

FECUNDACIÓN IN VITRO DE ERIZO DE MAR *Strongylocentrotus sp.* DE PLAYA VENTURA, COPALA, GUERRERO

Cruz García Luis Fernando¹, Roselia Vázquez Brito¹, Nayeli Monterrosas Brisson¹, Ma. de Lourdes Salgado-Rogel² y Sierra Castillo Claudia.^{1,3}Laboratorio de Biología Celular, Facultad de Ciencias Biológicas UAEM¹. Instituto Nacional de Pesca Centro Regional de Investigaciones Pesqueras de Ensenada BCN². Lab. de Bioingeniería Acuícola³. Centro de Investigaciones Biológicas. Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa. Tel.Fax 01777 3297047 Ext. 3532.
Correo electrónico: lfcg20002000@yahoo.com.mx.

RESUMEN

Introducción: En la reproducción sexual un proceso importante es la fecundación, como la activación del óvulo por medio del espermatozoide con la característica de que ambas células deben de tener un estado maduro para poder llevar a cabo la formación de una célula que se conoce como huevo o cigoto iniciando el desarrollo embrionario a través de divisiones de segmentación logarítmica [1]. Se han realizado estudios in vitro de fecundación con organismos que presentan fecundación externa, como por ejemplo: el erizo de mar[2]. Estos organismos son de interés económico, ya que sus gónadas son altamente cotizadas para el consumo humano, actualmente en Baja California Norte se explota este recurso y es exportado a Japón [3, 4]

Justificación: El erizo de mar es un modelo de estudio utilizado en la investigación desde el punto de vista reproductivo y en algunos casos este organismo es explotado como una actividad económica. En el presente trabajo pretendemos determinar la época reproductiva del erizo de mar de la zona de “Playa Ventura” Copala Gro. Como un a perspectiva de que este estudio sirva como base para implementar un proyecto de desarrollo rural sustentable para la comunidad.

Objetivo: Realizar la fecundación *in Vitro* en erizo de mar y determinar las diferentes fases del desarrollo embriológico por microscopia de luz.

Material y Métodos: Se realiza la colecta de organismos en playa Ventura Cópala Guerrero. Los erizos se estimulan con Cloruro de Potasio (KCl) al 0.5 % inyectado en la zona bucal, la colecta por separado de óvulos y de espermatozoides se lleva a cabo en frascos que contiene agua de mar filtrada, se centrifuga para obtener un botón celular, para la identificación de los gametos, las muestras se fijan con Glutraldehído al 1% y la fecundación se determina colocando 100 μ l de óvulos y 200 μ l de espermatozoides en tubos ependorf se dejan incubar fijando en intervalos de 30 min. durante 7 hrs. Los óvulos y los espermatozoides no fecundados son teñidos con aceto carmín y Wright respectivamente para observar las características y diferencias morfológicas; por otra parte las etapas del desarrollo embrionario son determinadas sin tinción por Microscopia de luz.

Resultados: Se observaron las diferencias morfológicas de los espermatozoides con ambas tinciones y los óvulos con aceto carmín y sin tinción. En los óvulos teñidos con aceto carmín se observa claramente el núcleo (Fig. 1), con Wright los óvulos se sobre tiñen por lo que no utilizamos esta tinción. La estructura de los espermatozoides se observan claramente con Wright ya que se distingue: la cabeza, el flagelo y el cuello (Fig. 2); sin embargo, con el aceto carmín no se tiñe el flagelo, solo se observa la cabeza, ya que es una tinción específica para material genético (Fig. 3). Mediante la incubación de espermatozoides y óvulos se logro observar las divisiones celulares a partir de dos células hasta la división en más de 64 células en un tiempo de 7 hr. que nos indica que ambas células se encuentran viables durante este tiempo. En todos los intervalos de tiempo desde los 30 min. hasta las 7 hr. de incubación se presentan óvulos con las siguientes características: células en fase de blastómeros con 2, 4, 8, 16, 32, 64 y 128 divisiones (Fig. 4).

Cabeza esperma		Flagelo		
normal	anormal	normal	corto	Sin flagelo
93%	7%	95%	3%	2%

Tabla 1. Porcentaje de espermatozoides normales y anormales. (*2)

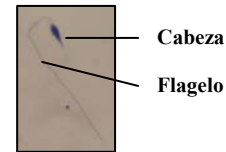


Fig. 2 Partes anatómicas de un espermatozoide

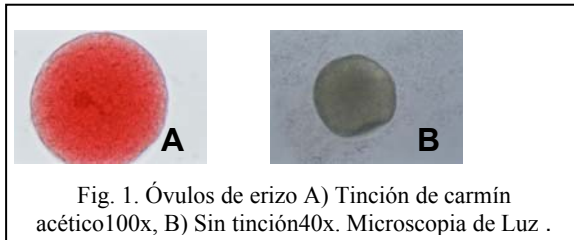


Fig. 1. Óvulos de erizo A) Tinción de carmín acético 100x, B) Sin tinción 40x. Microscopia de Luz .

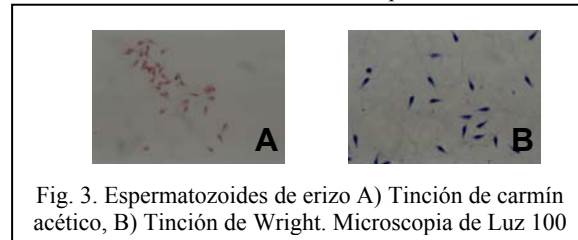


Fig. 3. Espermatozoides de erizo A) Tinción de carmín acético, B) Tinción de Wright. Microscopia de Luz 100

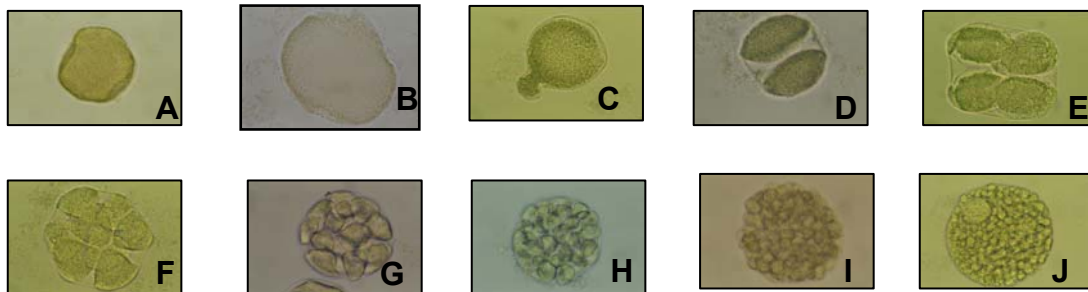


Fig. 4. Óvulos fecundados en segmentación, A) óvulo recién fecundado, B) El óvulo presenta claramente la doble membrana, característica de los primeros pasos de la fecundación, C) El óvulo presenta el polo vegetal polar para iniciar la división, D) Blastómero de 2 células, E) Blastómero de 4 células, F) Blastómero de 8 células, G) Blastómero de 16 divisiones, H) Blastómero de 32 células, I) Blastómero en 64 células y J) Blástula en 128 células. A-H) 40X, B) 100X y I-J) 10X. Microscopia de Luz.

Conclusiones: Se logro la fecundación de erizo de mar en estudios in vitro desde la formación de la doble membrana pasando por las divisiones de los blastómeros hasta formar la blástula.

Se observaron los estadio de segmentación de los óvulos hasta la de mas de 64 células en un tiempo de 7 horas.

La técnica de Wright permite observar la morfología de los espermatozoides pero no las del óvulo.

La técnica de aceto carmín permite observar las características morfológicas del óvulo no fecundado pero no las del espermatozoide.

Los óvulos y los espermatozoides tienen una viabilidad de 7 hrs.

Referencias:

[1] Gilbert S. F. (2000). *Developmental Biology*. Sixth Edition. Sinauer Associates. Cap: 8 223-239.
 [2] Stern C. D. and Holland P. W. H. (1993). *Essential Developmental Biology*. Oxford University Press. Cap: 3 pp 21-26.
 [3] Salas G. A., Pares S. G., Carpizo I.E. y Salgado R. L. (2004). El erizo de mar y su pesquería en Baja California. *Panorama acuícola*.

- Luis Fernando Cruz García, Estudiante de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UAEM. Av. Universidad 1001. Col. Chamilpa. Fax: 329-7047 Ext. 3532 e-mail lfcg20002000@yahoo.com.mx.
- Roselia Vázquez Brito, Estudiante de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UAEM. Av. Universidad 1001. Col. Chamilpa. Fax: 329-7047 Ext. 3532 e-mail

- Biol. Nayeli Monterrosas Brisson Catedrática de la Facultad de Ciencias Biológicas, Lab. de Embriología e Histología de la UAEM. Av. Universidad 1001. Col. Chamilpa. Fax: 329-7047 Ext. 3532.
- Biol. Rosa Maria Catalina Ortiz Najera, Técnica Académica y Coordinadota de Laboratorios de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UAEM. Av. Universidad 1001. Col. Chamilpa. Fax: 329-7047 Ext. 3533.
- Ma. de Lourdes Salgado Rogel, Profesor Investigador del Instituto Nacional de Pesca del Centro Regional de Investigaciones Pesqueras de Ensenada BCN
- Dra. Claudia Sierra Castillo, Profesor Investigador Asociado C de la Facultad de Ciencias Biológicas. Responsable del Laboratorio de Biología celular, Centro de Investigaciones Biológicas, Laboratorio de Bioingeniería Acuícola, Av. Universidad 1001. Tel.: 3-297047. Ext. 3532 e-mail clau_sierra@yahoo.com.mx.