

ANEXO IV

**JACUMAR
JUNTA NACIONAL ASESORA DE CULTIVOS MARINOS**

PLANES NACIONALES DE CULTIVOS MARINOS

INFORME FINAL

**Título: OPTIMIZACIÓN DEL CULTIVO Y MANEJO DEL
ERIZO DE MAR**

1.- DATOS ADMINISTRATIVOS

TITULO: Optimización del Cultivo y Manejo del Erizo de Mar

FECHAS DE REALIZACIÓN: 2010-2012

DATOS DEL COORDINADOR DEL PROYECTO

Nombre y Apellidos: José Luis Catoira Gómez
Organismo/ Centro: Consellería do Medio Rural e do Mar (Xunta de Galicia) / Xefatura de Coordinación da Área do Mar – Delegación Territorial de A Coruña
Correo electrónico: jose.catoira.gomez@xunta.es

Comunidades Autónomas y organismos participantes

Andalucía

- Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. Dirección General de Pesca y Acuicultura. Universidad de Córdoba. Universidad de Granada

Principado de Asturias

- Consejería de Medio Rural y Pesca. Centro de Experimentación Pesquera (CEP)

Canarias

- Agencia Canaria de Investigación, Innovación y Sociedad de la Información. Presidencia de Gobierno. Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM)

Cantabria

- Consejería de Desarrollo Rural, Ganadería, Pesca y Biodiversidad. Gobierno de Cantabria. Universidad de Cantabria

Cataluña

- Departament d'Agricultura, Alimentació i Acció Rural. Generalitat de Catalunya. Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA)

Galicia

- Consellería do Médio Rural e do Mar. Xunta de Galicia. Centro de Cultivos Mariños de Ribadeo (CIMA). Universidad de Santiago de Compostela (USC)

Murcia

- Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia. Estación de Acuicultura. Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA)

2.- RESULTADOS TECNICOS DEL PLAN NACIONAL

La demanda de erizo de mar en los mercados mundiales, ha obligado a incrementar las cantidades y los ritmos de extracción, lo que unido a la inexistencia de una legislación adecuada que regule a tiempo la explotación, ha provocado que los stock de erizos en el medio natural mermaran hasta su práctica desaparición en algunas pesquerías. Estas consecuencias sufridas por la mayoría de los países productores, ha obligado a que muchos de ellos hayan tenido que restringir la extracción y acometer programas de cultivo como medio de regenerar áreas agotadas y poner en valor otras de potencial producción. Para ello en Europa, se han venido desarrollando estudios que tratan de resolver los problemas inherentes a su conservación en medio natural, impacto de la extracción y los que plantean las diferentes modalidades de cultivo.

Son varias las especies europeas de erizo de mar susceptibles de comercialización, sin embargo, por razones de abundancia, introducción y aceptación en el mercado, solo algunas (*Strongylocentrotus droebachiensis*, *Paracentrotus lividus*, *Sphaerechinus granularis*, *Psammechinus miliaris* y *Echinus esculentus*) se consideran con posibilidades reales de comercialización.

El erizo objeto del presente proyecto es *Paracentrotus lividus*, (Lamarck, 1816), especie ampliamente distribuida por todo el litoral Atlántico europeo y norteafricano, que se extiende por el Mediterráneo, hasta algo más al este del mar Adriático, así como también en las costas atlánticas del continente americano. Se inició asimismo (en Galicia) el estudio de la especie *Echinus esculentus* (L. 1758), por su potencial valor comercial en cultivo.

Los últimos avances en el desarrollo del cultivo del erizo de mar en España han promovido la profundización en los estudios de optimización de las técnicas de producción y gestión integral de este recurso, constituyendo el presente proyecto una referencia importante en este campo.

En base al conocimiento adquirido en anteriores proyectos, se planteó la necesidad de establecer protocolos de trabajo que incidieran en la ordenación de la gestión en todas las materias relacionadas con la explotación, estado del recurso, cultivo y repoblación, así como los factores de influencia sobre la especie, como el control de patologías, mejora de calidad, estudio de mercado, comercialización y todos aquellos otros que intervienen en su manejo.

Con estos objetivos se ha intentado ejecutar el presente proyecto, en el que, con una actuación coordinada, en la que participaron diferentes grupos de trabajo en siete comunidades autónomas con interés en la gestión de este recurso, se estudiaron y desarrollaron técnicas conducentes a la optimización del cultivo y manejo del erizo de mar.

2.1. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

En este proyecto de cultivo de erizo se incidió sobre aquellos aspectos del cultivo que precisan de un conocimiento más profundo con vistas a la obtención de resultados repetibles, dentro unos márgenes admisibles, a partir de la aplicación de unos protocolos de trabajo estandarizados. Para ello era necesario mejorar los conocimientos en algunos de los campos ya trabajados y abordar otros nuevos para la optimización del cultivo y manejo del erizo de mar.

Por otra parte se incluyeron nuevas líneas de trabajo como los estudios de bioenergética, la elaboración de piensos extrusionados para el preengorde de juveniles y para adultos con el fin de finalización del producto, el análisis sensorial y por último, el estudio económico de la viabilidad del cultivo. Otra novedad la ha constituido el estudio para determinar la relevancia de las toxinas marinas para la seguridad alimentaria y la mejora en la gestión de la explotación del erizo.

La mayor parte de estos objetivos no fueron plenamente alcanzados, debido al acortamiento del proyecto y a las carencias presupuestarias.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Potencialidad del cultivo de erizo de mar.
- Optimización del proceso de producción de juveniles. Manejo del cultivo larvario para la mejora de los rendimientos.
- Engorde de juveniles. Diseño de estructuras para el engorde de los subadultos hasta el tamaño comercial. Nuevos piensos.
- Bioenergética.
- Repoblación. Valoración de la incidencia de las repoblaciones sobre las poblaciones naturales. Repoblaciones en zonas eutrofizadas por actividades acuícolas: efecto ambiental, efecto sobre la tasa de crecimiento y supervivencia de los juveniles, efecto sobre el índice gonadal.
- Calidad nutricional de las gónadas en distintas zonas geográficas.
- Desarrollo de piensos extrusionados.
- Finalización del producto. Elaboración de dietas energéticas que mejoren la condición, textura y color de las gónadas de los erizos recogidos del medio natural previo a su comercialización.
- Análisis sensorial.
- Evaluación económica. Desarrollo de modelos econométricos de viabilidad/rentabilidad del cultivo del erizo.
- Biotoxinas. Evaluación de la relevancia de toxinas marinas para la seguridad alimentaria y la explotación del erizo.
- Gestión sostenible del recurso
- Divulgación y transferencia de resultados

2.2. METODOLOGÍA

Se plantean una serie de líneas principales de estudio e investigación, que se desglosan en las tareas a desarrollar por los diferentes grupos de investigadores de cada Comunidad Autónoma. La participación en las tareas que abarcan el proyecto se ha organizado en función de los intereses y capacidades operativas y de recursos humanos de cada grupo investigador.

ESQUEMA ORGANIZATIVO DEL PROYECTO

- Línea 0: Análisis de potencialidad de cultivo del erizo de mar
- Línea 1: Criadero. Optimización del proceso de producción de juveniles.
 - Desove y fecundación.
 - Manejo del cultivo larvario para la mejora de los rendimientos.
 - Fijación-Metamorfosis: estandarización del manejo de los tanques de fijación de las larvas.
- Línea 2: Preengorde-Engorde de juveniles.
 - Diseño de estructuras para el engorde de los subadultos hasta el tamaño comercial.
 - Desarrollo del cultivo de erizo en fase de engorde en tierra y mar.
 - Diseño de nuevos piensos. Diseño, fabricación y ensayo de piensos artificiales.
 - Bioenergética
 - Preengorde masivo de juveniles para repoblación.
- Línea 3: Finalización del producto
 - Elaboración de dietas energéticas que mejoren la condición, textura y color de las gónadas de los erizos recogidos del medio natural previo a su comercialización.
 - Diseñar y probar sistemas de estabulación y protocolos de trabajo para la mejora gonadal.
 - Evaluar la composición nutritiva del erizo durante el período óptimo de desarrollo.
 - Análisis sensorial de las huevas de erizo.
- Línea 4: Repoblación.
 - Diseño de sistemas de marcaje y métodos de control para las repoblaciones.
 - Valoración de la incidencia de las repoblaciones sobre las poblaciones naturales. Incidencia de las repoblaciones en zonas eutrofizadas por actividades acuícolas.
- Línea 5: Evaluación y estado del recurso
 - Análisis de los datos existentes y evaluación de los mismos.

- Evaluación y análisis de los datos en el archipiélago Canario (completar trabajos).
- Línea 6: Estudio económico.
- Línea 7: Relevancia de las toxinas alimentarias marinas para la seguridad alimentaria y la explotación del erizo
 - Optimización de los métodos de determinación de toxinas en el erizo.
 - Evaluación del contenido de toxinas en poblaciones naturales de erizo.
 - Estudio de la incorporación de toxinas producidas por microalgas bentónicas en condiciones de laboratorio.
- Línea 8: Divulgación y transferencia de resultados
 - Página web
 - SIG en la red
 - Publicaciones científicos y asistencia a Congresos
 - Seminario de transferencia de resultados a los sectores productivos
 - Jornadas de divulgación y promoción del uso del recurso

2.3. RESULTADOS

El Proyecto de Optimización del cultivo y manejo del erizo de mar se ha concretado, por una parte, en el cultivo larvario de *Paracentrotus lividus* con ensayos específicos dirigidos a protocolizar el mismo, tanto en lo referente a las condiciones de cultivo como a las de inducción a la fijación, con el objetivo de la obtención masiva de juveniles destinados a la siembra para repoblaciones y a la continuación de experiencias de marcado para evaluar su posterior seguimiento en el medio natural. Por otro lado, se ha complementado el proyecto con la actualización de la cartografía del recurso en Andalucía, estudios de engorde de juveniles en instalaciones indoor y en el medio natural con el uso de nuevas estructuras de confinamiento y de finalización del producto en cultivo por medio de dietas naturales y artificiales. Estas últimas han sido desarrolladas por varios grupos, destacando las fórmulas obtenidas por la USC y el IMIDA, que ha desarrollado no solo dietas experimentales sino que también ha determinado la calidad nutricional, análisis sensorial y bioenergética. Se han continuado los estudios de caracterización genética, de definición del ciclo reproductivo y de engorde en cultivo con dieta natural y artificial, además de haber puesto a punto el equipo del IRTA las técnicas de detección de toxinas para la matriz erizo y evaluado el contenido en toxinas en poblaciones naturales de erizo de las zonas de producción del litoral catalán.

El desarrollo del Programa se estructuró en varias unidades coordinadas. La primera consistente en la producción de juveniles en el Centro de Cultivos Marinos de Ribadeo, en las instalaciones del Centro de experimentación Pesquera de Asturias, y en Canarias, realizándose el cultivo larvario, la fijación y la estabulación de juveniles en diferentes sistemas, así como estudios específicos sobre la alimentación y la metamorfosis. La segunda se fundamentó en el diseño,

elaboración y establecimiento de sistemas de cultivo en el medio natural, con el objetivo del estudio de las poblaciones introducidas en estos sistemas, con especial referencia a las tasas de supervivencia y al crecimiento, aplicándose la experiencia de mejora de calidad gonadal en individuos comerciales, con el diseño de piensos evolucionados, testándolos en Andalucía, Asturias, Galicia y Canarias. Una tercera unidad es la que determinó la bioenergética del erizo y la composición de un pienso extrusionado que fue suministrado a los grupos que realizaban cultivo en sus distintas fases y las últimas se centraron en el marcaje de individuos para el seguimiento post-siembra, la caracterización genética de las poblaciones y los estudios toxicológicos.

2.4. CONCLUSIONES/APLICABILIDAD DE LOS RESULTADOS DEL PLAN

En el presente proyecto se han puesto a punto las técnicas de producción de juveniles de erizo de mar, con vistas a acometer futuros programas de repoblación y explotación sostenible del recurso. Se ha conseguido la caracterización genética de varias poblaciones de *Paracentrotus lividus*, la producción de un pienso adecuado para su alimentación en cultivo y la optimización de los métodos analíticos para la matriz del erizo, además de conseguirse el cultivo en laboratorio de la especie *Echinus esculentus*.

Los métodos analíticos de detección de toxinas lipofílicas, amnésicas y paralizantes, permiten obtener niveles de cuantificación muy por debajo de los límites legales establecidos, permitiendo así los ensayos asegurar la seguridad alimenticia en cuanto se refiere a estos factores. Los valores obtenidos en muestras de erizos recolectados en varias zonas de la costa catalana han resultado ser de ausencia de toxinas producidas por microalgas tóxicas.

La limitación impuesta por las incidencias, que son comentadas en los apartados 2.5 y 2.7, ha impedido la consecución de objetivos más amplios que los obtenidos, lo que ha supuesto la falta de confirmación absoluta del rendimiento económico del cultivo, a pesar de la probada viabilidad del mismo.

En Galicia, dos cooperativas (ARPERMAR en Ferrol y LOITAMAR en Moaña) han presentado ante la administración solicitud de autorización de proyectos experimentales para el cultivo de erizo de mar, que se encuentran en trámite de estudio y eventual aprobación desde el año 2009, pendientes de la aprobación definitiva del Plan de Acuicultura en esta Comunidad. Los contactos establecidos de antemano con ambas establecían una estrecha colaboración con los investigadores participantes en el proyecto, en el caso de comenzar su actividad. La colaboración con la empresa Conservas Porto-Muiños se ha visto restringida por las carencias de financiación del proyecto, por lo que los resultados obtenidos no han sido concluyentes. En Canarias, la empresa de cultivos marinos “Alevines y Doradas” situada en Castillo del Romeral, al S de Gran Canaria, ha colaborado con interés en el mantenimiento de tanques de cultivo para engorde de juveniles de erizo. En Andalucía, las empresas Cultivos Marinos Integrales S.A., Mejillones

de Andalucía, S.L. y Acuicultura de Granada, S:L., consintieron en participar en el cultivo de juveniles de erizo y de finalización, aplicando diferentes sistemas.

La transferencia al sector privado inversor de la tecnología del cultivo debe acompañarse necesariamente con la justificación de la rentabilidad económica. El estudio económico prácticamente no se ha desarrollado, aunque los informes de Andalucía y Galicia son optimistas de cara a establecer en el futuro empresas que aborden el cultivo del erizo con garantías de éxito.

Además de iniciativas empresariales de cultivo, la necesidad de la recuperación de la pesquería apunta a la necesaria participación de los productores, pero también a la implicación de las administraciones, para acometer programas de repoblación, que tendrían su base ejecutiva en los resultados obtenidos, como se apuntaba en el resumen del proyecto inicial: *“Del mismo modo se abordará, o se revisará en su caso, el estudio de evaluación y cartografiado de las poblaciones de erizo de mar en distintos litorales con vistas a regular la extracción de este recurso de una forma sostenible, a la vez que nos permitirá proponer estrategias de potenciación o recuperación de aquellas zonas que precisen de acciones dirigidas al fomento del reclutamiento mediante la introducción de juveniles procedentes de cultivo”*.

2.5. VALORACIÓN

La importancia del estudio preliminar realizado durante el año 2010 viene marcada por su fuerte arranque, comenzando por la visita técnica a instalaciones de cultivo en Irlanda a primeros del mes de julio de y continuando por las actividades correspondientes al proyecto desarrolladas intensivamente durante ese año. Además se han mantenido reuniones técnicas, consideradas vitales para la coordinación de los grupos de trabajo, programándose a lo largo de 2010-2012 para acordar estrategias de acción coordinada y de preparación de protocolos comunes en las operaciones de cultivo, tratamiento de los datos e intercambio de información, permitiendo así, entre otras acciones, la cesión de juveniles de erizo para repoblación y experiencias de cultivo entre CCAA y de adultos para valorización, así como de pienso artificial extrusionado producido por el IMIDA para ensayos de alimentación.

Se ha continuado avanzando en el cultivo larvario y las condiciones de inducción a la fijación, así como en la experimentación del crecimiento de juveniles y diseño de estructuras de cultivo, con diferentes experiencias en las comunidades de Asturias, Galicia, Andalucía y Canarias. De especial relevancia han sido las acciones de repoblación acometidas por el CIMA en Galicia, y las acciones de repoblaciones y seguimiento de las mismas en Cantabria y Asturias, con repercusión social en los medios de comunicación. También se han producido avances en los estudios de bioenergética y de finalización del producto, siendo esta última actividad compartida en cinco de las seis CCAA. Por último, se han puesto a punto las técnicas y protocolos para el análisis toxicológico que desarrolla el IRTA.

Sin embargo, no se han alcanzado los objetivos inicialmente programados, debido a los recortes presupuestarios y a la finalización del proyecto un año antes de lo previsto. Dentro de las acciones no realizadas, a consecuencia de aquella situación, destacan la imposibilidad de ejecución de cultivos a gran escala, tanto a nivel de hatchery como en la experiencia piloto en batea, de gran trascendencia a priori en la aplicabilidad de resultados, la no realización del estudio de la incorporación de toxinas producidas por microalgas bentónicas en condiciones de laboratorio, la desaparición de la línea del estudio económico, y algunas actividades relacionadas con el cultivo, la bioenergética y la finalización del producto.

La valoración global que se hace sobre el proyecto es positiva en el grado de ejecución, a pesar de todos los avatares sufridos, sobre todo considerando que se ha avanzado notablemente en las técnicas de producción de juveniles, optimización de los métodos analíticos para la matriz del erizo, desarrollo de piensos específicos y procesos alimentarios, así como en el diseño de estructuras de confinamiento. La participación de empresas colaboradoras implicadas se ha completado a distinta escala en las diferentes CCAA, siendo la relación positiva en Andalucía y Canarias, sin haber llegado a alcanzar los resultados esperados en Galicia.

2.6. DIFUSIÓN

El proyecto ha tenido amplia repercusión en los medios de comunicación, con numerosas reseñas en la prensa, así como mediante la presentación en foros científicos de diversas comunicaciones, que han trascendido más allá el medio nacional. Se han presentado 26 comunicaciones en distintos Congresos y Foros relacionados con la acuicultura. Dentro del marco del proyecto se ha generado una tesis doctoral y un TFM.

Son destacables las presentaciones del proyecto realizadas en Cork, Irlanda, con ocasión de la visita técnica realizada en julio de 2010, y en ese mismo año, en Santiago de Compostela, con motivo de una jornada específica sobre el cultivo y gestión del erizo de mar. También en Puerto Madryn, Argentina, en 2011, durante la celebración del Congreso Latinoamericano de Equinodermos y a finales de ese año, en O Grove, Pontevedra en el marco del XIV Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas, además de la divulgación en variados foros a través de comunicaciones científicas.

Durante el desarrollo del proyecto se ha contribuido con varias publicaciones técnicas a la divulgación de los resultados obtenidos desde el inicio, habiéndose representado el mismo a través de las comunicaciones en Congresos:

- ✓ **XIII Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas.** octubre 2010. O Grove, Pontevedra.

- ✓ **XIII Congreso Nacional de Acuicultura.** Castelldefels, Barcelona, 21-24 de noviembre del 2011.
- ✓ **I Congreso Latinoamericano de Equinodermos.** noviembre 2011. Puerto Madryn, Argentina.
- ✓ **III Foro Iberoamericano de los Recursos Marinos y la Acuicultura.** 2011. Sonora, México.
- ✓ **XIV Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas.** octubre 2011. O Grove, Pontevedra.
- ✓ **14th International Echinoderm Conference,** 20-24 de agosto de 2012. Bruselas, Belgica.
- ✓ **XV Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas.** octubre 2012. O Grove, Pontevedra.
- ✓ **ASSEMBLE Conference,** 23-25 de octubre de 2012. Olhao, Portugal.
- ✓ **8th CCMAR Seminar Cycle,** 14 de noviembre de 2012. Gambelas, Faro, Portugal.
- ✓ **FIRMA 2012 - Foro Iberoamericano de los Recursos Marinos y la Acuicultura,** 26-29 de noviembre de 2012. Cádiz.

Durante los años de ejecución del proyecto se ha contribuido con varias publicaciones técnicas a la divulgación de los resultados obtenidos desde su inicio, habiéndose presentado el mismo a través de las comunicaciones en Congresos y además mediante Conferencias impartidas en los siguientes foros:

IV Encuentro de Mariscadores de Recursos Específicos organizada por la Consellería do Mar de la Xunta de Galicia (Hotel Congreso. Santiago de Compostela, 19 de marzo de 2010).

Foro de difusión de resultados del proyecto jacumar “Cultivo y Gestión del erizo de mar” y presentación del nuevo plan nacional “Optimización del cultivo y Manejo del erizo de mar” organizado por la Consellería do Mar de la Xunta de Galicia (EGAP, Santiago de Compostela, 14 de junio de 2010).

Workshop sobre cultivo de erizo de mar organizado por la University College Cork y la empresa Gourmet Marine Ltd (Cork, Irlanda, 7 de Julio de 2010).

I Jornadas para el desarrollo de nuevas oportunidades empresariales para el sector pesquero y acuícola de la provincia de Granada, organizadas por la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía (Granada, 3 de diciembre de 2010).

Curso de Biotecnología. Dirección General de Educación, Formación Profesional e Innovación Educativa. Xunta de Galicia. (Santiago de Compostela, 18 de julio de 2011).

Curso de Verano: “Dieta Atlántica: nutrición e gastronomía. Beneficios para a saúde, benestar e lonxevidade”. Facultad de Medicina USC. (Santiago de Compostela 15 de septiembre de 2011).

Curso sobre herramientas moleculares para uso en pesca y acuicultura. Centre Spécialisé de Valorisation et Technologie des Produits de la Mer. Institut National de Recherche Halieutique. (Agadir, Marruecos, 19 a 23 de septiembre de 2011).

Máster en Desenvolvemento Económico e Innovación: Fronteiras das Ciencias e das Tecnoloxías. Facultade Económicas-USC. (Santiago de Compostela, noviembre 2011-enero 2012).

Un mar de vida: ADN e valorización das especies mariñas. Conferencia. Ateneo Santa Cecilia de Marín (Pontevedra, 19 de diciembre de 2011).

Curso sobre aplicación de las herramientas moleculares a la gestión de los recursos marinos. Departamento de Ingeniería y Ciencias del Mar de la Universidad de Cabo Verde. (Mindelo, Cabo Verde, 27 de febrero a 2 de marzo de 2012).

Perspectivas de la aplicación de técnicas moleculares en la gestión de pesquerías y conservación de la biodiversidad. Conferencia. Agencia Canaria de Investigación, Innovación y Sociedad de la Información. (Las Palmas de Gran Canaria, 13 de septiembre de 2012).

Trazabilidad alimentaria en especies marinas. Conferencia. Agencia Canaria de Investigación, Innovación y Sociedad de la Información. (Las Palmas de Gran Canaria, 14 de septiembre de 2012).

Traçabilidade alimentária em espécies marinhas. Conferencia. Universidade da Madeira. (Funchal, Portugal, 20 de septiembre de 2012).

Traçabilidade alimentária em espécies marinhas. Conferencia. Universidade dos Açores. (Ponta Delgada, Portugal, 25 de septiembre de 2012).

As tecnoloxías do ADN e a súa aplicación á pesca e acuicultura. Conferencia. IES Alexandre Bóveda. (Vigo, 8 de noviembre de 2012).

La finalización prematura del proyecto ha impedido la publicación de algunos datos que no han sido todavía procesados y que serán elaborados para su oportuna presentación como comunicación científica en los foros adecuados.

En la localidad asturiana de Castropol, durante el día 30 de noviembre de 2012 y con motivo del día de la acuicultura, se celebró una jornada de puertas abiertas en el Centro de Experimentación Pesquera, en el que se dieron a conocer las labores de investigación relativas al erizo de mar.

Además de las reseñas al proyecto en la prensa, es destacable la repercusión en la misma de las operaciones de siembras o repoblaciones efectuadas en las costas asturianas y gallegas, que además de ser expuestas en la prensa regional también lo fueron en medios nacionales.

2.7. INCIDENCIAS DE DESARROLLO

Ha habido incidencias destacables en el desarrollo del proyecto, programado para ser realizado entre 2011 y 2013, por lo que su ejecución ha sido atípica, desde el arranque del proyecto en el año 2010 con un estudio preliminar, hasta la fuerte reducción presupuestaria durante el año 2012 y la finalización oficial del proyecto el 31 de diciembre de ese mismo año, al carecer de dotación de JACUMAR para el año 2013, lo que ha condicionado negativamente su desarrollo integral.

A pesar de ello, actualmente algunos de los grupos de trabajo continúan desarrollando alguna actividad de cultivo de erizo de mar, al objeto de conseguir objetivos todavía no alcanzados y rematar actividades pendientes.

La complejidad de elaboración del informe final provocó ciertos problemas de coordinación, que fueron solventados. Ha sido evidente la ventaja operativa que, para la consecución de resultados, supuso la continuidad del proyecto de *Cultivo y gestión del erizo de mar 2005-2009*, plasmada en el nuevo Plan Nacional de *Optimización del cultivo y manejo del erizo de mar*, lo que ha permitido proseguir y mejorar las experiencias anteriormente realizadas, ampliando los objetivos al partir de una sólida base de conocimiento, establecida en el anterior proyecto.

El intercambio de información se ha visto favorecido por las reuniones de trabajo mantenidas a lo largo de estos años, además del intercambio de conocimientos adquirido en las visitas realizadas a instalaciones en el extranjero (Irlanda).

El calendario de reuniones convocadas por el coordinador durante el desarrollo del proyecto ha sido el siguiente:

15/01/2010 Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Madrid. Primera reunión de los grupos participantes en el proyecto.

14/06/2010 Escuela Gallega de Administración Pública (EGAP), Santiago de Compostela. Jornada de divulgación de los proyectos Jacumar erizo.

07-09/07/2010 Universidad de Cork, Irlanda. Participación en la *Seafood Networking Meeting with Chilean & Spanish Companies*, organizada por la

empresa Gourmet Marine Ltd., y visita a instalación de cultivo de erizo de mar en Dunmanus Bay, de la empresa Dunmanus Seafoods Ltd.

09/12/2010 Centro de Cultivos Marinos de Ribadeo (CIMA), Ribadeo, Lugo. Reunión de los grupos participantes en el proyecto.

07/10/2011 La Toja, O Grove, Pontevedra. Reunión de los grupos participantes en el proyecto y asistencia al *XIV Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura*.

15-16/01/2012 Universidad de Cádiz. Reunión de los grupos participantes en el proyecto, participación en la *XXXII fiesta de exaltación del erizo de la ciudad de Cádiz* (la “erizá”) y visita a instalaciones de cultivo de la empresa “Cultivos Marinos Integrales, S.A.” en San Fernando (Cádiz).

17/12/2012 Centro de Cultivos Marinos de Ribadeo (CIMA), Ribadeo, Lugo. Reunión de los grupos participantes en el proyecto.

Las actas de dichas reuniones son expuestas en el Anexo VI.

Además de las reuniones con los grupos de trabajo participantes en el proyecto, el coordinador mantuvo otras en relación con el mismo: en Camariñas, el 17 de abril de 2012, con representantes de la empresa *L'Oursine de Ré*, productora de juveniles de *Paracentrotus lividus* y establecida en la Isla francesa del mismo nombre, al objeto de programar un workshop en sus instalaciones, y el día 22 de mayo de 2012 en Santiago de Compostela y Camelle, con representantes irlandeses de la empresa *Gourmet Marine*, productora de sistemas de cultivo para erizo de mar y empresarios gallegos. Los días 12 de abril de 2011 y 10 de mayo de 2012 se asistió a la reunión de los grupos de seguimiento de los planes nacionales, con la exposición de los informes anuales (correspondientes a los años 2010 y 2011) de seguimiento del proyecto de Optimización del cultivo y manejo del erizo de mar.

INFORME FINAL EXTENSO

1.- DATOS ADMINISTRATIVOS

TITULO: Optimización del Cultivo y Manejo del Erizo de Mar

FECHAS DE REALIZACIÓN

Inicio: 2010 (estudio preliminar)

Desarrollo: 2011-2013

Finalización: 2012 (inexistencia de crédito para P.N. a partir de 01/01/2013)

DATOS DEL COORDINADOR DEL PROYECTO

Nombre y Apellidos: José Luis Catoira Gómez

Organismo/ Centro: Consellería do Medio Rural e do Mar (Xunta de Galicia)

Departamento: Acuicultura

Teléfono: 981-182013

Fax: 981-182228

Correo electrónico: jose.catoira.gomez@xunta.es

Dirección postal completa: Xefatura de Coordinación da Área do Mar. Delegación Territorial de A Coruña. Casa del Mar, 5ª P. 15006. A Coruña

RELACIÓN DEL PERSONAL INVESTIGADOR (PARTICIPANTES por cada Comunidad Autónoma)

PERSONAL DEL SUBPROYECTO CA ANDALUCÍA

Investigador Responsable:

Nombre y Apellidos: Daniel Acosta Camacho (coordinador)

Organismo/Centro: Junta de Andalucía / Dirección General de Pesca y Acuicultura. Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente.

Departamento: Servicio de Ordenación de Recursos Pesqueros y Acuícolas

Teléfono: 955 032 294

Fax: 955 032 507

Correo electrónico: daniel.acosta@juntadeandalucia.es

Dirección: Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente Pesca. Dirección General de Pesca y Acuicultura. C/ Tabladilla, s/n. 41071. SEVILLA.

Resto de Investigadores:

José Carlos Norman Barea

Organismo: Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente. Junta de Andalucía. Delegación Territorial de Granada

Francisco Zurita Manrubia

Organismo: Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente. Junta de Andalucía. Agencia de Gestión Agraria y Pesquera de Andalucía.

Pedro Álvarez Molina

Organismo: Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente. Junta de Andalucía. Agencia de Gestión Agraria y Pesquera de Andalucía.

Carmen Ortega González

Organismo: Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente. Junta de Andalucía. Agencia de Gestión Agraria y Pesquera de Andalucía.

Eva Pereiro Buenaventura

Organismo: Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente. Junta de Andalucía. Agencia de Gestión Agraria y Pesquera de Andalucía.

Marina Fernández Lora

Organismo: Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente. Junta de Andalucía. Agencia de Gestión Agraria y Pesquera de Andalucía.

Departamento: Recursos Pesqueros y Acuícolas

Alejandro Ibáñez Yuste

Organismo: Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente. Junta de Andalucía. Agencia de Gestión Agraria y Pesquera de Andalucía.

De otras entidades UNIVERSIDAD DE GRANADA. Dpto. Fisiología Animal

Felix Hidalgo Puertas

D.N.I.: 24113458-M

PERSONAL DEL SUBPROYECTO CA ASTURIAS

Investigador Responsable:

José Francisco Carrasco Fidalgo

D.N.I.: 10.804.120

Resto de Investigadores:

Carmen Rodríguez Rodríguez

D.N.I.: 71.868.561

Silvia de la Uz
D.N.I.: 71.648.464Z

PERSONAL DEL SUBPROYECTO CA CANARIAS

Investigador Responsable:

Matias González Hernández
D.N.I.: 42829061W

Resto de Investigadores:

Nieves González Henríquez
D.N.I.: 42742281R

Enrique Moreno Batet
D.N.I.: 41984151C

Alberto Miguel Brito Hernández
D.N.I.: 42022323 N

PERSONAL DEL SUBPROYECTO CA CANTABRIA

Investigador Responsable:

Juan Carlos Canteras Jordana
D.N.I.: 45054300-Z

Resto de Investigadores:

José Manuel González Hirusta
D.N.I.: 72092848-S

Ángela Gautier Gasuso
D.N.I.: 20213998-B

María Segovia Viadero
D.N.I.: 72047226-W

PERSONAL DEL SUBPROYECTO CA CATALUÑA

Investigador Responsable:

Jorge Diogène Fadini
D.N.I.: 47873072 – K

Resto de Investigadores:

Olga Carnicer Castaño
D.N.I.: 48535939-M

Alexis Casanova Morisco
D.N.I.: 47620959-B

Elisabeth Cañete Ortiz
D.N.I.: 39906991-J

Pablo de la Iglesia González
D.N.I.: 71265443-N

Helena Eixarch
D.N.I.: 18999468-L

Margarita Fernández Tejedor
D.N.I.: 39863998-F

Gemma Giménez Papiol
D.N.I.: 39899896-W

PERSONAL DEL SUBPROYECTO CA GALICIA

Investigador Responsable:

Justa Ojea Martínez
D.N.I.:34.967.287-L

Resto de Investigadores:

Dorotea Martínez Patiño
D.N.I.: 33.207.678-W

Susana Novoa Vázquez
D.N.I.: 34.962.502-H

José Luis Catoira Gómez
D.N.I.: 32401753-C

De otras entidades UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA (USC)

Investigador Responsable:

Manuel Rey Méndez
D.N.I.: 35275399-T

Resto de Investigadores:

Javier Quinteiro Vázquez
D.N.I.: 34964925-A

Jorge Rodríguez Castro
D.N.I.: 44807348-J

Lois Pérez Dieguez
DNI.: 44451762-F

Antonio Rama Villar
DNI.: 33282727-W

José Luis Catoira Gómez
D.N.I.: 32401753-C

PERSONAL DEL SUBPROYECTO CA MURCIA

Investigador Responsable:

Jesús Cerezo Valverde
D.N.I.: 34.817.548

Resto de Investigadores:

Benjamín García García
D.N.I.: 22.470.556Q

José García García
D.N.I.: 27.451.262^a

María Dolores Hernández Llorente
D.N.I.: 34.787.845T

Felipe Aguado Giménez
D.N.I.: 27.457.312G

2.- RESULTADOS TECNICOS DEL PLAN NACIONAL

2.1. OBJETIVOS INICIALES

El Plan Nacional JACUMAR “Optimización del cultivo y manejo del erizo de mar” surge tras la finalización del PN JACUMAR previo “Cultivo y gestión del erizo de mar” con la propósitos de ampliar conocimientos de ciertos aspectos técnicos y biológicos del cultivo

que permitan la optimización en el desarrollo de sistemas de cultivo en los distintos ambientes marinos del litoral español.

El Plan Nacional de JACUMAR 2006-2009 “Cultivo y Gestión de Erizo de Mar” ha contribuido de forma importante al conocimiento de las distintas fases del cultivo del erizo de mar y a identificar aspectos del mismo que precisan de un mayor conocimiento con vistas a la producción de juveniles ya sea con destino a la repoblación o bien al engorde para su comercialización. El presente proyecto ha buscado la mejora de las técnicas de cultivo mediante la elaboración de protocolos estandarizados que garanticen probabilidades de éxito que no se alcanzaban plenamente con los conocimientos anteriores.

Aunque se comprobó la utilidad de cestillos ostrícolas y bandejas de diferentes tamaños en las experiencias de engorde o mejora de la condición de la gónada, con vistas al futuro del cultivo industrial de esta especie, se precisa el diseño de estructuras que posibiliten la estabulación de un gran número de ejemplares por unidad de superficie o volumen y que permitan un fácil manejo para las labores de limpieza y alimentación de los ejemplares.

Teniendo en cuenta el desarrollo a gran escala del engorde o la mejora de la condición de las gónadas se precisa de una dieta formulada comercial dadas las enormes ventajas que ofrece sobre las dietas naturales, como se ha demostrado con todas las especies que actualmente se crían. Para ello se debe diseñar un pienso adecuado, a ser posible seco, con una composición acorde a las necesidades nutricionales del erizo. El hecho de que sea un pienso seco facilita el almacenamiento y suministro del mismo a la vez que garantiza la composición en cuanto al nivel adecuado de los nutrientes y reduce el riesgo de transmisión de enfermedades.

En lo concerniente al apartado del seguimiento de las repoblaciones, entendiendo esta como la liberación en el medio natural de ejemplares juveniles cultivados en criadero, con vistas a aumentar la producción y el valor de los ecosistemas acuáticos, se precisa la utilización de algún tipo de marca que nos posibilite el seguimiento de los juveniles utilizados en la repoblación, para conocer la tasa de asentamiento y el crecimiento de los erizos liberados en el medio natural. En este sentido, durante el desarrollo del Plan de erizo (2006-2008) se han realizado experiencias de marcaje y de seguimiento en el medio natural que sugieren que no hay efectos, a largo plazo, del proceso de marcaje sobre el crecimiento de los juveniles en el medio natural. Estos datos, que en principio resultan satisfactorios, se han obtenido de repoblaciones experimentales con un número pequeño de ejemplares liberados. Con vistas a la validez del método se precisa seguir con nuevas repoblaciones, con un número más elevado de ejemplares, y su continuidad en el tiempo para poder disponer de una serie de resultados que nos permitan valorar la validez de este tipo de actuaciones. Por otra parte, los sistemas diseñados para la introducción o repoblación de erizos en la CA de Canarias deben ser evaluados, ya que debido a las condiciones de la incompatibilidad (todavía no definitivamente demostrada), desde el punto de vista genético, de trasladar juveniles desde otras comunidades, implicaría la necesidad

de realizar repoblaciones con juveniles procedentes de reproductores del medio natural de Canarias.

Por último, resulta conveniente la realización de un estudio económico detallado de cada una de las distintas actuaciones previstas, dimensionando adecuadamente el tamaño de las mismas, para optimizar al máximo su coste y valorar la viabilidad.

En cuanto a la seguridad alimentaria y a los riesgos de intoxicación por consumo de erizo de mar, se deberían afinar y desarrollar los protocolos analíticos de determinación de toxinas marinas específicamente para el erizo. Un mayor conocimiento de la presencia/ausencia/contenido de toxinas en erizo permitirá determinar si puede considerarse un vector potencial de toxinas con implicaciones en la seguridad del consumidor y con consecuencias sobre la explotación del recurso. Interesa evaluar la actual situación respecto a presencia de toxinas en erizo de las zonas de producción. A partir de estos resultados, se podrá mejorar la gestión de esta especie en los programas de vigilancia y por consiguiente su comercialización.

La coordinación de las líneas de actuación propuestas resulta indispensable para llevar a buen puerto un proyecto de estas características en las distintas CCAA. El intercambio de información se realizará anualmente en las reuniones de seguimiento y coordinación. La aportación en conjunto buscará la optimización de los protocolos de las distintas fases que conlleva el cultivo y el manejo del erizo y el desarrollo de herramientas para el seguimiento de las repoblaciones.

En el anterior apartado 2.1 de objetivos de resultados técnicos del plan nacional se han expuesto los objetivos generales y específicos del presente proyecto.

2.2. OBJETIVOS REALIZADOS

En los anexos de informes de las CCAA se especifican las tareas realizadas y las que no han podido serlo, debido a la alteración en la financiación del proyecto y al acortamiento en su duración.

No se han alcanzado todos los objetivos propuestos, destacando la imposibilidad de ejecución de cultivos a gran escala, tanto a nivel de producción de juveniles como en la experiencia piloto de engorde para mejora gonadal en batea, de gran trascendencia a priori en la aplicabilidad de resultados: la no realización del estudio de la incorporación de toxinas producidas por microalgas bentónicas en condiciones de laboratorio; la desaparición de la línea del estudio económico, y algunas actividades relacionadas con el cultivo, la bioenergética y la finalización del producto.

Sin embargo, muchas de las experiencias realizadas han permitido la consecución de objetivos tales como los protocolos de cultivo larvario y perimetamórfico, de repoblaciones, de obtención de piensos válidos para la mejora de las condiciones del erizo de mar en cultivo, en particular el pienso seco

extrusionado, de finalización del producto, de obtención de las técnicas analíticas para la determinación de biotoxinas, de análisis de calidad nutricional de las gónadas, de resultados de la bioenergética y de todos los reseñados en los anexos de informes de las CCAA.

2.3. METODOLOGÍA Y RESULTADOS

Se plantearon una serie de líneas principales de estudio e investigación, que se desglosan en las tareas a desarrollar por los diferentes grupos de investigadores de cada CCAA. Esta participación en las tareas que abarcan el proyecto, se ejecutó en función de los intereses y capacidades operativas y de recursos humanos de cada grupo investigador.

Las claves de las tareas reseñadas en los siguientes apartados se encuentran referenciadas en el proyecto inicial.

Línea 0: Análisis de potencialidad de cultivo del erizo de mar

El Plan Nacional JACUMAR “Optimización del cultivo y manejo del erizo de mar” surge tras la finalización del PN JACUMAR previo “Cultivo y gestión del erizo de mar” con la propósito de ampliar conocimientos de ciertos aspectos técnicos y biológicos del cultivo que permitan la optimización en el desarrollo de sistemas de cultivo en los distintos ambientes marinos del litoral español.

La potencialidad de su cultivo de esta especie fueron abordados en un proyecto específico financiado por la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía, denominado “Estudio del cultivo en ciclo completo y comercialización de erizo de mar”. No obstante, las limitaciones en tiempo de este estudio no han permitido desarrollar ciertas actuaciones clave para el desarrollo del cultivo abordadas por las otras Comunidades Autónomas participantes. Es por ello, que desde Andalucía se desarrollaron una serie de líneas de actuación que permiten conocer ciertos aspectos de la potenciabilidad del cultivo del erizo tanto en la zona suratlántica como en la zona Surmediterránea:

Actividad. Análisis del estado del arte

Se han estudiado aspectos tales como el estudio biológico de la especie (ciclo reproductivo y composición bioquímica, técnicas de preengorde-engorde y otros).

Actividad. Determinación de factores clave para el cultivo

En este sentido se identificaron los posibles problemas que puedan surgir en etapas posteriores para el desarrollo de este tipo de cultivos, y que previsiblemente a corto plazo van a estar relacionados con la disponibilidad de juveniles, los tiempos de engorde y las curvas de crecimiento, la estacionalidad, la alimentación, las patologías, etc.

Actividad. Análisis previo sobre la caracterización genética de las poblaciones naturales y cultivadas

Se realizó un análisis de la caracterización genética de algunas poblaciones naturales y cultivadas mostrando los resultados una pérdida de diversidad genética en el stock de erizos de cultivo y una diferenciación genética importante con los stocks naturales.

Línea 1. Criadero: optimización del proceso de producción de juveniles.

El objetivo general de esta línea de actuación era conseguir un protocolo o manual de producción de semilla del recurso erizo, con medidas y parámetros estandarizados. La elaboración de este documento incluye la optimización de cada una de las fases del proceso productivo de semilla de erizo que se dividen en: Desove y fecundación, Cultivo larvario y Fijación-metamorfosis.

Desove y fecundación

Antecedentes y justificación

En el anterior proyecto JACUMAR 2006-2008 “Cultivo y gestión del erizo de mar (*Paracentrotus lividus* Lamarck, 1816)” se obtuvieron desoves inducidos prácticamente a lo largo de todo el año, pero la duración y los resultados de los cultivos larvarios fueron muy variables dependiendo de la época del año en la que se realizaron. Conseguir una calidad óptima de semilla depende, no sólo de las técnicas de cultivo y de la estrategia de alimentación empleadas, sino también de la calidad de los ovocitos obtenidos en las puestas

Se tomaron ejemplares del medio en distintas épocas del año y se relacionó la diferente calidad de los reproductores con el éxito de los desoves y posteriores cultivos larvarios. Se valoró la fecundidad de cada lote mediante la determinación del número de ovocitos por hembra y el tamaño de los mismos. Se realizaron análisis bioquímicos de los ovocitos para intentar relacionar los diferentes perfiles con los resultados obtenidos.

Metodología

Determinación de los criterios de calidad de las puestas

La calidad de las puestas, de los gametos obtenidos y, posteriormente, de las larvas va a depender a su vez de la calidad de los reproductores. Por ello, se relacionó la condición de los reproductores utilizados en las inducciones con la época del año y la calidad de los desoves.

Los reproductores se recolectaron del medio natural, bien del intermareal a pie o del submareal mediante buceo, y se trasladaron al laboratorio en el menor tiempo posible para evitar la desecación y el desove anticipado. En el laboratorio fueron sometidos inmediatamente a la inducción a la puesta o bien fueron dejados en circuito abierto por uno o dos días antes de inducirlos a desovar.

Se seleccionaron como posibles reproductores los que presentaban un aspecto

saludable (ausencia de lesiones, púas firmes) y se procedió a su lavado en agua de mar filtrada previamente a su manipulación. La inducción al desove se realizó por inyección de KCl 0,5N a través de la membrana peristomial del erizo y la colocación de los ejemplares en vasos de precipitado, llenos de agua de mar axénica, donde tuvo lugar la expulsión de los productos sexuales.

Se procedió a la observación, medición y recuento de los ovocitos desovados por hembra. La homogeneidad en la forma y el tamaño de estos ovocitos pueden influir en su calidad. Se comprobó la buena movilidad de los espermatozoides de los machos antes de realizar la fecundación así como el porcentaje de ovocitos fecundados una vez realizada.

Durante los meses en los que se realizaron las inducciones, se evaluó el estado de maduración de las gónadas mediante la aplicación de técnicas histológicas y la asignación de las muestras obtenidas a una escala cualitativa.

Actividad. Cultivo larvario

Antecedentes y justificación

Durante el anterior proyecto se realizaron diversas experiencias a lo largo de los tres años con el objetivo de determinar el efecto de la alimentación en el desarrollo larvario. Para ello, se llevaron a cabo distintas pruebas comparando el efecto de varias especies de microalgas, aportadas como monodietas o dietas mixtas. Durante el desarrollo larvario aparecieron mortalidades masivas y repentinas en alguna de las réplicas sin explicación aparente.

Observado en estas experiencias que las mortalidades de las larvas eran independientes del tipo de dieta, se pretendió mejorar el manejo de los tanques evitando la acumulación de residuos en el fondo y las paredes y aumentar así la calidad del agua.

Aun así los resultados no mostraron una pauta explicable, por lo que consideramos que otro aspecto a controlar y de gran importancia era la identificación de la flora microbiana, lo que ha sido efectuado en las diferentes fases de cultivo en criadero.

En el presente proyecto se ha planificado el cultivo de dos especies de erizos comestibles: *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) y *Echinus esculentus* (Linneo, 1758), al tratarse el primero de la especie objetivo en el conjunto del proyecto y siendo la segunda un recurso no explotado, pero presente en Galicia, constituyendo una especie que se considera de alto potencial para su explotación en cultivo por los altos rendimientos observados. Se aplicaron los mismos protocolos de cultivo larvario para las dos especies, consiguiendo también alguna puesta de la especie *Sphaerechinus granularis* (Lamarck, 1816).

Se realizaron pruebas de manejo comparando la supervivencia y el estado de desarrollo de la larva en tanques con diferentes protocolos de manejo, haciendo

especial incidencia en los cambios de agua, la frecuencia de estos cambios y la manipulación larvaria. En lo que respecta a la alimentación, se realizaron pruebas con diferentes especies de microalgas y con las mismas especies pero distinta frecuencia de alimentación, relacionando el desarrollo y la supervivencia de las larvas con las distintas variables ensayadas.

La microalga *Chaetoceros gracilis* ofrece los mejores resultados en términos de crecimiento y supervivencia larvaria, ya sea ofrecida como monodieta o dieta mixta, frente a otras microalgas ampliamente utilizadas como *Phaeodactylum tricorutum* y *Dunaliella tertiolecta*.

La baja densidad larvaria permite una simplificación en el manejo de los cultivos, evitando los cambios de agua, y una mayor sincronización en el desarrollo de las larvas, con lo que se obtienen altas tasas de fijación.

El estudio de la microbiota asociada a los diferentes cultivos posibilita el control del estado sanitario de los criaderos. El seguimiento microbiológico se realizó en los diferentes agentes que afectan a esta fase de cultivo larvario: reproductores, óvulos, agua de cultivo y larvas. Para conseguir este objetivo se procesaron por métodos clásicos de siembra en placa, utilizando los medios Agar Marino (para bacterias heterótrofas marinas) y TCBS (para vibrios).

Con los resultados obtenidos parece que en general la carga bacteriana asociada a los cultivos está dentro de unos límites que se pueden considerar normales en los cultivos en criadero.

Metodología

Optimización del manejo y alimentación del cultivo larvario

Aparte de la calidad de las puestas, aspecto que se contempla en el apartado anterior, los distintos manejos que se realizan en esta fase creemos pueden influir de manera importante en el desarrollo de las larvas. Así, aspectos tan importantes como los cambios de agua, parciales o totales, y su frecuencia, pueden influir en el estado de la larva.

Se realizaron pruebas de manejo comparando la supervivencia y el estado de desarrollo de la larva en tanques de cultivo con diferentes protocolos de manejo. En este apartado se enfrentan la calidad de agua mantenida en los tanques en circuito cerrado y la manipulación larvaria.

Además, se realizaron pruebas de alimentación con diferentes especies de microalgas cultivadas, las diatomeas *Chaetoceros gracilis* y/o *Phaeodactylum tricorutum* y los flagelados *Isochrysis galvana*, *Monochrysis* y/o *Tetraselmis suecica*, entre otras, variando las proporciones de éstas y la frecuencia de alimentación a lo largo del cultivo larvario. Se relacionó el diferente desarrollo y supervivencia de las larvas con las distintas variables ensayadas.

Se aprovecharon los desoves obtenidos del apartado anterior, escogiendo los considerados de mayor calidad, para realizar las distintas experiencias.

Identificación de la flora microbiana asociada a la fase de cultivo larvario

Se hizo un seguimiento microbiológico de los diferentes agentes como se recoge en la tarea 3.6.2.2.2. Una vez tomadas las muestras se sembraron volúmenes de 100 µl en agar marino y agar TCBS para bacterias heterótrofas totales y vibrios potenciales, respectivamente. Las placas sembradas se incubaron hasta 48h a 28°C y se realizó un conteo por tipo de colonia de cada una de ellas para obtener así el tipo de colonia, número por tipo de colonia y número total de colonias de cada uno de los medios.

Como se apuntó, los resultados de los controles realizados se han considerado como normales para la flora bacteriana en cultivos, impidiendo la finalización del proyecto la repetición del seguimiento microbiológico programado.

Actividad. Fijación-metamorfosis

Antecedentes y justificación

El cultivo larvario finaliza cuando un porcentaje elevado de las larvas alcanza el estado pre-metamórfico o competente, que se caracteriza por la aparición del “esbozo o rudimento equiniano”, siendo en ese momento cuando las larvas se pasan a los tanques de fijación para que realicen la metamorfosis. Consideramos que esta es la fase crítica en la producción de juveniles y la que precisa de un mayor esfuerzo para solventar los problemas que presenta. Es preciso coordinar el envejecimiento de los colectores con el momento preciso de cambio de comportamiento de la larva. El correcto manejo de los tanques de colectores y la elección de las especies de diatomeas va a resultar fundamental para que se produzca una alta fijación de las larvas y los juveniles dispongan de alimento suficiente y de calidad durante la primera fase de su desarrollo.

Para que se realice la metamorfosis y fijación de las larvas es necesario determinar el momento idóneo de transferencia de las larvas a las estructuras de fijación, que deberán poseer una capa de diatomeas adecuada u otro medio inductor para que se produzca la fijación.

Metodología

Optimización de los parámetros en la fase de cultivo fijación-metamorfosis

Entre 10 y 15 días antes de que las larvas completen su desarrollo se preparan los colectores utilizados para la fijación de las larvas. Se utilizan láminas onduladas de poliéster, que se disponen en tanques de distinta capacidad, en circuito abierto, a fin de que se forme una biopelícula natural de diatomeas bentónicas y bacterias, que sirve como inductora a la metamorfosis de las larvas así como para la primera alimentación de los juveniles. Además, para potenciar la

formación de la biopelícula se inoculan los tanques con diatomeas bentónicas cultivadas, manteniéndose los tanques en circuito cerrado durante 48 horas.

Para determinar el momento idóneo de transferencia de las larvas a las estructuras de fijación se realizó el Test de Competencia Larvaria, que nos permite conocer el porcentaje de larvas que completarán la metamorfosis y por tanto el número de larvas que se deben inocular.

Línea 2: Preengorde-engorde de los juveniles

Actividad: Diseño y puesta a punto de estructuras de engorde para el cultivo de los juveniles y adultos

En el PN Jacumar de erizos 2006-2009, se diseñaron y ensayaron diferentes estructuras para la estabulación de juveniles durante el proceso de engorde, con resultados satisfactorios en cuanto a crecimiento y supervivencia, pero que es necesario optimizar con el fin de facilitar los trabajos relacionados con la alimentación de los ejemplares y procesos de limpieza si queremos viabilizar el cultivo industrial. Por otra parte, el proceso de estabulación de juveniles de pequeño tamaño (5 mm de diámetro), presentan el problema de escapes debido al mal ajuste de las estructuras.

Se diseñaron estructuras para el cultivo de juveniles a partir de la fijación hasta el tamaño adecuado para la repoblación o hasta su paso a estructuras para el engorde hasta el tamaño de repoblación o incluso al comercial.

Asimismo, se estudió la idoneidad de utilizar diversas estructuras tanto en tierra como en mar para la estabulación y engorde de erizo, así como la determinación de los valores óptimos de las distintas variables ambientales relacionados con el desarrollo de la especie.

Para el diseño, construcción y estudio comparativo de estructuras de engorde para juveniles se tomó como estructuras base los diseños y sistemas que mejor funcionaron en el proyecto anterior, es decir, cajas apiladas para los erizos grandes y cestas ostrícolas para los pequeños. Las experiencias comparativas se realizaron en una batea de la USC situada en la ría de Muros-Noia y las estructuras nuevas se diseñaron en función de la facilidad de manejo y optimización de espacios, en el caso de los erizos grandes. Por otra parte, se especuló con la prueba de estructuras comercializadas por la empresa irlandesa Gourmet Marine (Urchin Platter), para todos los dos tamaños de erizos, pero no se concretó por problemas presupuestarios.

En cuanto a las estructuras, y tras probar cajas rígidas, cestas rígidas y cestas flexibles, y considerando que en las tipologías de empresas acuícolas de Andalucía, el erizo sería una especie complementaria a la especie principal, se concluye que es conveniente seguir buscando la estructura de cultivo más adecuada. En este sentido, y asumiéndolo por la propia CCAA, se probarán a partir de 2013 los sistemas denominados ortacs, que se consideran pueden ser

más adecuados y operativos para los trabajos que se desarrollan en la empresa acuícola.

Los estudios de mejora gonadal en adultos en batea se realizaron en periodos de dos meses, utilizando distintos tipos de alimento, primando el uso de diferentes piensos, para la determinación del más adecuado para elevar el índice gonadal a valores por encima de los obtenidos en el medio natural en el mismo periodo.

Preengorde masivo de juveniles para repoblación

Al finalizar la etapa larvaria, los erizos sufren una metamorfosis y se fijan al sustrato. A partir de este momento es cuando comienza el preengorde de juveniles, etapa que se prolongará hasta que alcancen un diámetro de caparazón de 15 a 20 mm, denominándose subadultos, hasta que adquieren la madurez sexual, siendo ya aptos para la siembra.

Una vez concluida el proceso de metamorfosis, y los juveniles resultantes alcanzan la talla de 3 o 4 mm, se comienza a introducir en su alimentación macroalgas. Finalizada el proceso de adaptación a esta nueva dieta, se eliminan de su alimentación definitivamente todas diatomeas bentónicas empleadas para su fijación y se mantienen en cultivo con distintas especies de macroalgas hasta la talla mencionada anteriormente, que es la que ha sido establecida como talla de repoblación.

En el CEP se utilizaron cajas utilizadas en depuradoras para ensayos de crecimiento y supervivencia de juveniles, con distintas densidades y orientación de las cajas, consiguiendo supervivencias superiores al 95% en todos los casos. Se utilizaron otras estructuras de cultivo para iniciar pruebas de crecimiento utilizando el pienso extrusionado elaborado por el IMIDA con el fin de mejorar el rendimiento del cultivo, obteniendo mayores tasas de crecimiento. El crecimiento de juveniles obtenido por el pienso es mayor que por el alga. Además el pienso consigue mantener la misma tasa de crecimiento en los erizos de talla grande que en los de talla pequeña utilizados en las experiencias.

Metodología

En Canarias y en Galicia el engorde de juveniles se realizó con parecida tecnología, utilizando en la primera tanques de 5.000 y 10.000 litros con circuito abierto, situados en las instalaciones de la empresa de cultivos marinos “Alevines y Doradas” en Castillo del Romeral (S de Gran Canaria), en donde se obtuvieron un total de 1.573 erizos con talla media de alrededor de 20 mm. En Galicia se pretendía utilizar el sistema chileno de cultivo de juveniles, en las instalaciones de la hatchery del CIMA en O Vicedo (Lugo), pero por dificultades administrativas, seguidas por las inherentes al propio proyecto, no fue posible su instalación, a pesar de haberse iniciado el cultivo en aquella localidad y llegar a mantener un cierto stock de juveniles.

En el Centro de Cultivos Marinos de Ribadeo se utilizaron tanques de 200 l y de 1.000 l de capacidad, para la fijación y engorde de juveniles, que fueron alimentados con macroalgas, consiguiendo buenas tasas de supervivencia, entregándose a las cofradías de pescadores para su siembra entre 2010 y 2012 un total de 49.000 erizos de 13-15 mm de talla.

Durante toda esta última etapa se realizaron muestreos biométricos periódicos para evaluar el crecimiento y conteos totales de individuos para evaluar la mortalidad.

En Asturias se utilizaron dos estructuras de engorde formadas por cajas apiladas y dispuestas en sentido horizontal o vertical y se testó la densidad óptima de cultivo. Los dos módulos, elevados 10cm del fondo para evitar la acumulación de desechos en las cajas, se colocaron en un tanque de 1000L con circuito abierto y aireación suministrada desde el fondo. Semanalmente se realizó una limpieza y renovación total del agua del tanque y se alimentó a los erizos *ad libitum* con la macroalga *Saccorhiza* sp., conservada en salazón.

Los dos experimentos, densidad de cultivo y orientación de la estructura, comenzaron en abril del 2011 y su duración fue de ocho semanas. La temperatura media del agua del tanque fue de $17,60 \pm 0,79^\circ\text{C}$. Al inicio y al final de los experimentos se determinó, con un calibre, el diámetro ($\pm 0,01\text{mm}$) y el peso ($\pm 0,01\text{g}$) de todos los ejemplares.

Para la determinación de los crecimientos se calculó la tasa de Crecimiento Lineal (TCL) y la Ganancia en peso (GP) para lo que se emplearon las siguientes fórmulas:

$$\text{TCL} = (D_f - D_i) / t$$

$$\text{GP} (\%) = ((W_f - W_i) / W_i) \times 100$$

En donde, D_i y D_f son los diámetros de caparazón iniciales y finales respectivamente (aportados en μm y mm); t el tiempo (en días y mes); W_i el peso inicial y W_f el peso final (g).

Al final del experimento se determinó la tasa de supervivencia (%) y el porcentaje (%) de erizos con lesiones, en el que caso de que las presentaran.

Actividad: Diseño, fabricación y ensayo de piensos artificiales

Antecedentes y justificación

El proyecto de gestión y cultivo de erizo de mar, en cuanto al diseño de piensos para el engorde, ha conseguido resultados interesantes en cuanto al crecimiento y supervivencia respecto a la alimentación con algas, pero que resultan inviables económicamente en procesos de engorde de larga duración. Por lo tanto, es preciso abaratar el coste de los piensos de engorde y determinar las épocas adecuadas de aportación al sistema de cultivo.

La dieta habitual de los erizos incluye especies de algas marinas que se desarrollan en su ambiente natural. No obstante, el uso de algas frescas no siempre es posible o rentable para su uso a una escala comercial. Además, estas algas pueden estar sometidas a variaciones estacionales en su composición nutricional, pudiendo variar su contenido en proteína según la concentración de nutrientes nitrogenados en el agua (Fujita, 1985).

En este sentido se han observado bajas tasas de desarrollo gonadal en *Paracentrotus lividus* atribuidas a los bajos niveles de proteína en su dieta natural a base de macroalgas (Fernandez y Boudouresque, 2000). Por lo tanto, al igual que ha ocurrido con otras especies en acuicultura el cultivo del erizo depende de la disponibilidad de una dieta comercial preparada debido a las numerosas ventajas que presenta: adecuado nivel de nutrientes, regularidad en el suministro y composición, fácil almacenamiento y distribución, manipulación mínima en la instalación, reducción del riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas, mejor consistencia, propiedades organolépticas, digestibilidad y conservación, así como menor impacto ambiental de las granjas.

En la tarea de desarrollo de dietas artificiales para juveniles, se elaboraron piensos para la fase de preengorde de ejemplares de 5 a 15 mm, en los que se dió preferencia al contenido proteico, incluyendo mayor cantidad de harina de pescado, y en los piensos de definición a la inclusión de pigmentos y algas marinas como complemento.

En el IMIDA se comprobó que el empleo del pimentón natural y sus concentrados en forma de oleorresinas a concentraciones de hasta el 1 % de la mezcla fueron apropiados para el proceso de elaboración del pienso extrusionado, conservando su textura y estabilidad en agua.

En la batea de la USC, partiendo de los datos obtenidos a lo largo de los casi cuatro años de cultivo, se estableció la evolución del diámetro con las diferentes dietas a las que fueron sometidos los erizos procedentes del medio natural. Las dietas de algas obtienen los mejores resultados, siendo la de *Laminaria* sp. la que mayor crecimiento produce. En todo caso, ninguna de las dietas permitió alcanzar la talla mínima comercial (55 mm), durante todo el periodo experimental.

Metodología

Se han diseñado piensos húmedos en la USC, tomando como base los piensos ya experimentados en el proyecto anterior y buscando el mejor resultado en crecimiento y supervivencia, pero con el objetivo principal de abaratar costes. Se utilizó como comparación la alimentación con algas. Los piensos húmedos diseñados servirán de base para preparar piensos secos (que realizó el grupo del IMIDA) que también fueron testados en batea. Las pruebas se realizaron durante seis meses y se modificaron los componentes en función de los mejores resultados obtenidos tanto en peso, supervivencia como en color y calidad de gónadas.

Los ingredientes empleados, especialmente los correspondientes a harinas de algas y algas frescas, vendrán definidos por su disponibilidad según las Comunidades Autónomas participantes.

Se testaron los piensos extrusionados elaborados, como alimento alternativo al uso de las macroalgas para evitar la dependencia de estas sobre todo en las épocas del año en que escasean.

Una vez establecidas las condiciones básicas para el funcionamiento del sistema de cultivo, se analizó el efecto del tipo y cantidad de alimento suministrado sobre el crecimiento somático y gonadal, la supervivencia y la calidad comercial del producto.

Para ello, y tras realizar una evaluación precisa de los requerimientos nutricionales básicos del erizo de mar común (contenido óptimo de proteína y otros macronutrientes necesarios en el alimento), se procedió a realizar ensayos con distintas dietas artificiales desarrolladas con formulaciones de piensos energéticos así como distintos aditivos alimentarios funcionales para la mejora de la calidad de la gónada desde el punto de vista de su producción para consumo humano como producto tipo “delicatessen”.

La alimentación se realizó en periodos de dos meses, con grupos de 30 individuos de talla comercial extraídos del medio natural, con determinación de las condiciones de la gónada (textura, color, índice gonadal y sabor) cada mes en diez erizos como mínimo. Se compararon con erizos mantenidos en las mismas condiciones y alimentados con algas, así como con erizos del medio natural extraídos de la misma zona de procedencia. Cada dos meses se introdujeron nuevos grupos del medio natural y se probaron seis piensos diseñados. Con este sistema se pretende tener una referencia del éxito de los piensos sobre el incremento y calidad de las gónadas, así como el tiempo que tarda en recuperarse después de la puesta, todo ello con la visión del proceso evolutivo gonadal que se produce a lo largo del año.

Actividad: Bioenergética

Se determinó el consumo de oxígeno y la concentración crítica de oxígeno del erizo en distintas condiciones de alimentación y temperatura.

Antecedentes y justificación

Para el desarrollo del cultivo de nuevas especies es importante modelizar los procesos biológicos que influyen en su proceso de producción, permitiendo una gestión y planificación adecuada. Puesto que el oxígeno es el gas más importante en la calidad biótica de las aguas de cría y es fundamental para la respiración de los organismos acuáticos, es interesante conocer los niveles adecuados de oxígeno y comprobar la influencia de variables como la temperatura o el tamaño de los animales (Frederich y Portner, 2000; Cerezo Valverde y García García, 2004, 2005). En este sentido cabe destacar que la respuesta del consumo de

oxígeno al descenso del oxígeno disuelto permite dividir a las especies en dos grandes grupos. Por un lado los reguladores, capaces de mantener una tasa de consumo de oxígeno constante a lo largo de un amplio rango de concentración de oxígeno, hasta alcanzar un nivel crítico, siendo éste de especial interés para el acuicultor por indicar el establecimiento del metabolismo anaerobio y la producción de metabolitos tóxicos. Por otro lado, los conformistas, muestran un consumo de oxígeno dependiente de los valores externos inmediatamente por debajo del nivel de saturación. Este comportamiento respiratorio puede jugar un papel fundamental en la rentabilidad del cultivo.

Diferentes especies de erizo como *Strongylocentrotus nudus*, *S. purpuratus* y *Patiria pectinifera* han mostrado un comportamiento regulador, si bien los rangos de independencia respiratoria son muy variables y pueden estar comprendidos entre el 15 y 60 % de saturación de oxígeno (Webster y Giese, 1975; Ryabushko et al., 1980). También se ha descrito una elevada sensibilidad a la hipoxia en el erizo, de forma que algunas especies no consiguen sobrevivir en los días posteriores después de una exposición por debajo de 80 mmHg durante una o dos horas. Otros autores como Siikavuopio et al. (2007) describieron un efecto negativo de la hipoxia (4-6 mgO₂/l) sobre la ingesta y el crecimiento gonadal del erizo en comparación con animales en condiciones normoxicas de 9,5 mgO₂/l. En el caso concreto de *Paracentrotus lividus* la determinación del rango de independencia respiratoria resulta de especial interés debido a que es una especie de amplia distribución que se puede encontrar en un amplio rango de temperaturas (8-28°C).

El consumo de oxígeno puede ser de utilidad para estimar, con la concentración adecuada de oxígeno, el aporte de agua a una instalación, así como los requerimientos energéticos de la especie mediante el uso de coeficientes oxalóricos. No obstante, el consumo de oxígeno en los equinodermos es altamente variable, y está influenciado no sólo por la concentración de oxígeno, sino por factores como el peso, la temperatura o la alimentación (Ulbricht y Pritchard, 1972; Webster y Giese, 1975; Siikavuopio et al., 2008).

En la línea de Bioenergética se han llevado a cabo los registros de consumo de oxígeno con alimentación y la respuesta del consumo de oxígeno a la hipoxia progresiva correspondientes al invierno (15-17,5°C). Se analizaron conjuntamente los datos obtenidos correspondientes a las cuatro estaciones del año.

El consumo de oxígeno en rutina osciló entre 18,4 y 21,1 mgO₂/Kg/h, incrementando entre 3 y 3,4 veces (56,7-64,1 mgO₂/Kg/h) como consecuencia de la alimentación.

Metodología

Animales de experimentación: procedencia y mantenimiento

Se emplearon ejemplares de erizo de mar *Paracentrotus lividus* obtenidos en la zona costera de Murcia. El transporte se llevó a cabo en neveras con agua de mar

aireada y mediante sistemas de transporte refrigerados para mantener constante la temperatura del agua.

A su llegada, los animales se alojaron en tanques circulares de 480 l mantenidos en sistema de recirculación de agua con control de la temperatura, lámpara UV y sistemas de filtración mecánica y biológica. Durante el período de adaptación el fotoperíodo ha sido el natural para la zona geográfica (37° 50' N, 0° 46' W), temperatura entre 17 y 20°C, oxígeno superior al 80 % de saturación, salinidad 37 ‰, pH entre 7 y 8, y nitrógeno amoniacal total (TAN) inferior a 0,2 mg/l. Los animales se alimentaron dos veces por semana a saciedad con algas frescas o descongeladas de diferentes especies (Ulva, Laminaria, Cymodocea, Corallina...).

Diseño experimental

La semana previa al inicio de las medidas los animales ayunan y se pesan, desechando los animales con daños aparentes. Las medidas para cada peso y temperatura se llevaron a cabo por triplicado y durante dos semanas, una primera con alimentación y suministrando dos tomas de alimento a saciedad (Martes y Viernes) a base de algas frescas o descongeladas, y una segunda semana en ayunas. El registro de los datos se inició a las 9:00 h A.M. del primer día (Lunes), suministrando el alimento al día siguiente a la misma hora. El alimento sobrante se recogió antes de suministrar la toma siguiente (Viernes, 1ª semana) o al final del período de medida con alimentación (Martes, 2ª semana).

Tanto el alimento suministrado como sobrante se pesó para el cálculo de las tasas de alimentación absoluta diaria (TAA_d) y semanal (TAA_s), así como relativa al peso corporal (TAR) de acuerdo con las ecuaciones:

-TAA_d (g/día/erizo) = (Alimento suministrado a la semana-Alimento sobrante a la semana) / (Nº ejemplares en el respirómetro* 7)

-TAA_s (g/semana/erizo) = (Alimento suministrado a la semana-Alimento sobrante a la semana) / (Nº ejemplares en el respirómetro)

-TAR (%/semana/erizo) = (TAA_s/Peso Medio)*100

Respirometría

Las medidas de consumo de oxígeno se llevaron a cabo en acuarios-respirómetros de entre 60 y 180 l de capacidad, según el tamaño de los ejemplares, y aplicando un flujo discontinuo de agua. La entrada de agua estuvo regulada por una electroválvula (Cepex, Valpes-Valve Control System, Modelo L 20, Tipo J2) programada con un reloj que permitió la entrada de agua durante 15 minutos cada ciclo de 2 horas. De esta forma se evita que el oxígeno descienda por debajo del 70 % de saturación y que pueda ser un factor limitante en el consumo de oxígeno (Webster y Giese, 1975; Ryabushko et al., 1980). La mezcla de agua en el interior del respirómetro se aseguró dirigiendo el flujo de agua de entrada desde la zona superior hacia el desagüe situado en la zona inferior del

lado opuesto del respirómetro, así como mediante una bomba de agua permanentemente conectada. Posteriormente, el flujo de entrada de agua se detiene, dejando 15 minutos para alcanzar unas condiciones homogéneas en el interior del respirómetro y dejando los 90 minutos restantes del ciclo de dos horas para medir la disminución de la concentración de oxígeno (45 minutos por medida). Cada respirómetro estuvo cubierto por una lámina de plástico flotante que se adaptaba al volumen existente para evitar del intercambio de oxígeno atmosférico. No obstante, la posible transferencia de oxígeno a través del plástico así como la demanda biológica de oxígeno fueron corregidas mediante un respirómetro control sin animales.

Dentro de cada respirómetro se instaló una sonda de oxígeno y temperatura para medición en continuo (Sensor Oxígeno por luminiscencia LDO, Hach Lange), conectados a su vez a un monitor de registro de datos (Display de controlador SC1000, Hach Lange). Posteriormente, los valores de oxígeno y temperatura se descargaron directamente al PC para tratamiento de los datos.

Parámetros calculados

El consumo de oxígeno se representa en función del tiempo para cada respirómetro y los siguientes parámetros fueron calculados:

-CO: Consumo de oxígeno individual por hora en mgO_2/h , obtenido a partir de la fórmula:

$$CO = \frac{([O_2]_{t_1} - [O_2]_{t_2}) * V}{t * N},$$

donde $([O_2]_{t_1} - [O_2]_{t_2})$ es la diferencia en las concentraciones de oxígeno (mgO_2/l) en el período de tiempo considerado, V es el volumen del respirómetro expresado en litros, t la duración del período (horas) en el cual el consumo de oxígeno ha sido medido y N el número de ejemplares por respirómetro. A estos valores se les sustraerá el consumo de oxígeno obtenido simultáneamente en respirómetros control sin animales para compensar la demanda biológica de oxígeno.

-COE: Consumo de oxígeno específico por hora en $\text{mgO}_2/\text{Kg/h}$, obtenido a partir de la fórmula:

$$COE = \frac{([O_2]_{t_1} - [O_2]_{t_2}) * V}{t * B},$$

donde $([O_2]_{t_1} - [O_2]_{t_2})$ es la diferencia en las concentraciones de oxígeno (mg/l) en el período de tiempo considerado, V es el volumen del respirómetro expresado en litros, t la duración del período (horas) en el cual el consumo de oxígeno ha sido medido y B es la biomasa en Kg.

-COR: Consumo de oxígeno de rutina, definido como el valor medio de CO durante la segunda semana de medida (ayunas). Representa una estimación del gasto energético necesario para el metabolismo estándar y la actividad espontánea.

-COAM: Consumo de oxígeno con alimentación, definido como el valor medio de CO registrado durante la primera semana de medida (alimentación).

-COAMAX: Es el valor máximo de CO registrado mientras dura el efecto de la alimentación.

-TPCOA: Tiempo que transcurre desde la primera toma de alimento hasta que se alcanza el pico máximo de consumo de oxígeno.

-DICOA: Duración del incremento del CO sobre el valor de rutina expresado en horas. Se tendrá en cuenta sólo la primera toma de alimento.

-IEA: Es el incremento metabólico debido al efecto de la alimentación y es equivalente a la relación entre el consumo máximo registrado y el nivel de rutina (COAMAX/COR).

-CORdía : Consumo de oxígeno medio entre la salida y la puesta de sol (fase de luz) durante la segunda semana de medida.

-CORnoche: Consumo de oxígeno medio entre la puesta y la salida del sol (fase de oscuridad) durante la segunda semana de medida.

Análisis de los datos

Los valores de consumo de oxígeno se ajustaron mediante el análisis de regresión múltiple a un modelo general adaptado de otros trabajos del campo de la acuicultura (García García, 1994; Liu et al., 1998; Aguado y García García, 2002): $CO = a + bP + cT + dT^2 + eTP + fF$, donde CO es el consumo de oxígeno individual expresado en mgO₂/h, P es el peso corporal en Kg, T es la temperatura en °C, y F la fase del día (0 = día; 1= noche). Los valores de a, b, c, d, e y f representan los coeficientes de la ecuación. El ajuste se llevó a cabo tanto con las variables transformadas en logaritmos neperianos como sin transformar, valorando el ajuste de los datos mediante el coeficiente de determinación ajustado ($R^2_{adj.}$), significación de la ecuación (ANOVA), error estándar de la estimación (SEE) y significación de los coeficientes (t-Student). Aquellas variables con coeficientes no significativos fueron descartadas del modelo general, procediendo a generar una nueva ecuación con las variables que presentaron coeficientes significativos. Se estableció un nivel de significación $P < 0.05$.

Las raciones de alimento medias estuvieron comprendidas entre el 1,3 % a 17,6°C y 0,9 % a 27,5°C de la biomasa total, detectándose un efecto negativo y significativo de la temperatura.

El hecho de que los mayores valores de consumo de oxígeno (COR y COAMAX) se hayan registrado a 21°C sugiere que temperaturas por encima de 24 °C podrían estar dificultando la obtención de oxígeno por parte del erizo. También podrían estar relacionados con las menores raciones de alimento ingeridas a temperaturas elevadas. Puesto que en otras especies la temperatura óptima de crecimiento y aprovechamiento nutritivo es ligeramente inferior respecto del valor donde se detecta el mayor consumo de oxígeno, estos resultados sugieren que la temperatura óptima para el erizo podría estar en torno a 19-20°C.

En dos de las tres réplicas correspondientes al invierno se observó un comportamiento respiratorio regulador, con concentraciones críticas de oxígeno del 52,0 % (4,04 mgO₂/l; 15,9°C) y 50,6 % (3,97 mgO₂/l; 14,9°C). En la tercera réplica no fue posible establecer una concentración crítica de oxígeno aproximándose más a un comportamiento conformista. En este caso el consumo de oxígeno disminuyó inmediatamente por debajo del 100 % de saturación de oxígeno.

Considerando todos los ensayos realizados, el comportamiento habitual detectado a menos de 18 °C es de tipo regulador, con concentraciones críticas entre 34,7 y 54,6 % (2,6 y 4,2 mgO₂/l) y un valor medio del 47,8±7,0 % (3,6±0,6 mgO₂/l). Por encima de 18°C en cinco de los seis ensayos realizados se observó un comportamiento respiratorio conformista, sin capacidad de regular el consumo de oxígeno. En base a los resultados obtenidos se puede considerar que temperaturas superiores a 21°C no son apropiadas para el mantenimiento de la especie, coincidiendo estos resultados con los derivados de los registros de consumo de oxígeno con alimentación.

El consumo de oxígeno de rutina para ejemplares adultos de erizo (>55 mm; 17,6-27,5°C) estuvo comprendido entre 19 y 29 mgO₂/Kg/h. Los valores medios mientras dura el efecto de la alimentación oscilaron entre 42 y 56 mgO₂/Kg/h, con picos máximos entre 60 y 71 mgO₂/Kg/h.

El consumo de oxígeno en el erizo se ajusta a una función parabólica en función de la temperatura con un máximo a 22°C. Las menores raciones de alimentación y el descenso del consumo de oxígeno por encima de esta temperatura sugieren temperaturas óptimas inferiores para esta especie.

La alimentación provocó un incremento máximo en el consumo de oxígeno entre 2,5 y 3,2 veces el valor de rutina, alcanzándose éste entre 27 y 43 h después de suministrar la ración. La duración del efecto de la alimentación sobre el consumo de oxígeno se situó entre 55 (21°C) y 69 h (17°C).

Línea 3: Finalización del producto

Antecedentes y justificación

El valor comercial del producto reside en la calidad de sus gónadas, jugando un papel importante su tamaño, color y textura. La condición de la gónada varía a lo

largo del año y entre las diferentes poblaciones naturales, existiendo bancos de erizo que presentan una baja condición y una decoloración gonadal, es decir, un bajo rendimiento comercial.

En el erizo de mar *Loxechinus albus* (Molina, 1792) se han desarrollado dietas artificiales que pueden conseguir un incremento de gónadas hasta un 15% de rendimiento promedio partiendo de erizos con un rendimiento promedio del 8%, época en la que han desovado, en sólo 45 días de alimentación. Además, en este mismo erizo, se consigue el cambio de coloración en 3 meses de alimentación.

Se pretenden formular dietas energéticas de afinado que mejoren la condición, textura y color de las gónadas de los erizos previo a su comercialización. Estas dietas suministradas durante periodos cortos de tiempo posibilitarían la mejora de la calidad de aquellos erizos que debido a las zonas en las que se han desarrollado presentan una baja condición y no resulta económicamente rentable su comercialización.

De esta forma, se podrá finalizar el engorde de individuos criados en mar abierto y alimentados de forma natural (algas) en instalaciones en tierra en condiciones controladas suministrándoles piensos con compuestos artificiales formulados especialmente para darle a las gónadas mayor peso y volumen, además del mejor color y texturas posibles.

Asimismo, esta estrategia de acabado del producto conlleva la posibilidad de poder producir gónada de valor comercial fuera de temporada siempre que el animal sea sensible y reaccione adecuadamente a unas determinadas condiciones artificiales de temperatura y fotoperiodo idóneas.

Actividad. Elaboración de piensos y formulación de dietas energéticas de afinado que mejoren la condición, textura y color de las gónadas de los erizos previamente a su comercialización.

Estas dietas suministradas durante periodos cortos de tiempo posibilitan la mejora de la calidad de aquellos erizos que debido a las zonas en las que se han desarrollado presentan una baja condición y no resulta económicamente rentable su comercialización. El desarrollo de dietas artificiales para optimizar la calidad comercial de las gónadas de erizo permite la obtención de erizos con un alto índice de condición fuera de la época de consumo natural del año.

La dieta se debe ajustar a los requerimientos de la especie en su etapa adulta, talla comercial, que presentan una prioridad de la producción gonadal frente a la prioridad en crecimiento somático que presentan los juveniles. Además el color de las gónadas es un importante valor comercial, por lo que las dietas deben presentar un contenido en pigmentos adecuado.

Hasta la fecha, gran parte de las investigaciones en este sentido se han centrado en la formulación de piensos con el propósito de optimizar la producción gonadal, influyendo tanto el tipo de harina, fuente de proteína o concentración y tipo de pigmentos empleados (Robinson y Colborne, 1997; Barker et al., 1998; Shpigel et

al., 2006). No obstante, a pesar de que el uso de piensos formulados para distintas especies de erizos ha sido exitoso en cuanto a crecimiento gonadal y aceptabilidad, los resultados en cuanto a color o palatabilidad no han sido satisfactorios.

El porcentaje de gónadas con color aceptable se ha correlacionado positivamente con la concentración de β -caroteno de origen dietario, sin embargo, los pigmentos que no se encuentran habitualmente en su dieta no parecen acumularse en las gónadas. Los principales carotenoides descritos en las gónadas de los erizos han sido además del β -caroteno, el α -caroteno, luteína, β -equinona, zeaxantina, cantaxantina, astaxantina, fucoxantina, alloxantina y diatoxantina (Tsushima and Matsuno, 1990). Por otra parte, las dietas mixtas de algas y dietas formuladas han dado resultados satisfactorios (Shpigel et al., 2005). En cuanto a la composición de la dieta, la cantidad de proteína y carbohidratos se ha correlacionado positivamente con el contenido de estos nutrientes en la gónada, sin embargo no ha ocurrido así con el contenido en lípidos de la dieta (Hammer et al., 2006). Puesto que en el erizo la proteína y los carbohidratos son los principales componentes de la gónada (10 y 16 % en peso fresco, respectivamente) deben jugar un papel clave en la formulación de los piensos.

Otro aspecto importante a tener en cuenta es la estabilidad del pienso suministrado. Los erizos son organismos que pastan o raspan las superficies rocosas y un alimento que se disgrega fácilmente en el agua no sería apropiado. Por lo tanto, no sólo es importante obtener un pienso que sea aceptado e ingerido, sino que debe ser estable en agua durante largos periodos de tiempo. En este sentido, Pearce et al. (2002) llevaron a cabo experiencias empleando aglomerantes como gelatina, goma guar, alginato de sodio o almidón de maíz, representando concentraciones finales en el pienso del 3 al 5 %. La mayor estabilidad de los piensos en agua así como los mejores rendimientos en la producción de gónadas se obtuvieron empleando gelatina, sin que se observaran diferencias en la concentración empleada del aglomerante. Todos los piensos elaborados produjeron un color cremoso o apagado de las gónadas, con excepción del elaborado con almidón de maíz que presentó un color más intenso. Estos resultados contrastaron con los colores anaranjados de las gónadas de los erizos alimentados con *Laminaria*.

Por lo tanto, la composición nutricional y calidad de las gónadas de erizo dependen en gran medida de las características de la dieta suministrada, por ello, la optimización de los piensos para esta especie es un factor clave en el desarrollo de su cultivo a escala comercial. Este aspecto puede ser de especial relevancia en las fases previas a su comercialización, donde el suministro de un pienso de mejora o acabado podría aumentar la calidad del producto.

En el cultivo en batea, para el diseño de las cajas que deberán contener los erizos, así como para el sistema de anclaje de las mismas para formar columnas, se tuvo en cuenta la posibilidad de modificar cajas ya comercializadas, con el fin de abaratar el proceso en el caso de una explotación industrial en batea. Por otra parte, se tuvo en cuenta la manejabilidad de las mismas, especialmente para

formar columnas que puedan ser manejadas por una sola persona, y la facilidad de apertura de las cajas para facilitar la carga y alimentación de los erizos.

Se realizaron 3 experiencias de dos meses cada una (desde el 10-7-2012 al 11-1-2013), Cada una de las experiencias consistió en el uso de 36 cajas dispuestas en una columna sencilla de 12 cajas (columna 1) y una columna doble (columna 2) de 24 cajas (para el estudio piloto), todas ellas alimentadas con la dieta 4C elaborada en nuestro laboratorio y probada en experiencias anteriores (dieta MR 4C). El número de erizos (*P. lividus* con diámetro superior a 55 mm) en cada caja fue igual en cada una de las experiencias, pero diferente entre ellas. En la primera experiencia se utilizaron 24 ejemplares por caja, en la segunda 18 y en la tercera 16. Los erizos de la primera experiencia fueron obtenidos de la zona de Cabeiro (Porto do Son), mientras que los de la segunda y tercera experiencia se obtuvieron de la zona de Lira (entre Illas Forcadas y Miñarzos). Los erizos fueron estabulados en las diferentes columnas de cajas y suspendidas, a partir de 5 metros de profundidad, en una batea experimental de la USC situada en la ría de Muros-Noia.

Los grupos experimentales se mantienen un máximo de dos meses, determinándose el IG y la coloración de las gónadas al inicio del experimento (medio natural) y después de uno y dos meses (erizos confinados y muestras del medio natural). El porcentaje del IG o índice gonadal fue calculado como: $\text{Peso gónada} \times 100 / \text{Peso fresco total}$. La coloración de las gónadas se determinó utilizando 4 tramos de colores:

1. Colores negro a castaño oscuro.
2. Colores crema y castaño claro.
3. Naranja claro y rojizo.
4. Naranja oscuro y coral.

Metodología

Se utilizaron directamente piensos fabricados mediante cocción-extrusión, procedimiento que asegura una completa gelatinización de los almidones y que garantiza una correcta aglomeración y estabilidad del pienso en el agua. Los piensos formulados contienen los ingredientes comerciales o naturales que reflejan un perfil nutricional más apropiado a las necesidades del erizo, prestando especial interés en cuanto a la proteína, hidratos de carbono y pigmentos como los carotenoides. Además de las materias primas empleadas se utilizaron los aglomerantes que han dado buenos resultados de estabilidad en el agua en anteriores ensayos, como la maltodextrina y las gelatinas.

La estabilidad de los piensos en agua se valorará determinando el peso de cinco muestras de 10 g de pienso antes y después de introducirlas en agua durante 24, 48, 72 y 96 horas. Con los datos obtenidos se calcularán para cada uno de los piensos y tiempo de inmersión los valores medios de las cinco muestras para los dos índices siguientes:

VP (%) = $(P_f - P_i) / P_i \cdot 100$, que expresa la variación del peso del pienso en porcentaje después de sumergirlo en el agua, y donde P_i y P_f representan el peso de la muestra de pienso antes y después de sumergirlo, respectivamente.

$F = P_i / P_f$, que representa un factor de corrección. El peso del pienso no ingerido será multiplicado por este factor de corrección para tener en cuenta la absorción de agua o la disgregación con el fin de estimar el cambio en el peso.

Dentro de la línea de Finalización del producto, en la tarea de elaboración de piensos y formulación de dietas energéticas de afinado se han elaborado 9 piensos extrusionados con distintos contenidos y tipos de colorantes para ser suministrados como dieta de finalización en la fase final del engorde del erizo. Cuatro piensos se enviaron al Centro de Experimentación Pesquera (Asturias), uno base sin colorante y otros tres con contenido similar en oleorresina de pimentón (0,5 %) pero con distintas intensidades de color (40.000, 80.000 y 100.000 unidades de color). Otros tres piensos con contenido creciente en colorante natural (pimentón 100 UIC a concentraciones de 0, 0,5 y 1% del pienso) se enviaron al Servicio de Desarrollo Pesquero (Granada). Los dos piensos restantes se enviaron al Departamento de Bioquímica y Biología Molecular (Universidad de Santiago de Compostela) y consistían en un pienso base sin colorante y otro con un 0,5 % de oleorresina OR 40.000 unidades de color.

Tabla pienso base Andalucía. Composición porcentual propuesta para dietas de preengorde y definición en el erizo.

Ingredientes	Dieta preengorde	Dieta de definición
Harinas vegetales terrestres (soja, maíz, guisante, trigo)	50.00	50.00
Harinas vegetales marinas (algas)	15.00	15.00
Harinas de origen animal (pescado, krill...)	20.00	10.00
Algas marinas (Laminaria, Ulva...)	0.00	10.00
Almidones (maíz, trigo), maltodextrinas	5.00	5.00
Aceite de pescado	1.00	0.99
Aceites vegetales (maíz, girasol)	2.00	2.00
Lecitinas	1.00	1.00
Colesterol	0.50	0.50
Fosfato dicálcico	1.50	1.50
Mineral mix	0.50	0.50
Vitamin mix	0.50	0.50
Pigmentos (carotenos)	0.00	0.01
Gelatina	3.00	3.00
Total	100	100

Los piensos artificiales que han sido ensayados en Andalucía, producen una mejora sustancial del índice gonadosomático como de la coloración gonadal en *Paracentrotus lividus*, en comparación con aquellos a los que se les ha suministrado una alimentación de tipo natural a base de macroalgas.

El tiempo idóneo para optimizar el proceso de finalizado, ha sido de dos meses.

El uso de piensos artificiales enriquecidos con xantofilas alimentarias tales como astaxantina sintética capsantina natural, produce una mejora en la calidad comercial del color gonadal de *P. lividus*.

La calidad comercial de *P. lividus* aumenta significativamente mediante el uso de piensos extrusionados para su finalizado.

La capsantina parece especialmente eficaz en la mejora de la coloración gonadal de los machos. Especialmente en forma de oleorresina.

Actividad. Evaluar la composición nutritiva del erizo durante el período óptimo de desarrollo.

Se ha evaluado la composición nutritiva (macronutrientes, clases de lípidos, minerales y glucógeno) del erizo durante el de desarrollo gonadal en distintas zonas geográficas: Asturias (Cantábrico), Cádiz (Atlántico) y Murcia (Mediterráneo).

Antecedentes y justificación

Para ser considerado un producto de elevada calidad, las gónadas de erizo deben contener pocos gametos maduros, tener una textura firme y un color brillante amarillo-anaranjado. El ciclo reproductivo del erizo comienza con la acumulación de nutrientes en las gónadas, una transferencia posterior de éstos hacia las células gametogénicas, almacenamiento de gametos y posterior freza, siendo el momento óptimo para la recolección de los ejemplares al final del primer período o de almacén de nutrientes (desde finales de otoño hasta invierno). El patrón general suele ser: un fuerte desarrollo gonadal en invierno con los meses más fríos y el acortamiento del fotoperíodo, desove en primavera, moderado desarrollo gonadal en verano y otoño, y finalmente una freza otoñal (Shpigel et al., 2004). No obstante, no se descarta la posibilidad de diferencias en los períodos de maduración y puesta según la zona geográfica, habiéndose descrito un único periodo de puesta en Galicia (Montero Torreiro y García Martínez, 2003), uno o dos períodos en Irlanda (Willis, 1976) y dos períodos bien diferenciados en el Mediterráneo (Regis, 1979).

Metodología

Se llevaron a cabo análisis bioquímicos para conocer la calidad nutricional del erizo en distintas zonas geográficas y en ejemplares de talla comercial (>55 mm). Las muestras procedieron de las zonas costeras de Asturias, Cádiz y Murcia, recolectando los ejemplares en los períodos óptimos de desarrollo gonadal. Las muestras procedentes de Asturias y Cádiz se recogieron en invierno y las de Murcia en las cuatro estaciones del año, puesto que es una zona donde aún no hay consumo habitual de esta especie y se pretende describir con más precisión la época apropiada para su recolección. Para esta tarea se llevó a cabo una recolección de 30 ejemplares por zona geográfica, se pesaron y se midieron, y posteriormente se diseccionaron. Las gónadas se extrajeron y se secaron con papel absorbente para eliminar el agua residual, pesándose y calculándose el índice gonadosomático (IGS) como sigue:

$IGS = (\text{Peso gónada} / \text{Peso total del erizo}) * 100$

Las gónadas obtenidas se trituraron y homogeneizaron antes de ser envasadas al vacío, congeladas y enviadas al IMIDA, centro encargado de llevar a cabo los análisis bioquímicos. Puesto que desde un punto de vista comercial las gónadas masculinas y femeninas no se diferencian, ambas se mezclaron conjuntamente para los análisis.

Dentro de la línea de finalización del producto y composición nutritiva se han realizado las analíticas correspondientes a las clases lipídicas y minerales de las CCAA de Asturias y Murcia en las estaciones de primavera, verano y otoño, además del contenido en carbohidratos totales en las cuatro estaciones del año. Además, se ha llevado a cabo un análisis integrado de todos los parámetros bioquímicos (macronutrientes, clases lipídicas, minerales y carbohidratos totales) mediante el análisis de componentes principales para caracterizar las diferencias entre CCAA y las distintas estaciones del año.

Macronutrientes

Humedad: Mediante estufa de desecación a $105 \pm 1^\circ\text{C}$ hasta peso constante. (AOAC, 1997; Método nº. 930.15).

Grasa bruta: Se determinó mediante extracción con éter etílico en un extractor SOXTEC AVANTI 2058 (AOAC, 1997; Método nº 920.39).

Minerales totales: Por incineración en horno Mufra a $450 \pm 2^\circ\text{C}$ hasta peso constante (AOAC, 1997; Método nº 942.05).

Proteína bruta: Se determinó por el método de Kjeldahl, utilizando un catalizador comercial. Para la transformación del nitrógeno en proteína se utilizó el factor 6,25. (AOAC, 1997; Método nº. 954.01).

Clases de lípidos

En primer lugar se realizó la extracción de grasa de la muestra mediante la técnica de Folch et al. (1957). Se coge la suficiente cantidad de muestra para obtener al menos 10 mg de grasa, que vendrá definida por los resultados de los análisis de macronutrientes. Según Shpigel et al (2004) el contenido lipídico de las gónadas de *Paracentrotus lividus* oscila entre el 4 y 6 % en peso fresco, por lo que harían falta unos 0.20-0.25 g de muestra para este análisis. La muestra se coloca en un tubo de ensayo al que se le añaden 8 ml de cloroformo-metanol (1:1). A continuación se agita el tubo en el vórtex durante al menos 1 minuto para asegurar la máxima extracción de grasa. El tubo se cierra mediante un tapón de rosca con fondo de teflón y se pone al baño María (60°C) durante 20 minutos. Transcurrido este tiempo se le añade a cada tubo 4 ml de cloroformo para que la disolución adquiera una proporción 2:1 de cloroformo-metanol. Se agita de nuevo en el vórtex antes de filtrar el contenido mediante un papel de filtro Wathman nº 6. Al tubo y al embudo se les realizan 2 o 3 lavados con una mezcla de cloroformo-

metanol 2:1. A continuación al líquido filtrado, se le añaden 4 ml de KCl (0,1 M) y se tapaná con parafilm para dejarlo reposar 8 horas a 4° C. Con ello, la mezcla se estratifica en tres capas: una capa de KCl que, por ósmosis, atrae el agua y los solutos hidrosolubles de los tejidos, una segunda capa de oligopéptidos y una tercera con los lípidos. Con una pipeta Pasteur acoplada a una trompa de vacío se eliminan las capas de KCl y de oligopéptidos, así como las gotas que hubieran quedado en las paredes del tubo. La capa restante se filtra mediante un embudo de papel de filtro con 1-1,5 g de sulfato sódico anhidro. El tubo se lava 2-3 veces con cloroformo-metanol 2:1. Una vez obtenida la grasa se añade 1 ml de hexano con BHT y se conservan las muestras en una atmósfera de N₂ a -80°C.

La separación de las clases lipídicas se realizó por cromatografía de capa fina de alta resolución (HPTLC) y las manchas resultantes (fosfolípidos, ácidos grasos libres, triglicéridos y ésteres de colesterol) se leyeron mediante un densitómetro, de acuerdo con Olsen y Henderson (1989).

Para ello primero se secan las muestras con N₂ y se les añade un volumen específico de cloroformo: metanol (2:1) para obtener una concentración de 10 mg/ml. Se usan placas de gel de sílice de HPTLC 10 x 10 cm y 20 x 10 cm (Merck). Las placas son sometidas a un pretratamiento con cloroformo: metanol (2:1). Tras esto, las placas se cargan con 1,5 µl de la muestra (15 µg de lípidos totales) con un autoinyector (Linomat 5, CAMAG). Las placas primero se desarrollan hasta la mitad con la solución de lípidos polares (LP: isopropanol, cloroformo, metilacetato, metanol, KCl 0,25% (5:5:5:2:1,8)) y después hasta el final con la solución de lípidos neutros (LN: hexano, éter, ácido acético (20:5:0,5)). Las bandas de las distintas clases lipídicas se visualizan con una mezcla de acetato de cobre (3% p/v) en 8% (v/v) ácido ortofosfórico, y se colocan en la estufa a 160°C durante 15 minutos. Después de sacarlas de la estufa se dejan enfriar en un desecador en oscuridad. Finalmente se realiza la lectura en el densitómetro, con un scanner TLC 3 (CAMAG) a una longitud de onda de 254 nm.

Los triglicéridos fueron la clase lipídica predominante (28,4-45,3 % del total de lípidos) en las cuatro estaciones del año en la CCAA de Murcia. Existió un predominio de los lípidos neutros o de reserva (69-77 %) sobre los polares en invierno y primavera, siendo los porcentajes similares en verano y otoño. En Asturias los triglicéridos fueron la clase predominante en verano (20 %), otoño (31 %) e invierno (29 %) y el colesterol en primavera (36 %). Existió un predominio de los lípidos neutros o de reserva (64-75 %) sobre los polares en todas las estaciones exceptuando el verano, donde se observaron porcentajes similares.

Minerales específicos

Se determinó el contenido en macrominerales esenciales (Ca, K, Mg, Na y P) y microminerales esenciales (B, Cu, Fe, Mn y Zn), expresados en mg/Kg de peso seco y húmedo.

Para la determinación de los minerales específicos las muestras (5-6 g para muestras en fresco y 2 g para liofilizadas) se incineran en horno Mufla a 600 °C

para eliminar toda la materia orgánica, solubilizando los minerales posteriormente en ácido HCL 2N mediante ebullición (AOAC, 1997; Método nº 968.08). La muestra resultante se lleva hasta un volumen final de 200 ml con agua destilada. La detección de los minerales se lleva a cabo por espectrometría de emisión atómica por plasma acoplado inductivamente (ICP) utilizando cinco patrones para la recta de calibración de cada mineral. Las λ de máxima emisión seleccionadas serán las siguientes: B: 249.678, Ca: 445.478, Cu: 213.598, Fe: 238.204, K: 766.491, Mg: 280.270, Mn: 259.372, Na: 589.592, P: 213.618 y Zn: 213.857

El sodio fue el elemento mayoritario en invierno, primavera y otoño, y el fósforo en verano en la CCAA de Murcia. En invierno y primavera el hierro fue el micromineral predominante, seguido del zinc, invirtiéndose este patrón en verano y otoño. En Asturias el fósforo fue el elemento predominante en invierno y otoño, y el sodio en primavera y verano. El zinc fue el micromineral mayoritario en las cuatro estaciones.

Glucógeno

Se determinó usando el método del ácido fenol-sulfúrico después de poner la muestra en ebullición durante una hora en ácido sulfúrico 1 N durante una hora (Dubois et al., 1956). El color resultante se mide por espectrofotometría frente a un estándar de glucosa a 490 nm.

Los carbohidratos totales mostraron un patrón estacional marcado tanto en Murcia como en Asturias, detectándose los valores máximos en primavera (21,3 g/100 g peso seco) y verano (22,6 g/100 g peso seco) para la primera CCAA y otoño para la segunda (18,7 g/100 g peso seco).

Análisis sensorial de las huevas de erizo

Los atributos de calidad de los alimentos son medibles tanto de forma instrumental como sensorial. Sin embargo, no siempre existe una correlación entre ambos tipos de pruebas. La razón fundamental es que en las pruebas sensoriales hay una interacción individuo-alimento que no valora el instrumento y que da como resultado una percepción del parámetro a medir diferente.

La calidad de los productos del mar puede verse influenciada por múltiples factores tanto fisiológicos (edad, maduración sexual, etc.), como ambientales (temperatura, salinidad, presión, etc.) y por la dieta (ayuno, composición de la dieta, etc.). Un cambio en cualquiera de estos factores puede modificar tanto las características nutricionales como sensoriales del erizo. Pearce *et al.* (2002) han estudiado cómo se ve afectada la calidad de las gónadas del erizo. Observaron que mientras que el aspecto de las gónadas de los erizos salvajes, alimentados con algas y cultivados es similar, la firmeza y el sabor de los erizos alimentados con dietas artificiales son sensiblemente más pobres. También estudiaron el efecto de, tanto el tipo como concentración, de aglomerante en las dietas del erizo no obteniendo efectos significativos sobre el aspecto, firmeza o sabor de las gónadas del erizo. Sin embargo, el tipo de aglomerante influyó marcadamente

sobre el color de la gónada, siendo el almidón el que aportaba un color mejor. Todos los erizos alimentados con dietas artificiales tenían gónadas de un color cremoso o acaramelado, a diferencia de los animales salvajes o alimentados con algas que presentaban gónadas de un tono amarillo pálido o anaranjado.

A pesar de disponer de un panel de jueces entrenados, el análisis sensorial no pudo ser realizado debido a la reestructuración del proyecto.

Línea 4: Repoblación con juveniles de erizo obtenidos en criadero

Antecedentes y justificación

La repoblación, entendida como la liberación en el medio natural de ejemplares juveniles cultivados en explotaciones acuícolas, es uno de los medios utilizados para aumentar la producción y el valor de los ecosistemas acuáticos y restablecer las poblaciones de las especies sobreexplotadas y en peligro.

En los últimos años se viene produciendo un declive general de las pesquerías de muchas especies de interés comercial que se traduce en un descenso de sus desembarcos. El erizo de mar no es ajeno a esta problemática que se pone de manifiesto en los descensos de las capturas en la mayoría de los países productores debido a la sobreexplotación de sus poblaciones. Por ese motivo, la acuicultura se presenta como una alternativa para satisfacer la creciente demanda de producto y como una opción para reparar los daños provocados en el medio mediante la repoblación.

Uno de los objetivos del proyecto es la producción intensiva de juveniles en criadero destinados a la repoblación de zonas sobreexplotadas. Dentro del proyecto de Cultivo y gestión del erizo de mar, se han realizado repoblaciones experimentales con un reducido número de ejemplares, en donde sólo en una de las actuaciones los juveniles de erizo fueron marcados.

Los resultados han sido satisfactorios en cuanto a la validez del método, si bien se precisa seguir con nuevas repoblaciones con un número más elevado de ejemplares, y disponer de una serie de resultados de los seguimientos realizados con continuidad en el tiempo que nos permitan valorar la repercusión de este tipo de actuaciones.

Por otra parte, la evaluación del estado del recurso en nuestras costas (PN 2006-2008) ha permitido conocer la situación de los bancos naturales y la catalogación de zonas de repoblación.

Actividad. Diseño de sistemas de marcaje y métodos de control para las repoblaciones.

Para abordar este objetivo se dispuso de juveniles con un tamaño entre 10-30mm de diámetro que fueron liberados en zonas del medio natural con poblaciones de

erizo mermadas o desaparecidas. El marcaje de los juveniles demostró la posibilidad del seguimiento de las repoblaciones.

Metodología

Las zonas seleccionadas para llevar a cabo la repoblación fueron caracterizadas previamente en cuanto al sustrato y a la comunidad bentónica asociada. En el caso de existencia de poblaciones naturales asentadas en las zonas elegidas, éstas fueron muestreadas con objeto de conocer la distribución de tallas de la población natural.

Para acometer las repoblaciones se seleccionaron juveniles de erizo obtenidos en criadero pertenecientes a diferentes cohortes que presentaban una talla entre 10-30 mm. Inmediatamente antes de realizar la liberación de los juveniles en el medio natural, se determinó, el diámetro ($\pm 0,01$ mm) del caparazón sin considerar las púas y el peso húmedo total ($\pm 0,1$ g) de cada lote seleccionado para siembra.

Para poder discernir entre los juveniles repoblados de la población natural y realizar un seguimiento de las repoblaciones se requiere de la utilización de una técnica de marcaje. La marca empleada debe perdurar en el tiempo y no suponer un reclamo para los depredadores, pareciendo una marca interna la más adecuada en el experimento. El marcaje interno de los ejemplares consiste en la introducción por inyección de un alambre cifrado de 2 mm de longitud a través de la membrana peristomial del erizo mediante el equipo de marcaje MK-IV, Northwest Marine Technology. La talla óptima de los juveniles a los que se les somete al marcaje es igual o superior a 20mm de diámetro de caparazón. Se prevé también el uso de otro tipo de métodos de marcaje internos, como la tetraciclina, con objeto de comparar la efectividad de varios métodos.

A lo largo del proyecto se realizaron varias sesiones de marcaje de erizos destinados a repoblar bancos dañados o desaparecidos. La retención de la marca se comprobó en los días inmediatamente anteriores a la liberación de los juveniles por lo que varía entre sesiones.

Además, en algunos casos el tamaño de los erizos era muy variable, no alcanzando siempre la talla óptima de marcaje (≥ 15 mm). El marcaje de ejemplares menores de un año, con tallas de 10-15 mm, explica la menor tasa de retención obtenida (73,27%).

Considerando las cuatro sesiones de marcaje se obtuvo una media de retención de la marca de 75,68% a los cuarenta días de media del proceso de marcado. Estos datos confirman las conclusiones obtenidas en experiencias anteriores en las que se alcanzaban porcentajes de retención del 60% en juveniles < 15 mm y porcentajes superiores al 80% en erizos ≥ 15 mm. Se confirma asimismo que la técnica de marcaje es válida y eficaz en el marcaje de cientos de juveniles.

La realización de marcas en erizos presenta algunas dificultades intrínsecas que hace que no exista un método totalmente satisfactorio para este tipo de

organismos (Duggan y Miller, 2001). Se podrían diferenciar dos grandes grupo de marcadores:

- Marcadores externos: Etiquetas más o menos visibles desde el exterior unidas a las espinas, atadas al caparazón o incorporadas al erizo mediante pequeños orificios en el caparazón como son los implantes de plástico visibles (VIE). Presentan la ventaja de permitir el seguimiento visual, pero son muy invasivas y poco duraderas.
- Marcadores internos. Hay dos grupos diferenciados: 1) fragmentos de alambre codificados (o Coded Wire Tags - CWT) y microchips (o PITs - transmisores pasivos integrados). Se introducen a través de la membrana peristomial del erizo y se localizan con un detector de metales y 2) marcadores fluorescentes. Son fluorocromos que se unen a las estructuras óseas en la zona de calcificación, y que emiten en colores fluorescentes (dependiendo del fluorocromo) cuando se ve bajo luz azul o ultravioleta.

Estos últimos marcadores, los fluorocromos, cumplen ocho de los diez criterios descritos anteriormente mejor que las demás metodologías (Ellers y Jonhson, 2009), siendo así los marcadores que consideramos mas idóneos.

El marcaje con fluorocromos, tales como la tetraciclina y la calceina, es una valiosa herramienta para el seguimiento y control de las repoblaciones. Ambos fluorocromos, se usan desde hace décadas para el marcaje de animales marinos incluyendo peces, moluscos, equinodermos y gusanos nemertinos (Stricker, 1985; Stricker, 1985; Wilson et al., 1987; Day et al., 1995; Stewart, 1996; Kaehler y McQuaid, 1999; Purcell et al., 2006, Purcell y Simutoga, 2008). La USFDA (US Food and Drug Administration) permite su utilización para marcar animales destinados a consumo humano. La metodología óptima para su administración y la eficacia del marcaje varían entre taxones. En erizos de mar se han usado extensamente ambos, tetraciclina y calceina (Russell et al., 1998; Russell, 2000; Russell y Meredith, 2000; 18 estudios citados en Ebert 2001; Dumont et al., 2004; Russell y Urbaniak, 2004).

Únicamente, si se requieren marcas únicas o el reconocimiento de la marca externamente, es mejor utilizar marcadores físicos como los VIEs, PITs o CWTs (Haggen, 1996; Woods y James, 2005). Las marcas VIE y PIT tienen el inconveniente de que no se pueden usar en erizos menores de 25mm de diámetro (Ellers y Jonhson, 2009). De hecho, solo se pueden usar en juveniles de erizo los fragmentos de alambre codificados o CWTs y únicamente si el diámetro de los mismos supera los 15 mm (De la Uz et al., 2008).

Resumiendo, los métodos potenciales de monitoreo para las repoblaciones con juveniles de erizo pueden ser los marcadores químicos o fluorocromos o el marcadores físico CWT.

Marcaje con el fluorocromo tetraciclina

En esta primera experiencia de marcaje con fluorocromos se decidió usar la tetraciclina por ser el más empleado en la bibliografía, si bien en futuros experimentos no se descarta el empleo de otros fluorocromos como la calceína.

Para el marcaje con tetraciclina se inyectó a la mitad de los juveniles de ambos centros una solución de tetraciclina compuesta por 1 g de sustancia por cada 100 ml de agua de mar.

Marcaje con un fluorocromo diferente a la tetraciclina, la calceína

Después de la primera experiencia, abandonamos la investigación siguiente con el marcador CWT por resultar menos práctico y presentar una menor retención de marcas. Además, tenía el inconveniente de no poder usarse en ejemplares <15mm (De la Uz., 2008).

Decidimos continuar únicamente con los marcadores químicos. Sin embargo, en esta experiencia utilizamos calceína por varios motivos. La marca de la calceína tiene una fluorescencia más luminosa; en holoturias se ha demostrado que marca mayor proporción de espículas que la tetraciclina. Además, por ser un fluorocromo diferente al usado en la primera experiencia, se podría usar en la misma área de estudio. La dosis para inyección de calceína se expresa en mg Kg⁻¹ para ser comparable con la literatura de vertebrados. Nosotros hemos usado una dosis de 100 mg por Kg de peso. Esta dosis es la dosis máxima de calceína por inyección usada en equinodermos en otros estudios (11 a 100 mg .Kg⁻¹; Stewart 1996, Purcell 2006, Ellers and Johnson 2009).

Actividad. Seguimiento de las repoblaciones.

Para realizar el seguimiento de las repoblaciones, en los días sucesivos a éstas se realizaron inmersiones para comprobar el estado de las zonas repobladas y el asentamiento de los juveniles.

En cada día de muestreo, se extrajo de la zona una muestra de los juveniles de erizo repoblados, recolectando aquellos que presenten el tamaño esperado desde la repoblación, para comprobar la retención de la marca interna mediante el detector N. M. T. y tomar medidas del diámetro del caparazón y del peso total.

Con los datos obtenidos se determinaron los crecimientos mediante la tasa de Crecimiento Lineal y la tasa de Crecimiento Específico y se estimó el porcentaje de retención de la marca interna y el porcentaje de asentamiento de los juveniles repoblados. La distribución de tallas obtenida en cada jornada de muestreo se comparará con la distribución de tallas inicial, ya que la repoblación con juveniles de erizo y su posible incorporación a los agregados del entorno, modificaría la estructura de la población hacia un incremento en la frecuencia de tallas menores.

Los porcentajes de recaptura registrados en la bibliografía varían ampliamente en función del marcador empleado, el tipo de experimento, el tiempo transcurrido

entre la siembra y la recaptura, el tamaño de los erizos marcados o el área de siembra utilizada (intermareal o submareal).

Russel y Meredith (2000) marcaron un total de 553 ejemplares del erizo de mar *Strongylocentrotus droebachiensis* de un charco de marea en la costa de Maine (USA) y un año después realizaron la recaptura obteniendo 262 erizos marcados (57% del total). Aunque en nuestra experiencia en los charcos intermareales de la rasa marina de Llaranza no se llegaron a recuperar la mitad de erizos marcados, se obtuvo un porcentaje de recaptura de casi un 10% en una de las charcas.

Hay que tener en cuenta que tratamos de recuperar juveniles de erizo (de un tamaño dentro de un rango entre 12 y 30 mm) lo que lógicamente reduce la tasa de recaptura. La mortalidad natural en los juveniles es muy superior a la observada en los adultos (Sala y Zabala, 1996; Sala, 1997; Guidetti, 2004, 2006; Hereu et al., 2005, Guidetti y Dulcic, 2007, Clemente et al., 2012) ya que son más sensibles a la acción de los predadores. Existe un estudio reciente (Clemente et al., 2012) que demuestra que los juveniles del erizo *Strongylocentrotus purpuratus* (y principalmente los <14mm de diámetro) son los más afectados por la depredación de uno de sus depredadores más abundante el cangrejo *Pachygrapsus crassipes*. La talla, junto a otros mecanismos para escapar de los depredadores como la cubierta de espinas o el uso de refugios son sin duda importantes estrategias ecológicas que favorecen la supervivencia del erizo.

El hecho de que los juveniles introducidos en las charcas (opción escogida en varios experimentos en toda la costa cantábrica) se añadan a una población autóctona estable (en lugar de marcar los erizos que ya estaban en el medio como es habitual en la bibliografía) hace que los nuevos erizos deban competir tanto por el espacio (refugio) como por el alimento con los erizos que ya estaban presentes, lo que también puede dificultar su supervivencia. Además, estos juveniles han sido criados en cautividad, y puede ser que no se adapten al nuevo medio lo suficientemente rápido como para sobrevivir.

En un área submareal amplia y con una densidad de erizos elevada, como es la estudiada en la cala de La Soledad, se necesitaría hacer un esfuerzo de muestreo aun mayor, que supondría coger todos erizos existentes en ese área y que no creímos conveniente en este caso, o realizar una siembra con un número mayor de erizos para poder evaluar el éxito de la repoblación a largo plazo.

Asimismo, se plantean otros sistemas de introducción o repoblación. En este sentido, se ha planteado la posibilidad de realizar las repoblaciones de juveniles en calas eutrofizadas por la presencia en la zona de explotaciones acuícolas. La realización de repoblaciones en zonas eutrofizadas puede incrementar la velocidad de crecimiento de los juveniles y su tasa de crecimiento, reduciendo al mismo tiempo la contaminación orgánica depositada en el sustrato, pudiendo aportar valiosa información de cara a posibles cultivos multitróficos o para el uso de estas zonas como zonas de engorde o de optimización del tamaño gónadal. Esta actividad no se ha realizado, al estar planificada para los dos últimos años

del proyecto, 2012-2013 que han sido los determinantes de la mayoría de los incumplimientos de los objetivos programados.

Durante los años 2010-12 se realizaron repoblaciones, con juveniles de erizo de mar obtenidos en criadero, en bancos submareales e intermareales de la costa asturiana. Las primeras de ellas se realizaron con un elevado número de juveniles con la finalidad de recuperar bancos dañados o desaparecidos, mientras que la repoblación en el intermareal tuvo como objetivo el seguimiento del éxito de las repoblaciones.

El procedimiento de marcaje utilizado (Northwest Marine Technology) es rápido y de fácil aplicación y consigue tasas de retención superiores al 70%.

El transporte realizado por carretera y en zodiac hasta los lugares de repoblación se dilató unos 30 minutos y no pareció afectar a los juveniles que no presentaron ninguna mortalidad y se mostraron activos una vez sumergidos en el agua.

El seguimiento de los juveniles repoblados en el medio natural es extremadamente complicado y los primeros momentos tras la liberación parecen ser cruciales para el éxito del asentamiento. Las estrellas de mar se presentan como el principal depredador de los erizos.

Línea 5: Gestión sostenible del recurso. Evaluación, estado y protocolos de manejo

En esta línea, los datos del año 2011 muestran que tras varios años de mantenerse en un nivel estable de explotación, las poblaciones de *P. lividus* en el litoral de Cádiz, principal provincia de explotación de esta especie en Andalucía, han presentado un descenso en abundancia y distribución a lo largo del litoral de estudio, sobre todo en las principales áreas de marisqueo del sector. Aunque en un principio dicho descenso no indica una posible sobreexplotación de las poblaciones, se deben obtener datos periódicos (de forma anual) en la provincia de Cádiz sobre dichas poblaciones para poder tomar a tiempo las medidas gestoras necesarias, con el fin de seguir con la gestión ejercida sobre el recurso reflejada en la Orden de 24 de abril de 2003 y las medidas establecidas.

Con respecto a las poblaciones de erizo común en las demás provincias (Málaga, Granada y Almería), se mantienen estables frente a los estudios realizados desde el 2005.

Línea 6: Estudio económico

No realizado

Línea 7: Relevancia de las toxinas alimentarias marinas para la seguridad alimentaria y la explotación del erizo

Antecedentes y justificación

Cualquier organismo, ya sea de una población natural o de cultivo, procedente de las zonas de producción, debe estar sujeto a control sanitario para poder ser puesto en el mercado. Las normas sanitarias en las que se establecen los niveles máximos admitidos para ciertos compuestos, entre los que se incluyen las biotoxinas marinas, aplicables a moluscos bivalvos, también son aplicables a equinodermos (REGLAMENTO (CE) N° 853/2004; REGLAMENTO (CE) N° 854/2004). Con esta finalidad, se llevan ejecutando programas de vigilancia de la calidad del agua y los bivalvos de las zonas de producción del litoral español desde hace décadas. No obstante, el seguimiento de toxinas en equinodermos es irregular. Así, mientras que en Andalucía se ejecutan rutinariamente análisis de gónadas de erizos para la detección de las causantes de la Amnesic Shellfish Poisoning, ASP, las causantes de la Paralytic Shellfish Poisoning, PSP, y lipofílicas, entre las que se incluyen las causantes del Diarrhetic Shellfish Poisoning, DSP; en Galicia se analizan según la presencia de floraciones de microalgas productoras de toxinas y en Cataluña no se han analizado con anterioridad.

Dentro de las toxinas legisladas, las toxinas del PSP y del ASP son producidas por microalgas planctónicas, mientras que especies fitoplanctónicas y bentónicas son responsables de la producción de toxinas del DSP. Igualmente, potentes neurotoxinas, algunas legisladas (como las ciguatoxinas) o neurotoxinas de interés para la UE por su potencia y distribución (como las palitoxinas) están producidas por microalgas bentónicas. Por ello, si bien los organismos filtradores (por ejemplo moluscos bivalvos), son particularmente susceptibles de contener toxinas procedentes de microalgas planctónicas, aquellos organismos que por su distribución o alimentación están asociados al bentos pueden acumular toxinas, tal sería el caso de la oreja de mar o *Haliotis* sp. Para el erizo, no se analizan toxinas producidas por microalgas bentónicas tales como las palitoxinas (producidas por ejemplo por *Ostreopsis* sp., género presente en Canarias y en la costa mediterránea y cantábrica del litoral español) o las ciguatoxinas (producidas por ejemplo por *Gambierdiscus* sp., género presente en las costas canarias y en el Mediterráneo).

Respecto a los métodos de determinación de toxinas, los programas de vigilancia en España se centran mayoritariamente en las toxinas de la ASP, determinadas por HPLC-UV; las PSP, determinadas por bioensayo ratón, MBA, para toxinas paralizantes, y las lipofílicas, mediante el MBA para toxinas lipofílicas. Si bien el método cromatográfico para determinación de toxinas del ASP permite determinar contenidos de toxinas en las muestras y gestionar el producto, los MBA son utensilios de gestión de las zonas de producción para garantizar la salubridad del producto, pero no son los métodos más idóneos para cuantificar las toxinas presentes. Adicionalmente, existen recomendaciones recientes de la European Food Safety Authority (EFSA 2008, 2009), en las que se propone reducir el nivel máximo admitido de la mayoría de toxinas a niveles inferiores al cuantificable por

la técnica del MBA, por lo que los métodos cromatográficos podrían adquirir relevancia futura.

En relación a las ciguatoxinas y palitoxinas, la UE no describe métodos oficiales para las ciguatoxinas y las palitoxinas no están legisladas. Sin embargo, métodos basados en la determinación del potencial tóxico de estas toxinas mediante ensayos sobre células están siendo utilizados recientemente (Cañete y Diogène, 2008; Riobó et al., 2008).

Actividad: Optimización de los métodos analíticos para la matriz del erizo

Puesto que los métodos analíticos y la experiencia del grupo implicado se han desarrollado mayoritariamente en matrices de moluscos (bivalvos y gasterópodos), en esta primera actividad se cargaron matrices de erizo con estándares de toxina con la finalidad, por un lado, de probar los protocolos de extracción y análisis específicamente para este tipo de matriz, y por otro, de poder determinar los parámetros necesarios para los posteriores cálculos de los resultados (tales como límites de detección y cuantificación para los métodos analíticos, las LC50 para los de citotoxicidad, etc.). También permitió evaluar la aplicabilidad de estos métodos al caso del erizo.

Se prepararon homogenados de individuos enteros; una parte se utilizó como blanco de matriz, eso es, matriz que no se carga con ningún estándar. Otra parte se carga con los niveles de estándar que se detallan en cada tarea. El análisis de estos tipos de muestra por cada técnica analítica permitió por un lado evaluar el efecto del tipo de la matriz (efectos sobre los resultados, límites, etc.) y por otro determinar el porcentaje de recuperación de toxina.

Los niveles de estándar con los que se cargó se elegieron siguiendo los siguientes criterios: en el caso de las toxinas legisladas (ASP, DSP y PSP) y sobre las que se ha pronunciado la EFSA (DSP y PSP), se tuvo en cuenta el nivel legal vigente y el propuesto, de manera que haya muestras con dopajes claramente positivos (nivel mayor que el legislado vigente), otras negativas para el nivel legal vigente pero superiores del propuesto, y otras claramente negativas (nivel menor que el propuesto por la EFSA). Las muestras preparadas se analizaron siguiendo los protocolos descritos para cada técnica.

A partir de los Resultados de las diferentes inyecciones de matriz “blanca” y el estándar de ácido domoico de concentración 0,25ppm.se obtiene un límite de detección teórico de 0,6mg/kg y un límite de cuantificación teórico de 2mg/kg en carne de erizo. Estos límites de detección son muy inferiores a los 20mg/kg fijados en el Reglamento (CE) nº 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo para la organización de controles oficiales, hecho que permitiría el monitoreo de toxinas amnésicas para la posterior comercialización y consumo.

A partir de los Resultados de las diferentes inyecciones de matriz “blanca” y el estándar de saxitoxina de concentración 0,0461 $\mu\text{mol/L}$ se obtiene un límite de detección teórico(LD) de 8,72 $\mu\text{g eq STX/kg}$ y un límite de cuantificación teórico (LQ) de 29,07 $\mu\text{g eq STX/kg}$ en carne de erizo. Como en el caso de las toxinas amnésicas los límites de detección teóricos para la saxitoxina son muy inferiores a los 800 $\mu\text{g eq. STX/kg mg/kg}$ fijados en el Reglamento (CE) nº 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo para la organización de controles oficiales, hecho que permitiría el monitoreo de toxinas paralizantes para la posterior

comercialización y consumo. Aunque se tendría que tener en cuenta que se debería continuar la validación para las otras toxinas paralizantes de la familia de la saxitoxina en este tipo de matriz.

A partir de resultados de concentración y recuperaciones de los dopajes a niveles de detección y cuantificación con estándar de domoico se puede apreciar que la recuperación es de un 94% a nivel de límite de cuantificación, que está dentro del rango de aceptación de la técnica para toda la etapa de pre-tratamiento y de extracción.

A partir de resultados de concentración y recuperaciones de los dopajes de la matriz de erizo con estándar de domoico se aprecia que la cuantificación y la recuperación a este nivel, están dentro de los parámetros de aceptación del método incluyendo el pre-tratamiento de la muestra y el proceso de extracción.

Como se puede apreciar en los cromatogramas, a niveles de límite de cuantificación (50 µg STX eq/kg de carne de erizo) el pico de la saxitoxina sale a un tiempo de retención (t_R) de 12,6 minutos, proporcionando una buena resolución del pico de la saxitoxina, sin ningún pico interferente. Esto permitiría hacer una correcta cuantificación de la concentración de STX en una muestra de erizo muy por debajo de los 800 µg STX eq/kg fijados en el capítulo 4 del Reglamento (CE) N°853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo para la organización de controles oficiales, aunque se tiene que tener en cuenta que se tendría que hacer el sumatorio de todos los análogos de la familia de la saxitoxina.

Observando el cromatograma de las réplicas de los dopajes realizados sobre una matriz de erizo blanca a un nivel de 900 µg eq STX/kg, se pueden apreciar que el pico está bien resuelto y permite una buena cuantificación e identificación. Esto permitiría cerrar una zona de producción de erizo y evitar su comercialización en caso de que se superasen los 800 µg STX eq/kg.

Actividad: Evaluación del contenido de toxinas en poblaciones naturales de erizo de las zonas de producción del litoral catalán

Una vez caracterizados los diferentes métodos analíticos para el caso particular del erizo, y concluido que son aplicables en las condiciones específicas definidas, se procedió al análisis de erizos procedentes de zonas de producción del litoral catalán, para estudiar la presencia/incidencia de las biotoxinas causantes de la ASP, DSP, PSP, palitoxinas y ciguatoxinas.

Estos datos son básicos para poder emprender una estimación del riesgo de intoxicación por consumo de erizo, y por tanto en la toma de decisiones en la gestión (frecuencia de muestreos, tipos de análisis, comercialización, etc.) del producto en la rutina de un programa de monitoring.

Los resultados del análisis de toxinas marinas lipofílicas por el LC/MS-MS en las muestras de erizo de las diferentes zonas del litoral catalán han dado negativo como se aprecia en los cromatogramas obtenidos. Se han extraído cada uno de los iones producto de las diferentes toxinas y no se han detectado trazas de ninguna de las toxinas.

Actividad: Estudio de la incorporación de toxinas producidas por microalgas bentónicas en condiciones de laboratorio

No realizada

Línea 8: Divulgación y transferencia de resultados

Actividad. Publicaciones.

Se han elaborado publicaciones sobre los conocimientos adquiridos y se difundieron en foros científicos regionales, nacionales e internacionales, mediante la asistencia a Congresos. Esta actividad está profusamente descrita en el Anexo V de Difusión.

Actividad. Página Web y SIG

No realizada.

Actividad. Seminario de transferencia de resultados

No realizada

Actividad. Jornadas gastronómicas

No realizada.

2.4. CONCLUSIONES

En el presente proyecto se han puesto a punto las técnicas de producción de erizo de mar, con vistas a acometer futuros programas de repoblación y explotación sostenible del recurso.

Se ha confirmado la viabilidad del cultivo y se han protocolizado fases del mismo para la óptima producción de juveniles.

Se han puesto a punto las técnicas de detección de toxinas alimentarias marinas en matriz de erizo.

Se experimentó con variados sistemas de estabulación para el cultivo tanto en tierra como en mar, obteniendo resultados satisfactorios.

El diseño de un variado grupo de piensos ha llevado a la definición de los más adecuados para el cultivo en cada fase, siendo notables los resultados de finalización del producto con la elevación del rendimiento gonadal en varias épocas del año.

Se ha conseguido efectuar acciones de repoblación con juveniles a una escala muy superior que la alcanzada en el anterior proyecto de Cultivo y gestión del erizo de mar.

Se han obtenido juveniles de la especie *Echinus esculentus* y *Sphaerechinus granularis*, para los que la debacle final del proyecto supuso su desaparición de las líneas de actividad.

Se ha interesado a posibles emprendedores en las actividades del cultivo de la especie, difundiendo resultados en los medios de comunicación y en el entorno científico.

Se han formado grupos de investigadores en las CCAA con interés en este recurso, que han adquirido experiencia en el manejo y cultivo de la especie, continuándose actualmente algunas líneas de trabajo establecidas en el proyecto.

Además de iniciativas empresariales de cultivo, la necesidad de la recuperación de la pesquería apunta a la necesaria participación de los productores, pero también a la implicación de las administraciones, para acometer programas de repoblación.

Para completar este apartado, se acompañará una presentación en Power Point, durante la reunión del grupo de seguimiento de Planes Nacionales.

2.5. VALORACIÓN

Se han conseguido parcialmente los objetivos propuestos en el proyecto, estableciendo las bases para la decisión, por parte de las administraciones interesadas, de la realización de operaciones de cultivo con destino a repoblaciones que complementen las medidas de gestión del recurso, o para la inversión privada en sistemas de cultivo que impliquen la mejora genética, aumentando los rendimientos en el mercado.

Los resultados son satisfactorios teniendo en cuenta el quebranto que supuso la merma de casi el 64 % del presupuesto total asignado.

2.6. DIFUSIÓN

Además de lo anteriormente señalado en el apartado 2.6, de difusión de los resultados técnicos del Plan Nacional, se hacen constar en el **anexo V** de Difusión algunas referencias de prensa y revistas especializadas en acuicultura, así como el listado de publicaciones resultantes del proyecto “**Optimización del cultivo y manejo del erizo de mar**”

2.7. INCIDENCIAS DE DESARROLLO

Lo apuntado anteriormente, en el apartado 2.7 de Incidencias, de Resultados Técnicos del Plan Nacional.

2.8. BIBLIOGRAFÍA

Aguado, F., García García, B., 2002. Growth and food intake models in *Octopus vulgaris* Cuvier (1797): influence of body weight, temperature, sex and diet. Aquacult. Int. 10, 361-377.

Álvarez J. 2006. *Revisión de la evaluación y el cartografiado de las poblaciones de erizo de mar en el litoral asturiano realizado en el año 1991. Fase I: zona occidental de Cabo Torres a Vegadeo*. Consejería de Agricultura y Pesca, Principado de Asturias. pp. 60.

Álvarez J. 2007. *Revisión de la evaluación y el cartografiado de las poblaciones de erizo de mar en el litoral asturiano realizado en el año 1991. Fase II: zona oriental de Cabo Torres a Tinamayor*. Consejería de Agricultura y Pesca, Principado de Asturias. pp. 82.

AOAC, 1997. *Official Methods of Analysis*, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington.

AOAC Official Method 2005.06 "Paralytic Shellfish Poisoning Toxins in Shellfish. Prechromatographic Oxidation and Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. First Action 2005".

Augier, H.; Ramonda, G. e Santimone, M. 1.987.- Teneurs en métaux lourds des oursins comestibles *Paracentrotus lividus* (Lamarck) dans les zones à grande activité touristique de L'île de Port-Cros. France. Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.

Azzolina, J.F. 1.987.- Evolution à long terme des populations de L'oursin comestible *Paracentrotus lividus* dans la baie de Port-Cros (Var, France). Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.

Azzolina, J.F. et Willsie, A. 1.987.- Abondance des juvéniles de *Paracentrotus lividus* au sein de L'herbier à *Posidonia oceanica*. Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.

Ballesteros, E. et Garcia Rubies, A. 1.987.- La pêche aux oursins en Espagne, et plus particulièrement en Catalogne. Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.

Becker, P.T., Egea, E., Eeckhaut, I. (2007). Characterization of the bacterial communities associated with the bald sea urchin disease of the echinoid *Paracentrotus lividus*, *Journal of Invertebrate Pathology*

Bergin, F. 1.987.- Contenus digestifs de *Paracentrotus lividus* et d'*Arbacia lixula* dans la région d'El Dabaa (Egypte). Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.

Bertram D. F., Strathmann R. R. (1998). Effects of maternal and larval nutrition on growth and form of planktotrophic larvae. *Ecology*, 79(1), pp. 315-327

Binche, J.L. 1.987.- Essai de quantification de la pêche amateur aux oursins sur la côte des Albères (Pyrénées-orientales, France). Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.

Briz Miquel, O., González Henríquez, N., BANCOMAC: un nuevo banco de organismos marinos para la región macaronésica. XV Simpósio Ibérico de Estudos de Biologia Marinha. Funchal. 9-13 Septiembre 2008.

Byrne M. 1990. Annual reproductive cycles of the commercial sea urchin *Paracentrotus lividus* from an exposed intertidal and a sheltered subtidal habitat on the west coast of the Ireland. *Marine Biology*, 104: 275-289.

Caillaud, A.; Cañete, E.; de la Iglesia, P.; Campàs, M.; Giménez, G. y Diogène, J. (2008) “*In vitro* cell toxicity evaluation for seafood risk assesment”. 15th International Congress on *In vitro* toxicology, 25 al 28 de septiembre de 2008, Estocolmo, Suecia.

Cañete, E. y Diogène, J. (2008) “Comparative study of the use of neuroblastoma cells (Neuro-2a) and neuroblastoma x glioma hybrid cells (NG108-15) for the toxic effect quantification of marine toxins”, *Toxicon*, 52: 541 – 550.

CEN/TC 275. “Foodstuffs – Determination of domoic acid in shellfish and finfish by RRGPLC using UV detection”.

Cerezo Valverde, J., García García, B., 2004. The effects of oxygen levels on oxygen consumption, survival and ventilatory frequency of sharpnout sea bream (*Diplodus puntazzo* Gmelin, 1789) at different conditions of temperature and fish weight. *J. Appl. Ichthyol.* 20, 488-492.

Cerezo Valverde, J., García García, B., 2005. Suitable dissolved oxygen levels for common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) at different weights and temperatures: analysis of respiratory behaviour. *Aquaculture* 244, 303-314.

C. Perrin and M. S. Roy .2000.-Rapid and efficient identification of microsatellite loci from the sea urchin, *Evechinus chloroticus*. *Mol Ecol.* 2000 Dec;9(12):2221-3.

Cameron R.A., Leahy PS, Britten RJ, Davidson EH. 1999.-Microsatellite loci in wild-type and inbred *Strongylocentrotus purpuratus*. *Dev Biol.* 1999 Apr 15;208(2):255-64.

Campos-Villaca, R. et Jangoux, M. 1.987.- Données préliminaires sur le comportement alimentaire de *Paracentrotus gaimardii* dans la région de Cabo Frio (Bresil). Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.

Catoira Gómez, J. L. , Míguez Rodríguez, L. J. y Mosquera Tallón, G. 1994.- The first culture and rearing experiences of *Paracentrotus lividus* (Lamarck), in Galicia (NW Spain). *Echinoderms through Time, David, Guille, Féral and Roux (Eds.) Balkema, Rotterdam: 601-604*

Catoira Gómez, J. L. 1988-1993 (Dir.Tec.).- Prospección, análisis y cartografía de macroalgas y erizo de mar en el litoral de Galicia. Fases I-IV. *Consellería de Pesca, Marisqueo e Acuicultura.*

Catoira Gómez, J. L. 1992.- La pêche des oursins en Galice, Espagne, pendant la campagne 1990-1991. *Echinoderm Research 1991, L. Scalera-Liaci & C. Canicatti (eds). Balkema, Rotterdam: 199-200*

Catoira Gómez, J. L. 1995.- Spatial and temporal evolution of the gonad index of the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck) in Galicia, Spain. *Echinoderm Research 1995, Emson, Smith & Campbell (eds) Balkema, Rotterdam: 295-298*

Catoira Gómez, J.L. & L.J.Míguez Rodríguez 1999. Deformations in skeleton and analitic of tissues in a population of *Echinus esculentus* L. 1758 (Echinodermata, Echinoidea) under oil polluted conditions in A Coruña bay (Galicia, Spain). *Echinoderm Research 1998: 439-447. Candia Carnevali & Bonasoro (eds). Balkema, Rotterdam.*

Catoira Gómez, J.L. 1999.- Outros recursos e outras economías: ourizos. Cultivando o mar: a acuicultura do milenio: 47-60. Editores: Jacobo Fernández Casal, Manuel Rey Méndez y Antonio Cerviño Eiroa. X Ciclo Cultivando o Mar. O Grove.

Catoira Gómez, J.L. Y Míguez Rodríguez, L. J. 1988.- Ourizo de mar. Dirección Xeral de Formación e Promoción Social. Servicio de Extensión Pesqueira. Consellería de Pesca: 22 pp

Catoira Gómez, J.L., Mosquera Tallón, G. y Martínez Patiño, D. 1995.- Proyecto de cultivo de erizo de mar *Paracentrotus lividus* (Lamarck) en laboratorio y de seguimiento en medio natural. *Planes Nacionales de Cultivos Marinos 1994. JACUMAR. Inf. Tec. Cons. Pesca, M. e A.*

Catoira J.L., Mosquera J.G. & Míguez L.J. 1995. Experiments of sowing juveniles of *Paracentrotus lividus* (Lamarck) in the natural enviroment. *Echinoderm Research 1995, Emson, Smith & Campbell (eds): 255-258.*

Cellario, Ch. et Fenaux, L. 1.987.- Croissance des juvéniles de *Paracentrotus lividus* (Lamarck) au cours de L'année qui suit la métamorphose. Etudes expérimentales. Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciencies de Luminy. Marseille.

Chenuil, M. Le Gac and M. Thierry. 2003.-Fast isolation of microsatellite loci of very diverse repeat motifs by library enrichment in echinoderm species,

Amphipholis squamata and *Echinocardium cordatum*. *Mol. Ecol. Notes* 3 (2), 324-327 (2003).

Clemente S., Hernández J.C. & Brito A. 2007. An external tagging technique for the long-spined sea urchin *Diadema* aff. *antillarum*. *Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom*, 87: 777-779.

Cook, E.J., Kelly, M.S. y McKenzie, J.D. 1998. Somatic and gonadal growth of the sea urchin *Psammechinus milliaris* (Gmelin) fed artificial salmon feed compared with a macroalgal diet. *J. Shellfish Res.* 17: 1549-1555.

D. Martínez, A. Cerviño-Otero, A. Louzán, F. Da Costa, J. Ojea y S. Novoa. Producción de especies de interés marisquero en la Planta de Cultivos de Ribadeo (CIMA). II Foro Iberoamericano de los recursos marinos y la acuicultura (FIRMA 2008). Cumaná, Venezuela.

Dance, C. 1987.- Size weight relations in the sea urchin *Sphaerechinus granularis* in Port-Cros island (Var, French Mediterranean). Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. *Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.*

D'Ancona, H., 1975.- Tratado de Zoología. Tomo 2. Ed. Labor

de la Hoz J., García-Rodríguez M., Álvarez J., Gutiérrez L., Ceñal J.M., Jiménez J.M., Alonso M. & Ferradas M.A. 1991. *Evaluación y cartografiado de las poblaciones de erizo de mar en el litoral asturiano. Informe final.* Consejería de Agricultura y Pesca, Principado de Asturias. pp. 402.

de la Uz, S.; Carrasco, J.F. y Rodríguez, C. "Crecimiento somático del erizo de mar *Paracentrotus lividus* alimentado con dos piensos semihúmedos frente a una dieta macroalgal". *XI Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Gallegas.* O Grove, 9 - 10 de octubre del 2008.

de la Uz, S.; Carrasco, J.F. y Rodríguez, C. "Efecto de la densidad de cultivo sobre el crecimiento somático de juveniles de erizo de mar". *XI Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Gallegas.* O Grove, 9 -10 de octubre del 2008.

De Ridder, Ch. et Jangoux, M. 1987.- Comportement alimentaire de l'oursin spatangide *Echinocardium cordatum*. Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. *Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.*

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28, 350-356.

Duggan R.E. & Miller R.J. 2001. External and internal tags for the green sea urchin. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 258: 115-122.

Ebert, T. A. (1973). Estimating growth and mortality rates from size data.

Edible sea urchins: "Biology and ecology", editado por JM Lawrence ©2001 Elsevier Science. Amsterdam.

Falugi, C. et Prestipino G. 1.987.- Effects of some inhibitors on the cholinergic system active during the sea urchin *Paracentrotus lividus* Lamk. development. Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.

Fenaux, L., Cellario, C., Etienne, M., (1985). Variations in the ingestion rate of algal cells with morphological development of larvae of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata, Echinoidea). Mar. Ecol., Prog. Ser. 24, 161–165.

Fenaux, L.; Etienne, M.; Quelart, G. 1.987.- Suivi écologique d'un peuplement de *Paracentrotus lividus* (Lamarck) dans la baie de Villefranche-sur-Mer. France. Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.

Fernandez C. & Boudouresque C.F. 2000. Nutrition of the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) fed different artificial food. *Marine Ecology Progress Series* (2000), 204: 131–141.

Fernandez, C; Pergent, G. Effect of different formulated diets and rearing conditions on growth parameters in the sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Journal of Shellfish Research* (1998) 17-V: 1571-1581

Francourt, P. et Paul, O. 1.987.- Densité, biomasse et relation taille-poids chez l'oursin *Psammechinus microtuberculatus* de l'herbier à *Posidonia oceanica* de Port-Cros (France, Méditerranée). Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.

Frederich, M. y Portner, H.O., 2000. Oxygen limitation of thermal tolerance defined by cardiac and ventilatory performance in spider crab, *Maja squinado*. *Am. J. Physiol. Integrative Comp. Physiol.*, 279: R1531-R1538.

Folch, J., Lees, M. y Sloane-Stanley, G.H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-509.

Gabín Sanchez, C. y Lorenzo De Dios, F. 1993.- El erizo de mar, un recurso con futuro. *Aula del mar. Fundación Caixa Galicia*: 23 pp

Gago J., Range P., Luis O.J., 2003, Growth, reproductive biology and habitat selection of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in the coastal waters of Cascais,

Portugal. In: Féral J.P., David B. (Eds.), Echinoderm Research 2001, pp. 269-276. A.A. Balkema, Lisse.

García García, B., 1994. Factores que influyen sobre el consumo de oxígeno, ingesta y crecimiento en la dorada (*Sparus aurata* L.). Una aproximación al establecimiento de modelos lineales. PhD Thesis. University of Murcia (Spain). 231 pp.

Girard D., A. Herrero, J. Mora, J.C. Hernández, A. Brito, N. González & J.L. Catoira. Reproductive Cycle of the echinoid *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) at its Southern population limit (Canary Islands, Eastern Atlantic). Fifth North American Echinoderm Conference (NAEC).). Melbourne, Florida, EEUU. Julio 2008.

Girard D., J.C. Hernández, K. Toledo, S. Clemente & A. Brito. Settlement patterns of the echinoid *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) in the Island of Tenerife, Canary Islands, Eastern Atlantic. Fifth North American Echinoderm Conference (NAEC). Melbourne, Florida, EEUU. Julio 2008.

Girard, D., A. Herrero, J.C. Hernández, J. Mora, A. Brito, N. González & J.L. Catoira. Ciclo reproductivo del equinoideo *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) en las Islas Canarias. XV Simposio Ibérico de Estudios de Biología Marina. Funchal (Madeira, Portugal). Septiembre 2008.

Girard, D., J.C. Hernández, K. Toledo, S. Clemente & A. Brito. Aproximación a la biología reproductiva del equinoideo *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816), en Tenerife. XIV Simposio Ibérico de Estudios de Biología Marina. Barcelona, septiembre 2006.

Gonzalez Irusta, J. M. 2009. Contribución al conocimiento del erizo de mar *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) en el mar Cantábrico: Ciclo gonadal y dinámica de poblaciones. Tesis doctoral, Universidad de Cantabria.

Gosselin, P., Jangoux, M. (1998) From competent larva to exotrophic juvenile: a morphofunctional study of the perimetamorphic period of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata, Echinoidea). Zoomorphology 118:31–43

Gosselin, P., Jangoux, M., 1996. Induction of metamorphosis in *Paracentrotus lividus* larvae (Echinodermata, Echinoidea). Oceanol. Acta 19 (3–4), 293–296.

Gras, G. 1.987.- Evolution des stocks de l'oursin comestible *Paracentrotus lividus* dans le quartier maritime de Marseille (France), soumis à une pêche intensive, entre les campagnes 1.984-1.985 et 1.986-1.987. Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.

Grasse J.P., 1948. Traité de Zoologie. Tome XI

Grasse P.P., 1982. Manual de Zoología. Tomo I. Invertebrados. Ed. Toray-Masson

Grosjean P., Spirlet C., Gosselin P., Vaïtilingon D. & Jangoux M. 1998. Land-based, closed-cycle echiniculture of *Paracentrotus lividus* (Lamarck) (Echinoidea: Echinodermata): a long-term experiment at a pilot scale. *Journal of Shellfish Research*, Vol.17, 5: 1523-1531.

Grosjean, P. (2001) Growth model of the reared sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816). Faculte del sciences. Laboratoire de biologie marine, Université libre de Bruxelles, pp.271.

Grosjean, P., Spirlet, C. & Jangoux, M. (1996) Experimental study of growth in the echinoid *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) (Echinodermata). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 201:173-184.

Guilles, K.W, Pearse, J.S (1986). Disease in sea urchins *Strongylocentrotus purpuratus*: experimental infection and bacterial virulence, *Disease of Aquatic Organisms*. Vol. 1: 105-114

Hagen N.T. 1996. Tagging sea urchins: a new technique for individual identification. *Aquaculture*, 139: 271-284.

Hereu B. 2005. Movement patterns of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in a marine reserve and a unprotected area in the NW Mediterranean. *Marine Ecology*, 26: 54-62.

Hernández, J. C., D. Girard, K. Toledo, S. Clemente, E. Cubero & A. Brito. Descripción de la post-larva y primeras fases juveniles de dos equinoideos presentes en Canarias: *Diadema antillarum* (Philippi, 1845) y *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816). XIV Simposio Ibérico de Estudios de Biología Marina. Barcelona, septiembre 2006.

Herrero A., Girard D. et González N. Comparación de recolectores artificiales para el asentamiento de larvas de equinoideos en las Islas Canarias (España). XIV SIEBM. Simposio Ibérico de Estudios de Biología Marina. Barcelona, 12-15 de Septiembre 2006.

Hinegardner, R.T. (1969) Growth And Development Of The Laboratory Cultured Sea Urchin. *Biol. Bull.*, 137: 465-475

Hormazábal, D.; Vargas, C. & Figueroa, M. (2007). Variaciones en los atributos de calidad de lenguas de erizo rojo (*Loxechinus Albus*) en función del uso alternado de dietas naturales y formuladas. Tesis, Universidad Andrés Bello. Chile.

Huguet Sesma, A. Catàleg d'espècies d'interès pesquera Catalunya. Departament d'Agricultura, Ramaderia i Pesca de la Generalitat de Catalunya.

Hyman, L. H., 1955. The invertebrates: Echinodermata. The celomate Bilateria. Vol. IV. American Museum of Natural History. McGraw-Hill.

J. A. Addison and M. W. Hart. 2002.-Characterization of microsatellite loci in sea urchins (*Strongylocentrotus* spp.) Mol. Ecol. Notes 2 (4), 493-494 (2002).

J. Ojea, D. Martínez, S. Novoa, y J. L. Catoira. Datos biométricos e índices de condición del erizo de mar (*Paracentrotus lividus*, Lamarck 1816) en cuatro localidades de Galicia. X Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas. 2007. O Grove.

Jangoux, M. et Maes, P. 1.987.- Les épizooties chez les oursins réguliers (Echinodermata). Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.

K. M. Miller, K. H. Kaukinen, K. Laberee and K. J. Supernault. 2004.- Microsatellite loci from red sea urchins (*Strongylocentrotus franciscanus*). Molecular Ecology Notes. Volume 4, Issue 4, Page 722-724, December 2004

Knoepffler-Peguy, M.; Maggiore, F.; Boudouresque, CH.F.; et Dance, C. 1.987.- Compte-rendu d'une expérience sur les preferanda alimentaires de *Paracentrotus lividus* (Echinoidea) à Banyuls-sur-mer. France. Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.

Lauzon-Guay, J.S. & Scheibling, R.E. 2008. Evaluation of passive integrated transponder (PIT) tags in studies of sea urchins: caution advised. *Aquatic Biology*, 2: 105-112.

Lawrence, J. M, Fenaux, L, Corre, M: C, Lawrence, A. (1991). The effect of quantity and quality of prepared diets on production in *Paracentrotus lividus*. Scalera, L-Liaci, C Canicatti (eds) Echinoderm Research 107-110

Le Direac`h, J.P. 1.987.- La pêche des oursins en Méditerranée : Historique, techniques, législation, production. Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.

Le Direac`h, J.P.; Boudouresque, CH.F.; Antolic, B.; Kocatas, A.; Panayotidis, P.; Pancucci, A.; Semroud, R.; Span, A.; Zaouali, J.; et Zavodnik, D. 1.987.- Rapporr sur l'exploitation des oursins en Méditerranée. Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.

Le Direac`h, J.P.; Charbonnel, E. et Marchadour, M. 1.987.- Le problème de l'évaluation des stocks chez *Paracentrotus lividus* (Lmk.) : exemple d'une campagne de dénombrement autor de l'archipel du Frioul (Marseille, France).

Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.

Le Gall, P. 1.987.- La pêche des oursins en Bretagne. France. Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.

Le Gall, P. et Bucaille, D. 1.987.- Intérêt d'un élevage intensif de l'oursin violet, *Paracentrotus lividus*. Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.

Liu, J., Cui, Y., 1998. Food consumption and growth of two piscivorous fishes, the mandarin fish and Chinese snakehead. *J. Fish Biol.*, 53, 1071-1083.

Liu, H., M. S. Kelly, E. J. Cook, K. D. Black, H. Orr, J. X. Zhu & S. L. Dong. (2007b). The effect of diet type on growth and fatty acid composition of sea urchin larvae, I. *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) (Echinodermata). *Aquaculture* 264:247–262.)

Luither, W., Fiedler, K. 1985.- Peces y demás fauna marina de las costas del Mediterráneo. Ed. Pulide

Lustres, V. (2001). El erizo de mar: *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) en las costas de Galicia. Tesis de doctorado, Universidad de Santiago de Compostela

McNabb, P.; Selwood, A. I.; Holand, P. T. (2005) "Multiresidue Method for Determination of Algal Toxins in Shellfish: Single-Laboratory Validation and Interlaboratory Study". *Journal of AOAC International*, 88 (3): 761 – 772.

M. Rey-Méndez, J. Quinteiro, N. Tourón, J. Rodríguez-Castro, A. Herrero, D. Girard, N. González, S. de la Uz Díaz, M.P. Fdez-Rueda, C. Rodríguez, J.F. Carrasco, D. Rial, D. Martínez, J.Ojea y J.L. Catoira. "Cultivo y gestión del erizo de mar (*Paracentrotus lividus* Lamarck, 1816)". *XI Congreso Nacional de Acuicultura. Libro de Actas*. Septiembre 2007: 707-710.

M. Rey-Méndez, J. Quinteiro, N. Tourón, J. Rodríguez-Castro, A. Herrero, D. Girard, N. González, S. de la Uz Díaz, C. Rodríguez, J.F. Carrasco, D. Rial, D. Martínez, J.Ojea y J.L. Catoira. "Cultivo integral del erizo de mar (*Paracentrotus lividus*)". *II Foro Iberoamericano de los Recursos Marinos y la acuicultura*. Cumaná (Venezuela), 4 - 7 de octubre del 2008.

M. Rey-Méndez, J. Quinteiro, N. Tourón, J. Rodríguez-Castro, A. Rama-Villar, D. Martínez, J. Ojea, S. Nóvoa & J.L. Catoira. "Cultivo y engorde en batea del erizo de mar (*Paracentrotus lividus* Lamarck, 1816)". "X Foro dos recursos mariños e da acuicultura das rías galegas / I Foro Iberoamericano de Recursos Marinos y Acuicultura". Editores: M. Rey Méndez, J. Fdez Casal, C. Lodeiros y A. Guerra. 2007. Págs: 597-608.

M. Rey-Méndez, J. Quinteiro, N. Tourón, J. Rodríguez-Castro, A. Rama-Villar, N. González, D. Martínez, J. Ojea & J.L. Catoira. "Efecto de diferentes dietas sobre la evolución del índice gonadal del erizo de mar (*Paracentrotus lividus* Lamarck, 1816)". II Foro Iberoamericano de los Recursos Marinos y la Acuicultura. 2008. Cumaná (Venezuela).

M. Rey-Méndez, J. Quinteiro, N. Tourón, J. Rodríguez-Castro, A. Rama-Villar, N. González, D. Martínez, J. Ojea & J.L. Catoira. "Cultivo del erizo de mar (*Paracentrotus lividus* Lamarck, 1816)". II Foro Iberoamericano de los Recursos Marinos y la Acuicultura. 2008. Cumaná (Venezuela).

M. Rey-Méndez, J. Quinteiro, N. Tourón, J. Rodríguez-Castro, A. Rama-Villar, N. González & J.L. Catoira. "Efecto de cinco dietas diferentes sobre el crecimiento en batea de juveniles de erizo de mar (*Paracentrotus lividus* Lamarck, 1816)". II Foro Iberoamericano de los Recursos Marinos y la Acuicultura. 2008. Cumaná (Venezuela).

M. Rey-Méndez, J. Quinteiro, N. Tourón, J. Rodríguez-Castro, A. Rama-Villar, A. Herrero, N. González, A. Brito, D. Girard, M.P. Fdez-Rueda, C. Rodríguez, J. F. Carrasco, S. Nóvoa, D. Martínez, J. Ojea & J.L. Catoira.: "Gestión integral del erizo de mar (*Paracentrotus lividus* Lamarck, 1816)". II Foro Iberoamericano de los Recursos Marinos y la Acuicultura. 2008. Cumaná (Venezuela).

M. Rey-Méndez, J. Quinteiro, N. Tourón, J. Rodríguez-Castro, A. Rama-Villar, N. González, D. Martínez, J. Ojea & J.L. Catoira. "Engorde en batea de juveniles de erizo de mar (*Paracentrotus lividus* Lamarck, 1816), procedentes de criadero". XI Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas. 2008. O Grove (Pontevedra).

M. Rey-Méndez, J. Quinteiro, N. Tourón, J. Rodríguez-Castro, A. Rama-Villar, N. González, D. Martínez, J. Ojea & J.L. Catoira. "Engorde en batea de juveniles de erizo de mar (*Paracentrotus lividus* Lamarck, 1816), procedentes del medio natural". XI Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas. 2008. O Grove (Pontevedra).

M. Rey-Méndez, J. Quinteiro, N. Tourón, J. Rodríguez-Castro, A. Rama-Villar, N. González, D. Martínez, J. Ojea & J.L. Catoira.: "Comparación de la evolución del índice gonadal de erizos de mar (*Paracentrotus lividus* Lamarck, 1816) de tamaño comercial, confinados en batea, respecto a los del medio natural". XI Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas. 2008. O Grove (Pontevedra).

M. Rey-Méndez, J. Quinteiro, N. Tourón, J. Rodríguez-Castro, A. Rama-Villar, D. Martínez, J. Ojea, S. Nóvoa, N. González & J.L. Catoira. "Cultivo y engorde con diferentes dietas del erizo de mar (*Paracentrotus lividus* Lamarck, 1816)". XV Simpósio Ibérico de Estudos de Biología Marinha. 2008. Funchal (Madeira, Portugal).

M. Rey-Méndez, J. Quinteiro, N. Tourón, J. Rodríguez-Castro, A. Rama-Villar, N. González, D. Martínez, J. Ojea & J.L. Catoira. "Cultivo del erizo de mar (*Paracentrotus lividus* Lamarck, 1816)". II Foro Iberoamericano de los Recursos Marinos y la Acuicultura. 2008. Cumaná (Venezuela).

M. Rey-Méndez, J. Quinteiro, N. Tourón, J. Rodríguez-Castro, A. Rama-Villar, N. González, D. Martínez, J. Ojea, & J.L. Catoira. "Engorde en batea de juveniles del erizo de mar (*Paracentrotus lividus* Lamarck, 1816) procedentes de criadero". "XI Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas". Edits.: M. Rey-Méndez, J. Fernández-Casal, C. Lodeiros y A. Guerra. 2009. pp.: 409-417.

M. Rey-Méndez, J. Quinteiro, N. Tourón, J. Rodríguez-Castro, A. Rama-Villar, D. Martínez, J. Ojea, S. Nóvoa & J.L. Catoira. "Engorde en batea de juveniles del erizo de mar (*Paracentrotus lividus* Lamarck, 1816) procedentes del medio natural". "XI Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas". Edits.: M. Rey-Méndez, J. Fernández-Casal, C. Lodeiros y A. Guerra. 2009. pp.: 399-408.

M. Rey-Méndez, J. Quinteiro, N. Tourón, J. Rodríguez-Castro, A. Rama-Villar, N. González, D. Martínez, J. Ojea & J.L. Catoira. "Comparación de la evolución del índice gonadal de erizos de mar (*Paracentrotus lividus* Lamark, 1816) de tamaño comercial, confinados en batea, respecto a los del medio natural". "XI Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas". Edits.: M. Rey-Méndez, J. Fernández-Casal, C. Lodeiros y A. Guerra. 2009. pp.: 247-254.

Maggiore, F.; berthon, J.F.; Boudouresque, CH.F.; et Lawrence, J. 1.987.- Données préliminaires sur les relations entre *Paracentrotus lividus*, *Arbacia lixula* et le phytobenthos dans la baie de Port-Cros (Var, France, Méditerranée). Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.

McCartney, M.A., Brayer, K., Levitan, D.R. 2004.- Polymorphic microsatellite loci from the red urchin, *Strongylocentrotus franciscanus*, with comments on heterozygote deficit. *Molecular Ecology Notes* 4: 226-228.

Míguez Rodríguez, L. J. y Catoira Gómez, J. L. 1987.- Primeras aportaciones sobre la dinámica y rendimiento gonadal de *Paracentrotus lividus* (Lamarck) en la Ría de La Coruña. *Cuad. Marisq. Publ. Tec.* 12: 717-722

Míguez Rodríguez, L. J. y Catoira Gómez, J. L. 1988.- Nuevas aportaciones sobre el rendimiento gonadal y las relaciones biométricas de *Paracentrotus lividus* (Lamarck) en la Ría de La Coruña. *Bentos VI*: 275-281

Montero, M. F. (2000). Análisis de la composición bioquímica y de posibles biomarcadores de contaminación en el erizo de mar, *Paracentrotus lividus*, Lmk. Tesis de Doctorado. Departamento de bioquímica y biología molecular. Universidad de Santiago de Compostela, 187 pp

Montero-Torreiro, M. F., Catoira Gómez, J. L., Mosquera tallón, G. y García Martínez P. 1998.- Seasonal variation for biochemical composition on the gonads of the sea urchin, *Paracentrotus lividus* Lmk. *Echinoderms: San Francisco, Mooi & Telford (eds). Balkema, Rotterdam:753-758*

Montero-Torreiro, M.F., J.L. Catoira Gómez, G. Mosquera & P. García Martínez 1999.- Seasonal variation in several enzyme activities of mixed-function oxygenase (MFO) system in gonads of the sea urchin, *Paracentrotus lividus* Lmk. *Echinoderm Research* 1998: 57-62. Candia Carnevali & Bonasoro (eds). Balkema, Rotterdam.

Montero-Torreiro, M.F., Garcia-Martinez, P., 2003. Seasonal changes in the biochemical composition of body components of the sea urchin, *Paracentrotus lividus*, in Lorbe' (Galicia, north-western Spain). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 83, 575–581.

Munar, J. et Moreno, I. 1.987.- Equinodermos de las Islas Baleares (España). Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciencis des Luminy. Marseille.

Ocaña, A., De La Morena, I., Moriana, Alonso, M.R. & Ibañez, M., 1982.-Algunos equinodermos de la costa de Málaga (Mar de Alboran) *Inv. Pesq.* 46(3): 433-442 *Oecologia*, 11:281-298.

Ojea, J.; Martínez, D., Nóvoa y Catoira, J.L.. Reproducción del erizo de mar, *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) en dos poblaciones naturales: mar Cantábrico (Cedeira) y océano Atlántico (Aguño). XI Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura das Rías Galegas. 2008. O Grove (Pontevedra).

Olaso, I. 1979. -Estudio comparativo de los equinodermos de las rías de Arosa y Muros. 1er Simposio de bentos marino, San Sebastián.

Olsen, R.E., Henderson, R.J. (1989). The rapid analysis of neutral and polar marine lipids using double-development HPTLC and scanning densitometry. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 129: 189-197.

Ourens, R. (2007). Patrones geográficos, poblacionales y estacionales en los parámetros reproductivos del erizo *Paracentrotus lividus*. DEA, Universidad de la Coruña.

Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food chain on a request from the European Commission on marine biotoxins in shellfish – okadaic acid and analogues. *The EFSA Journal* (2008), 589, 1-62.

Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food chain on a request from the European Commission on marine biotoxins in shellfish – saxitoxin group. *The EFSA Journal* (2009) In press.

Pagano, G.; Corsale, G.; Esposito, A. et Giordano, G.G. 1.987.- Essais de toxicité sur les embryons et le sperme des Echinoides Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences des Luminy. Marseille:285-297

Pantazis P.A., Kelly M., Connolly J.G. & Black K.D. 2000. Effect of artificial diets on growth, lipid utilization and gonad biochemistry in the adult sea urchin *Psammechinus miliaris*. *Journal of Shellfish Research*, Vol. 19, No. 2: 995-1001.

Pearce, C.M, Daggett, T.L., Robinson, S.M.C. 2002. Effect of binder type and concentration on prepared feed stability and gonad yield and quality of the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*. 205, 301-323.

Rivera, V. 1934.- Primera campaña biológica a bordo del Xauen en aguas de Mallorca (Abril de 1933) *Trab. Inst. Esp. oceanogr.* 10.:83-86

Regis, M.B., 1979. Analyse des fluctuations des indices physiologiques chez deux échinoides (*Paracentrotus lividus* (Lmck) et *Arbacia lixula* L.) du Golfe de Marseille. *Tethys* 9, 167–181.

REGLAMENTO (CE) N° 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de abril de 2004 por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal.

REGLAMENTO (CE) N° 854/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de abril de 2004 por el que se establecen normas específicas para la organización de controles oficiales de los productos de origen animal destinados al consumo humano.

Riobó, P.; Paz, B.; Franco, J. M.; Vázquez, J. A.; Murado, M. A. y Cacho, E. (2008) "Mouse bioassay for palytoxin. Specific symptoms and dose-response against dose-death time relationships". *Food and Chemical Toxicology*, 46: 2639 – 2647.

Robinson, S.M.C., Castell, J.D. y Kennedy E.J. 2002. Developing suitable colour in the gonads of cultured green sea urchins (*Strongylocentrotus droebachiensis*). *Aquaculture* 206: 289-303.

Romo Romo C.R. (2001-2003). Desarrollo de una dieta artificial para optimizar la calidad comercial de gónadas café de erizos (*Loxechinus Albus*) de la XII Región, destinadas al mercado de exportación. FONDEF

Ryabushko, V.I., Zhuchikhina, A.A., Iutsik, N.Z., 1980. Effects of environmental oxygen concentrations on the level of metabolism of some echinoderms from the sea of Japan. *Comp. Biochem. Physiol.*, 67B, 171-174.

SOP LC-MS_June06 v1. EU-NRLs Working Group on LC-MS (lipophilic toxins). "Multitoxin reference method for LC-MS analysis of OA, AZA, YTX, PTX and SPX groups biotoxins. Standard Operating Proc

S. Clemente, J.C. Hernández, A. Rodríguez, D. Girard, & A. Brito. Evidence of top-down control of predators in structuring sublittoral reef communities in a marine protected area and nearby areas of the Canary Islands. European Symposium on Marine Protected Areas as a tool for Fisheries Management & Ecosystem Conservation. Murcia, septiembre 2007

S. de la Uz, J.F. Carrasco y C. Rodríguez. "Marcaje de juveniles de erizo de mar. Estudio preliminar del método con vistas a su seguimiento en el medio natural." *Foro Iberoam. Rec. Mar. Acui.II*. Cumaná (Venezuela), 4 - 7 de octubre del 2008: 603-610

S. de la Uz, J.F. Carrasco y C. Rodríguez. "Repoblación experimental de juveniles de erizo de mar *Paracentrotus lividus* en aguas del Principado de Asturias, España." *Foro Iberoam. Rec. Mar. Acui.II*. Cumaná (Venezuela), 4 - 7 de octubre del 2008: 663-671.

S. de la Uz, J.F. Carrasco, C. Rodríguez y J.C. Arronte. "Ciclo reproductor del erizo de mar *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) en la costa asturiana". *XI Congreso Nacional de Acuicultura. Libro de Actas*. Septiembre 2007: 699-702.

S. de la Uz, J.F. Carrasco, C. Rodríguez y J.C. Arronte. "Efecto de diferentes dietas macroalgales sobre crecimiento somático de juveniles del erizo de mar". *Paracentrotus lividus. XI Congreso Nacional de Acuicultura. Libro de Actas*. Septiembre 2007: 703-706.

S. Duran, C. Palacín, M. A. Becerro, X. Turon and G. Giribet. 2004.- Genetic diversity and population structure of the commercially harvested sea urchin *Paracentrotus lividus* (Echinodermata, Echinoidea). *Molecular Ecology*. Volume 13, Issue 11, Page 3317-3328, November 2004

Savy, S. 1.987.- Les prédateurs de *Paracentrotus lividus* (Echinodermata). Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.

Semroud, R. et Kada, H. 1.987.- Contribution à l'étude de l'oursin *Paracentrotus lividus* (Lamarck) dans la région d'Alger (Algérie) : Indice de réplétion et indice gonadique. Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.

Shepherd, S.A. 1.987.- Grazing by the sea-urchin *Paracentrotus lividus* in *Posidonia oceanica* beds at Banyuls, France. Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.

Schlosser, S., Lupatsch, I., Lawrence, J.M., Lawrence, A. y Shpigel, M.(2005). Protein and energy digestibility and gonad development of the European sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) fed algal and prepared diets during spring and fall. *Aquaculture Research* 36, 972-982.

Shpigel M., McBride, S. C., Marciano, S., Lupatsch, I. (2004). The effect of photoperiod and temperature in the reproduction of the European sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Aquaculture* 232:343-355.

Shpigel, M., McBride, S.C., Marciano, S., Ron, S. y Ben-Amotz, A. 2005. Improving gonad color and somatic index in the European sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Aquaculture* 245: 101-109.

Siikavuopio, S.I., Dale, T., Mortensen, A., Foss, A., 2007. Effects of hypoxia on feed intake and gonad growth in the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Aquaculture* 266, 112–116.

Siikavuopio, S.I, Mortensen,A., Christiansen,J.S., 2008. Effects of body weight and temperatura on feed intaje, gonad growth and oxygen consmption in green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Aquaculture* 281, 77-82.

Spirlet C., Grosjean P. & Jangoux M. 1998. Reproductive cycle of the echinoid *Paracentrotus lividus*: analysis by means of the maturity index. *Invertebrate Reproduction and Development*, 34: 1, 69-81.

Spirlet, C., Grosjean, P. & Jangoux, M. (2000). Optimization of gonadal growth by manipulation of temperature and photoperiod in cultivated sea urchins, *Paracentrotus lividus* (Lamarck) (Echinodermata). *Aquaculture* 185:85-99

Spirlet C., Grosjean P. & Jangoux M. 2001. Cultivation of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) on extruded feeds: digestive efficiency, somatic and gonadal growth. *Aquaculture Nutrition*, 7: 91-99.

Strathmann, R.R., Fenaux, L., Strathmann, M. F. (1992) Heterochronic Developmental Plasticity In Larval Sea Urchins And Its Implications For Evolution Of Nonfeeding Larvae. *Evolution*, Vol. 46, No. 4, pp. 972-986.

Turon, X., Giribert, G., López, S. & Palacín, C., 1995. Growth and population structure of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) in two contrasting habitats. *Marine Ecology Progress Series* 122: 193-204.

Tuya, F., Martín J.A. & Luque A. 2003. A novel technique for tagging the long-spined sea urchin *Diadema antillarum*. *Sarsia*, 88: 365-368.

Tsushima, M. 2007. Carotenoids in sea urchins. En: Lawrence, J.M. (ed.). *Edible sea urchins*. Elsevier Science B.V., pp. 159-166.

Ulbricht, R.J., Pritchard, A.W., 1972. Effects of temperature on metabolic rate of sea urchins. *Biol. Bull.* 142 (Nº1), 178–185.

Urgorri, V., Reboreda, P. y Troncoso, J.S. 1994.- Dispersión, demografía y producción gonadal de una población de *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816). (Memoria final del P.I.). FEUGA. Univ. Santiago de Compostela. 172 pp

Vadas R.L., Elnor R.W., Garwood P.E. & Babb I.G. 1986. Experimental evaluation of aggregation behavior in the sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Marine Biology*, 90: 433-448.

Vasserot, J. 1.987.- Perspectives d'accroissement de la production d'oursins comestibles au long des côtes françaises, notamment en Méditerranée, par l'introduction d'espèces étrangères judicieusement choisie. Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.

Verlaque, M. 1987.- Relations entre *Paracentrotus lividus* (Lamarck) et le phytobenthos de Méditerranée occidentale. Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.

Webster, S.K., Giese, A.C., 1975. Oxygen consumption of purple sea urchin with special reference to the reproductive cycle. *Biol. Bull.* 148, 165–180.

Weiss, R.F., 1970. Solubility of nitrogen, oxygen and argon in water and seawater. *Deep-Sea Res.* 17, 721-736

Willis, M.E., 1976. Studies on the biology of the sea urchin, *Paracentrotus lividus* (Lamarck) in Bantry Bay, south-west Ireland. MSc thesis, University College, Cork.

Wolcott, R., Messing, C. G. (2005). A comparison of diets and water agitation methods for larval culture of the edible sea urchin, *Tripneustes ventricosus* (Echinodermata: Echinoidea). *Bulletin of Marine Science–Miami*. Vol 77; Num 2, pp 177-190

Zavodnik, D. 1.987.- Synopsis on the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1.816) in the Adriatic sea. Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. Gis Posidonie. Faculté des Sciences de Luminy. Marseille.

Zhao, C., Weijie Z., Chang, Y. y Liu P. 2010. Test and gonad characteristics in different genders of cultivated sea urchins (*Strongylocentrotus intermedium*, Agassiz): First insight into sexual identification. *African Journal of Biotechnology* 9(44): 7560-7563.

3.- ANEXOS CON LOS INFORMES DE LAS DISTINTAS CCAA

En archivos de **Anexos de Informes de las CCAA**

4.- ANEXO V DE DIFUSIÓN

En archivo **Anexo V de Difusión**

6.- ANEXO VI

En archivo **Anexo VI de Actas de reuniones**