

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ciencias de la Vida

**Influencia de la alimentación en la supervivencia y crecimiento de juveniles de
*Isostichopus fuscus***

Código de Proyecto Integrador: VIDA-386

PROYECTO INTEGRADOR

Previo la obtención del Título de:

Biólogo

Presentado por:

Carolina Monserrate Vera Solorzano

GUAYAQUIL - ECUADOR

Año: 2024

Dedicatoria

A mi mamá y mi papá, por su amor, apoyo incondicional y guía constante a lo largo de mi vida. Gracias por ser mis mayores admiradores y por darme todo lo necesario para convertirme en una profesional.

A mi hermana Made, por ser mi ejemplo de vida, mi consejera y mi apoyo en cada etapa del camino. A mi abuelita Carolina, quien, aunque ya no está, fue como una madre para mí, brindándome amor infinito hasta su último día.

A mi tía Soraida, por ser una segunda madre y por acompañarme con su apoyo en cada momento importante.

A mis amigas Donna, Stefy, Mae y Rosita, por su amistad incondicional, su apoyo constante y por estar siempre a mi lado en los momentos difíciles y felices.

A mi enamorado Daniel, por llenar mis días de amor, felicidad y paz. Gracias por ser mi refugio y mi mayor apoyo emocional. Te amo.

Finalmente, a mis fieles compañeros de vida: mi gata Karen y mis perros Jake y Balto, por su amor incondicional.

Y a todas las personas que, de alguna manera, me acompañaron en este camino. Este logro también es suyo.

Carolina Monserrate Vera Solorzano

Agradecimientos

Quiero expresar mi profundo agradecimiento a todas las personas que fueron parte esencial en mi carrera universitaria y en la realización de este proyecto.

A mi amiga Liz, por ser mi compañera en la introducción al mundo del pepino de mar, un tema nuevo y desafiante. Su colaboración, apoyo y compañía hicieron más llevadero este proceso y fueron fundamentales para el éxito de este proyecto.

A mis tutores del CENAIM, el M.Sc. Karem Ramírez, María Panchana, y sus colaboradores Alex Escalante, Ronald Aquino y Jorge García, por su guía, paciencia y valiosas enseñanzas, así como a todos los miembros del CENAIM por su contribución significativa.

A la Ph.D. Julie Nieto Wigby, mi tutora de tesis, por su apoyo constante, paciencia y conocimiento compartido a lo largo de este camino.

Al programa REM y el proyecto DIPSIMAR por su valioso financiamiento, sin el cual este proyecto no habría sido posible.

Finalmente, gracias a todas las personas que forman parte del CENAIM, quienes contribuyeron de manera significativa a este proyecto. Sin todos ustedes, este logro no habría sido posible.

Declaración Expresa

Yo Carolina Monserrate Vera Solorzano acuerdo y reconozco que:

La titularidad de los derechos patrimoniales de autor (derechos de autor) del proyecto de graduación corresponderá al autor, sin perjuicio de lo cual la ESPOL recibe en este acto una licencia gratuita de plazo indefinido para el uso no comercial y comercial de la obra con facultad de sublicenciar, incluyendo la autorización para su divulgación, así como para la creación y uso de obras derivadas. En el caso de usos comerciales se respetará el porcentaje de participación en beneficios que corresponda a favor del autor.

La titularidad total y exclusiva sobre los derechos patrimoniales de patente de invención, modelo de utilidad, diseño industrial, secreto industrial, software o información no divulgada que corresponda o pueda corresponder respecto de cualquier investigación, desarrollo tecnológico o invención realizada por mí/nosotros durante el desarrollo del proyecto de graduación, pertenecerán de forma total, exclusiva e indivisible a la ESPOL, sin perjuicio del porcentaje que me corresponda de los beneficios económicos que la ESPOL reciba por la explotación de mi innovación, de ser el caso.

En los casos donde la Oficina de Transferencia de Resultados de Investigación (OTRI) de la ESPOL comunique al autor que existe una innovación potencialmente patentable sobre los resultados del proyecto de graduación, no se realizará publicación o divulgación alguna, sin la autorización expresa y previa de la ESPOL.

Carolina Vera

Carolina Monserrate Vera Solorzano

Evaluadores

M. Sc. Diego Arturo Gallardo

Profesor de Materia

Ph. D. Julie Nieto Wigby

Tutor de proyecto

Resumen

La sobreexplotación de *Isostichopus fuscus* ha reducido sus poblaciones naturales, haciendo necesario el desarrollo de estrategias sostenibles para su conservación. La baja supervivencia en acuicultura, asociados a una alimentación inadecuada, representan un desafío. Este proyecto evaluó el efecto del sustrato y las algas sobre la supervivencia y el crecimiento de juveniles de *Isostichopus fuscus*, mediante ensayos experimentales, para el desarrollo de un protocolo de alimentación. Se emplearon 13 juveniles por réplica en condiciones controladas en CENAIM, sometidos a siete tratamientos con macroalgas (*Padina sp.* y *Ulva lactuca*), microalgas (*Navicula sp.* y Mix), heces de erizo y sustratos (arena, arcilla). Los bioensayos, realizados durante 28 días, mostraron que *Padina sp.* favoreció significativamente el crecimiento, mientras que las heces de erizo mejoraron la supervivencia. La adición de sustratos no tuvo un impacto significativo. Estos resultados destacan el potencial de *Padina sp.* y materia orgánica (heces de erizo) en protocolos de alimentación que contribuyan a la recuperación de *Isostichopus fuscus* y a la reducción de la presión sobre sus poblaciones silvestres.

Palabras claves: *Isostichopus fuscus*, supervivencia, crecimiento, alimentación y acuicultura sostenible.

Abstract

*The overexploitation of *Isostichopus fuscus* has reduced its natural populations, making the development of sustainable conservation strategies necessary. Their low survival rates in aquaculture, associated with inadequate feeding, poses a significant challenge. This project evaluated the effect of substrate and algae on the survival and growth of *Isostichopus fuscus* juveniles through experimental trials aimed at developing a feeding protocol. Thirteen juveniles per replicate were maintained under controlled conditions at CENAIM and subjected to seven treatments involving macroalgae (*Padina* sp. and *Ulva lactuca*), microalgae (*Navicula* sp. and Mix), sea urchin feces, and substrates (sand, clay). The 28-day bioassays showed that *Padina* sp. significantly enhanced growth, while sea urchin feces improved survival. The addition of substrates had no significant impact. These findings highlight the potential of *Padina* sp. and organic matter (sea urchin feces) in feeding protocols that contribute to the recovery of *Isostichopus fuscus* and reduce pressure on wild populations.*

Keywords: *Isostichopus fuscus, survival, growth, feeding, sustainable aquaculture.*

Índice general

Resumen.....	I
<i>Abstract</i>	II
Índice general.....	III
Abreviaturas.....	VI
Simbología.....	VII
Índice de Figuras.....	VIII
Índice de tablas.....	IX
Capítulo 1.....	1
1.1 Introducción.....	2
1.2 Descripción del problema.....	3
1.3 Justificación del problema.....	4
1.4 Objetivos.....	5
1.4.1 Objetivo General.....	5
1.4.2 Objetivos Específicos.....	5
1.5 Marco Teórico.....	5
1.5.1 Introducción a <i>Isostichopus fuscus</i> y su Importancia.....	5
1.5.1.1 Taxonomía.....	5
1.5.1.2 Aspectos generales de <i>Isostichopus fuscus</i>	6
1.5.2 Distribución de <i>Isostichopus fuscus</i>	9

1.5.3	Ciclo de vida y hábitos reproductivos.....	10
1.5.4	Influencia de la alimentación en pepinos de mar.....	12
1.5.4.1	La influencia de la alimentación en <i>Isostichopus fuscus</i>	12
1.5.4.2	Otros factores que influyen en <i>Isostichopus fuscus</i>	13
1.5.5	Fuentes alimenticias de otras especies de pepino de mar	13
1.5.6	Producción de juveniles de otras especies de pepino de mar.....	14
1.5.6.1	Cultivo de juveniles de <i>Holothuria forskali</i>	14
1.5.6.2	Acuicultura multitrófica.....	15
Capítulo 2	16
2.1	Metodología	17
2.1.1	Ubicación del ensayo	17
2.1.2	Preparación del ensayo	17
2.1.3	Preparación de materias primas para tratamientos.....	19
2.1.4	Recambio de agua.....	21
2.1.5	Manipulación de organismos y muestreos.....	22
Capítulo 3	24
3.1	Resultados y análisis	25
3.1.1	Pruebas microbiológicas	25
3.1.2	Bioensayo 1 (ALGAS).....	26
3.1.2.1	Crecimiento.....	26

3.1.2.2	Supervivencia.....	27
3.1.3	Bioensayo 2 (ALGAS + SUSTRATO)	29
3.1.3.1	Crecimiento.....	29
3.1.3.2	Supervivencia.....	30
Capítulo 4.....		32
4.1	Conclusiones	33
4.2	Recomendaciones.....	34
4.3	Referencias.....	35

Abreviaturas

CENAIM	Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas
DIPSIMAR	Desarrollo e Implementación Piloto de Sistemas de Maricultura que generen incentivos a la Conservación del Manglar
ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral
INAMHI	Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología
REM	REDD for Early Movers

Simbología

°C	Celsius
Gr	Gramo
kg	Kilogramo
L	Litro
m	Metro
m ²	Metro cuadrado
mL	Mililitro
mm	Milímetro
µm	Micras
UFC	Unidad Formadora de Colonias

Índice de Figuras

Figura 1.1 <i>Isostichopus fuscus</i> Fuente: (López Abad, 2014).....	6
Figura 1.2 Morfología un juvenil de <i>Isostichopus fuscus</i> Fuente: (Mercier et al., 2013).....	8
Figura 1.3. Distribución de <i>Isostichopus fuscus</i> por el Pacífico. Fuente:(Mercier et al., 2013).....	9
Figura 1.4 Ciclo de vida del pepino de mar <i>Isostichopus fuscus</i> . Fuente: (Vergara-Chen et al., 2015).....	11
Figura 2.1 Ubicación del bioensayo – CENAIM-ESPOL, San Pedro. Fuente: Google Earth Pro.	17
Figura 2.2 Instalación de líneas de aire.....	19
Figura 2.3 y 2.4 Diagrama del laboratorio y disposición de los baldes de manera aleatoria.....	19
Figura 2.5 y 2.6 Tamizaje y secado de cada materia prima de los tratamientos.....	20
Figura 2.7, 2.8 y 2.9 Recolección de <i>Padina sp.</i> , arcilla y arena.....	21
Figura 2.10 Recambio de agua de los baldes.....	22
Figura 2.11 y 2.12 Observación y medición de los juveniles en el microscopio y proyector de perfiles.....	23
Figura 3.1 Crecimiento del bioensayo 1 durante el ciclo de cultivo.....	27
Figura 3.2 Supervivencia del bioensayo 1 durante el ciclo de cultivo.....	28
Figura 3.3 Crecimiento del bioensayo 2 durante el ciclo de cultivo.....	29
Figura 3.4 Supervivencia del bioensayo 2 durante el ciclo de cultivo.....	30

Índice de tablas

Tabla 1.1 Ciclo de vida de <i>Isostichopus fuscus</i> desde la fecundación hasta juvenil. Fuente: (Mercier et al., 2005)	11
Tabla 2.1 Tratamientos de alimentación con algas	18
Tabla 2.2 Tratamientos de alimentación con adición de sustrato	18
Tabla 3.1 y 3.2 Análisis microbiológicos de las materias primas.....	25

Capítulo 1

1.1 Introducción

Los pepinos de mar (Holothuroidea) son organismos marinos que desempeñan un papel fundamental tanto en los ecosistemas marinos como en las economías de diversos países. Su importancia se debe a su valor ecológico, económico y nutricional (Purcell et al., 2010). Desde el 2014 hasta la actualidad, la demanda de estos organismos ha crecido considerablemente, especialmente en países asiáticos donde son muy valorados en la gastronomía, cosméticos, suplementos para la salud y productos medicinales. Sin embargo, esta alta demanda ha resultado en la sobreexplotación de muchas especies, llevándolas al borde de la extinción (Deore, 2024; Glockner Fagetti, 2014).

Desde 2014, se han implementado medidas de conservación y prohibiciones estrictas sobre la pesca de especies vulnerables, las cuales se han reforzado hasta la fecha con el objetivo de promover su preservación y garantizar la sostenibilidad de sus poblaciones, asegurando así la viabilidad a largo plazo de la industria del pepino de mar (Deore, 2024; Glockner Fagetti, 2014). Sin embargo, estas estrategias no han sido suficientes, y muchas especies continúan en peligro de extinción. Entre las más afectadas por la sobrepesca y el contrabando para su exportación se encuentran *Isostichopus fuscus*, *Apostichopus japonicus* y *Holothuria scabra*. Según la Lista Roja de la UICN 2024, se estima que el 21.21 % de las especies de pepinos de mar están en peligro de extinción (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources, 2024; Museo Nacional de Historia Natural, 2020).

Isostichopus fuscus es una especie que desde el año 2010 se encuentra clasificada en la categoría A2bd de la Lista Roja de la UICN, lo que indica que se encuentra en peligro de extinción debido a múltiples amenazas. Entre los principales factores que afectan a esta especie están la

contaminación por aguas residuales domésticas y urbanas, así como la pesca y recolección excesiva, actividades que generan estrés en los organismos y pueden llevar a su muerte.

La baja tasa de reproducción de *Isostichopus fuscus* y su sensibilidad a los contaminantes, han sumado al declive de su población, particularmente en los individuos maduros. Como resultado las autoridades de varios países han implementado planes de acción para recuperar sus poblaciones. Entre estas medidas se incluye la prohibición de la pesca de la especie en países como Panamá, Ecuador, El Salvador y Costa Rica, donde *Isostichopus fuscus* es nativa (Mercier et al., 2005).

La producción acuícola es una forma de proteger especies amenazadas como *Isostichopus fuscus*. Por lo tanto, numerosos centros de investigación y granjas de cultivo han estado dedicando esfuerzos para desarrollar métodos de cultivo efectivos que permitan la producción comercial de otras especies de pepinos de mar, reduciendo así la presión sobre sus poblaciones silvestres. Estas iniciativas buscan evitar la captura ilegal de estos animales, ofreciendo una alternativa sostenible para su comercialización. A través de esta investigación, esperamos obtener información relevante a través de la creación de un protocolo de alimentación en juveniles, con el objetivo de contribuir a la protección de *Isostichopus fuscus*, una especie amenazada.

1.2 Descripción del problema

La sobreexplotación de *Isostichopus fuscus* en Ecuador, a pesar de la veda permanente, ha reducido sus poblaciones naturales, lo que ha llevado a su inclusión en la Lista Roja de especies amenazadas (Mercier et al., 2013).. Para aliviar esta presión, la acuicultura se plantea como una alternativa viable; sin embargo, la baja tasa de supervivencia durante el ciclo de cultivo representa

un desafío, agravado por la limitada información sobre la especie y las condiciones inadecuadas de alimentación y manejo (Mercier et al., 2005).

Optimizar estas condiciones es esencial para que la acuicultura de *Isostichopus fuscus* sea una opción. Al momento se requiere mejorar la supervivencia para contribuir a la conservación del mismo. Estas mejoras permitirían recuperar las poblaciones naturales y reducir la captura en su hábitat, promoviendo una producción más sostenible.

1.3 Justificación del problema

La necesidad de abordar este problema radica en la acelerada disminución de las poblaciones de *Isostichopus fuscus*, una especie de importancia ecológica y económica de los pescadores de Ecuador (Calderón Aguilera et al., 2018), subrayando la vulnerabilidad de sus poblaciones naturales y la necesidad de acciones efectivas para su conservación.

La acuicultura surge como una alternativa para reducir la presión sobre las poblaciones silvestres; sin embargo, aún existen cuellos de botella en el proceso de larvicultura que limitan el abastecimiento de larvas para fomentar procesos productivos. Este desafío es crítico considerando que se estima una demanda global de 100,000 toneladas de pepinos de mar vivos por año (Purcell et al., 2010). Entre los principales desafíos se tiene la baja supervivencia durante el ciclo de cultivo, vinculada a la falta de conocimientos sobre alimentación y manejo adecuados (Mercier et al., 2005).

La relevancia de esta investigación se centra en su potencial para preservar la biodiversidad marina y estabilizar los ecosistemas donde habita esta especie, al tiempo que fomenta beneficios socioeconómicos.

1.4 Objetivos

1.4.1 *Objetivo General*

Evaluar el efecto del sustrato y las algas sobre la supervivencia y el crecimiento de juveniles de *Isostichopus fuscus*, mediante ensayos experimentales, para el desarrollo de un protocolo de alimentación.

1.4.2 *Objetivos Específicos*

- Evaluar el efecto de la alimentación con algas en la supervivencia y el crecimiento de juveniles de *Isostichopus fuscus*.
- Evaluar el efecto de la adición del sustrato sobre la supervivencia y el crecimiento de juveniles de *Isostichopus fuscus*.

1.5 Marco Teórico

1.5.1 *Introducción a Isostichopus fuscus y su Importancia*

1.5.1.1 *Taxonomía*

El pepino de mar café, conocido científicamente como *Isostichopus fuscus* (Ludwig, 1875), pertenece al reino Animalia y al filo Echinodermata, caracterizado por organismos marinos con simetría radial. Su clase es Holothuroidea, la cual agrupa a las japs o pepinos de mar, mientras que su orden, Synallactida, y familia, Stichopodidae, incluyen especies de importancia ecológica y económica. Dentro del género *Isostichopus*, esta especie destaca por su distribución en el Pacífico tropical y su papel en los ecosistemas marinos (Galapagos Species Database, 2024).

Reino: Animalia

Filo: Echinodermata

Subfilo: Echinozoa

Clase: Holothuroidea

Subclase: Actinopoda

Orden: Synallactida

Familia: Stichopodidae

Género: *Isostichopus*

Especie: *Isostichopus fuscus* (Ludwig, 1875) (Figura 1.1)

Nombre común: Pepino de mar café.

Figura 1.1

Isostichopus fuscus Fuente: (López Abad, 2014)



1.5.1.2 Aspectos generales de *Isostichopus fuscus*.

Los pepinos de mar del género *Isostichopus* son organismos bentónicos esenciales en los fondos marinos. Se alimentan de materia orgánica en los sedimentos y, al hacerlo, contribuyen al

reciclaje de nutrientes y la oxigenación de los sedimentos marinos. Se ha determinado que estos organismos pueden remover aproximadamente 45 kg de sedimento por año, lo que previene la anoxia en el fondo marino al promover la oxigenación en los sedimentos (Sonnenholzner et al., 2015).

A pesar de su importancia ecológica, los estudios sobre la biología y ecología de *Isostichopus* son escasos, lo cual limita el conocimiento necesario para su conservación y acuicultura. Este género incluye varias especies, como *Isostichopus fuscus*, *Isostichopus badionotus*, e *Isostichopus niger*, que están ampliamente distribuidas en distintos océanos y son cruciales para la salud de los ecosistemas marinos (Instituto Mexicano de Investigación en Pesca y Acuicultura Sustentable, 2018).

La alta demanda de *Isostichopus* en el mercado como fuente de proteínas ha llevado a una intensa sobreexplotación en al menos tres océanos principales (Pacífico, Atlántico e Índico). Esta presión ha resultado en una significativa disminución de sus poblaciones, lo cual destaca su vulnerabilidad y la urgencia de implementar medidas de conservación. Por lo tanto, estos factores resaltan tanto la importancia ecológica de estos pepinos de mar en la sostenibilidad de los ecosistemas bentónicos como su relevancia económica para la pesca y mercados internacionales (Calderón Aguilera et al., 2018).

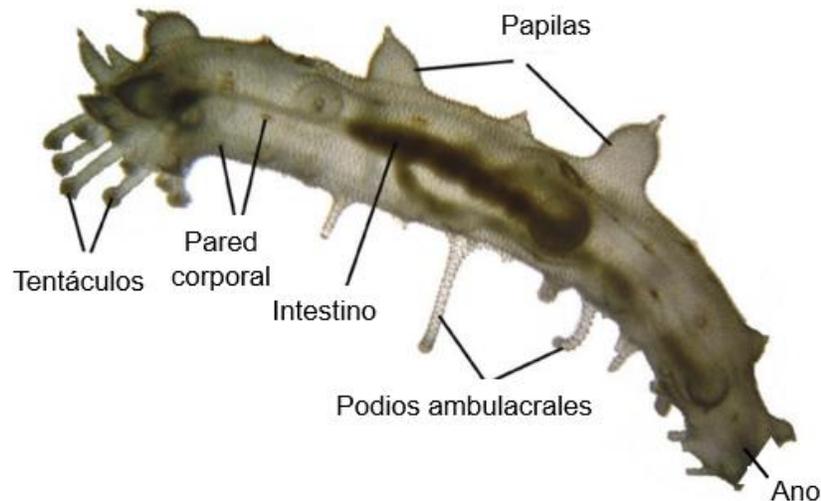
Isostichopus fuscus, comúnmente llamado pepino de mar café en Ecuador es una especie bentónica de gran tamaño, por lo que también se le conoce como el pepino de mar gigante. Su cuerpo presenta simetría bilateral, es alargado, blando y flexible, con una consistencia carnosa y sin esqueleto externo visible. Su color marrón oscuro, que puede variar en tonalidad, le permite camuflarse eficazmente en el fondo marino, protegiéndolo de posibles depredadores (Sonnenholzner et al., 2015).

El pepino de mar café se caracteriza por una pared corporal gruesa y una parte dorsoventral aplanada. Su locomoción es facilitada por numerosos podios ambulacrales, pequeños pies tubulares conectados al sistema vascular acuífero, que actúan tanto para desplazarse lentamente como para adherirse al sustrato marino. Además de sus funciones de locomoción, algunos de estos podios también actúan como papilas sensoriales, ayudando al pepino de mar a detectar cambios en su entorno y a identificar posibles depredadores o sustratos cercanos (García Rojas, 2015).

En la región de la boca, *Isostichopus fuscus* (Figura 1.2) tiene una corona de tentáculos retráctiles que utiliza para su alimentación. Estos tentáculos permiten capturar partículas de materia orgánica del sedimento, las cuales son luego dirigidas hacia la boca. Internamente, el pepino de mar posee un intestino alargado que le permite realizar fuertes movimientos peristálticos, esenciales para la digestión de la materia que consume del fondo marino (García Vázquez, 2016).

Figura 1.2

Morfología un juvenil de Isostichopus fuscus Fuente: (Mercier et al., 2013)



1.5.2 Distribución de *Isostichopus fuscus*

Isostichopus fuscus habita en la zona costera desde el submareal somero hasta los 40 m de profundidad zonas rocosas, fondos pedregosos y arrecifes coralinos con sustratos de arcillas, algas y conchas en el Pacífico Oriental (Vergara-Chen et al., 2015). Su distribución geográfica (Figura 1.3) abarca desde el Golfo de California hasta Perú, incluyendo las Islas Galápagos, Socorro, Cocos y Revillagigedos (Galicía Vazquez, 2016). Esta especie es explotada tanto comercial como artesanalmente, especialmente en países asiáticos como China y Hong Kong, donde es valorada en la gastronomía y por sus propiedades nutricionales (Glockner Fagetti, 2014).

La presencia y abundancia del pepino de mar café están influenciadas por factores antropogénicos y ambientales, tales como la contaminación, la destrucción de hábitats y la sobreexplotación (Galicía Vazquez, 2016). La pesca excesiva y la presión de la demanda internacional han comprometido la sostenibilidad de sus poblaciones naturales, agravando el riesgo de extinción de la especie y la degradación de su ecosistema (Glockner Fagetti, 2014).

Figura 1.3

Distribución de Isostichopus fuscus por el Pacífico. Fuente:(Mercier et al., 2013)



Nota: El área resaltada en color mostaza en la imagen representa la distribución a lo largo de la costa del Pacífico.

1.5.3 Ciclo de vida y hábitos reproductivos

Isostichopus fuscus presenta un ciclo reproductivo anual, con una temporada de reproducción que ocurre entre los meses de julio y septiembre. Esta especie es particularmente sensible a las variaciones de temperatura en el mar, lo que influye significativamente en su ciclo reproductivo. Se ha observado que el desove se produce en las temperaturas más altas, alrededor de 27 °C. En Ecuador, el desove tiende a ocurrir en los días posteriores a la luna nueva, dentro de un período de cuatro días. La madurez sexual de esta especie se alcanza cuando los individuos miden aproximadamente 21 cm, y el periodo larvario dura entre 22 y 27 días. A los 72 días, las larvas alcanzan los 3.5 cm, y a los 110 días, aproximadamente 8 cm (Vergara-Chen et al., 2015)

El ciclo de vida de *Isostichopus fuscus* incluye varias etapas, y las larvas pasan por un desarrollo oligotrófico en el que son transparentes y muestran disparidad en su crecimiento. Este desarrollo asincrónico comienza con la fertilización, en la que se eleva la envoltura de fecundación en un proceso de aproximadamente 4 minutos. Luego, se observa la expulsión del primer cuerpo polar a los 7 minutos y del segundo cuerpo polar a los 9 minutos. Las blástulas aparecen alrededor de las 3 horas, seguidas por una gástrula temprana a las 6 horas, la cual eclosiona aproximadamente a las 10 horas, dando paso a una gástrula tardía a las 14 horas (Figura 1.4) (Mercier et al., 2005).

Aproximadamente dos días después del desove, las larvas entran en la fase auricularia temprana, que se extiende por unos 15 días hasta el inicio de la metamorfosis hacia auricularia tardía, alrededor del día 16. Esta metamorfosis implica la transición de auricularia tardía a doliolaria hacia el día 24. En la etapa de doliolaria, las larvas experimentan una reducción de tamaño significativa, hasta en un 50%, y sus esferas hialinas se agrupan, adquiriendo una forma redondeada. Durante esta etapa, pierden la cavidad bucal y dejan de alimentarse. Hacia el día 26, las larvas alcanzan la etapa pentáctula temprana, desarrollando cinco tentáculos bucales y

reanudando su alimentación. Alrededor del día 30, finalizan la metamorfosis y se asientan en el sustrato, iniciando su etapa juvenil (Tabla 1.1) (Mercier et al., 2005).

Figura 1.4

*Ciclo de vida del pepino de mar *Isostichopus fuscus*. Fuente: (Vergara-Chen et al., 2015)*

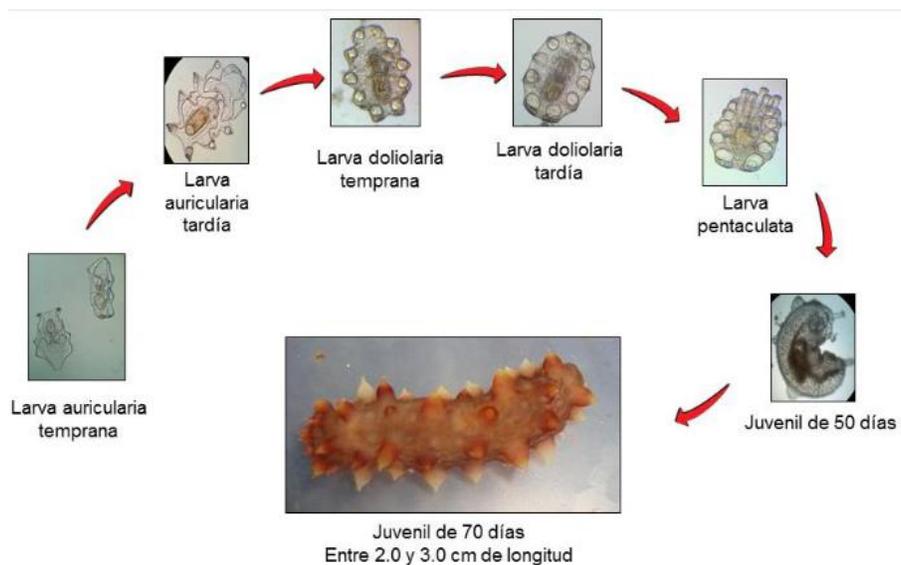


Tabla 1.1

*Ciclo de vida de *Isostichopus fuscus* desde la fecundación hasta juvenil. Fuente: (Mercier et al., 2005)*

Stage	Time	Stage	Time
Fertilization	0	Doliolaria	19-24 d
Elevation of the fertilization envelope	4 min	Early pentactula	21-26 d
Expulsion of the first polar body	7 min	Settlement (metamorphosis completed)	22-27 d
Expulsion of the second polar body	9 min	Juvenile, 1 mm	28 d *
2-cell	52 min	Juvenile, 2 mm	30 d
4-cell	70 min	Juvenile, 3 mm	32 d
8-cell	95 min	Juvenile, 4 mm	38 d
16-cell	124 min	Juvenile, 5 mm	40 d
32-cell	140 min	Juvenile, 8 mm	44 d
Blastula	3 h	Juvenile, 10 mm	47 d
Early gastrula	6 h	Juvenile, 15 mm	51 d
Hatching	10 h	Juvenile, 20 mm	56 d
Late gastrula (elongation)	14 h	Juvenile, 25 mm	63 d
Early auricularia	1-2 d	Juvenile, 30 mm	69 d
Auricularia	3-15 d	Juvenile, 35 mm	72 d
Late auricularia (early metamorphosis)	16-18 d		

1.5.4 Influencia de la alimentación en pepinos de mar

1.5.4.1 La influencia de la alimentación en *Isostichopus fuscus*

La alimentación de los pepinos de mar es fundamental para su crecimiento, salud y supervivencia. Entender sus necesidades nutricionales es esencial para desarrollar métodos de cultivo eficientes que aseguren una cantidad y calidad de alimento adecuadas. Sin embargo, aún se necesita más información específica sobre el crecimiento y los requisitos alimenticios de *Isostichopus fuscus* (Sonnenholzner et al., 2013, 2015, 2016)

Un manejo inadecuado de la alimentación puede causar problemas en el cultivo. La sobrealimentación, provoca la proliferación de patógenos debido a los restos de alimento acumulado, mientras que la subalimentación genera competencia por los recursos, dejando sin alimento a algunos individuos. Además, una alta densidad de organismos produce más desechos, lo que también facilita el desarrollo de patógenos oportunistas. En estos entornos, la presencia de copépodos representa un peligro especial para juveniles de menos de 5 mm, ya que pueden actuar como depredadores y afectar la supervivencia de estos individuos (Sonnenholzner et al., 2015)

En cultivo, la dieta de *Isostichopus fuscus* generalmente incluye macroalgas pulverizadas como *Padina sp.* y *Sargassum sp.*, junto con microalgas como *Navicula spp.*, que se administran dos veces al día. La variedad en la alimentación es importante para asegurar un buen equilibrio de nutrientes, evitando los efectos negativos de una dieta repetitiva (Sonnenholzner et al., 2015).

Por otro lado, la temperatura del agua también influye en el comportamiento alimenticio. Al superar los 26 °C, los pepinos de mar tienden a reducir su actividad y su consumo de alimento. Por ello, tanto la calidad y diversidad del alimento como el control de las condiciones ambientales

son aspectos clave para asegurar un cultivo exitoso de *Isostichopus fuscus* (Sonnenholzner et al., 2015).

1.5.4.2 Otros factores que influyen en *Isostichopus fuscus*

Además de la alimentación, existen otros factores que afectan significativamente a los pepinos de mar, tanto en estado juvenil como en su etapa larval. En larvas de *Isostichopus fuscus*, se ha observado la presencia de autólisis, proceso en el cual el cuerpo de la larva comienza a desintegrarse en pocos días. Esto suele asociarse con un parásito que se alimenta de los tejidos intestinales de las larvas, dañando las paredes intestinales y causando la reducción y desaparición del tracto digestivo provocando la muerte de las larvas en muchos casos. Las larvas que logran sobrevivir al parásito experimentan un desarrollo extremadamente lento. Hasta la fecha, ha sido difícil cultivar *Isostichopus fuscus* libre de este parásito (Sonnenholzner et al., 2015). Para controlar organismos nocivos, es esencial realizar recambios de agua de manera regular, utilizando agua previamente filtrada y tratada con luz ultravioleta.

En la fase juvenil también se han encontrado competidores como los copépodos, los cuales muerden a los juveniles y, en ocasiones produciendo la muerte. Aunque se reconoce la importancia de un manejo adecuado para reducir la incidencia de estos patógenos, es necesario investigar más a fondo los patógenos específicos que afectan a *Isostichopus fuscus* y las estrategias de control (Mercier et al., 2005).

1.5.5 Fuentes alimenticias de otras especies de pepino de mar

Los pepinos de mar poseen una dieta variada que depende de la especie y del entorno, incluyendo materia orgánica, partículas inorgánicas y microorganismos. Los estudios del contenido intestinal de diferentes especies (*Apostichopus japonicus* y *Holothuria forskali*) revelan

la presencia de fragmentos de conchas, restos de plantas marinas, desechos orgánicos y organismos bentónicos como bacterias, diatomeas y hongos. Su alimentación también está influenciada por el tamaño corporal; los organismos pequeños consumen principalmente diatomeas bentónicas y detritos orgánicos, mientras que los más grandes incorporan una mayor cantidad de sedimento (Yang et al., 2015).

Las fuentes alimenticias clave de los pepinos de mar incluyen diatomeas, dinoflagelados, protozoos, bacterias heterotróficas y macroalgas pardas como *Sargassum thunbergii* y *Laminaria japonica*. Los análisis metabolómicos del contenido estomacal indican que los juveniles presentan una dieta rica en pigmentos como clorofila a y b, luteína y derivados de fucoxantina, lo que refleja un consumo predominante de algas verdes, algas pardas y diatomeas. Asimismo, las bacterias y los productos derivados de la degradación de materia orgánica representan una fuente nutricional relevante, especialmente en los sedimentos que ingieren (Yang et al., 2015).

El proceso de alimentación por deposición permite a los pepinos de mar consumir grandes cantidades de sedimento, optimizando su ingesta energética. Este comportamiento también fomenta la proliferación de microalgas y microorganismos, lo que resalta su papel esencial como recicladores de nutrientes en los ecosistemas marinos (Yang et al., 2015).

1.5.6 Producción de juveniles de otras especies de pepino de mar

1.5.6.1 Cultivo de juveniles de *Holothuria forskali*

Un estudio comparó dos sistemas de cultivo para juveniles de *Holothuria forskali*. En el primer experimento, se utilizó un sistema raceway en interiores con agua de mar filtrada y tratada con luz UV, mantenida a temperaturas entre 20 y 21 °C. La densidad fue de 80 individuos/m², alimentados cada 2-3 días con macroalgas verdes descompuestas (*Ulva sp.* o *Enteromorpha sp.*),

tamizadas a partículas de 50-300 μm . Para mantener condiciones óptimas, los tanques se limpiaron mensualmente y se renovó el 10 % del agua semanalmente, evitando condiciones anóxicas (David et al., 2024).

En el segundo experimento, se colocaron 18 juveniles en cestas de malla de 6 mm, situadas debajo de cestas con 3,5 kg de ostras. Este sistema permitió que los juveniles aprovecharan las heces y pseudoheces de los mariscos como fuente de materia orgánica, así como la biopelícula de las jaulas (David et al., 2024).

Los resultados indicaron que el segundo experimento fue más efectivo, logrando mejores tasas de supervivencia y crecimiento, atribuidas a la disponibilidad de nutrientes fácilmente accesibles y al soporte de comunidades microbianas nutritivas (David et al., 2024).

1.5.6.2 Acuicultura multitrófica

Considerando que el pepino de mar es un organismo bentónico, es un excelente candidato para cultivos acuícolas multitróficos. Su implementación en pepinos de mar ha demostrado ser una estrategia efectiva para optimizar recursos y mejorar la sostenibilidad. Se ha establecido que estos organismos pueden consumir materia orgánica presente en desechos de otras especies, como las heces de peces y erizos de mar, contribuyendo al reciclaje de nutrientes. Además, su integración en estanques de camarón junto con almejas ha incrementado los ingresos netos, destacando los beneficios económicos de los sistemas mixtos (Lujan, 2023)

Por otro lado, ensayos con macroalgas han revelado que densidades bajas de siembra, aproximadamente 130 gr/m^2 , favorecen un crecimiento óptimo, con tasas de hasta 1.6 $\text{gr}/\text{día}$. Estos resultados subrayan la importancia de una gestión adecuada de la densidad y el aprovechamiento de recursos orgánicos para maximizar la productividad en cultivos integrados (Lujan, 2023).

Capítulo 2

2.1 Metodología

2.1.1 Ubicación del ensayo

El bioensayo se llevó a cabo en las instalaciones del Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas (CENAIM) (Figura 2.1), localizado en San Pedro, Santa Elena, Ecuador (530110.00 m E, 9783908.00 m S). Los experimentos se realizaron durante los meses de octubre y noviembre del 2024, periodo en el que, según el INAMHI, la temperatura del mar osciló entre 18.3°C y 26.2°C (Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología, 2024).

Figura 2.1

Ubicación del bioensayo – CENAIM-ESPOL, San Pedro. Fuente: Google Earth Pro.



2.1.2 Preparación del ensayo

Se utilizaron 21 baldes redondos de plástico transparente, con una capacidad de 4 L y un área de 0.164 m², en los cuales se mantuvo un volumen de 3 L de agua de mar filtrada mediante filtros UV, a una temperatura ambiente de 23 a 26 °C. En cada balde se sembraron 13 juveniles de *Isostichopus fuscus* de 0.1 cm. Se establecieron cinco tratamientos distribuidos en dos ensayos, cada uno con su respectivo control. Un ensayo incluyó tres tratamientos y un control (Tabla 2.1), mientras que el otro ensayo consistió en dos tratamientos y un control (Tabla 2.2). Cada tratamiento

tuvo tres réplicas, y los baldes fueron asignados mediante sorteo aleatorio. Los baldes se lavaron con jabón neutro y una esponja para evitar cualquier contaminación, y posteriormente se organizaron en cuatro columnas de cinco filas, dejando uno en solitario (Figura 2.3 y 2.4). Para garantizar una adecuada aireación (Figura 2.2), se instaló una flauta de distribución que proporcionó aire a cada balde. Además, cada balde fue numerado y equipado con una sola línea de aire, adecuada para su tamaño reducido. Finalmente, los baldes se llenaron con agua filtrada por luz ultravioleta (UV).

Tabla 2.1

Tratamientos de alimentación con algas

Tratamientos		Balde
Control	<i>Navicula sp.</i> 100 ml - (2 dosis semanal) 825000 cel/ml	12
		3
		20
T1	<i>Padina sp.</i> molida 0.2 gr - (1 dosis semanal)	7
		16
		9
T2	<i>Ulva lactuca</i> molida 0.2 gr - (1 dosis semanal)	13
		10
		5
T3	Mezcla de algas 100 ml - (2 dosis semanal – relación 1:1:1) (<i>Pavlova sp.</i> , <i>Chaetoceros sp.</i> y <i>Tetraselmis sp.</i>)	14
		2
		18

Tabla 2.2

Tratamientos de alimentación con adición de sustrato

Tratamientos		Balde
Control	Arena 0.5 gr - (1 dosis semanal)	15
	Arcilla 0.2 gr - (1 dosis semanal)	17
	<i>Navicula sp.</i> 50 ml - (2 dosis semanal)	6
T1	Arena 0.5 gr - (1 dosis semanal)	4
	Arcilla 0.2 gr - (1 dosis semanal)	19
	Heces de erizo 0.3 gr - (1 dosis semanal)	11
T2	Arena 0.5 gr - (1 dosis semanal)	21
	Arcilla 0.2 gr - (1 dosis semanal)	1
	<i>Padina sp.</i> molida 0.2 gr - (1 dosis semanal)	8

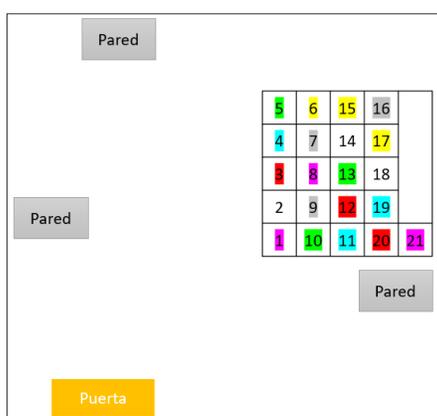
Figura 2.2

Instalación de líneas de aire



Figura 2.3 y 2.4

Diagrama del laboratorio y disposición de los baldes de manera aleatoria



2.1.3 Preparación de materias primas para tratamientos

SUSTRATO (Ensayo 2) - La arena y la arcilla fueron recolectadas y preparadas. La arena se obtuvo de la playa de CENAIM (1.95621° S, 80.73015° O), y la arcilla (suelo) fue recolectada en Palmar, en una antigua camaronera (2.02044° S, 80.71095° O). Ambas materias primas se secaron en una estufa a 100 °C durante 24 horas para eliminar microorganismos y facilitar el tamizado. Posteriormente, la arena y la arcilla fueron tamizadas con un tamiz de 100 micras para asegurar que el tamaño de las partículas fuera adecuado para la digestión de los juveniles, y cada componente fue pesado en la cantidad requerida con una balanza analítica (Figura 2.5 y 2.6).

ALGAS (Macroalgas) - La *Padina sp.* y *Ulva lactuca* fueron recolectadas y preparadas. La *Padina sp.* se recolectó de la playa de San Pedro (1.96496° S, 80.73703° O) y se lavó con agua dulce para eliminar organismos no deseados (Figura 2.7, 2.8 y 2.9), mientras que la *Ulva spp.* fue proporcionada por el laboratorio de macroalgas de CENAİM. Ambas materias primas se secaron en una estufa a 100 °C durante 24 horas para eliminar microorganismos y facilitar el macerado y tamizado. Luego ambas se maceraron con un mortero y fueron tamizadas con un tamiz de 100 micras para asegurar que el tamaño de las partículas fuera adecuado para la digestión de los juveniles, y cada componente fue pesado en la cantidad requerida con una balanza analítica.

ALGAS (Microalgas) - La *Navicula sp.* y la mezcla de microalgas (*Pavlova sp.*, *Chaetoceros sp.* y *Tetraselmis sp.*) fueron proporcionados por el laboratorio de microalgas (carboys interiores) de CENAİM.

ALGAS (Pseudoheces) - Las heces de erizo, compuestas por *Padina sp.* procesada durante la digestión de los erizos, se recolectaron de los tanques de cultivo del CENAİM mediante sifonado y se tamizaron a 100 micras para seleccionar únicamente las partículas de tamaño adecuado.

Figura 2.5 y 2.6

Tamizaje y secado de cada materia prima de los tratamientos



Figura 2.7, 2.8 y 2.9

Recolección de Padina sp., arcilla y arena



2.1.4 Recambio de agua

La temperatura se mantuvo en condiciones ambientales, oscilando entre 23 y 26 °C durante todo el experimento. Se realizaron recambios de agua dos veces por semana, los martes y jueves. Los martes, se efectuó un recambio del 100% del agua mediante un sistema de flujo continuo, es decir que se introducía con otra manguera la misma cantidad de agua que salida. Una vez finalizado el recambio se añadieron los tratamientos líquidos, compuestos por *Navicula sp.* y una mezcla de microalgas (*Pavlova sp.*, *Chaetoceros sp.* y *Tetraselmis sp.*). Cada jueves, se realizó sifón del fondo (Figura 2.10), se añadieron tanto los tratamientos líquidos (*Navicula sp.* y la mezcla de microalgas) como los componentes en polvo (arena, arcilla, *Padina sp.*, *Ulva lactuca* y heces de erizo). Antes de su adición, los componentes sólidos en polvo fueron previamente diluidos y mezclados en agua de mar filtrada para asegurar una distribución homogénea. Una vez agregados, se mantuvo el sistema de aireación apagado durante 30 minutos para permitir que los sólidos se asentaran en el fondo del tanque. Cabe mencionar que los tratamientos sólidos se incorporaron únicamente una vez a la semana, los días jueves.

Figura 2.10

Recambio de agua de los baldes

**2.1.5 Manipulación de organismos y muestreos**

Para la siembra de los animales en los baldes, se observó los organismos bajo el microscopio para ver su desarrollo corporal y el proyector de perfiles para ver su tamaño, cada individuo fue transferido cuidadosamente con una pipeta a una caja Petri, controlando el volumen de agua en la caja para evitar que los organismos se movieran en exceso (cuando había demasiada agua) o que se deshidrataran (cuando había poca). Una vez finalizadas las observaciones sobre su desarrollo corporal y mediciones de crecimiento, los organismos fueron devueltos a sus respectivos baldes siguiendo el mismo método, garantizando su seguridad.

Durante el muestreo, se tomaron cinco juveniles de cada balde y se colocaron en una caja Petri para evaluar su crecimiento, realizar un conteo total por balde y registrar su supervivencia. Las mediciones se llevaron a cabo utilizando un proyector de perfiles (Mitutoyo PJ-A3000) para medir el tamaño de los juveniles, un microscopio óptico (Olympus CV31) para observar su desarrollo corporal y un estereoscopio (Olympus SZ61) para capturar los juveniles enterrados en el sedimento (Figura 2.11 y 2.12). En la cosecha final, además de medir todos los organismos con

una regla mientras se observaban bajo el estereoscopio, se realizó un conteo completo para evaluar la supervivencia en cada balde, garantizando la recopilación de datos finales precisos. Al finalizar el experimento, se tomaron muestras de los sustratos y las macroalgas para evaluar posibles contaminaciones derivadas de los tratamientos aplicados en los baldes, asegurándose de que no hubiese alteraciones microbiológicas que pudieran afectar los resultados experimentales.

Figura 2.11 y 2.12

Observación y medición de los juveniles en el microscopio y proyector de perfiles



Capítulo 3

3.1 Resultados y análisis

Los experimentos se llevaron a cabo durante 17 días en la fase juvenil, registró un tamaño uniforme de 0,10 cm en todos los tratamientos, demostrando condiciones homogéneas y óptimas en el inicio de los experimentos. Además, la temperatura se mantuvo dentro de un rango de 23 a 26 °C a lo largo del experimento.

3.1.1 Pruebas microbiológicas

Al finalizar el experimento, se realizaron pruebas para evaluar la carga microbiana de los sustratos. El polvo de *Ulva. sp* y el polvo de *Padina sp.* presentaron bajas concentraciones de bacterias totales (3.30×10^5 y 3.60×10^4 UFC/g, respectivamente), además de la ausencia de vibrios. Por otro lado, la arcilla mostró una mayor carga bacteriana con 5.20×10^6 UFC/g, junto con la presencia moderada de levaduras y hongos. En cambio, la arena de equinodermos presentó $2,68 \times 10^4$ UFC/g de bacterias totales, con bajos niveles de hongos (100 UFC/g) y sin detección de vibrios (Tabla 3.1 y 3.2).

Las heces de erizos fueron las que destacaron con la mayor carga microbiana general, alcanzando 8.60×10^8 UFC/g de bacterias totales y 1.27×10^8 UFC/g de vibrios, siendo los vibrios amarillos y verdes los más abundantes. Además, no se detectaron cargas elevadas de *Aeromonas* ni *Pseudomonas* en ninguna de las muestras analizadas (Tabla 3.1 y 3.2).

Tabla 3.1 y 3.2

Análisis microbiológicos de las materias primas

Muestra	Bacterias Totales	Levaduras	Hongos
Polvo de <i>Ulva lactuca</i>	3.30E+05	<100	2.00E+03
Polvo de <i>Padina sp.</i>	3.60E+04	<100	<100

Arcilla	5.20E+06	2.00E+03	3.00E+02
Arena	2.68E+4	<100	1.00E+02
Heces de erizos	8.60E+08	1.32E+05	1.10E+03

Muestra	Vibrios (amarillas)	Vibrios (verdes)	Vibrios (negras)	Vibrios (luminiscentes)
Polvo de <i>Ulva lactuca</i>	<100	<100	<100	<100
Polvo de <i>Padina sp.</i>	<100	<100	<100	<100
Arcilla	<100	<100	<100	<100
Arena	<100	<100	<100	<100
Heces de erizos	8.90E+07	3.80E+07	<100	<100

Los resultados indican que la carga microbiana varió entre los sustratos evaluados, siendo las heces de erizo las que presentaron el mayor nivel de bacterias totales y vibrios, lo que podría representar un riesgo sanitario en el cultivo de *Isostichopus fuscus*. En contraste, el polvo de *Ulva lactuca*. y *Padina sp.* mostró bajas concentraciones bacterianas y ausencia de vibrios, sugiriendo que son opciones más seguras. Estos hallazgos destacan la importancia de monitorear la calidad microbiológica de los sustratos para optimizar las condiciones del cultivo y reducir posibles impactos negativos en la salud de los organismos.

3.1.2 Bioensayo 1 (ALGAS)

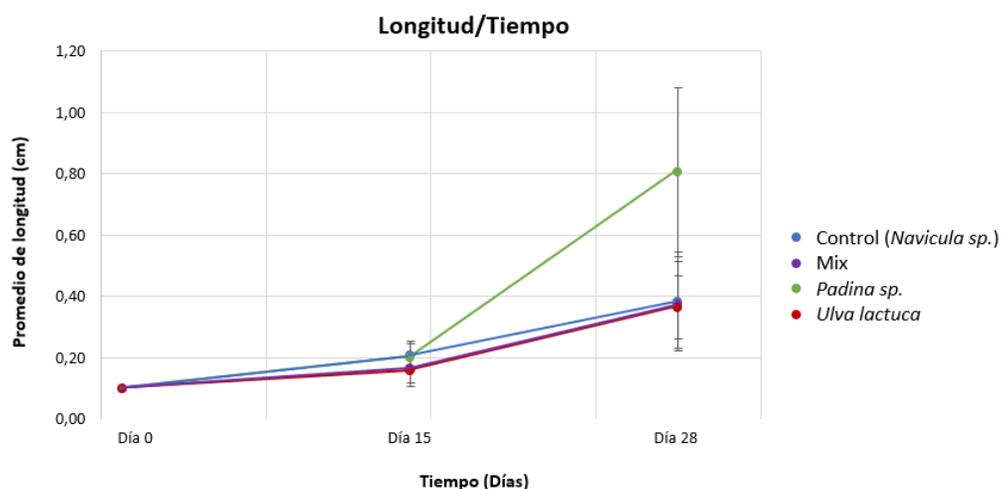
3.1.2.1 Crecimiento

En el experimento con algas, a los 15 días no se observó diferencias significativas entre los tratamientos. El control (*Navicula sp.*) presentó el mayor crecimiento promedio (0,21 cm), seguido

por *Padina sp.* (0,20 cm), Mix (0,16 cm) y *Ulva lactuca* (0,16 cm). Al momento de la cosecha, *Padina sp.* sobresalió significativamente, alcanzando un crecimiento promedio de 0,81 cm, el valor más alto registrado. Por otro lado, los tratamientos de control, Mix y *Ulva lactuca* mostraron menor crecimiento, con valores de 0,38 cm, 0,37 cm y 0,36 cm, respectivamente (Figura 3.1).

Figura 3.1

Crecimiento del bioensayo 1 durante el ciclo de cultivo

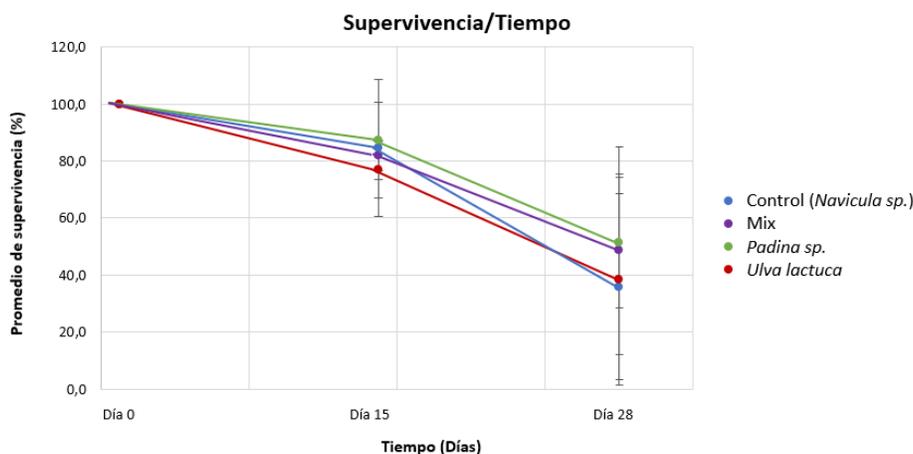


3.1.2.2 Supervivencia

En el experimento con algas, se evidenciaron diferencias significativas en la supervivencia a los 15 días de monitoreo. El tratamiento *Padina sp.* presentó la mayor supervivencia (87,2 %), seguido del control (*Navicula sp.*) con el 84,6 %, el Mix (82,1 %) y *Ulva lactuca* (76,9 %). Al momento de la cosecha (28 días), los valores de supervivencia disminuyeron de manera notable en todos los tratamientos. Sin embargo, el *Padina sp.* y Mix registraron los valores más altos con un 51,3 % y 48,7 % respectivamente, mientras que el control (35,9 %) y *Ulva lactuca* (38,5 %) presentaron los valores más bajos (Figura 3.2).

Figura 3.2

Supervivencia del bioensayo 1 durante el ciclo de cultivo



El análisis mediante la prueba de Kruskal-Wallis evidenció diferencias significativas en el crecimiento de los juveniles entre los tratamientos tanto a los 15 días ($p = 0.02793$) como al finalizar el experimento ($p = 2.414e-06$), destacándose *Padina sp.* con el mayor crecimiento promedio al final del experimento, superando significativamente a los demás tratamientos. Por otro lado, aunque se observaron diferencias en los porcentajes de supervivencia, con *Padina sp.* y el Mix mostrando los valores más altos, los análisis estadísticos no revelaron diferencias significativas ni a los 15 días ($p = 0.6694$) ni al finalizar el experimento ($p = 0.5277$). Esto sugiere que los distintos tipos de algas evaluados no influyeron significativamente en la supervivencia de los juveniles de *Isostichopus fuscus*, y que las variaciones observadas podrían deberse a factores ajenos al alimento.

Padina sp. mostró bajas cargas bacterianas y ausencia de vibrios, lo que favoreció el crecimiento y la supervivencia juvenil. Además, esta alga es rica en carbohidratos, proteínas, vitaminas, minerales y aminoácidos, ofreciendo un aporte nutricional ideal para el cultivo (Valverde-Balladares & D'Armas, 2022). Según (Morshedi et al., 2023), especies como *Padina australis* mejoran el crecimiento y la inmunidad en peces marinos, destacando su potencial en la

acuicultura. Asimismo, (Sonnenholzner et al., 2015) destacó el alto potencial de crecimiento distintas especies de pepino de mar adultas mediante el consumo de *Padina sp.*

Estos resultados sugieren que *Padina sp.* proporciona un entorno más favorable y un aporte nutricional superior en comparación con otros tratamientos.

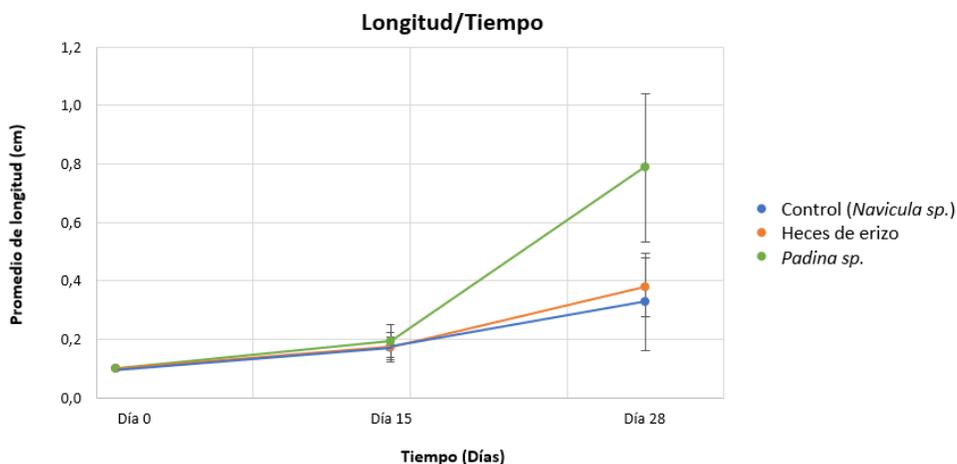
3.1.3 Bioensayo 2 (ALGAS + SUSTRATO)

3.1.3.1 Crecimiento

En el experimento que combinó algas con sustrato, las diferencias en el crecimiento comenzaron a evidenciarse a las dos semanas. El control (*Navicula sp.*, arena y arcilla) y las heces de erizo, arena y arcilla presentaron valores similares (0,17 cm), mientras que *Padina sp.*, arena y arcilla mostró un crecimiento ligeramente superior (0,19 cm). Al finalizar el experimento, las diferencias se hicieron más marcadas. El control y las heces de erizo, arena y arcilla registraron un crecimiento similar de 0,33 cm y 0,38 cm, respectivamente. Sin embargo, el tratamiento con *Padina sp.*, arena y arcilla destacó significativamente, logrando un crecimiento promedio de 0,79 cm, superando ampliamente a los demás tratamientos (Figura 3.3).

Figura 3.3

Crecimiento del bioensayo 2 durante el ciclo de cultivo

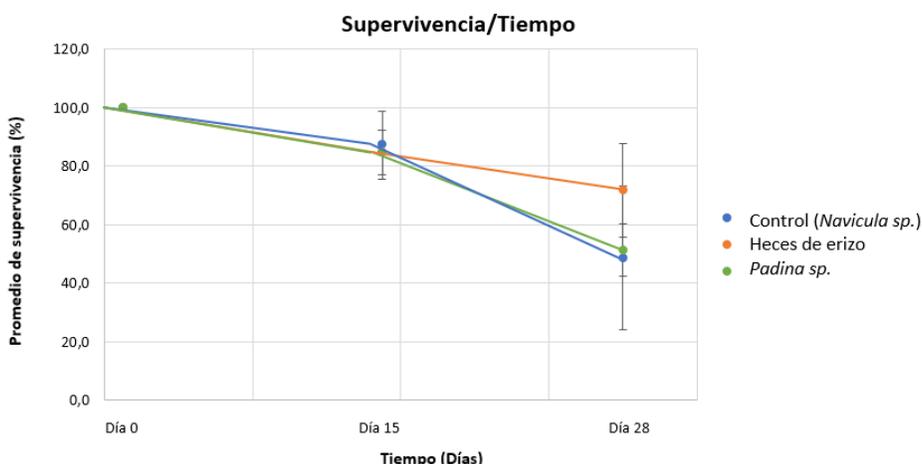


3.1.3.2 Supervivencia

En el experimento que combinó algas con sustrato, no se observaron diferencias significativas en la supervivencia a los 15 días de monitoreo. El tratamiento control (*Navicula sp.*, arena y arcilla) tuvo la menor supervivencia (87,2 %) en comparación con las combinaciones de heces de erizo, arena y arcilla, y *Padina sp.*, arena y arcilla, ambos con un 84,6 %. Al finalizar el experimento, las diferencias se intensificaron. El tratamiento con heces de erizo, arena y arcilla alcanzó la mayor supervivencia final (71,8 %), seguido de *Padina sp.*, arena y arcilla (51,3 %), mientras que el control presentó la menor supervivencia (48,7 %) (Figura 3.4).

Figura 3.4

Supervivencia del bioensayo 2 durante el ciclo de cultivo



La prueba de Kruskal-Wallis no mostró diferencias significativas en la supervivencia de los juveniles entre los tratamientos a los 15 días ($p = 1$) ni al finalizar el experimento ($p = 0.1448$). Aunque el tratamiento con heces de erizo, arena y arcilla presentó la mayor supervivencia final, estas diferencias no fueron estadísticamente relevantes. Su alta carga microbiana podría haber contribuido a la supervivencia, a pesar del riesgo potencial asociado a los vibrios. En general, los tratamientos evaluados no influyeron significativamente en la supervivencia bajo las condiciones experimentales.

En cuanto al crecimiento, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos a las dos semanas ($p = 0.6434$). Sin embargo, al finalizar el experimento, se evidenciaron diferencias significativas ($p = 2.406e-07$), destacándose el tratamiento con *Padina sp.*, arena y arcilla como el más efectivo para promover un mayor crecimiento. Esto podría atribuirse a las bajas cargas bacterianas y la ausencia de vibrios en *Padina sp.*, lo que habría favorecido un entorno más propicio para el desarrollo.

No se observó una influencia destacable en el crecimiento y la supervivencia con la adición de sustratos, probablemente debido a su alta carga bacteriana y la presencia de levaduras y hongos. Sin embargo, las heces de erizo mostraron un efecto positivo en la supervivencia, ya que los pepinos de mar consumen materia orgánica como su principal fuente de alimento. Según Lujan, 2023, los pepinos de mar pueden consumir hasta el 54 % de la materia orgánica presente en las heces del erizo de mar, lo que evidencia su potencial en cultivos multitróficos, como se ha observado en cultivos combinados de ostras y pepinos de mar (David et al., 2024).

Por otro lado, *Padina sp.* reafirmó su efectividad en el crecimiento debido a su aporte nutricional favorable, rico en carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales.

Capítulo 4

4.1 Conclusiones

Los resultados obtenidos indican que las algas tienen un efecto favorable en la supervivencia y el crecimiento de los juveniles de *Isostichopus fuscus*. En particular, *Padina sp.* demostró ser la opción más efectiva, mostrando un impacto positivo y consistente tanto en la supervivencia como en el crecimiento de los juveniles en ambos ensayos. Por otro lado, la adición de sustratos como arena y arcilla no aportó las condiciones de cultivo de los juveniles. Sin embargo, las heces de erizo combinadas con arena y arcilla favorecieron una mayor supervivencia en comparación con los otros tratamientos, destacando su potencial como componente útil en el manejo de cultivos. En conclusión, *Padina sp.* se presenta como una opción clave para el desarrollo de un protocolo de alimentación para *Isostichopus fuscus*, y las heces de erizo pueden ser consideradas para optimizar la supervivencia en los cultivos.

Los resultados del bioensayo 1 indicaron que la alimentación con *Padina sp.* fue el tratamiento más eficaz para promover el crecimiento de los juveniles de *Isostichopus fuscus*, logrando un incremento significativamente superior al de los demás tratamientos. Aunque la supervivencia también fue mayor en este tratamiento, la diferencia no fue tan pronunciada como la observada en el crecimiento. Esta alga proporciona un aporte nutricional ideal, favoreciendo el desarrollo de los juveniles.

En el bioensayo 2, que combinó algas con sustrato, los resultados revelaron que la adición de sustrato no tuvo un impacto significativo en la supervivencia ni en el crecimiento de los juveniles de *Isostichopus fuscus*. Sin embargo, el tratamiento con heces de erizo, junto con arcilla y arena, promovió una mayor supervivencia en comparación con otros tratamientos, lo que sugiere que las heces de erizo, como fuente de materia orgánica, podrían ser beneficiosas para la alimentación de los juveniles, dada su preferencia por este tipo de nutrientes. En términos de

crecimiento, el tratamiento con *Padina sp.* combinado con arcilla y arena se destacó como el más eficiente, promoviendo un crecimiento significativamente mayor que los demás tratamientos.

4.2 Recomendaciones

Para futuras investigaciones, se recomienda ajustar de manera más precisa la alimentación del cultivo, con el fin de evitar tanto la sobrealimentación como la subalimentación, ya que ambas pueden retrasar el crecimiento y pudiendo causar mortalidad.

Es fundamental utilizar tanques cónicos de color negro para evitar la formación de puntos anóxicos y facilitar la visualización de los juveniles, ya que su transparencia dificulta su observación en tanques de otros colores. El diseño cónico promueve un mejor flujo de agua y evita la acumulación de sedimentos en las esquinas, lo que contribuye a mantener la oxigenación adecuada en todo el tanque.

Asimismo, se sugiere realizar recambios de agua con mayor frecuencia para prevenir la proliferación de patógenos oportunistas en el medio de cultivo. Adicionalmente, se recomienda implementar análisis semanales de calidad del agua para monitorear su estado y asegurar un ambiente óptimo para los juveniles.

Es esencial implementar un sistema automatizado de calentamiento y enfriamiento, ya que las fluctuaciones de temperatura podrían influir negativamente en la supervivencia y el crecimiento de los organismos. Un control preciso de la temperatura es crucial para mantener condiciones constantes que favorezcan el desarrollo óptimo de los juveniles.

Finalmente, se recomienda el uso de semilleros de color negro, ya que este diseño favorece un aumento en la densidad del espacio disponible para los organismos, lo que facilita su manejo y manipulación.

4.3 Referencias

- Calderón Aguilera, L. E., Hernández, L., Reyes Bonilla, H., Ramírez Ortiz, G., & Pérezrul, H. (2018). *Evaluación del pepino de mar *Isostichopus fuscus* según el Método de Evaluación de Riesgo establecido en la I DATOS GENERALES DEL RESPONSABLE*.
- David, F., Raymond, G., Grys, J., Ameziane, N., & Sadoul, B. (2024). Survival, Growth, and Food Resources of Juvenile Sea Cucumbers *Holothuria forskali* (Echinodermata, Holothuroidea) in Co-Culture with Shellfish in Brittany (France). *Aquaculture Nutrition*, 2024, 1–16. <https://doi.org/10.1155/2024/7098440>
- Deore, N. (2024). *El tamaño del mercado mundial de pepino de mar será de USD 1352,5 millones en 2024*. <https://www.cognitivemarketresearch.com/sea-cucumber-market-report?srsltid=AfmBOooI9-fjVGyTDWWuPb62ohrLpdsvsAQMAzbDU7vM3KyNjQPf-fhD>
- Galapagos Species Database, I. fuscus", dataZone. C. D. F. (2024). *Isostichopus fuscus*. <https://datazone.darwinfoundation.org/es/checklist/?species=8003>
- Galicia Vazquez, B. (2016). *Implementación de una Unidad de Manejo Animal (UMA) de Pepino de mar (*Isostichopus fuscus*) en la Bahía Magdalena, Municipio de San Carlos en el Estado de Baja California Sur*.
- García Rojas, C. (2015). *CARACTERIZACIÓN POBLACIONAL DEL PEPINO DE MAR (*Isostichopus fuscus*) EN SEIS BAJOS DE LA RESERVA MARINA “EL PELA-DO”, PROVINCIA DE SANTA ELENA-ECUADOR*.

Glockner Fagetti, A. (2014). *Ecología poblacional y pesquería del pepino de mar Isostichopus fuscus en Bahía de los Ángeles, Baja California, México.*

Instituto Mexicano de Investigación en Pesca y Acuicultura Sustentable. (2018). *Acuicultura| Pepino de mar del Pacífico.* <https://www.gob.mx/imipas/acciones-y-programas/acuicultura-pepino-de-mar-del-pacifico>

International Union for Conservation of Nature and Natural Resources. (2024). *IUCN Red List of Threatened Species.*
<https://www.iucnredlist.org/es/search/list?taxonomies=180143&searchType=species>

López Abad, C. (2014). *iNaturalist Mexico.* <https://mexico.inaturalist.org/photos/1558620>

Lujan, M. (2023). *Pepino de mar: alimentación, reproducción y acuicultura.*
https://aquahoy.com/pepino-de-mar-alimentacion-reproduccion-acuicultura/#Alimentacion_de_los_juveniles

Mercier, A., Toral-Granda, V., & Alvarado, J. J. (2013). *Isostichopus fuscus. The IUCN Red List of Threatened Species.* <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2013-1.RLTS.T180373A1621878.en>

Mercier, A., Ycaza, R., & Hamel, J. (2005). *Aquaculture of the Galapagos sea cucumber, Isostichopus fuscus.* <https://www.researchgate.net/publication/268746686>

Morshedi, V., Gamoori, R., Yilmaz, S., Hamed, S., Ghasemi, A., & Shapawi, R. (2023). *Nutritional comparison and evaluation of two macroalgae, Sargassum ilicifulum and Padina australis, as partial substitution with fish meal in practical diets of Asian sea bass juvenile (Lates calcarifer).* <https://doi.org/10.21203/RS.3.RS-3277311/V1>

- Museo Nacional de Historia Natural. (2020). *Los Pepinos de Mar*.
<https://www.mnhn.gob.cl/noticias/los-pepinos-de-mar>
- Purcell, S., Lovatelli, A., Vasconcellos, M., & Ye, Y. (2010). *Manejo de las pesquerías de pepino de mar con un enfoque ecosistémico*.
- Sonnenholzner, J., Arriaga, J. A., & Panchana, M. (2016). *AVANCES EN LA PRODUCCIÓN DE JUVENILES PARA REPOBLACIÓN*.
- Sonnenholzner, J., Brandt, M., Francisco, V., Hearn, A., Luzuriaga, M., Guarderas, P., & Navarro, J. C. (2013). Echinoderms of Ecuador. *Echinoderm Research and Diversity in Latin America*, 9783642200519, 183–233. https://doi.org/10.1007/978-3-642-20051-9_6/FIGURES/7
- Sonnenholzner, J., Sonnenholzner, S., & Bayot, B. (2015). *Manual para producción de juveniles del pepino del mar Isostichopus fuscus en Ecuador*.
- Valverde-Balladares, P., & D'Armas, H. (2022). *Potencial nutracéutico de macroalgas marina-Ecuador Nutraceutical potential of marine macroalgae-Ecuador*.
<https://doi.org/10.29076/issn.2602-8360vol6iss11.2023pp42-52p>
- Vergara-Chen, C., Guerra, Z., & Collado, G. N. (2015). *EL PEPINO DE MAR, Isostichopus fuscus, RECURSO MARINO EN PELIGRO CON ALTAS NECESIDADES DE MANEJO*.
<https://revistas.up.ac.pa/index.php/tecnociencia/article/view/1258/1049>
- Yang, H., Hamel, J.-F., & Mercier, A. (2015). *The Sea Cucumber Apostichopus japonicus History, Biology and Aquaculture*. www.elsevierdirect.com/rights