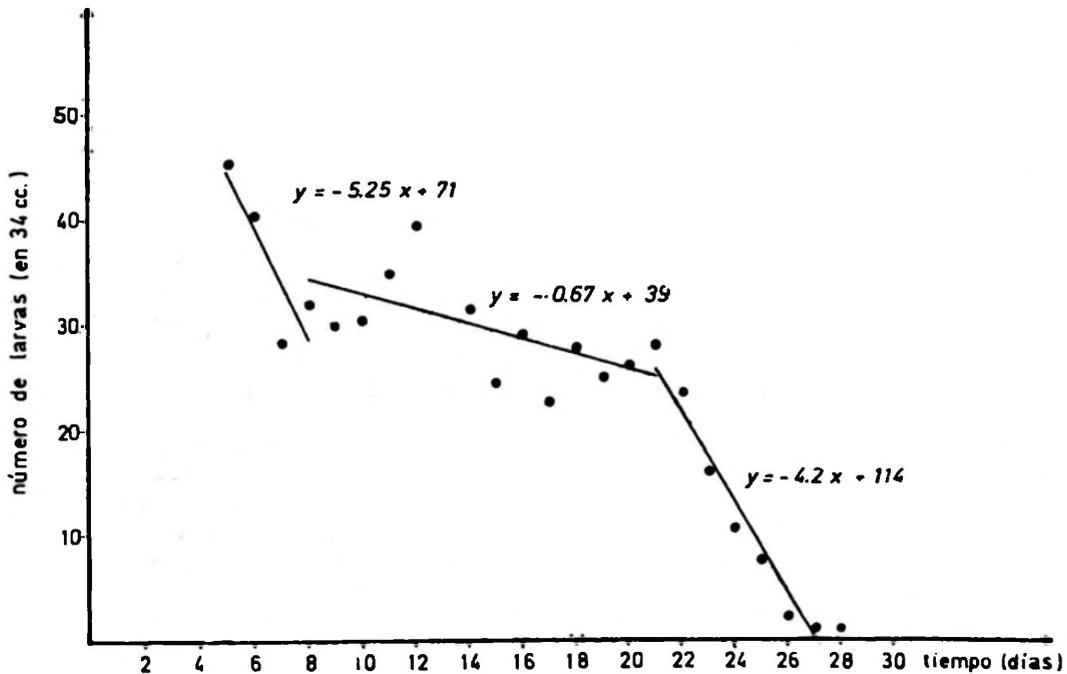


Fig. 5. Experimento No 3 (10-Noviembre-1970)

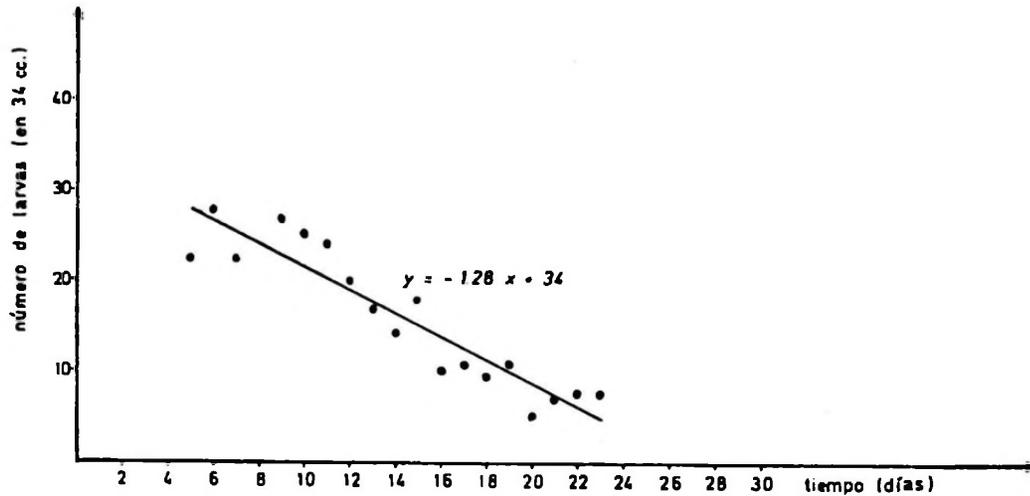


Fig. 6. Experimento N° 4 (17-Diciembre- 1970)

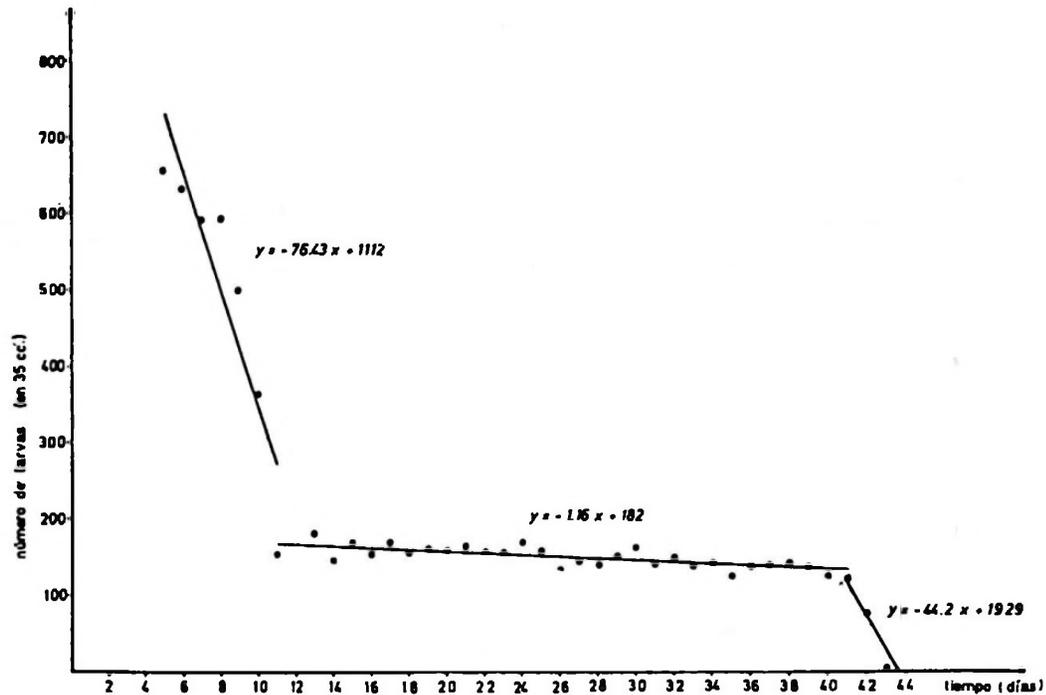


Fig. 7. Experimento N° 5 (18-Agosto-1971)

EXPERIMENTOS N° 6 y 7 (9 de septiembre → 8 y 9 de octubre, respectivamente)

La experiencia se hizo en la cuba 2 (Exp. 6) y parte de su contenido de larvas se transvasó al tercer día a la cuba 3 (Exp. 7). Las condiciones de cultivo de ambas cubas, fueron prácticamente iguales y la diferencia de temperatura promedio con respecto al agua de mar fue de 0.59°C. El número inicial de larvas en los dos experimentos al ter-

cer día de cultivo fue diferente, 18×10^6 en el Exp. 6 y 7.6×10^6 en el Exp. 7, pero a partir del séptimo día se detectó una estabilización en la densidad, que se mantuvo en ambos hasta el día 27. La densidad estabilizada fue alrededor de 6 a 7 larvas por cc (Fig. 8 y 9).

En estos experimentos se observó la "media luna" mesocelómica al día 14.

El aspecto más relevante de esta fecunda-

ción es que al sumar el número de larvas disponibles entre los días 26 y 27 en los dos experimentos era de 3.7×10^6 . Arrau (op.

cit.) establece que la metamorfosis se realiza precisamente en esos días.

Se proporcionó un promedio de 6 lts. diarios de alimento después del cambio de agua.

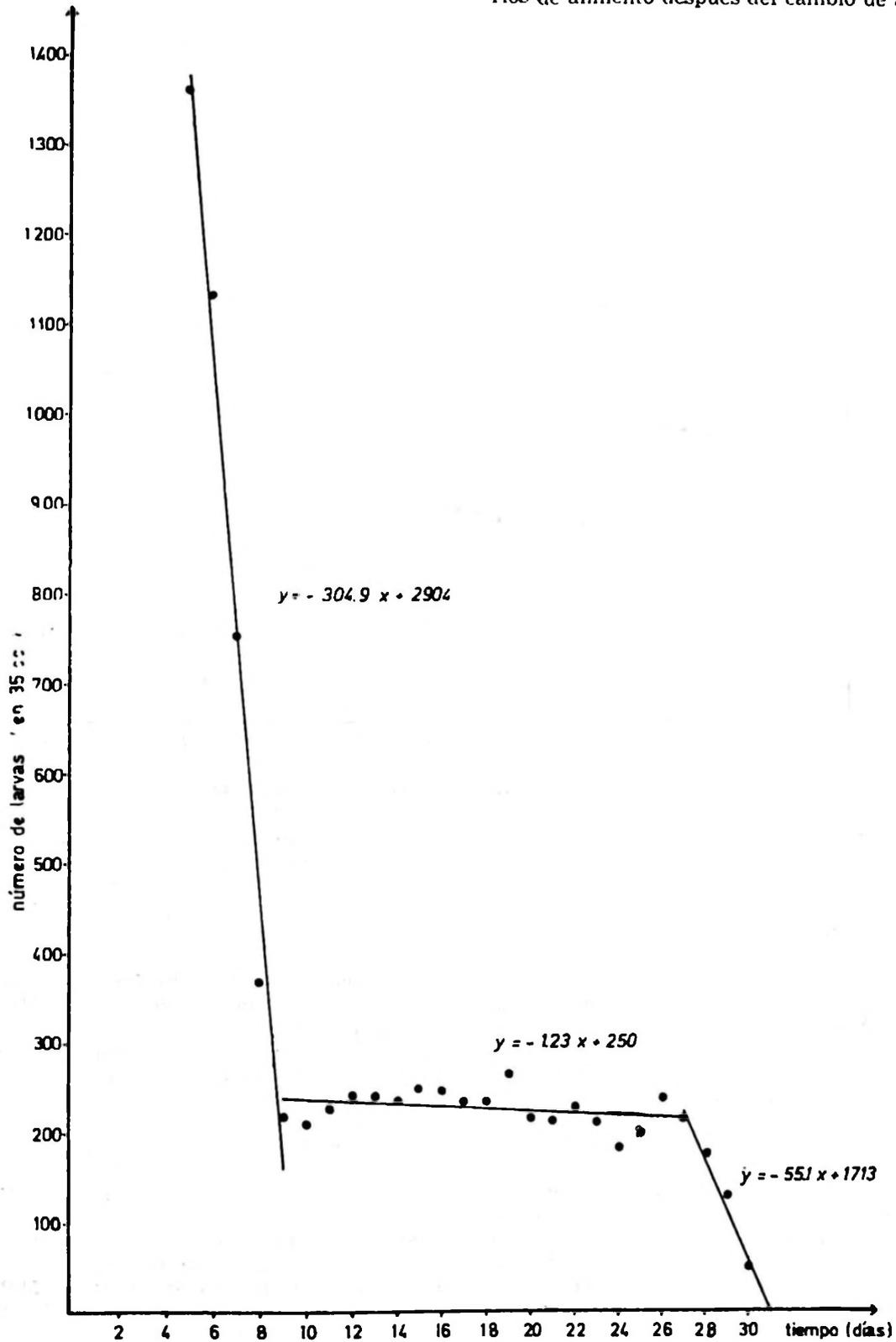


Fig. 8. Experimento N° 6 (9-Septiembre-1971).

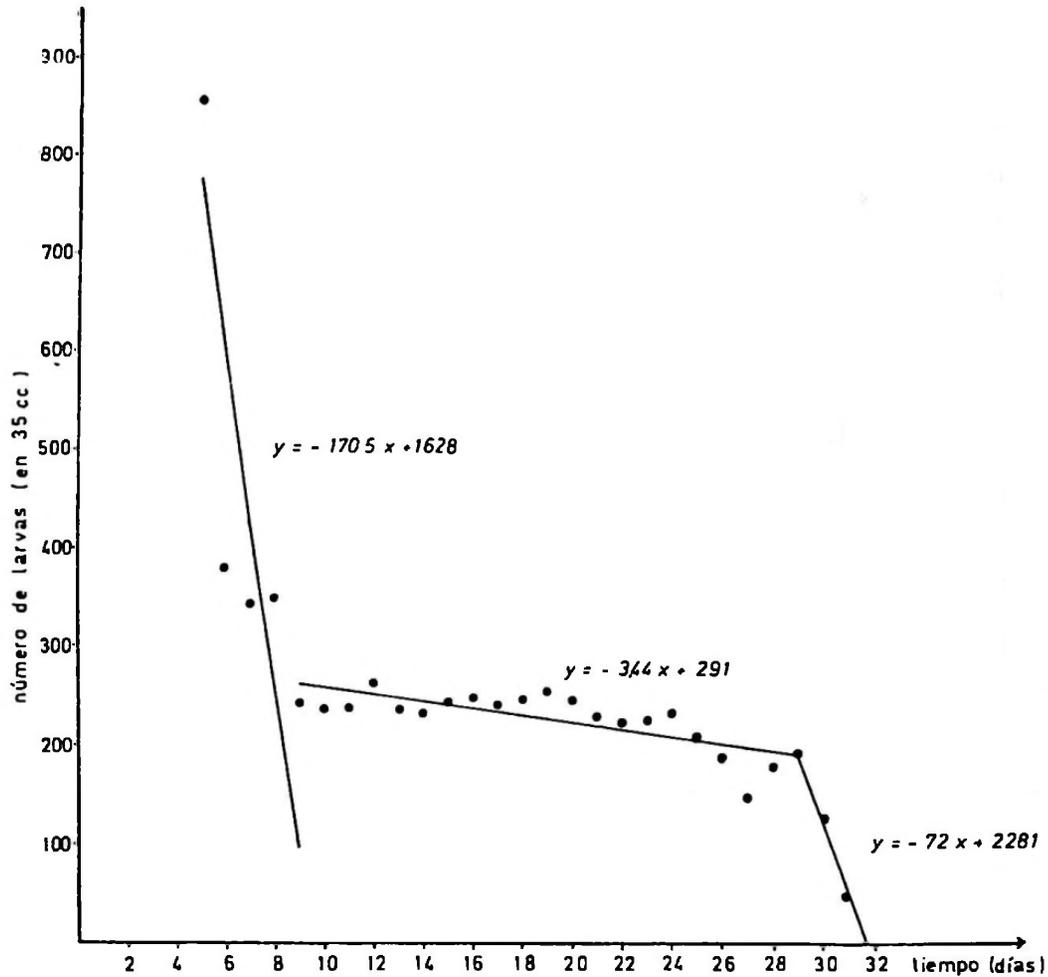


Fig. 9. Experimento N° 7 (9-Septiembre-1971)

EXPERIMENTOS N° 8, 9 y 10 (18 de octubre → 15 de noviembre, 5 diciembre y 16 de noviembre, respectivamente).

Con el propósito de ver la relación que tiene un circuito abierto o cerrado de agua en los cultivos, los Exps. 9 y 10 se realizaron en bidones cubiertos con malla de nylon de diferente abertura (132 μ y 150 μ) (Mat. y Met.). A pesar que el Exp. 8 se hizo casi en las mismas condiciones que el Exp. 6 diferenciándose sólo en la temperatura promedio del cultivo que fue 0.5°C más alta y en 53.4 lts. menos de monocultivos que no fueron proporcionados, los resultados son diametralmente opuestos. Un error en la modalidad de trabajo significó que el alimento, que se dio antes de cambiar el agua, se escurrió en gran parte al reemplazarla, por lo tanto puede considerarse que a pesar de que los animales se concentraban con el alimento un par de horas, éstos tuvieron un déficit trófico notable.

El período de estabilización que se observa en la Fig. 10 tuvo una duración de 8 días, con una densidad promedio de 7 larvas por cc. Se verificó la formación de la 'media luna' mesocelómica en sus primeras etapas al día 16.

Los experimentos 9 y 10 fueron sometidos a un circuito abierto de agua. Si bien las temperaturas promedio fueron diferentes porque las condiciones también lo eran (Mat. y Met.), en los dos ensayos el alimento de monocultivos de algas unicelulares se escurrió por las mallas, salvo el caso del Exp. 10, que por estar sometido a la radiación solar facilitó la fijación de diatomeas en el bidón, que indirectamente significaron alimento extra para las larvas. Tal es así que se pudo observar al día 26 estados avanzados del esbozo equiniano. Como los controles fueron muy espaciados (Mat. y Met.) éstos no permiten comparar a través de una figura sus resultados.

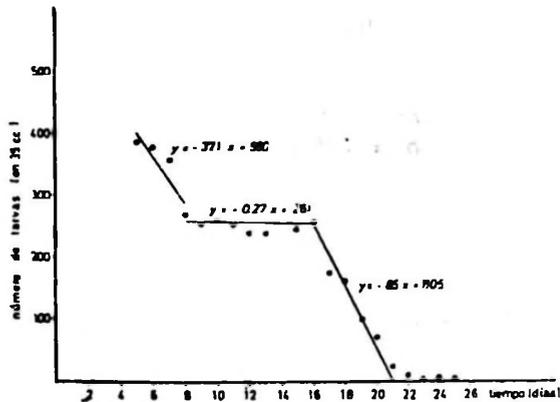


Fig. 10. Experimento N° 8 (18-October-1971).

EXPERIMENTOS N° 11, 12 y 13 (10 de noviembre → 6 diciembre, 5 diciembre y 6 diciembre, respectivamente).

Aunque las condiciones de temperatura promedio fueron diferentes en los tres ensayos (14.18°C en el Exp. 11; 16.19°C en el Exp. 12 y 13.83°C en el Exp. 13), se mantuvo uniforme en ellos el alimento, un combinado de algas unicelulares y diatomeas sésiles. Al día 15 pudo observarse en el lado izquierdo de la larva la "media luna" del mesocelo en los tres experimentos, pero al día 38 en el cultivo de la cuba 2 (Exp. 11),

se evidenció claramente el esbozo equiniano en los escasos animales que sobrevivían. Ninguno logró la metamorfosis. En relación al Exp. 8, el Exp. 11 no tuvo una densidad adecuada de alimento ya que éste se disminuyó por fallas técnicas.

La estabilización en el Exp. 11, al igual que en el N° 8 fue breve (9 días) pero con una densidad mucho menor cercana a 1 larva por cc. como promedio (Fig. 11).

En los Exps. 12 y 13 no se evidenció un desarrollo adecuado porque el sistema de flujo continuo de agua no era el más apto. El flujo no alcanzaba a renovar el agua interna apropiadamente, porque la abertura de las mallas opuso mucha resistencia al paso de ésta, lo que pudo significar una posible concentración de sustancias tóxicas en los cultivos.

Los resultados de estos experimentos no se graficaron.

EXPERIMENTO N° 14. (14 de diciembre de 1971 → 14 de enero de 1972).

Este experimento se hizo con el propósito de confirmar la posibilidad de realizar fecundaciones en los meses de diciembre y enero. Pese a que la metodología fue diferente, los resultados fueron los mismos que en el Exp. 4 de 1970 (Figs. 6 y 12). En ambos ensayos no se observó la formación del esbozo equiniano.

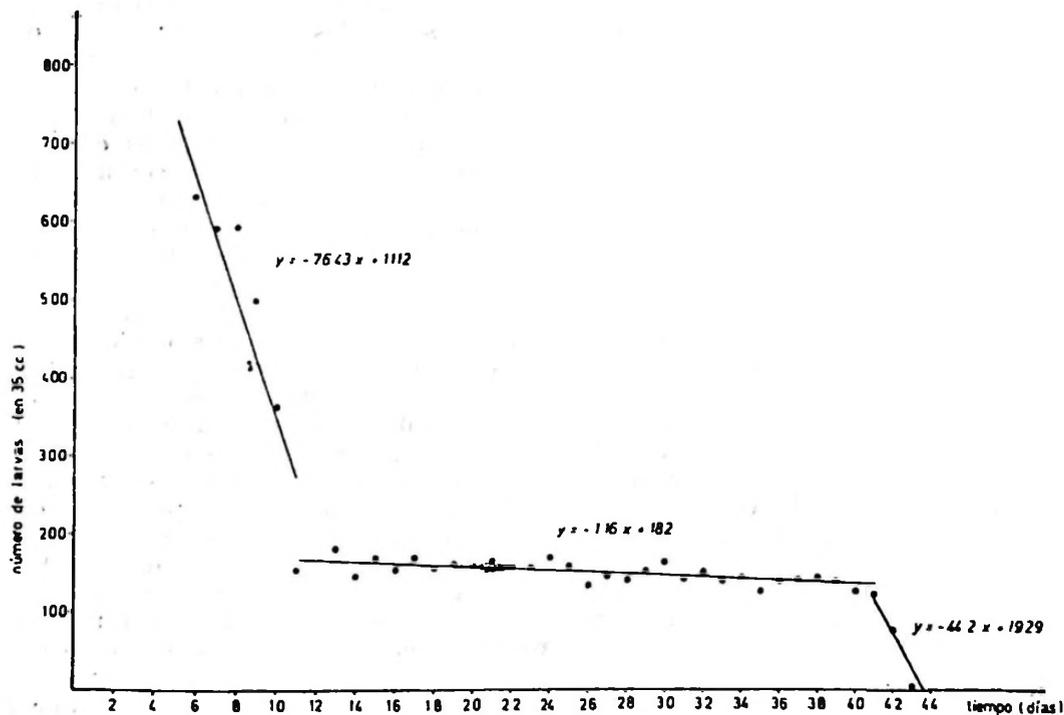


Fig. 11. Experimento N° 11 (10-November-1971).

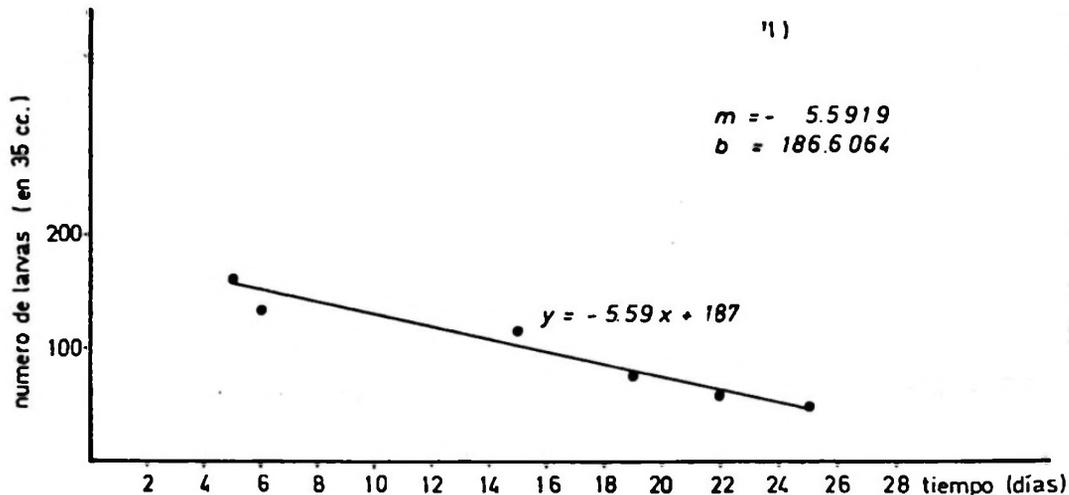


Fig. 12. Experimento N° 14 (14-Diciembre-1971).

A. CRITERIO DE ANALISIS

Un objetivo fundamental del proyecto, del cual este trabajo forma parte, se puede definir como: el diseño de una técnica de cultivo que permita alcanzar la probabilidad máxima de que un huevo llegue a metamorfosearse, evitando que esto se haga en desmedro del número de individuos metamorfoseados y de la sencillez de la técnica empleada. Este objetivo, como se menciona en la introducción, no ha sido logrado aún; sin embargo, a fin de aprovechar en la mejor forma posible la información suministrada por ésta y otras investigaciones del proyecto, se ha creído conveniente esbozar un plan de análisis, el cual se iría enriqueciendo a su vez con experiencias futuras.

La estrategia fue seguir una serie de pasos, para lograr el objetivo esencial planteado anteriormente. En orden, éstos son los siguientes: 1) Descripción del sistema; incluye tanto la descripción del proceso en sí, es decir, el cambio del número de individuos en el tiempo, como de los factores ambientales que operan sobre la población experimental. 2) Construcción de un modelo del sistema, y 3) Optimización del sistema.

1. Descripción del Sistema: En general, el proceso que ocurre en cualquier cultivo puede ser descrito por una curva de sobrevivencia (curva l_x) fraccionada en etapas de acuerdo al número de estadios que arbitrariamente se distinguen, o en forma equivalente, por una curva de mortalidad dividida de la misma manera (Fig. 11; ver descripción más adelante).

Es propio de organismos que poseen en su ciclo vital un estadio larvario seguido de metamorfosis para llegar al adulto, presentar

una curva de sobrevivencia del tipo IV de acuerdo con Slobodkin (Slobodkin, L.B., 1966) similar al tipo III reconocido por Devey (Southwood, T.R.E., 1968), caracterizado por una alta mortalidad durante el período larvario y juvenil, seguido por una disminución progresivamente menor a medida que aumenta la edad.

Para estos experimentos, donde se observa una parte aproximadamente igual a un centésimo del ciclo vital total, la descripción debe ser más analítica aún. Seguramente diversas curvas l_x son ajustables al proceso, según las peculiaridades del desarrollo de los distintos estadios, pudiendo agregarse el tipo II y III (Slobodkin, L.B. op. cit.) puesto que como el mismo Slobodkin lo señala; "...las diferentes edades (o estadios) son típicamente susceptibles a diferentes causas de mortalidad, produciendo una curva de sobrevivencia que resulta una mezcla de diversas curvas idealmente posibles".

Esta primera serie de experiencias fue dedicada fundamentalmente a explorar técnicas de fecundación y mantención de larvas en gran escala. Antes de realizarse no existían antecedentes en tal sentido y hubo, por consiguiente, que ensayar en distintas direcciones con el objeto de ganar experiencia y poder elegir aquellas más positivas, como una base sobre la cual ir perfeccionándolas. Este método inicial de aproximación al problema no utiliza, como puede verse, un diseño experimental especial, sino más bien repite en el laboratorio o en el campo, aprovechando la época de reproducción de la especie, el proceso de desarrollo que naturalmente se produce en las aguas coste-

ras vecinas al laboratorio. La innovación radica en que las aguas utilizadas en estos cultivos, pueden manipularse para dejarlas exentas de predadores u otros factores de mortalidad natural.

No cabe duda de las ventajas de este método, cuando se trata de ahorrar el esfuerzo que significa simular condiciones naturales

en el laboratorio. Sin embargo, son ciertas también las desventajas que implica para la descripción e interpretación de las vías causales ambiente-organismo. La heterogeneidad de los experimentos es la dificultad principal para discernir las vías a través de las cuales los factores actúan sobre la sobrevivencia de los distintos estadios del desarrollo.

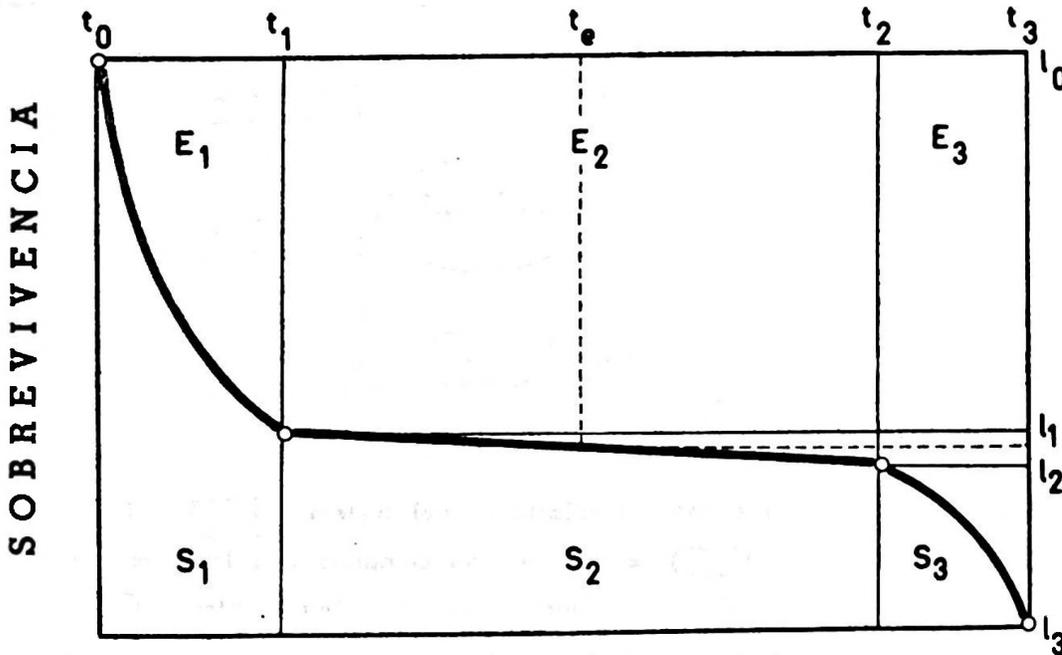


Fig. 13. Gráfico de una curva l_x típica. Para el significado de cada uno de los símbolos ver texto.

La posibilidad de describir bien el proceso que ocurre en la población, vale decir, que represente en términos generales lo que allí ocurre y no situaciones accidentales originadas por deficiencias en la técnica experimental, hacen necesario antes que nada, emplear algunos criterios para seleccionar los experimentos realizados. Estos criterios esencialmente son:

- a) Confiabilidad de muestreo.
- b) Control de los factores ambientales.
- c) Tipo de unidad experimental (considera las características de cubas y bidones utilizados).
- d) Condición del material biológico empleado en la fecundación (principalmente la madurez de los gametos, grado de regresión de las gónadas, etc.).

- e) Masa de agua presente en la costa durante la realización del cultivo.

De acuerdo a los tres primeros criterios (a, b y c) los experimentos 5, 6, 7, 8, 11 y 14 de 1971 aparecen como los más promisorios. Al considerar los criterios d) y e), el período durante el cual se llevaron a cabo los cultivos de 1971, se divide en dos partes; una comprendida de agosto hasta la primera quincena de noviembre y otra de noviembre a enero. La primera coincide con la transición del período de estabilidad de la columna de agua (mayo a septiembre) al período de inestabilidad (octubre a abril), caracterizado por fuertes vientos del SW, surgencias y alta productividad fitoplanctónica (Rey, F. com. pers.).

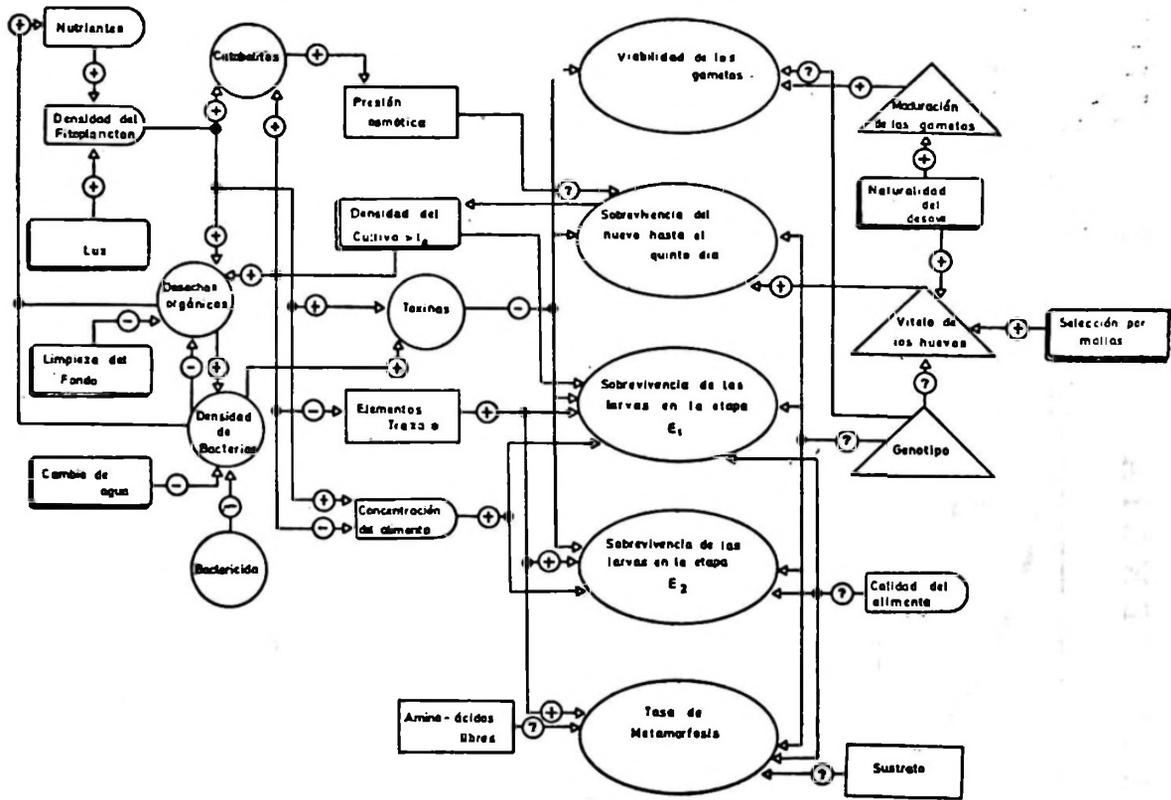


Fig. 14. Diagrama de las posibles relaciones del Sistema. **▭** = factores regulables; **▭** = factores relacionados con la alimentación; **△** = algunos factores biológicos importantes; **○** = factores relacionados con contaminación; **▭** = factores no clasificados pero importantes dentro del Sistema; **○** = variables biológicas evidenciadas en el desarrollo de las larvas. **•** = importantes en la formación del esqueleto. **+** **-** = electro positivo o negativo. **?** = electro desconocido.

Durante el período de inestabilidad aumenta la irregularidad temporal y espacial de las propiedades físico-químicas y biológicas de la masa de agua y también la amplitud de las oscilaciones. Entonces, es verosímil suponer que este período es severo e inadecuado para el desarrollo de esta especie. La confirmación experimental de esta proposición no se ha hecho; sin embargo, algunos antecedentes de los Exps. 4 y 14, la apoyan.

Los cultivos realizados, durante este período son los más deficientes porque la sincronización reproductiva de los adultos, como asimismo, los tropismos de las larvas sólo tienen significación adaptativa en un ambiente de alta predictibilidad (en el sentido de Slobodkin, L.B. y H.L. Sanders, 1966) como es precisamente lo que acontece en una columna de agua que se estratifica estacionalmente.

En consecuencia, los Exps. 5, 6, 7 y 8 que son los más homogéneos y con los resultados más positivos, se considerarán para los propósitos descriptivos, como los típicos.

La curva l_x típica (Fig. 11) insinúa dos periodos del ciclo vital de las larvas como importantes. El primero se extiende desde el quinto día después de la fecundación (t_0), con larvas en estadio de equinopluteus de cuatro brazos (pritius) y en condiciones de alimentarse hasta el vigésimo octavo día como promedio, (t_1) donde las larvas están en el estadio equinopluteus de ocho brazos, próximas a metamorfosearse. El comportamiento de la curva es semejante al que experimenta una población que excede la capacidad de sustentación del ambiente y se aproxima al equilibrio desde arriba; su forma es muy parecida al tipo IV (Slobodkin, L.B. op. cit.). Respecto de este mismo periodo Crisp (com. pers.) sugiere que la alta mortalidad podría deberse a una gran proporción de larvas no viables producto de una desorganización nuclear del huevo que se originaría por la penetración de varios espermios a la vez, antes de que se forme la membrana de fecundación, en el ovio. Este efecto podría controlarse dosificando la fracción de los gametos (su densidad) durante la fecundación. El segundo periodo corresponde a aquel en el cual debería producirse la metamorfosis, es decir, desde el vigésimo tercer día hasta el trigésimo octavo (Arrau, L. op. cit.); sin embargo, en los experimentos sólo se observó un brusco decremento del número de animales, que continuó progresivamente hasta el trigésimo tercer día, como promedio (t_2) y en donde ya no se capturó ninguna larva más. La forma de la curva l_x , en este caso, es más difícil de precisar y puede considerarse que fluctuó entre el tipo II y III (Slobodkin, L.B. op. cit.).

Con el objeto de simplificar la descripción de la curva l_x , que es esencialmente no lineal, primero se fraccionó en etapas (que se describen a continuación) y seguidamente se aproximó cada una de ellas por rectas.

Las etapas son las siguientes:

- E_1 = etapa de preestabilización,
- E_2 = etapa de estabilización y
- E_3 = etapa de extinción

A cada etapa se asignó un tiempo de duración o intervalo I_i , que se denominaron como sigue:

- I_1 = intervalo de preestabilización,
- I_2 = intervalo de estabilización e
- I_3 = intervalo de extinción, respectivamente.

Además para cada una de las E_i se estimó la pendiente de la recta, equivalente a

la sobrevivencia media S_i de la etapa correspondiente. En el caso de E_1 se registró el número inicial de larvas al quinto día, l_0 , y en E_2 se definió la capacidad de sustentación del ambiente, l_c , como el número de sobrevivientes presentes en el instante $t_0 + t_1 + \frac{1}{2}(t_2 - t_1)$.

La elección de un diseño de fluctuación libre de las variables y la complejidad del sistema en el número de interacciones de ellas, plantea dos problemas centrales en la investigación: cómo es posible controlar las desviaciones que experimenta el sistema respecto de las condiciones naturales, y cuál es la metodología más adecuada para lograrla. Ambas preguntas van relacionadas íntimamente y son, sin duda, de suma importancia para el éxito del proyecto.

En general, el enfoque metodológico ha consistido en estudiar el Sistema manipulando sus entradas (variables ambientales) y verificando la regulación obtenida, en las salidas (variables definidas anteriormente para la curva l_x), suponiendo un patrón implícito de relaciones entre las variables, como se muestra en la Fig. 12. En particular se realizó un control indirecto del sistema a través de factores fácilmente manipulables (ver Fig. 12) factores doblemente enmarcados. El resto de los factores sean estos mediatos o inmediatos en su acción no es posible utilizarlos por el momento, como vías de influencia sobre las variables biológicas que interesan (ver Fig. 12 variables encerradas en elipses). En consecuencia no ha sido posible mejorar aún más el ambiente operacional del cultivo (ambiente que afecta en forma directa la sobrevivencia de los individuos); extender el periodo de ellos y desencadenar a voluntad el proceso de metamorfosis hasta su término. El manejo del problema sólo permitió alcanzar la estabilización de los cultivos (Exps. 4, 5, 6 y 7) en un número elevado de larvas normales, las cuales en algunos casos llegaron a desarrollar la estructura que marca el comienzo de la metamorfosis, el esbozo equiniano.

Frente a la complejidad de este Sistema y habiendo vislumbrado en general su comportamiento, se plantearon experimentos basados en hipótesis simples de trabajo, es decir, aislando y observando el efecto de algunos de los factores anotados en la Fig. 12, que contribuyen a esclarecer partes del Sistema y en especial aquellos que permitan como primera prioridad obtener la metamorfosis y como segunda, optimizar las variables biológicas que determinan el número de larvas metamorfoseadas.

2. Construcción de un modelo del Sistema:

Al intentar plantear un modelo para estos experimentos, en un comienzo se piensa que lo forma más conveniente de elaborarlo, es una semejante a la que a menudo emplean los físicos o matemáticos que incursionan en el campo aplicado. Es decir, partir de un conjunto reducido de supuesto o hipótesis sencillas, las cuales sin dificultad pueden ser expresadas de preferencia, mediante ecuaciones diferenciales o de otro tipo. Los supuestos básicos o sus consecuencias lógicas son verificados, con posterioridad, empíricamente. Este tipo de aproximación ha sido ya practicado en Biología y son ejemplo de él, los aportes clásicos de Lotka y Volterra a la Ecología de poblaciones. Así, el procedimiento seguido le confiere al modelo las propiedades de precisión y generalidad, pero dada la simplificación de los supuestos iniciales, muy poco realismo. Una consecuencia de esto es que la comprobación experimental de dichos modelos es sólo posible realizar en condiciones de suma artificialidad y que, para el caso de los biólogos de campo, estos modelos tengan escasa o ninguna utilidad para explicar los complejos fenómenos que ocurren en la naturaleza.

Con el desarrollo de la teoría biológica, a través del método experimental, se han elaborado modelos apoyados sobre supuestos más rigurosos, confiriéndoles a ellos menos generalidad, pero considerable realismo y suficiente precisión. De este tipo son los que actualmente se aplican a las pesquerías, por ejemplo; (Beverton y Holt, 1957) y (Ricker, 1958), y aún más recientemente, los modelos que han surgido en torno al control de plagas de insectos; (Watt, 1961), (Morris et al., 1963) y otros. Estos últimos modelos y más que nada la metodología utilizada para construirlos (Watt, op. cit.) y (Watt, 1968) son de gran importancia puesto que se refieren a sistemas complejos como el que se plantea en este trabajo, ya que presenta especial interés por el desarrollo y estructuración de un conjunto grande de supuestos realistas plausibles (Fig. 14), los cuales prácticamente no están limitados cuando se cuenta con computadores de alta capacidad de procesamiento. Además incluyen, fuera de los factores intrínsecos que enfatiza en sus modelos la Biomatemática clásica, los factores extrínsecos al Sistema (Watt, 1968; pp. 253 y 349). La introducción directa del ambiente en el modelo es un hecho fundamental por tres razones: 1) incrementa las posibilidades de continuar perfeccionando el modelo mediante la incorporación de variables no consideradas anteriormente, 2) estimula su apli-

cación práctica al estudio de sistemas que no se encuentran en ambientes controlados ni estables, como es el caso de poblaciones naturales que constituyen recursos, 3) son especialmente apropiados para simular procesos naturales en computadores, lo cual a su vez permite evaluar el comportamiento que seguiría semejante proceso sometido a distintas estrategias de control y además experimentar con el modelo (sus supuestos) a fin de hacerle más realista (simulación de modelos).

Vistos algunos antecedentes sobre la formulación de modelos se observa que la tendencia original a desarrollarlos, esencialmente a través del razonamiento deductivo, ha sido superada hoy por una metodología más completa; la inductiva-deductiva. En ésta señala Watt brevemente "...nosotros usamos inducción para determinar los mejores supuestos y, deducción para explorar las implicaciones de estas suposiciones..." (Watt, 1961, pág. 27), y la medición de una serie de variables independientes del ambiente que puedan ser factores de mortalidad en uno o más intervalos de edad. Por esta razón los modelos son planteados en tiempo fenológico, en vez de tiempo absoluto. Esta información se resume habitualmente en Tablas de vida (Harcourt, 1969).

Los cultivos de larvas, tal como fueron desarrollados en el laboratorio (masivos y con fluctuación libre de sus variables) a pesar de que transcurren en una fracción pequeña del ciclo vital total de *L. albus* pueden asimilarse al mismo patrón.

Vistos estos antecedentes se propone un modelo general del Sistema que se expresa de la siguiente forma:

$$N_{LM} = N_H \cdot f \cdot \prod_{i=1}^n S_i \cdot m_n \quad (1)$$

donde: N_{LM} = número de larvas metamorfoseadas
 N_H = número de huevos con que se inicia el cultivo
 f = Fracción de huevos viables o fertilidad
 S_i = sobrevivencia de un estadio i dado
 m_n = fracción de larvas metamorfoseadas del último estadio, n .
 i = índice del número de estadios distinguibles, tal que $i = 1, 2 \dots n$.

Los componentes f , S_i y m_n son probabilidades.

S_i se calcula dividiendo el número de individuos que sale del estadio i , N_{E_i} , por el número de individuos que entra a dicho estadio $N_{E_{i+1}}$; luego $S_i = \frac{N_{E_{i+1}}}{N_{E_i}}$ y m_n es

expresada como $\frac{N_{LM}}{N_{E_n}}$, donde N_{E_n} es el número de larvas previas a la metamorfosis ($i = n$).

N_{LM} es equivalente a $N_{E_{n+1}}$ respectivamente.

N_H es una constante para cada experimento, la cual puede transformarse en una variable que asume valores fijos entre experimentos. El resto son variables aleatorias cuyos valores comprenden el efecto de facto-

res ambientales, tanto densidad-dependientes como densidad-independientes, el efecto de la variabilidad genética de los individuos y la variación debida al muestreo. El efecto de variedades raciales de *L. albus* no se ha considerado, porque los ejemplares utilizados para las fecundaciones provienen de la misma población; el efecto de genotipos diferentes no se ha incluido hasta ahora, dado que no se ha trabajado en el sentido de reconocer y discriminar genotipos. De este modo la variabilidad genética y de muestreo son incluidas dentro del error experimental total.

La solución del modelo (1) no se efectúa directamente, sino a través de submodelos para cada uno de sus componentes.

La expresión de un submodelo cualesquiera es la siguiente:

$$C_j = g(X_1, X_2, \dots, X_k) \quad (2)$$

El número total de componentes del modelo (1) es $n+3$; sin embargo, ordinariamente no se plantean submodelos para todos ellos. Previamente, a fin de economizar tiempo y esfuerzo el modelo (1) es transformado a una forma lineal aditiva aplicando la función logaritmo:

$$\log N_{LM} = \log N_H + \log f + \sum_{i=1}^n \log S_i + \log m_n \quad (3)$$

La contribución a la varianza del $\log N_{LM}$ es calculada para cada uno de los componentes utilizando el coeficiente de determinación r^2 , el cual, si denominamos Y a la

variable dependiente ($\log N_{LM}$) y X a la variable independiente [cualesquiera de los componentes aditivos en (3)] se calcula de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$r^2 Y \cdot X = [\sum XY - (\sum X \cdot \sum Y)/n]^2 / [\sum X^2 - (\sum X)^2/n] [\sum Y^2 - (\sum Y)^2/n] \quad (4)$$

Así, los submodelos se aplican a aquellos componentes que hacen la mayor contribución a la varianza de la variable dependiente.

Una advertencia importante sobre el análisis de la contribución de los componentes a la varianza de la variable dependiente se hizo por Mott (en Watt, ed., 1966). Según este autor, en sistemas dinámicos con variables que interactúan, puede ser notable el aporte que hacen a la varianza de la variable dependiente, la variación conjunta de las variables coleccionadas, medida por la covarianza. De su trabajo se desprende también que r^2 es un estadístico importante, sólo cuando los componentes son mutuamente independientes en sentido estadístico o incorrelacionados y que la manera más conveniente para analizar situaciones en las que propone a priori una relación entre una variable dependiente y sus componentes, es

analizar una matriz de varianza-covarianza expresadas como porcentaje de la variación de la variable dependiente.

El diseño experimental sencillo (con pocas variables en juego y unidades experimentales pequeñas para obtener suficientes réplicas) es importante para definir mejor las relaciones en torno a los submodelos, identificar los factores ambientales responsables de mortalidad y metamorfosis y medir su efecto.

3. Optimización del Sistema: Finalmente respecto a la optimización de los cultivos se separarán dos aspectos que están íntimamente relacionados; uno que se refiere a la optimización del N_{LM} y otro a la optimización del diseño experimental y mejor utilización de los recursos técnicos (materiales

y humanos). El primero puede lograrse, ya sea maximizando los submodelos de los componentes que contribuyan positivamente a la varianza del N_{LM} , o bien minimizando aque-

llos que lo hacen negativamente. Cabría esperar esto para m_n (fracción de larvas metamorfoseadas del último estadio, n) y el componente de interacción ($N_{H, S}$) respectivamente, cuando para este último, N_H se

encuentra sobre la capacidad de sustentación del ambiente. El segundo depende en gran medida de los resultados obtenidos en el primer paso; no obstante, el diseño experimental puede ser mejorado independientemente, tanto en el muestreo de la población experimental minimizando las fuentes de error biológico en la estimación de la densidad de los distintos estadios (el error proveniente del muestreador es mínimo, alrededor del 2,1% en comparación con las fuentes de error biológico) ligadas a la dispersión, conducta y sincronización del ciclo vital de los individuos, como también en la medición de las variables ambientales evitando así aumentar el número de hombres/hora que se dedican a estas labores.

IV. DISCUSION

En la Introducción de este trabajo se establece como uno de los problemas fundamentales, la estabilización de los cultivos con un gran número de larvas. En esta Discusión nos referiremos a algunos aspectos que tienen estrecha relación con la motivación inicial, dejando gran parte de las correlaciones que se encontraron para un análisis ulterior, cuyo tratamiento en bloque agregará a este trabajo la información que nos permitirá realizar los planteamientos que se proponen en el capítulo anterior.

Matsui informa que Yamabe (1962) cultivó larvas del erizo *Pseudocentrotus depressus* con *Chaetocerus simplex*, *Skeletonema costatum* y *Clamydomonas*, aproximadamente hasta 40 días, donde se completó la metamorfosis. Agrega además que las larvas no requieren alimento hasta el quinto día de desarrollo y que la densidad ideal de cultivo, en esa especie, es de 10 individuo por cc.

Observó además algunos efectos de deformación cuando se cultivaron 100 individuos por cc. En uno de sus experimentos, que inició al octavo día después de la fertilización, colocó 50 larvas en un vaso de precipitado de 500 cc a 20°C lo que corresponde a 0.1 larvas por cc. El agua la reemplazó una vez cada 3 a 7 días. El alimento de *Chaetocerus* lo proporcionó en una concentración de 10⁴ células por cc. Al día 40 del experimento obtuvo un 42% de animales metamorfoseados, la densidad correspondiente a este 42% es de 0.042 larvas por cc. Arrau (1958) trabajó con una densidad inicial superior, de 0.28 larvas por cc, al final del desarrollo obtuvo una densidad de 0.07 larvas metamorfoseadas por cc. Los experimentos de Yamabe (op.cit.) y Arrau (op.cit.) no son compatibles con los requerimientos de una Equinicultura, debido a que el planteamiento de ésta es el logro de una metodología sencilla y ante todo económica. Si los experimentos antedichos se proyectan en la dimensión acuicultura se habría necesitado una infraestructura de acuario muy grande para obtener un número elevado de larvas.

Nuestros experimentos se hicieron con otro alimento (*Monochrysis sp.*, *Isochrysis sp.*, *Dunaliella sp.* y *Phaeodactylum sp.*) que se comenzó a adicionar entre el tercero y quinto día. Comparando la densidad promedio de los experimentos 5, 6, 7 y 8, que fluctuó entre 4.3 y 7.4 larvas por cc (en cubas de 300 y 360 lts.), estos no alcanzaron la densidad ideal propuesta por Yamabe (10 larvas por cc).

El experimento 6 tuvo al quinto día del desarrollo, una densidad inicial de 38 larvas por cc y en el Exp. 7 habían 24 larvas por cc. Ambos experimentos, que corresponden a una misma fecundación se estabilizaron al noveno día, el primero con 6,2 larvas por cc y el segundo con 6.9 larvas por cc.

En el cuadro siguiente se muestran los resultados resumidos de los experimentos antedichos, considerando especialmente el número de larvas disponibles al día 27 del desarrollo, según Arrau, en el período de la metamorfosis y aplicando, según este autor la posibilidad de un 25% de larvas metamorfoseadas.

Nº del experimento	Densidad al día 27 (larvas/cc)	Nº de larvas al día 27	Nº posible de larvas metamorfoseadas	Densidad posible de larvas metamorfoseadas (l/cc)
5	4.2	1.5 x 10 ⁴	3.7 x 10 ³	1.0
6	4.2	1.5 x 10 ⁴	3.7 x 10 ³	1.0
7	6.1	2.2 x 10 ⁴	5.5 x 10 ³	1.5

Si las larvas hubieran completado su metamorfosis se habría obtenido 1.0 - 1.5 larvas por cc, una densidad superior a la obtenida por Arrau y Yamabe.

Debe recordarse aquí, que el número de larvas se ha calculado a partir de la densidad de las muestras, bajo la suposición de cultivo de densidad uniformemente estratificado. El desplazamiento de las larvas puede, naturalmente introducir fluctuaciones en los resultados.

También es posible ver el efecto de una densidad elevada en los cultivos. Tal es así que al día 15 del desarrollo pudo observarse en el Exp. 2 con una densidad de 17 animales por cc, que su diámetro (medido en la transversal a la altura de la banda ciliada anterior ventral) era de 120-150 μ . Por el contrario en el Exp. 3 (de la misma fecundación anterior y en condiciones de cultivo muy similares), donde la densidad era de 0.8 larvas por cc, el diámetro alcanzaba 200 μ ; este hecho interesante corrobora la observación de Yamabe anteriormente expuesta. Podría pensarse que ante una densidad elevada se evidencia enanismo, pero esto no es sostenible hasta sus últimas consecuencias, puesto que se desconoce con exactitud si la densidad del alimento proporcionado, fue equivalente en los dos experimentos.

Hemos hecho resaltar la importancia que tiene la etapa de estabilización (E_2) de los cultivos masivos, debido a que en ella se encuentra tácticamente la necesidad de mantener un número elevado de larvas con el fin de asegurar también un gran número de ellas, pero metamorfoseadas. Por ello en la Fig. 15 se ha relacionado la temperatura media de los Exps. 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 11 y 14 con lo que hemos llamado "intervalo de estabilización", I_1 . Se puede observar que a medida que aumenta la temperatura media del cultivo, el intervalo de estabilización disminuye. Como la temperatura del mar aumenta paulatinamente en primavera-verano, la relación entre el intervalo de estabilización y la época en que éste se realiza es inversa. Se ha encontrado también una relación entre el I_1 y el "intervalo de extinción", I_2 . El intervalo de extinción como una fracción porcentual del intervalo de estabilización, puede observarse en la figura 16, donde a medida que aumenta el intervalo de estabilización disminuye el intervalo de extinción.

Aunque las relaciones expuestas aparecen evidentes, esto no invalida la posibilidad de la existencia de otros factores que están implícitos al cambiarse una masa de agua por otra y que pudieran explicar directamente lo observado.

Es interesante observar que la densidad

inicial de los cultivos (I_0) al parecer no influyó en la densidad que se observa cuando el experimento se estabiliza (Exps. 6 y 7), por lo que ha de suponerse la influencia de factores limitantes del tipo densidad dependiente (ambiente operacional limitado).

En los Exps. 4 y 14, de años consecutivos y donde los parámetros ambientales son diferentes a excepción de la temperatura promedio del cultivo (que sólo varía en 0.07°C como promedio), los experimentos no se estabilizaron apreciándose sólo una pendiente donde no se puede definir si corresponde a la E_1 , E_2 o E_3 . Es posible que la maduración sexual de la gónada tenga en gran medida una relación directa en esta única pendiente observada. Pese a que en las gónadas se constatan ovios maduros, estos pueden estar en franca degradación. También es posible que exista una íntima relación entre la desaparición de las E_1 , E_2 y E_3 bien definidas, con el cambio de masa de agua que ocurre frente a Montemar durante el período de inestabilidad citado anteriormente.

Por otra parte pensamos que el alimento influye directamente en las diferentes etapas del desarrollo larvario. Es así como los primeros ensayos realizados en 1970 que no fueron incluidos en este trabajo, salvo los experimentos 1, 2, 3 y 4 cuyo control fue lo suficientemente estricto como para considerarlos, se observó en general una mortalidad elevada y continua, cuyo origen pudiera centrarse en las características del alimento proporcionado, que fueron algas superiores molidas y cernidas.

La misma alimentación recibieron los Exps. 1 al 4 del mismo año, observándose que durante todo el desarrollo larval no se insinuaron en el cuerpo de la larva las primeras estructuras celulares correspondientes al mesocelo izquierdo, estructura que con el tiempo se transforma en el esbozo equiniano y finalmente en un erizo pequeño. Luego en el Exp. 5 de 1971, el hecho de haber utilizado monocultivos de algas unicelulares se tradujo en la formación del mesocelo al lado izquierdo de la larva. Posteriormente al alimentar las larvas con diatomeas bentónicas (Exps. 9 y 11) que al parecer tuvieron un efecto positivo, se formó el esbozo equiniano.

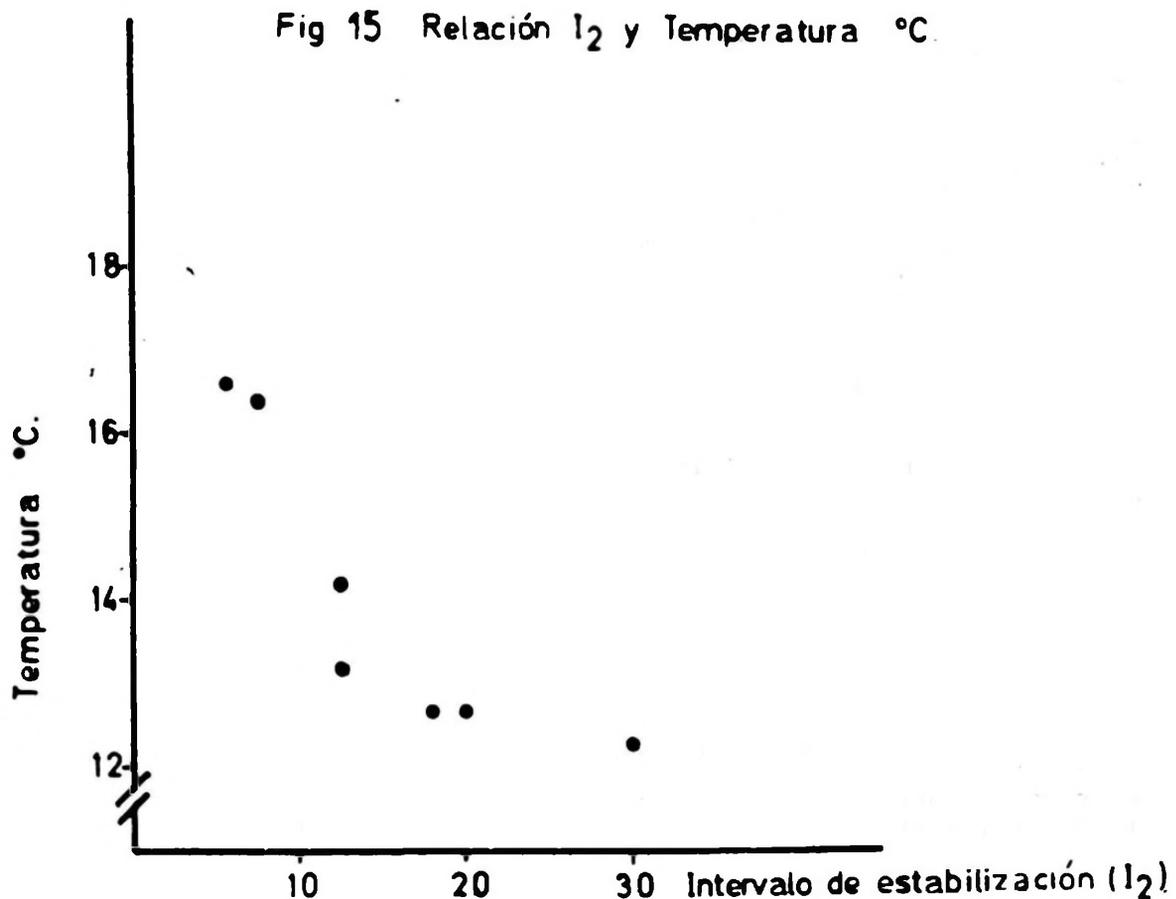
Consideramos que en general todos los experimentos no tuvieron una concentración adecuada de alimento, por lo tanto las larvas vivieron en un nivel trófico deficiente.

El hecho que no se haya formado el esbozo equiniano en la mayoría de los experimentos por anoxia queda descartado, puesto que las determinaciones del consumo de oxígeno (método de Scholander, 1958) por larva de erizo de 15 días, oscilaron en un rango de

0.02 a 0.06 μl / larva/día. con este nivel metabólico, el consumo de oxígeno que determinarían los dos millones de equinopluteos de 27 días de edad en la cuba, no pudo ser mayor de 120 ml/día. Como la renovación del agua, en la cuba de 360 lts. era cada 12 hrs., y suponiendo una concentración inicial de 5 ml O_2 /lt., se aseguraba un stock inicial de 1.800 ml O_2 . Este "stock" de oxígeno al cabo de doce horas disminuiría en 60 ml quedando una reserva de seguridad de 1.740 ml de oxígeno.

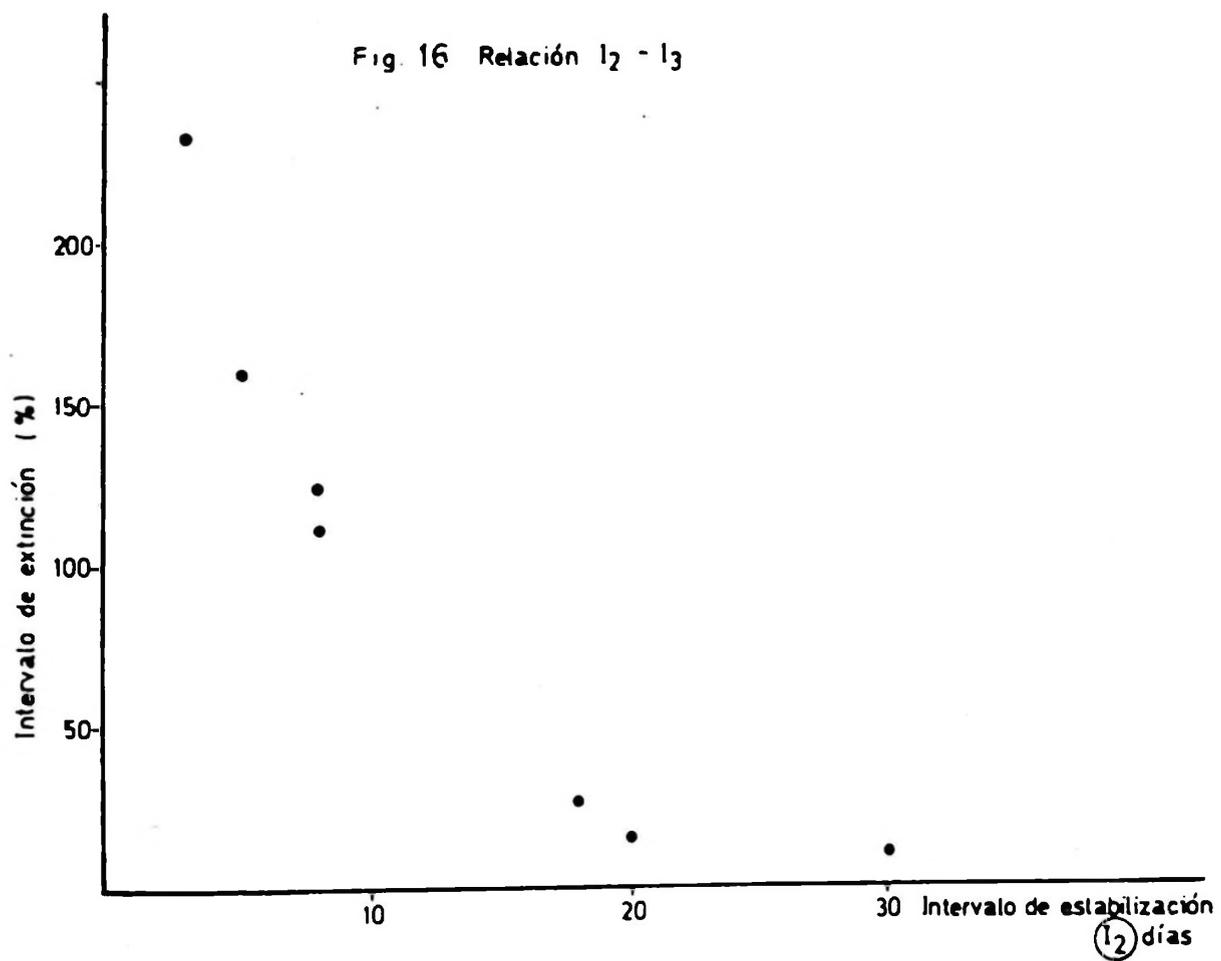
Estos datos permiten suponer que la renovación de agua podría hacerse una vez a la semana sin comprometer la disponibilidad de oxígeno para los animales, pero sin considerar la concentración progresiva de toxinas.

Creemos importante discutir también el efecto que podría tener una fecundación artificial, que es netamente mecánica y un desove inducido que se aproxima más a la fisiología de la especie. A primera vista y considerando la aparición del mesocelo izquierdo en varios experimentos, éstos no se diferenciaron notablemente utilizando ambas técnicas pero comparando la etapa de estabilización se observa especialmente en el Exp. 5, que precisamente es un desove inducido, una E_2 muy prolongada. Como se vio anteriormente (Fig. 15), que existe una relación inversa entre el I_2 y la temperatura, por lo tanto es difícil asegurar que el I_2 prolongado que se observó en el Exp. 5, se deba exclusivamente al desove inducido hormonalmente.



Finalmente quisiéramos señalar que las investigaciones realizadas entre 1970 y 1971, y en especial el análisis exhaustivo que se hará en un próximo trabajo con el resto de

las correlaciones observadas, nos indicarán una línea de acción más precisa en la consecución de cultivos masivos de larvas de erizo.



V. RESUMEN Y CONCLUSIONES

1. Es posible obtener ovios y espermios induciendo hormonalmente a los erizos, con un macerado de gónada, femenina o masculina) método que podría asegurar que tanto ovios como espermios estén en condiciones fisiológicas adecuadas para la fecundación, ya que se estaría estimulando el mecanismo del desove mediante uno de los activadores naturales, o simplemente haciendo fluir los elementos gonádicos con cortes perpendiculares al eje mayor de las gónadas. Este último método no asegura que los ovios y espermios estén totalmente maduros.
2. La densidad de larvas de los experimentos permiten vislumbrar una buena posibilidad para la Equinicultura con el empleo de la metodología descrita, puesto que se obtuvieron densidades de 4 a 7 equinopluteos por cc, comparando con los resultados de investigadores japoneses que dan 10 equinopluteos por cc.
3. Cuando la densidad de los cultivos es muy alta como fue el caso del Exp. 2 que tuvo 17 larvas por cc, el crecimiento de éstas disminuye.
4. Las larvas no vivieron mucho tiempo cuando fueron alimentadas con macerado de algas macroscópicas. Al cambiar el alimento por monocultivos de algas unicelulares (*Monochrysis* sp., *Isochrysis* sp., *Dunalliella* sp. y *Phaeodactylum* sp.) se observó un cambio radical, disminuyendo la mortalidad notablemente. Al parecer las diatomeas betónicas que se utilizaron como otra alternativa de alimento, influyeron positivamente en la formación del esbozo equiniano. Sin embargo, las experiencias realizadas hasta el momento, no han permitido determinar con claridad el alimento adecuado y su influencia en el desarrollo de las estructuras larvales.
5. La disponibilidad de oxígeno que hay en el agua de mar natural contenida en una cuba de 360 lts. de capacidad, es suficiente para mantener dos millones de larvas por siete días. Suponemos que para evitar la concentración de sustancias tóxicas propias del metabolismo y de la degradación de los alimentos, sería suficiente renovar lentamente y en dos días la totalidad del agua.
6. Los meses de diciembre - enero no son adecuados para realizar este tipo de investigación, puesto que las gónadas de los erizos se encuentran en su mayor parte desovadas.
7. Los resultados de los experimentos de 1971 permiten detectar la posibilidad de obtener un número apreciable de erizos pequeños compatibles con los requerimientos de una Equinicultura.
8. Para el análisis de los experimentos, la curva lx (sobrevivencia) fue aproximada por rectas, detectándose en el desarrollo de las larvas tres etapas, a saber: etapa de preestabilización, etapa de estabilización y etapa de extinción, designadas como E₁, E₂ y E₃, respectivamente. Para cada una de las etapas se consideraron intervalos simbolizados como I₁, I₂ e I₃ (Fig. 13).
9. Existe una relación entre la temperatura media a la cual se realizaron los cultivos y el intervalo de estabilización (I₂). A medida que aumenta la temperatura el I₂ disminuye.
10. Una relación similar se puede apreciar entre el I₂ y el intervalo de extinción (I₃). Al igual que en el punto anterior, estos fenómenos están al parecer íntimamente ligados al reemplazo de una masa de agua por otra frente a Montemar.
11. Se han tratado de resumir en un diagrama de Relaciones (Fig. 14) los conocimientos adquiridos con los experimentos realizados, ordenando provisoriamente las variables del Sistema a fin de enriquecerlo con nuevos aportes. En este cuadro se han anotado "posibles relaciones" que posteriormente deberán ser confirmadas, modificadas o negadas.
12. Producto de la discusión de una metodología adecuada para analizar los cultivos, se postula un modelo general (ver fórmula (1)) que cumple las funciones de una hipótesis de trabajo y la de base, sobre la cual desarrollar un modelo inductivo para predecir el número de larvas metamorfoseadas, N

L.M

SUMMARY AND CONCLUSIONS

1. It is possible to obtain ova and sperms of sea-urchins stimulated by hormones of macerated gonads both feminine and masculine, method by which one could assure that both the ova and sperms be in physiological conditions for fecundation, as the spawning process would be activated by a natural process, that is, allowing the gonad elements to flow when cut in perpendicular cross sections to the major axis of the gonads. This last method does not assure that the ova and sperms are totally mature.
2. The larval density of the experiments would allow a faint chance for *Echinus* culture with the method described as densities of 4 to 7 (echinopluteos) per cc were obtained as compared with Japanese investigators who give 10 echinopluteos per cc.
3. When the density of the cultures is very high as in Exp. 2 which showed 17 larvae per cc, their growth diminishes.
4. The larvae did not live very long when they were fed macerated macroscopic algae. When the food was changed to cultures of unicellular algae, (*Monochrysis* sp., *Isochrysis* sp., *Dunaliella* sp. and *Phaeodactylum* sp.) a radical change was noted and mortality dropped appreciably. Apparently the benthic diatoms which were used as another alternative food, had a positive influence in the formation of the imaginal disk of *Echinus*. Nevertheless experiments carried out so far do not permit an adequate food to have been established nor its influence on the development of larval structure.
5. The disposable amount of oxygen contained in a tank of 360 lt. of natural sea water is sufficient to maintain 2 million larvae for seven days. It is supposed that to avoid the concentration of toxic substances due to metabolism and the degradation of the food, it would be sufficient to change the water in the course of two days.
6. December and January are not adequate months for this type of investigation as sea urchins at this time have spawned.
7. The results of the 1971 experiments showed the possibility of obtaining an appreciable number of small sea urchins suitable for the requirements of sea-urchin culture.
8. According to the analysis of the experiments curve lx (survival) was adjusted piecewise by straight lines showing three stages in the growth of the larvae: pre-stabilization, stabilization and extinction marked E_1 , E_2 , and E_3 , respectively. For each stage the intervals were marked I_1 , I_2 , and I_3 (Fig. 11).
9. A relation exists between the average temperature at which the cultures were executed and the interval of stabilization (I_1). As the temperature increased the interval (I_1) dropped.
10. A similar relation can be noticed between I_2 and extinction (I_3). The same as in the previous case (9) these phenomena are intimately connected with one mass of water which is replaced by another opposite Montemar.
11. The results of these experiments are given in a comparative table (Fig. 12) showing provisionally the variables of the system in such a manner that new data can be added. In this table "possible relations" are tabulated which should either be confirmed, changed or eliminated later on.
12. From the discussion of an adequate method of analysing our cultures a general model (see formula (1)) is suggested which accomplishes functions of a hypothesis with a solid basis, on which an inductive model could be found to be able to predict the number of larvae N attaining metamorphosis.

LM

VI. AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a las Autoridades del Convenio sobre Investigaciones Pesqueras de la Universidad de Chile y del Ministerio de Agricultura por su ayuda financiera al desarrollo de este trabajo; en la misma forma al Instituto de Fomento Pesquero y a la Dirección del Departamento de Oceanología de la Universidad de Chile.

En forma particular el grupo de trabajo agradece a la colega Marta Garretón y al se-

ñor Nibaldo Osorio el gran esfuerzo que hicieron para proporcionar a esta investigación los cultivos de algas unicelulares que fueron necesarias. Extendemos nuestro reconocimiento a los colegas Francisco Rey y Sergio Avaria por la información que nos facilitaron y a los colegas Oscar Miranda y Ramón Buzeta por la ayuda que nos brindaron en este trabajo. Al señor Guillermo Reyes por el trabajo de contar huevos y larvas de erizos y finalmente a todo el personal del Departamento de Oceanología.

LITERATURA CITADA

- ARRAU, L. 1958. Desarrollo del erizo comestible de Chile *Loxechinus albus* Mol.; Rev. Biol. Mar. Valparaíso. 7 (1, 2 y 3): 39-61.
- BEVERTON, R.J.H. and S.J. HOLT, 1957. On the Dynamics of Exploited Fish Populations, Fish Investment (London), ser. 2, N° 19.
- BUCKLE, L.F.; BARAHONA M.; IRIBARRA H.; VALENZUELA J. 1976. El Acuario Experimental del Departamento de Oceanología de la Universidad de Chile en Montemar (Valparaíso), (en prensa).
- FAO, July 1971. FAO Aqualculture Bulletin (4).
- FUJI, A. 1960. Studies on the biology of the sea urchin. I. Superficial and histological gonadal changes in gametonic process of two sea urchins, *Strongylocentrotus nudus* and *S. intermedia*. Bulletin of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University, 11 (1): 1-14.
- HARCOURT, D.G. 1969. The Development and Use of Life Tables in the study of natural insect populations. Ann. Rev. Ent. Vol. 14: 175-196.
- HARCOURT, D.G. 1971. Population Dynamics of *Leptinotarsa decemlineata* (GAY) in Eastern Ontario. III. Major Population Process. Canad. Ent. 103: 1049-1061.
- KAESTNER, A. 1963. Lehrbuch der Speziellen Zoologie. Parte I Invertebrados. N° 5: 981-1423. Veb. Gustav Fischer Verlag. Jena.
- KAWANA, T. 1938. On the propagation of *S. pulcherrimus*. Journal of Fisheries Research, 33: 104-116. En Matsui 1968.
- McPHERSON, B.F. 1968. Contributions to the biology of the sea urchin *Eucladaris tribuloides* (LAMARCK). Bull. Mar. Sci., 18 (2): 400-443.
- MATSUI, I. 1968. The propagation of sea urchin. Fisheries Research Board of Canada. Biological Station, Nanaimo B.C.
- MORRIS, R.F. (ed) 1963. The Dynamics of Epidemic Spruce Budworm Populations, Mem. Entomol. Soc. Can., 31.
- ONODA, K. 1932. The young of *Mespilla globulus* and its metamorphosis. Appendix: On rearing of Young sea urchins. Dobutsu-Gaku Zasshi, 44: 20-21. En Matsui 1968.
- OSHIMA, YASUO, NAONORI, ISHIWATARI and JIRO TANAKA, 1962. A study on estimates of the effects of propagation operations in shallow seas of the coastal areas. Propagation operation in shallow seas, 54-63. Kaibundo. En Matsui 1968.
- PARRISH, B. B. 1956. The Cod Haddock and Hake. En Sea Fisheries their investigation in the United Kingdom. Editado por Michael Graham. Londres. 1956.
- RICKER, W.E. 1958. Handbook of Computations for Biological Statistics of Fish Populations. Bulletin 119, Fisheries Research Board of Canada.
- SHELTEMA, R.S. 1961. Metamorphosis of the veliger larvae of *Nassarius obsoletus* (Gastropoda) in response to bottom sediment. Biol. Bull. 120 (1): 92-109.
- SCHOLANDER, P.F., IVERSEN, O. 1958. New design of volumetric respirometer. Scandinav. J. Clin. and Lab. Invest. 10:429-431.
- SLOBODKIN, L.B. and H.L. SANDERS, 1969. On the Contribution of Environmental Predictability to Species Diversity. Brookhaven Symposia in Biology, N° 22.
- SOUTHWOOD, T.R.E. 1968. Ecological Methods, Methuen & Co. Ltd.
- VARLEY, G.C. and G.R. GRADWELL, 1970. Recent Advances in Insect Population Dynamics. Ann. Rev. Entomol., 15: 1-24.

- WALNE, P.R. 1966. Experiments in the large-scale culture of the larvae of *Ostrea edulis* L. Fish. Investigations Series II, 25 (4).
- WATT, K.E.F., 1961. Mathematical Models for use in Insects Pest Control, Can. Entomol. Suppl. 19, 62 pp. Vol XCIII.
- WATT, K.E.F., 1966. Systems Analysis in Ecology, Academic Press New York, London.
- YAMABE A., 1962. On rearing young of *P. depressus*. Suisan Zoshuku, 10 (4): 213-219. En Matsui 1966.