

Efecto del aumento de salinidad en la fertilización de óvulos de erizos *Strongylocentrotus franciscanus* y *Lytechinus anamesus*

Effect of increased salinity in the ovum fertilization of sea urchin *Strongylocentrotus franciscanus* and *Lytechinus anamesus*

B. Estela López-Ortiz^{1,2} y Alberto Sánchez²

¹Becario PIFI. CICIMAR

²Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional (CICIMAR), Apdo. Postal 592, La Paz, Baja California Sur, México, C.P. 23096
e-mail: bio_ario1@hotmail.com

López-Ortiz, B. E. y A. Sánchez. 2009. Efecto del aumento de salinidad en la fertilización de óvulos de erizos *Strongylocentrotus franciscanus* y *Lytechinus anamesus*. *Hidrobiológica* 19(2): 181-184.

RESUMEN

Se evaluaron los efectos del incremento de salinidad sobre la fertilización de óvulos de erizos de mar de las especies *Strongylocentrotus franciscanus* Agassiz, 1863 y *Lytechinus anamesus* Clark, 1912, los cuales fueron colectados mediante buceo libre en la bahía de Todos Santos, Ensenada, B. C., México. La fertilización de los óvulos de cada especie de erizo se llevó a cabo en un intervalo de salinidad de 33.4 a 53.4‰, estimándose para cada caso su CL₅₀. Los resultados indicaron que la capacidad de fertilización de los gametos disminuye conforme la salinidad se incrementa, alcanzando la CL₅₀ en las 43.4‰ para *Strongylocentrotus franciscanus* y 48.4‰ para *Lytechinus anamesus*, confirmando estudios previos que recomiendan no exceder las 40‰ para evitar efectos adversos en los ciclos de vida de la fauna marina.

Palabras clave: *Strongylocentrotus franciscanus*, *Lytechinus anamesus*, fertilización, gameto de erizo, CL₅₀.

ABSTRACT

The effects of increased salinity were evaluated on the ovum fertilization of the sea urchin species, *Strongylocentrotus franciscanus* Agassiz, 1863 and *Lytechinus anamesus* Clark, 1912, which were collected by means free-diving in the bay Todos Santos, Ensenada, B. C., Mexico. The ovum fertilization of each species of sea urchin was estimated using a range of salinity from 33.4 to 53.4‰, being considered for each case its LC₅₀. The results indicated that the capacity of fertilization of gametes decrease as the salinity increases,

reaching the LC₅₀ at 43.4‰ for *Strongylocentrotus franciscanus* and 48.4‰ for *Lytechinus anamesus*, confirming previous research that recommended not exceed 40‰ to avoid adverse effects in life cycles of the marine fauna.

Key words: *Strongylocentrotus franciscanus*, *Lytechinus anamesus*, fertilization, sea urchin gametes, LC₅₀.

Los ecosistemas costeros están expuestos a presiones por contaminación asociada a las necesidades antropogénicas producto de la urbanización (descargas de aguas residuales, desechos industriales y agrícolas entre otros), porque actualmente más de la mitad de la población mundial se encuentra ubicada en las zonas costeras, donde la disponibilidad de agua dulce es escasa y costosa, ocasionando que el problema del abastecimiento de este recurso es constante. En este contexto, la necesidad de abastecer de agua dulce a la población ha originado la propuesta de nuevos programas de desalación a lo largo del Pacífico mexicano, específicamente en las costas de Baja California (proyecto IMPULSA IV), donde la pesquería del erizo de mar es muy importante.

Si bien es cierto que la desalación aporta muchos beneficios, la descarga al medio marino de la salmuera generada tiene un impacto que ha sido demostrado por diversos estudios en España, Canadá y Estados Unidos de América (Jonczyk *et al.*, 2001; Hovanec *et al.*, 2005). Razón por la cual los análisis de toxicidad utilizando organismos acuáticos en diversas etapas de su

Tabla 1. Datos de infertilidad de la muestra y de infertilidad neta, parámetros estadísticos (Z y probit) y salinidad (S en ‰) para *Lytechinus anamesus* y *Strongylocentrotus franciscanus*. La caja de petri 1 representa el control. Las cajas de petri 10 y 7 representan la CL₅₀ para *Lytechinus anamesus* y *Strongylocentrotus franciscanus* respectivamente.

No. Caja petri	% de Infertilidad	% de infertilidad neta	Z	probit Z + 5	S (‰)
<i>Lytechinus anamesus</i>					
1	5.6	0.0		0	33.4
2	8.8	3.1	-0.1	4.9	35.1
3	7.0	1.4	0.0	5.0	36.7
4	12.9	7.3	-0.2	4.8	38.4
5	11.6	6.0	-0.1	5.0	40.1
6	12.4	6.8	-0.2	4.8	41.8
7	17.7	12.0	-0.3	4.7	43.4
8	25.9	20.3	-0.5	4.5	45.1
9	53.8	48.1	-2.1	2.9	46.8
10	75.8	70.2	0.5	5.5	48.4
11	91.4	85.7	1.1	6.1	50.1
12	77.2	71.6	0.6	5.6	51.8
13	63.0	57.3	0.2	5.2	53.4
<i>Strongylocentrotus franciscanus</i>					
1	2.9	0.0		0	33.4
2	28.1	25.2	-0.7	4.3	35.1
3	15.9	13.0	-0.3	4.7	36.7
4	9.1	6.2	-0.2	4.8	38.4
5	31.4	28.5	-0.8	4.2	40.1
6	18.6	15.7	-0.4	4.6	41.8
7	59.3	56.4	0.2	5.2	43.4
8	68.5	65.6	0.4	5.4	45.1
9	91.4	88.5	1.2	6.2	46.8
10	92.7	89.8	1.3	6.3	48.4
11	74.6	71.7	0.6	5.6	50.1
12	81.7	78.8	0.8	5.8	51.8
13	0.8	0.8	0.8	5.8	53.4

vida (i.e., gametos, embriones y larvas de invertebrados), se han utilizado extensivamente en programas de monitoreo ambiental para evaluar los efectos de la salmuera (USEPA, 1995; Jonczyk *et al.*, 2001; Graham, 2005; Le Page, 2005; Libralato *et al.*, 2009).

Existen varias características que han contribuido al uso de los erizos de mar como organismos de monitoreo de la calidad del agua, como por ejemplo: su distribución cosmopolita, la sencilla recolección de adultos en el campo, la posibilidad de obtener cantidades significativas de gametos para la fertilización *in vitro*, un proceso de fecundación rápido y la fácil identificación de los óvulos fertilizados (Dinnel *et al.*, 1987; Nilin *et al.*, 2008).

El objetivo principal de este bioensayo fue medir el efecto del aumento de salinidad sobre el proceso de fertilización en los óvulos del erizo *Strongylocentrotus franciscanus* Agassiz, 1863 y del erizo blanco: *Lytechinus anamesus* Clark, 1912, los cuales fueron seleccionados por la baja tolerancia de sus gametos a los cambios en los niveles salinos (Graham, 2005). Ejemplares de ambas especies fueron colectados mediante buceo libre en la bahía de Todos Santos, Ensenada, B. C., México. Para el bioensayo, los erizos se mantuvieron en acuarios, a partir de los cuales se seleccionaron cinco individuos de cada especie. La liberación de los gametos en hembras y machos, se indujo inyectando 0.5 ml de KCl (0.5 M) a través de la membrana peristomial en el celoma

perivisceral. Los gametos liberados se colocaron en 13 cajas petri con réplica (1 ml de esperma y 1 ml de óvulos), donde se dejaron para su fertilización por 30 minutos. La primera caja de petri representó a la salinidad control (33.4‰) correspondiente a la salinidad media en la bahía de Todos Santos, Ensenada, B.C., mientras que en las cajas restantes la salinidad se incrementó en un factor de 1.67‰, hasta alcanzar una salinidad de 53.4‰ (Tabla 1). La determinación y el conteo de los óvulos fertilizados y los no fertilizados se realizó mediante la observación del halo (Dinnel *et al.*, 1987), membrana semitransparente ausente en los óvulos no fertilizados. Posterior a los conteos, se calculó el probit, $Z+5$, donde Z corresponde al área bajo la curva normal, la cual para este caso fue definida como una correlación de la vulnerabilidad de los gametos de erizos al aumento gradual de la concentración salina. Cuando el valor del probit fue >5 se consideró que la salinidad tenía un efecto letal sobre cierto porcentaje de los gametos de erizos (Garmendia *et al.*, 2009). A partir de este valor se determinó la CL_{50} para cada especie de erizo.

Todos los óvulos de erizo marino lograron un porcentaje de fertilización del 100% durante el período de prueba en el control (33.4‰). La mortalidad de los gametos y por tanto el porcentaje de infertilidad, se incrementó gradualmente a partir de salinidades por arriba de las 33.4‰, hasta alcanzar la CL_{50} para cada especie de erizo. Para *Lytechinus anamesus*, la CL_{50} se alcanzó a las 48.4‰ y para el caso de *Strongylocentrotus franciscanus* a las 43.4‰, demostrando que esta última es menos tolerante a los cambios en salinidad (Tabla 1). Quintino *et al.* (2008) señalan efectos biológicos adversos en la fertilización de óvulos del erizo *Paracentrotus lividus* Lamarck, 1816, en intervalos de salinidad de 41 a 44‰. Le Page (2005) analizó el efecto del aumento de la salinidad en el intervalo de 36 a 40‰ en *Strongylocentrotus purpuratus* Stimpson, 1857 (erizo morado), *Dendraster excentricus* Lambert, 1889 (galletas de mar) y *Haliotis rufescens* Linnaeus, 1758 (abulón rojo). En ese bioensayo las tres especies resultaron tolerantes hasta el valor máximo de 40‰. Por otra parte, en la zona de descarga de la planta de ósmosis inversa de Santa Bárbara, California, se midieron los efectos del incremento de salinidad en *Macrocystis pyrifera* Agardh, 1820 (alga Phaeophyta), *Rhepoxynius abronius* Barnard, 1960 (anfípodo) y *Strongylocentrotus purpuratus* (erizo morado), demostrando que las dos primeras especies no se afectaban por el aumento de la salinidad, mientras que el erizo morado presentaba un efecto en el desarrollo embriológico a las 38.5‰ (Bay & Greenstein, 1992/93). En especies de larvas de camarón *Mysidopsis bahia* Molenock, 1969 y peces *Menidia beryllina* Cope, 1867, la CL_{50} fue de 43‰ y 44‰, respectivamente (Pillard *et al.*, 1999). Blaszkowski y Moreiera (1986) evaluaron el crecimiento larvario y la metamorfosis del cangrejo ermitaño (*Pagurus criticornis* Dana, 1852) a distintas salinidades; ocurriendo un desarrollo normal en el intervalo de salinidad de 25 a 35‰, pero observándose que a las 45‰ pocas larvas se desarrollaron hasta el segundo estadio larvario.

Los erizos de mar estudiados mostraron ser especies sensibles al incremento de salinidad. Al respecto, la Agencia de Protección al Ambiente de los Estados Unidos de América recomienda que los niveles locales de salinidad no deben exceder un cambio de 4‰, con la finalidad de evitar daños a la vida marina (Graham, 2005). Los resultados de éste y otros estudios sugieren que los erizos y otras especies bentónicas no deben ser expuestos a salinidades mayores de 40‰, por lo que pueden ser utilizados como indicadores de los cambios de salinidad en su hábitat. El estudio fortalece las bases para la toma de decisiones sobre la descarga de afluentes salinos y su salinidad máxima permisible en los futuros proyectos de desalación en el Estado de Baja California.

Si bien, el desarrollo de plantas desaladoras representa un riesgo ecológico al ambiente costero, existen medidas preventivas y de mitigación que han permitido reducir el vertimiento de salmueras altamente concentradas ($>70‰$). El uso de difusores y la descarga combinada de agua residual y salmuera han impedido, que las grandes desaladoras del estado de California, E.U.A., no excedan la salinidad del 40‰, evitando el deterioro ecológico de la zona costera local y los posibles efectos sobre la biota marina (Graham, 2005; Le Page, 2005).

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al proyecto IMPULSA IV por el apoyo recibido para la realización del presente bioensayo. En especial a los doctores Gerardo Hiriart L, coordinador del proyecto IMPULSA IV, María Villarroel M. y Felipe Correa D.

REFERENCIAS

- BAY, S. & D. GREENSTEIN. 1992/93. *Toxic effects of elevated salinity and desalination waste brine*. SCCWPR. Annual report. Santa Barbara, California. 5 p.
- BLASZKOWSKI, C. & G. S. MOREIERA. 1986. Combined effects of temperature and salinity on the survival and duration of larval states of *Pagurus criticornis*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 103: 77-86.
- DINNEL, P. A., J. M. LINK & Q. J. STÖBER. 1987. Improved methodology for a sea urchin sperm cell bioassay for marine waters. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 16: 23-32.
- GARMENDIA, J. M., I. MENCHACA, M. J. BELZUNCE & M. REVILLA. 2009. Protocolo del test de toxicidad de sedimentos marinos con larvas del erizo de mar *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816). *Revista de Investigación Marina* 11: 1-25.
- GRAHAM, J. B. 2005. *Marine biological considerations related to the reverse osmosis desalination project at the Encina Power Plant, Carlsbad, CA*. Poseidon Resources Report. San Diego, California. 109 p.

- HOVANEC, T. A., E. L. TOY, J. WESTERLUND & J. L. COSHLAND. 2005. The toxicity of synthetic sea salts and natural seawater to the development of white sea urchin (*Lytichinus pictus*) larvae. *Advancedaquarist online 4*. www.advancedaquarist.com. Marzo 2005.
- JONCZYK, E., G. GILRON & B. ZAJDLIK. 2001. Sea urchin fertilization assay: An evaluation of assumptions related to sample salinity adjustment and use of natural and synthetic marine water for testing. *Environmental Toxicology and Chemistry 20*: 804-809.
- LE PAGE, S. D. 2005. *Salinity tolerance investigations: A supplemental report for the Carlsbad, C.A. Desalination Project*. Poseidon Resources. 9 p.
- LIBRALATO, G., C. LOSSO, F. AVEZZÙ & A. VOLPI-GHIRARDINI. 2009. Influence of the salinity adjustment methods, salts and brine, on the toxicity of wastewater samples to mussel embryos. *Environmental Technology 30*: 85-91.
- NILIN, J., C. DE CASTRO, M. PIMENTEL, W. FRANKLIN, R. G. DE MATOS & L. COSTA-LOTUFO 2008. Evaluation of the viability of a microscale method for the short-term chronic toxicity test using *Lytechinus variegatus* embryos. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences 3*: 122-129.
- PILLARD, D. A., D. L. DUFRESNE, J. E. TIETGE & J. M. EVANS. 1999. Response of mysid shrimp (*Mysidopsis bahia*), sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*), and inland silverside minnow (*Menidia beryllina*) to changes in artificial seawater salinity. *Environmental Toxicology and Chemistry 18*: 430-435.
- QUINTINO, V., A. M. RODRIGUES, R. FREITAS & A. RÉ. 2008. Experimental biological effects assessment associated with on-shore brine discharge from the creation of gas storage caverns. *Estuarine, Coastal and Shelf Science 79*: 525-532.
- USEPA. 1995. *Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to west coast marine and estuarine organisms*. Report EPA/ 600/R-95-136. U.S. E.P.A. Ohio, Cincinnati, 661 p.
- Recibido*: 19 de enero de 2009.
Aceptado: 20 de julio de 2009.