

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DE EDUCACIÓN
SUPERIOR DE ENSENADA, BAJA CALIFORNIA**



**PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS
EN ECOLOGÍA MARINA**

**Variación calcio-magnesio y densidad óptica en
estructuras mandibulares de *Eucidaris thouarsii* en el
Pacífico mexicano**

Tesis

para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de Maestro
en Ciencias.

Presenta:

Laura Elena Galván Rowland

Ensenada, Baja California México
2014

Tesis defendida por
Laura Elena Galván Rowland

y aprobada por el siguiente comité

Dr. Luis Eduardo Calderón Aguilera
Codirector del comité

Dr. Ramón Andrés López Pérez
Codirector del comité

M. en C. Vicente Ferreira Bartrina
Miembro del comité

Dr. Luis Alberto Delgado Argote
Miembro del comité

Dra. María Lucila del Carmen Lares Reyes
Coordinador del programa Ecología Marina

Dr. Jesús Favela Vara
Director de Estudios de Posgrado

Septiembre, 2014

Resumen de la tesis que presenta Laura Elena Galván Rowland, como requisito parcial para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Ecología Marina

Variación calcio-magnesio y densidad óptica en estructuras mandibulares de *Eucidaris thouarsii* en el Pacífico mexicano.

Resumen elaborado por:

Laura Elena Galván Rowland

El erizo *Eucidaris thouarsii* es una de las especies de equinodermos más representativas del Pacífico mexicano por su abundancia y distribución geográfica. Los equinodermos al tener esqueletos constituidos de Mg-calcita se encuentran vulnerables ante un futuro evento de acidificación del océano, ya que esta es la forma más soluble de CaCO_3 . Se colectaron tres erizos de distintos tamaños en cada sitio de muestreo: Bahía de los Ángeles, La Paz, Ixtapa y Huatulco entre los meses de junio del 2013 y marzo del 2014, para medir su densidad óptica, relación Ca/Mg en peso% y en %atómico, así como su composición química. No hubo diferencias significativas entre sitios ($p > 0.05$) en cuanto a la densidad óptica y a la relación Ca/Mg en peso% y en %atómico. Dentro de los sitios estas variables sí presentaron diferencias significativas. La densidad óptica y la relación Ca/Mg en peso% no mostraron una relación con el pH, la temperatura ni la Ω_{Arag} . Sin embargo, la relación Ca/Mg en %atómico sí mostró estar relacionada con estas variables ambientales. Los elementos químicos encontrados en las pirámides de *Eucidaris thourasii* fueron Ca (81.46%), Mg (13.42%), S(1.95%), Sr (0.12%) y Y (0.0021%).

Palabras clave: ***Eucidaris thouarsii*, relación Ca/Mg, densidad óptica, composición química, diferencias entre sitios y dentro de ellos.**

Abstract of the thesis presented by Laura Elena Galván Rowland as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Marine Ecology.

Calcium-magnesium variation and optical density in mandibular structures of *Eucidaris thouarsii* in the Mexican Pacific.

Abstract by:

Laura Elena Galván Rowland

The sea urchin *Eucidaris thouarsii* is one of the most representative species of echinoderms in the Mexican Pacific due to its abundance and geographical distribution. Sea urchins skeletons are made of Mg-calcite, the most soluble form of CaCO_3 , which makes them vulnerable to future events of Ocean Acidification. Three sea urchins of different sizes were sampled in each site: Bahía de los Ángeles, La Paz, Ixtapa and Huatulco between the months of June in 2013 and March in 2014 to obtain their optical density, Ca/Mg relationship in weight%, Ca/Mg relationship in atomic% and their chemical composition. No significant differences were observed between sites in optical density, Ca/Mg relationship in weight% or in atomic%. Within sites these variables were significantly different. No relationship was found between the optical density and the Ca/Mg relationship in weight% with the pH, the temperature and the Ω_{Arag} . On the other hand, the Ca/Mg relationship in atomic% showed a relationship with these environmental variables. The chemical elements found in pyramids of *Eucidaris thourasii* are Ca (81.46%), Mg (13.42%), S (1.95%), Sr (0.12%) y Y (0.0021%).

Keywords: *Eucidaris thouarsii*, Ca/Mg relationship, optical density, chemical composition, differences between and within sites.

Dedicatoria

A papá, mamá, Pepe, Juan y perritos.

...Aún cuando el cielo es negro, sigue estando lleno de estrellas*

Agradecimientos

A CONACYT por la beca de maestría y al Centro de Educación Científica y de Educación Superior de Ensenada por permitirme estar en el Posgrado de Ecología Marina.

A mis directores el Dr. Luis Eduardo Calderón Aguilera y el Dr. Ramón Andrés López Pérez por compartirme su conocimiento y apoyarme para la realización de mi tesis de maestría.

A los miembros de mi Comité Vicente Ferreira Bartrina y Luis Delgado Argote por su tiempo y sus importantes aportaciones a mi trabajo.

A Víctor Moreno, a los buzos de Bahía de los Ángeles Héctor y Marcos y a Andrea por su apoyo en la colecta de mis erizos y por hacerme reír tanto, nunca trabajar fue tan divertido.

A Gabriel Rendón y Luis Gradilla del departamento de Geología de Ciencias de la Tierra por su apoyo en el análisis químico de mis muestras.

A mis compañeros y amigos del posgrado Celia, Pauli, Laurica, Aideé, Yama, Juan Ma., Víctor, Andrea, Anita, Fer, Anto, Ofir, Zyanya, Vero, Ceci, Elena, Gerardo, Edgar, Rafa, Gera, Oscar, Rubén, Luis, China, Juan Carlos, Karlita *et al.* por regalarme sus sonrisas y por ser parte de mi camino, como las piedras espero que rodando nos volvamos a encontrar.

A Orión por su tiempo y paciencia, te lo agradezco muchísimo.

Al mis compañeros de laboratorio Jenny, Orión, Geo, Andrea, Ceci, Rubén, Víctor y Luis por ser parte importante de mi trabajo.

A mis amigos de Ensenada por hacerme sentir en casa.

Al flamenco y a la música, a Ceci.

Al mar, a los erizos.

A mi familia que amo con todo mi corazón.

Tabla de contenido

	Página
Resumen español	ii
Resumen inglés	iii
Dedicatoria	iv
Agradecimientos	v
Lista de Figuras	viii
Lista de Tablas	x
Capítulo 1. Introducción	
1.1 Introducción.....	1
1.1.1 Biominerales.....	1
1.1.2 Biomineralización.....	2
1.1.3 Características de los equinodermos.....	4
1.2 Antecedentes.....	7
1.3 Justificación.....	9
1.4 Hipótesis.....	9
1.5 Objetivos.....	9
1.5.1 Objetivo general.....	9
1.5.2 Objetivos particulares.....	10
Capítulo 2. Metodología	
2.1 Área de estudio.....	11
2.1.1 Bahía de los Ángeles.....	11
2.1.2 Bahía de La Paz.....	11
2.1.3 Ixtapa.....	12
2.1.4 Huatulco.....	12
2.2 Método.....	14
2.2.1 Trabajo de campo.....	14
2.2.2 Relación Ca/Mg y composición atómica.....	14
2.2.3 Densidad óptica.....	16
2.2.4 Variables ambientales.....	17
2.2.5 Análisis de datos.....	18
Capítulo 3. Resultados	
3.1 Resultados.....	19
3.1.1 Relación Ca/Mg.....	19
3.1.2 Densidad óptica.....	24
3.1.3 Altura de testa y longitud de pirámide.....	25
3.1.4 Relación entre variables biológicas.....	28
3.1.5 Composición atómica.....	28
3.1.6 Variables ambientales.....	29
Capítulo 4. Discusión	
4.1 Discusión.....	32

Tabla de contenido (continuación)

Capítulo 5. Conclusión	
5.1 Conclusión.....	39
Lista dereferencias.....	40
Anexos.....	47

Lista de Figuras

Figura	Página
1 Anatomía del erizo de mar. A) Vista hemisferio aboral. B) Vista hemisferio oral. C) Linterna de Aristóteles. Imágenes a partir de BIODIDAC (biodidac.bio.uottawa.ca).....	6
2 Sitios de estudio en el Pacífico mexicano	13
3 Microscopio electrónico de barrido (MEB).....	15
4 Vista del costado izquierdo de la semipirámide. A) Transecto vertical a lo largo del centro. B) Tres transectos verticales.....	16
5 Transecto a lo largo del costado izquierdo de la semipirámide izquierda.....	16
6 Promedio (n=3) (\pm IC 95%) de la relación Ca/Mg en peso% de las pirámides de <i>Eucidaris thouarsii</i> por sitio elaborado a partir de el Análisis de Varianza Anidado ANOVA (F=0.816729, p>0.05).....	20
7 Promedio (n=3) (\pm IC 95%) de la relación Ca/Mg en %atómico de las pirámides de <i>Eucidaris thouarsii</i> por sitio elaborado a partir de el Análisis de Varianza Anidado (F=0.706708, p>0.05).....	21
8 Promedio (n=24) (\pm IC 95%) de la relación Ca/Mg en peso% de las pirámides de <i>Eucidaris thouarsii</i> dentro de los sitios elaborado a partir de el Análisis de Varianza Anidado (F= 8.537341, p<0.05). Círculo = Erizo grande, Cuadro = Erizo mediano y Triángulo = Erizo chico.....	22
9 Promedio (n=24) (\pm IC 95%) de la relación Ca/Mg en %atómico de las pirámides de <i>Eucidaris thouarsii</i> dentro de los sitios elaborado a partir de el Análisis de Varianza Anidado (F= 4.312829, p<0.05). Círculo = Erizo grande, Cuadro = Erizo mediano y Triángulo = Erizo chico.....	23
10 Promedio (n=24) (\pm IC 95%) de la densidad óptica de las pirámides de <i>Eucidaris thouarsii</i> por sitio elaborado a partir de el Análisis del Varianza Anidado (F=1.3668, p>0.05).....	24
11 Promedio (n=24) (\pm IC 95%) de la densidad óptica en las pirámides de <i>Eucidaris thouarsii</i> entre sitios y dentro de ellos elaborado a partir de el Análisis de Varianza Anidado (F= 197.5835, p<0.05). Círculo = Erizo grande, Cuadro = Erizo mediano, Triángulo = Erizo chico.....	25
12 Promedio (n=24) (\pm IC 95%) de la altura de las testas (mm) de <i>Eucidaris thouarsii</i> por sitio elaborado a partir de el Análisis de Varianza Anidado (F=0.71, p>0.05).....	26

Lista de figuras (continuación)

Figura		Página
13	Promedio (n=24)(± IC 95%) de la longitud de las pirámides (mm) de <i>Eucidaris thouarsii</i> por sitio elaborado a partir de el Análisis de Varianza Anidado (F= 0.57, p>0.05).....	26
14	Promedio (n=24)(± IC 95%) de la altura de las testas (mm) de <i>Eucidaris thouarsii</i> entre sitios y dentro de ellos elaborado a partir de el Análisis del Varianza Anidado (F= 87102.15, p<0.05). Círculo = Erizo grande, Cuadro = Erizo mediano, Triángulo = Erizo chico.....	27
15	Promedio (n=24) (± IC 95%) de la longitud de las pirámides (mm) de <i>Eucidaris thouarsii</i> entre sitios y dentro de ellos elaborado a partir de el Análisis de Varianza Anidado (F= 1241.143, p<0.05). Círculo = Erizo grande, Cuadro = Erizo mediano, Triángulo = Erizo chico.....	27
16	Porcentaje de la composición atómica promedio (n=24) de las pirámides de <i>Eucidaris thouarsii</i>	28
17	Relación entre la relación Ca/Mg en %atómico y el pH (gl=1,2; F=11.7192), la Ω_{Arg} (gl=1,2; F=9.7566) y la temperatura (T°) (gl=1,2; F= 11.42155) por sitio de muestreo (p<0.05).....	
18	Relación entre la relación Ca/Mg en peso% y el pH (gl=1,2; F=11.7192), la Ω_{Arg} (gl= 1,2; F=9.7566) y la temperatura (T°) (gl=1,2; F= 11.42155) por sitio de muestreo (p>0.05)....	30
19	Relación entre la densidad óptica y el pH (gl=1,2; F=0.2933), Ω_{Arg} (gl=1,2; F=0.2763) y temperatura (T°) (gl=1,2; F=0.2678) por sitio de muestreo (p>0.05).....	30
		31

Lista de Tablas

Tabla		Página
1	Promedio (n=24) de altura de de testa (mm), longitud de pirámide (mm), relación Ca/Mg en peso%, relación Ca/Mg en %atómico y densidad óptica en pirámides de <i>Eucidaris thouarsii</i> en los sitios de muestreo.....	19
2	Variación de la relación Ca/Mg en peso% en los niveles de sitio, organismo y pirámide elaborado a partir de el Análisis de Varianza Anidado.....	19
3	Variación de la relación Ca/Mg en %atómico en los niveles de sitio, organismo y pirámide elaborado a partir de el Análisis de Varianza Anidado.....	20
4	Porcentaje de varianza relativa de la relación Ca/Mg en %atómico, en peso% y de la densidad óptica en organismos y pirámides elaborado a partir de el Análisis de Varianza Anidado.....	22
5	Valores de peso% y %atómico medidos en tres puntos (izquierdo, centro, derecho) de una misma pirámide del erizo grande de cada localidad.....	23
6	Variación de la de la densidad óptica en los niveles de sitio, organismo y pirámide elaborado a partir de el Análisis de Varianza Anidado.....	24
7	Variación de la de la altura de testa en los niveles de sitio y organismo elaborado a partir del Análisis de el Varianza Anidado.....	25
8	Variación de la de la longitud de pirámide en los niveles de sitio, organismo y pirámide elaborado a partir de el Análisis de Varianza Anidado.....	26
9	Relación entre variables biológicas a partir de regresiones lineales simples.....	28
10	Composición atómica encontrada en las pirámides de <i>Eucidaris thouarsii</i>	29
11	Promedio anual de variables ambientales en los sitios de muestreo.....	29

Capítulo 1. Introducción

1.1 Introducción

Durante los últimos 3,500 millones de años, los primeros procariontes, seguidos por los eucariontes, desarrollaron la habilidad de formar minerales (Knoll, 2003). Gracias a esto, organismos marinos como moluscos, corales, equinodermos, foraminíferos y algas calcáreas son capaces de construir estructuras de carbonato de calcio (CaCO_3). A este proceso se le conoce como “calcificación”, por la predominancia de minerales de calcio (Raven *et al.* 2005) o “biomineralización” debido a que se ha descubierto la presencia de otros minerales además del calcio. Hasta la fecha se han identificado más de 60 biominerales (Weiner y Dove, 2003).

1.1.1 Biominerales

El término biomineral se refiere no sólo a un mineral producido por un organismo, sino al producto de un compuesto mineral más un compuesto orgánico formado bajo condiciones controladas (Weiner y Dove, 2003). En muchos organismos, los biominerales se presentan como pequeños cuerpos distribuidos dentro de una estructura compleja como puede ser el colágeno o la quitina (Addadi *et al.* 2003). Esto le proporciona al biomineral características como forma, tamaño, cristalinidad, composición isotópica y de elementos traza que lo diferencian de su contraparte mineral formada de manera inorgánica (Weiner y Dove, 2003).

Alrededor del 50% de los biominerales conocidos se componen de calcio debido a que es esencial en funciones fundamentales del metabolismo celular (Berridge *et al.* 1998), haciéndolo el catión por excelencia utilizado por la mayoría de los organismos (Lowenstam y Weiner, 1983). De los ocho minerales de carbonato de calcio que se conocen, tres son depositados por organismos marinos: aragonita (CaCO_3), calcita (CaCO_3) y calcita magnesiana (MgCO_3). La aragonita y la calcita tienen la misma composición química (CaCO_3), sin embargo, difieren en cuanto a su estructura mineral (ortorrómbica versus romboédrica). Por su parte, la calcita y la calcita magnesiana (Mg-

calcita) tienen la misma estructura mineral (romboédrica) pero su composición química es distinta, ya que en el caso de la Mg-calcita, iones de calcio han sido remplazados por iones de magnesio. En condiciones ácidas en el agua de mar, estas diferencias resultan en distintas propiedades químicas y físicas, siendo la solubilidad una de las más importantes, en donde el contenido de magnesio en la Mg-calcita la hace más soluble que la aragonita, la cual es a su vez más soluble que la calcita (Andersson *et al.* 2011).

Al formar sus estructuras duras, los organismos marinos bentónicos difieren en cuanto a los minerales de carbonato que precipitan. Los corales y pterópodos (moluscos gasterópodos pelágicos) precipitan aragonita, mientras que los cocolitofóridos y foraminíferos, calcita. Por otro lado, los moluscos forman sus conchas totalmente de aragonita o combinando aragonita y calcita. Las algas calcáreas bénticas utilizan calcita o aragonita, mientras que los equinodermos construyen sus estructuras de Mg-calcita, lo que les confiere una porosidad por encima del 50% (Raven *et al.* 2005). Aún existe un gran vacío de información en el entendimiento del mecanismo por el cual los sistemas biológicos determinan qué biomineral precipitar, sin embargo, se sabe que es controlado genéticamente y tiene una asertividad del 100% (Weiner y Dove, 2003).

1.1.2 Biomineralización

El proceso de biomineralización se divide en dos grupos fundamentales basados en el grado de control biológico, éstos son: “biológicamente inducido” y “biológicamente controlado” (Lowenstam, 1981; Mann, 1983). En la biomineralización biológicamente inducida, llevada a cabo en bacterias, la precipitación de minerales ocurre como resultado de la interacción entre la actividad biológica y el ambiente. En este caso, la superficie celular actúa como agente causante de la nucleación (proceso inicial de la cristalización) y del crecimiento mineral. El sistema biológico tiene poco control sobre el tipo de mineral depositado, variando la composición de minerales tanto como el ambiente en el que se forma. Sin embargo, los procesos metabólicos empleados por el organismo regulan el pH, presión parcial de CO₂ (pCO₂) y la composición de los productos secretados dentro de su ambiente redox (Fortin *et al.* 1997; Tebo *et al.* 1997;

Frankel y Bazylinski 2003). En la biomineralización biológicamente controlada, el organismo controla la nucleación, crecimiento, morfología y ubicación del mineral depositado mediante actividades celulares; en su mayoría ocurre en ambientes aislados y se puede llevar a cabo de manera extracelular, intercelular y/o intracelular, diferencias que se deben al lugar donde se encuentran las células responsables de la mineralización (Weiner y Dove, 2003).

El tipo de biomineralización llevada a cabo por los equinodermos, grupo al que pertenece el erizo *Eucidaris thouarsii*, es biológicamente controlada y ocurre de manera intracelular. En ésta, vesículas o vacuolas especializadas (producto de la fusión de membranas celulares) dirigen la nucleación de biominerales dentro de la célula, encargándose de la composición y morfología del biomineral resultante. Así mismo, la membrana de cada compartimento o vacuola regula el pH, la presión parcial de CO₂ (pCO₂) y, hasta cierto punto, la composición de elementos menores y traza. Cuando la membrana se degrada, el mineral se expone al ambiente (Märkel *et al.* 1986).

A pesar de las variaciones entre organismos, cualquier tipo de biomineralización se encuentra influenciada por condiciones ambientales como el pH y la temperatura (Burton y Walter, 1987), así como por procesos biológicos como edad, tasa de crecimiento y disponibilidad de energía (Findlay *et al.* 2009; Lebrato *et al.* 2013).

Es común, en todos los casos de biomineralización en organismos marinos que el agua de mar deba encontrarse sobresaturada en iones de calcio (Ca²⁺) y de carbonato (CO₃²⁻) para que puedan formar sus estructuras calcáreas y asegurar que no se disuelvan (Raven *et al.* 2005). El estado de saturación del carbonato de calcio se representa por medio de la omega aragonita (Ω_{Arag}) y omega calcita (Ω_{Cal}). Cuando los valores de Ω_{Arag} y Ω_{Cal} son mayores a 1, o en el caso de los corales escleractinios mayores a 3, los organismos se ven favorecidos para la formación de sus esqueletos y conchas. Por otro lado, cuando los valores se encuentran por debajo de 1, la calcificación es limitada y se favorece la disolución del CaCO₃ (Feely *et al.* 2002).

El pH es una medida de acidez o alcalinidad de una solución (pH = $-\log_{10}[\text{H}^+]$). En el océano interviene en la biomineralización de los organismos marinos tanto directamente, modificando el estado de saturación del carbonato de calcio (valores

bajos de pH reducen los niveles de saturación del CaCO_3), como indirectamente, a través de su impacto en procesos metabólicos, crecimiento, fertilización y reproducción (Findlay *et al.* 2009; Kroeker *et al.* 2010; Pecquerie *et al.* 2012; Stumpp *et al.* 2013). La temperatura puede tener un efecto directo en la biomineralización; a través del incremento o disminución de la tasa metabólica, o indirecto; a través de la disolución del CO_2 en el océano, ya que la solubilidad de los gases es mayor en bajas temperaturas. Al disolverse el CO_2 en el océano, se incrementan las concentraciones de iones hidrógeno ($[\text{H}^+]$) teniendo un efecto directo en el pH del agua de mar (Raven *et al.* 2005; Findlay *et al.* 2009).

Actualmente, como consecuencia del incremento en las concentraciones de CO_2 en la atmósfera debido a actividades antropogénicas, el dióxido de carbono (CO_2) se está introduciendo en el mar a tasas cada vez más elevadas y como resultado, la capacidad de amortiguamiento del océano se está viendo afectada. El promedio superficial del pH en el océano ha disminuido de la era preindustrial a los años 90, de 8.2 a 8.1 (Andersson *et al.* 2011) y predicciones realistas sugieren que estos valores disminuirán a 7.8 para el 2100 (Wood *et al.* 2008). La respuesta de los organismos marinos a dichos cambios varía entre especies; para los formadores de estructuras duras se predicen no solo bajas tasas de biomineralización sino también efectos negativos en su metabolismo, resultando en una disminución en su crecimiento (Michaelidis *et al.* 2005). En el caso de los equinodermos, por formar sus esqueletos a partir de Mg-calcita, son aún más vulnerables a la acidificación del océano que otros organismos como los corales y moluscos cuyos esqueletos consisten de aragonita o calcita, siendo no solo más susceptibles a la disolución de sus esqueletos, sino que también será un mayor reto para ellos que los formen (McClintock *et al.* 2011).

1.1.3 Características de los equinodermos

Los equinodermos (phylum Echinodermata), se encuentran representados por los asteroideos (estrellas de mar), ofiuroides (ofiuroides), holoturoideos (pepinos de mar) y equinoideos (erizos de mar). Son invertebrados exclusivamente marinos de gran importancia para los ecosistemas oceánicos. Habitan una gran variedad de sustratos y

en su mayoría son bentónicos (Caso, 1961), encontrándose tanto en pozas de mareas como a profundidades abisales (Solís-Marín *et al.* 2012), y a cualquier temperatura, desde las zonas tropicales hasta los polos (Hendler *et al.* 1995). Presentan una amplia variedad en su tipo de alimentación (suspensívoros, sedimentívoros, herbívoros, carnívoros, carroñeros y en algunos casos caníbales), por lo que son considerados como eslabones fundamentales de las redes tróficas (Lawrence 1987; Harrison y Chia 1994).

En México existen 643 especies de equinodermos (aproximadamente el 10% del total mundial) y de las 37 especies que habitan en Pacífico mexicano, el erizo *Eucidaris thouarsii* (erizo punta de lápiz) es de las más representativas por su abundancia y distribución geográfica (Honey-Escandón 2008; Solís-Marín *et al.* 2013). Se distribuye a lo largo de la costa oeste de América, desde el sur de California hasta Panamá, y se encuentra en fondos rocosos a profundidades entre 0 y 45 metros (Honey-Escandón, 2008). Puede crecer hasta 26 cm de diámetro y su tipo de reproducción es dioica con fertilización externa y larvas planctónicas. Vive escondido entre rocas, haciendo oquedades en las que permanece durante el día. En la noche sale a alimentarse, su dieta incluye moluscos, corales (*Pocillopora*, *Pavona*) y algas incrustantes (Wilkie *et al.* 1992; Smith y Kroh, 2000). El comportamiento de esta especie de erizo es agresivo y competitivo, ya que se ha reportado que en lugares donde se incrementa su abundancia hay una disminución de otras especies como peces herbívoros, animales sésiles y otros erizos, pudiendo alterar las comunidades marinas (Brandt, 2003).

El esqueleto de los equinodermos es de carbonato de calcio (calcita) con alto contenido de magnesio (Raven *et al.* 2005) compuesto por placas intradérmicas independientes y articuladas o espículas calcáreas. Presentan simetría pentarradial en los adultos y bilateral en las larvas, y un sistema vascular acuífero (Caso, 1961; Harrison y Chia, 1994; Lawrence, 1987) que regula las funciones de locomoción, alimentación, excreción, transporte de nutrientes y respiración (Brusca y Brusca, 2003).

La forma de los erizos, es globosa armada de espinas relativamente largas y movibles. Su cuerpo puede ser dividido en dos hemisferios; oral y aboral. La parte aboral contiene la región anal conocida como periprocto, la cual consiste en una pequeña membrana circular que contiene al ano y a un número variable de placas

intercaladas, siendo las de mayor tamaño las genitales, una de las cuales lleva a cabo la función de madreporito y las de menor tamaño son las ocelares. En la parte oral se encuentra la boca, rodeada por una membrana peristomial y dirigida hacia el sustrato (Barnes, 1968). La boca forma parte del órgano masticador de los erizos el cual recibe el nombre de “linterna de Aristóteles” y se considera un factor clave en el éxito evolutivo de los equinoideos, ya que han podido adaptar distintas técnicas de recolección de alimento y han adoptado variaciones morfológicas y funcionales en el aparato mandibular (Smith, 1984). En comparación con el aparato masticador de otros grupos de equinodermos, la linterna de los equinoideos tiene el rango más amplio de capacidades funcionales, incluyendo mecanismos de alimentación y otras actividades motoras como perforación de rocas, creación de madrigueras y locomoción (Wilkie *et al.* 1992).

La linterna de Aristóteles es un complejo sistema que consiste de elementos esqueléticos y de músculos y ligamentos interactuando a través de articulaciones especializadas para realizar movimientos de protracción, retracción, inclinación lateral del aparato completo así como el abrir y cerrar de la boca (Wilkie *et al.* 1992). El esqueleto del aparato consiste de cinco pirámides y cinco dientes. Cada pirámide consta de dos semipirámides, las cuales contienen un diente y dos epifisis (zona donde se sitúan las articulaciones), a las cuales se encuentran unidas mediante fibras de colágeno (Barnes, 1968).

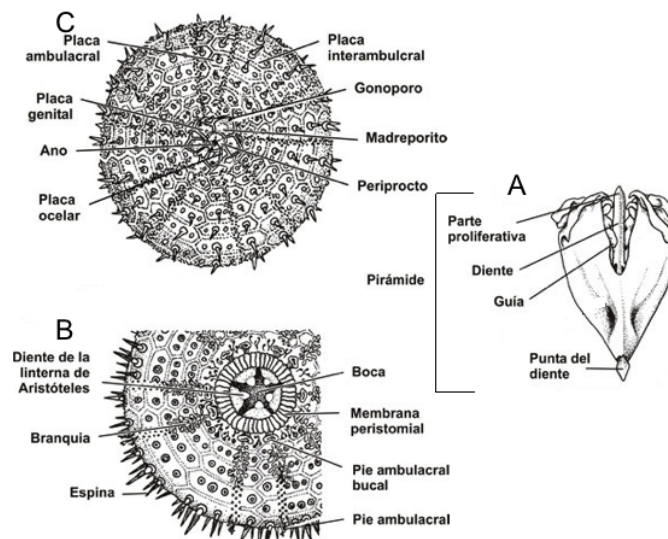


Figura 1. Anatomía del erizo de mar. A) Vista hemisferio aboral. B) Vista hemisferio oral. C) Linterna de Aristóteles. Imágenes a partir de BIODIDAC (biodidac.bio.uottawa.ca).

1.2 Antecedentes

Alrededor de los años 70 comenzaron los estudios acerca de la ecología de los equinodermos en México, contribuyendo al conocimiento de la riqueza de especies, diversidad y estructura comunitaria de estos organismos en varias zonas, principalmente en el Golfo de California, en el Pacífico sur y Golfo de México. Más recientemente la investigación de equinodermos en México ha estado dirigida a aspectos de biología reproductiva. En Baja California, se ha estudiado la producción de juveniles del erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* (Salas-Garza *et al.* 2005) y el índice gonadal y desarrollo larval de la galleta de mar *Dendraster excentricus* (Olivares-Bañuelos *et al.* 2014), por mencionar algunos.

En el caso del erizo *Eucidaris thouarsii* Reyes-Bonilla y Calderón-Aguilera (1999) analizaron su abundancia, distribución espacial y tasa de consumo en Cabo Pulmo, Golfo de California. Por otro lado, Holguín-Quiñones *et al.* (2000) llevaron a cabo estudios acerca de su variación espacial y temporal en Bahía de Loreto, Golfo de California. En el Pacífico sur, Benítez-Villalobos (2001) caracterizó la comunidad de equinodermos en dos localidades de Bahía de Huatulco, Oaxaca. Por otra parte, Zamorano y Leyte-Morales (2005) midieron la densidad poblacional de cuatro equinoideos en La Entrega (Huatulco, Oaxaca) en dos profundidades (0-6m y 6-12m), donde no encontraron diferencias significativas para la especie *Eucidaris thouarsii*.

Con respecto al estudio del efecto del cambio climático en organismos marinos, éste ha sido abordado desde diferentes enfoques, estudiando la respuesta de diferentes organismos ante el incremento en la temperatura, el nivel del mar, cambios en la circulación oceánica, incremento en CO₂ y disminución de pH (Harley *et al.* 2006). De acuerdo con un experimento en laboratorio en el cual se manipularon las concentraciones de CO₂, se obtuvo que un incremento en 200 ppm del CO₂ tiene un efecto negativo en equinodermos. Los autores sugieren que aún un moderado incremento en CO₂ atmosférico, que pudiera ser alcanzado a mitades de este siglo, afectaría organismos bentónicos de aguas someras (Shirayama y Thornton, 2005). Por su parte Miles *et al.* (2007) experimentaron con el erizo de punta azul (*Psammechinus miliaris*) el cual fue sometido a distintos tratamientos de agua acidificada artificialmente

(pH 6.16, 6.63 o 7.44) durante un período de 8 días; mediciones ácido-base del fluido celómico mostraron en todos los casos una acumulación de CO₂, una significativa reducción en el pH, así como un incremento en la concentración de Mg²⁺, por lo que sugieren que los equinoideos son particularmente vulnerables a la acidificación antropogénica.

Recientemente, estudios caracterizaron la composición de elementos químicos en equinodermos. Lebrato *et al.* (2013) midieron la composición química en 44 especies de equinodermos colectadas desde el Ártico hasta el Antártico, con la justificación de que al estar compuestos sus esqueletos de Mg-calcita son más vulnerables a la acidificación del océano, y que elementos menores y traza (10,000 ppm) pueden desestabilizar el arreglo de calcita incrementando su solubilidad. Un trabajo similar fue hecho por McClintock *et al.* (2011), quienes determinaron la composición de Mg-calcita en equinodermos del Antártico donde encontraron que los niveles de Mg-calcita varían entre clases taxonómicas. El análisis de muestras fue hecho con un ICP (plasma de acoplamiento inductivo) y los resultados fueron representados en % molar (porcentaje del número de moles de una sustancia sobre el total de moles en una mezcla) y en peso% (porcentaje de la masa de una sustancia sobre la masa total de la mezcla). En general, los valores de Mg-calcita (utilizando las testas para representar a los equinoideos) se mantuvieron en un intervalo de 9.58 a 15.78 de %molar y de 6.04 a 10.20 de peso%. La media \pm DE %molar de Mg-calcita de la linterna de Aristóteles de los erizos regulares *S. neumayeri* y *C. perrieri* fue de 10.69 ± 0.71 (n= 6) y 11.63 ± 0.88 (n= 3), respectivamente. Los niveles más altos se obtuvieron en las estrellas de mar, por lo que sugieren que éstas serán los primeros equinodermos en sufrir los efectos de la acidificación. Los autores, al comparar sus resultados con datos publicados para equinodermos de latitudes templadas y tropicales, sugieren que sus datos obtenidos apoyan la hipótesis de que los niveles de magnesio varían inversamente con la latitud, y suponen que esto se debe a que la temperatura, la luz y el estado de saturación decrece con la latitud.

Respecto a la densidad óptica, ésta ha sido utilizada principalmente para estudios de esclerocronología en corales para medir tasas de crecimiento (Klein *et al.* 1993; Horta-Puga y Carriquiry, 2008).

Tanto los estudios de densidad óptica como de caracterización de la composición de elementos químicos en equinodermos son un inicio en el entendimiento del estado de su estructura esquelética ante un futuro evento de acidificación. Sin embargo aún existe un gran vacío, y para el Pacífico mexicano no se han encontrado trabajos de este tipo.

1.3 Justificación

Dado que el esqueleto de los equinodermos está compuesto de calcita magnesiana (Mg-calcita), éstos presentan mayor susceptibilidad a la acidificación del océano que otros invertebrados marinos cuyas estructuras se componen de aragonita o calcita (ej. corales, moluscos, foraminíferos). Por tal motivo, representan información crucial en el estudio de la respuesta de los organismos marinos calcificadores ante futuros efectos de la acidificación de los océanos.

1.4 Hipótesis

Debido a que estudios anteriores han reportado una correlación negativa entre los niveles de Mg en invertebrados calcificadores con la latitud, se espera encontrar los niveles más bajos de magnesio y por ende los más altos de la relación Ca/Mg en Bahía de los Ángeles y La Paz y viceversa en Ixtapa y Huatulco.

Dado que los erizos van incorporando minerales en su esqueleto a lo largo de su ciclo de vida, se espera encontrar los valores más altos en densidad óptica en las pirámides de los erizos de mayor tamaño.

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivo general

Estimar la relación Ca/Mg y la densidad óptica en el erizo *Eucidaris thouarsii* en el Pacífico mexicano.

1.5.2 Objetivos particulares

- Determinar si existe una diferencia significativa dentro y entre sitios en la relación Ca/Mg y en la densidad óptica de *Eucidaris thouarsii* en el Pacífico mexicano.
- Determinar si existe una diferencia significativa dentro y entre sitios en las tallas de las testas y pirámides de *Eucidaris thouarsii* en el Pacífico mexicano.
- Determinar si la relación Ca/Mg y la densidad óptica de *Eucidaris thouarsii* tienen una relación con los registros de temperatura, pH y Ω_{Arg} en el Pacífico mexicano.

Capítulo 2. Metodología

2.1 Área de estudio

2.1.1 Bahía de los Ángeles (Golfo de California, Baja California)

El clima en la región es árido, con una alta radiación solar y poca precipitación pluvial (60.5 mm al año), concentrada de julio a octubre. La temperatura superficial del agua se encuentra entre 14°C en invierno y 28°C en verano (Robinson, 1973). La zona presenta una alta productividad primaria gracias a los afloramientos de aguas profundas del Canal de Ballenas, los cuales traen consigo una gran cantidad de nutrientes que son aprovechados tanto por el fitoplancton y zooplancton, así como por otros organismos de la cadena trófica (Pacheco-Ruiz y Zertuche-González, 1996).

Bahía de los Ángeles es una bahía somera, con profundidades no mayores de 40 metros en la mayor parte del área. Las islas dentro de la bahía son aisladas o expuestas hacia la península y hacia Canal de Ballenas. Gran parte de las playas son rocosas, aunque también cuenta con algunas con sustrato arenoso (Danemann y Ezcurra, 2008). A pesar de que el sustrato coralino es muy reducido, existen mantos extensos de rodolitos (Riosmena-Rodríguez *et al.* 1999) que presentan una gran diversidad de organismos asociados, produciendo un ambiente de tipo arrecifal importante (Pacheco-Ruiz y Zertuche-Gonzalez, 1996).

2.1.2 Bahía de La Paz (Baja California Sur)

En la Bahía de la Paz predomina el clima muy seco con lluvias escasas en verano (INEGI 2010). De invierno a primavera se presenta la temperatura mínima superficial (20°C) y en verano la máxima (31°C) (Espinoza y Rodríguez, 1987). Es uno de los cuerpos de agua semiprotectidos más grandes del Golfo de California con una superficie aproximada de 2,000 km². Presenta características hidrográficas importantes como una termoclina muy marcada a lo largo de todo el año y la aportación de Agua Superficial Ecuatorial que se introduce desde el Golfo de California. En ella se encuentra un conjunto de islas cuyas costas presentan arrecifes de tipo rocoso y difieren en cuanto a sus condiciones de corrientes, oleaje y aporte de nutrientes (Cruz-

Orozco *et al.* 1996; Monreal-Gómez *et al.* 2001). Esta zona sostiene una elevada productividad fitoplanctónica comparada con algunas áreas del Pacífico mexicano y Golfo de California (Reyes Salinas *et al.* 2003).

2.1.3 Ixtapa Zihuatanejo (Guerrero)

Presenta un clima tropical húmedo-seco con periodos de sequías durante el invierno y lluvias abundantes durante el verano. La temperatura superficial del mar oscila entre 20 y 32°C (Salcedo-Martínez *et al.* 1988). La circulación oceánica es muy variable, ya que en la región convergen la Contracorriente Norecuatorial y la Corriente Costera de Costa Rica (Wyrki, 1965). El sustrato es principalmente rocoso (sobre el cual crece coral) con presencia de acantilados, playas arenosas pequeñas y numerosos morros aislados (García, 2009).

2.1.4 Huatulco (Oaxaca)

Bahías de Huatulco se encuentra delimitado por las desembocaduras de los ríos Copalita y Coyula, en el extremo occidental del Golfo de Tehuantepec. El promedio anual de la temperatura superficial del agua de mar se mantiene más o menos homogénea (25 - 30°C) los primeros 30 metros de profundidad (Vargas-Márquez, *et al.*, 2000; López-Pérez y Ballesteros, 2004).

La dinámica en esta zona es muy particular debido a los intensos vientos que soplan cada invierno de noviembre a marzo ocasionando surgencias de aguas ricas en nutrientes y franjas de agua fría que se extienden hasta 500 km afuera de la costa, por lo que la región presenta una alta productividad estacional (Trasviña *et al.* 1995). El sustrato es de tipo rocoso, arenoso o con comunidades coralinas, a las cuales se encuentran asociadas algas e invertebrados (López-Pérez y Ballesteros, 2004).

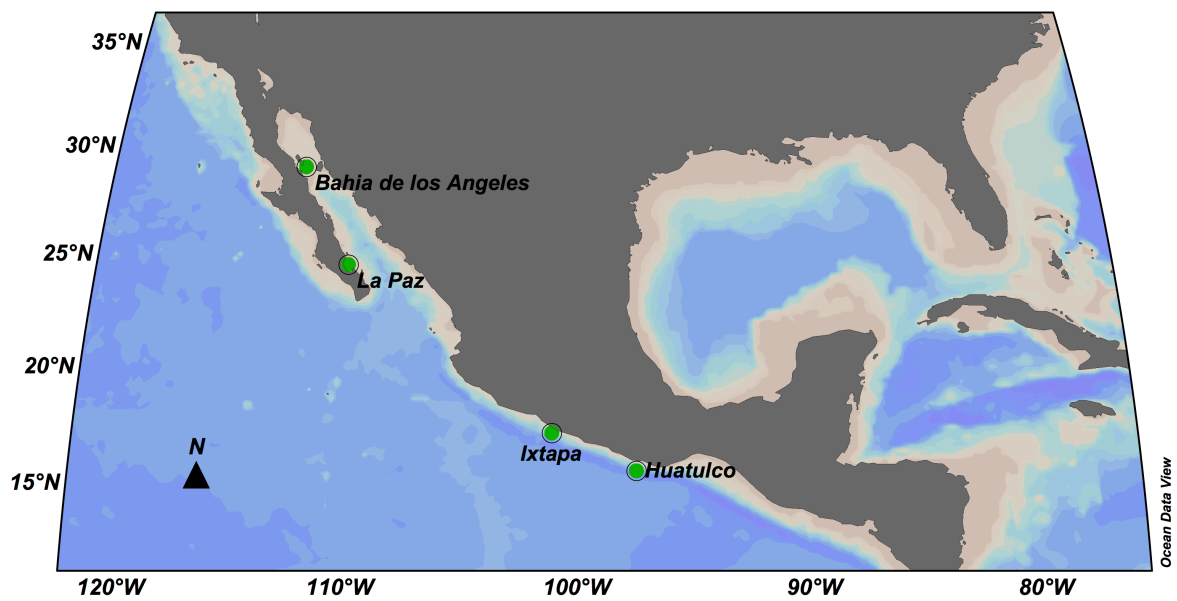


Figura 2. Sitios de estudio en el Pacífico mexicano.

2.2 Método

2.2.1 Trabajo de campo

La recolecta de organismos se realizó en cuatro sitios del Pacífico mexicano (Figura 2), entre los meses de junio del 2013 y marzo del 2014. Mediante buceo autónomo o hookah, se extrajeron en cada sitio tres individuos de *Eucidaris thouarsii* de distintos tamaños (grande, mediano y chico) elegidos al azar. Los ejemplares se introdujeron en una malla para su traslado desde la lancha a tierra firme, procurando no romper ninguna de sus estructuras. Una vez en tierra, se expusieron al sol hasta estar totalmente secos y se empacaron con plástico de burbujas para su protección. El procesamiento de las muestras se llevó a cabo en el laboratorio de Esclerocronología, Ecología y Pesquerías de la zona costera de la División de Oceanología y la División de Ciencias de la Tierra del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE).

Para la extracción de las estructuras mandibulares, se utilizaron pinzas y agua de garrafón tibia para suavizar la materia orgánica y facilitar su separación. Una vez extraído el aparato mandibular “linterna de Aristóteles”, se eligieron al azar dos de las cinco pirámides que lo conforman, a las cuales se les midió su longitud, así como la altura de su testa correspondiente. Las mismas mandíbulas fueron utilizadas tanto para la medición de la densidad óptica, como para determinar la relación Ca/Mg y contenido de elementos mayores.

2.2.2 Relación Ca/Mg y composición atómica

Las pirámides fueron sometidas a un baño de ultrasonido (sonicador) durante 10 minutos en vasos de precipitado de 250 ml con una mezcla de agua destilada y una solución limpiadora (micro-90). Posteriormente, las pirámides fueron enjuagadas con agua destilada hasta eliminar cualquier residuo de la solución limpiadora y con acetona para eliminar posibles residuos de grasa (debido a su manipulación). Una vez limpias, las muestras fueron secadas en un horno de convección a 60°C, durante 12 horas.

Para hacer las pirámides conductoras de electrones se introdujeron en una evaporadora de carbón y una vez recubiertas con carbón se unieron con grafito coloidal a una base circular para ser procesadas en el microscopio electrónico de barrido (JEOL JSM-35C). En el microscopio electrónico de barrido (MEB), un haz de electrones es emitido termoiónicamente desde una pistola de electrones hacia la muestra. En su transcurso pasa a través de lentes condensadores (los cuales enfocan el haz hacia un punto) y pares de bobinas deflectoras. Éstas desvían el haz en los ejes “x” y “y” para que escanee, a manera de barrido, un área rectangular sobre la superficie de la muestra. El intercambio de energía entre el haz de electrones y la muestra, resulta en la reflexión de electrones de alta energía, electrones secundarios y rayos X, cada uno de los cuales es detectado por detectores especializados. Los rayos X son utilizados para análisis químicos y de elementos, debido a que cada elemento tiene una estructura única permitiendo una serie de señales única en el espectro de rayos X. A esta técnica se le conoce como espectroscopía de energía dispersiva de rayos x (Goldstein, 2003) (Figura 3).

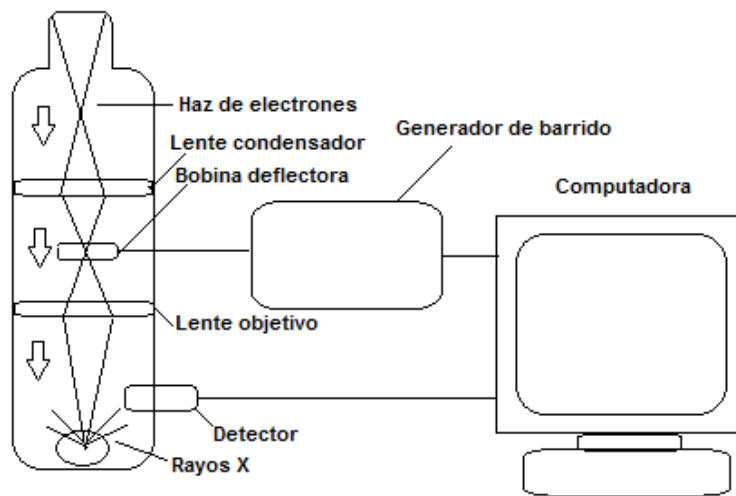


Figura 3. Microscopio electrónico de barrido (MEB).

Para cada una de las dos pirámides seleccionadas por individuo, se obtuvo una imagen a una resolución de 10x, sobre la cual se seleccionó un transecto vertical a lo largo del centro del costado de la semipirámide izquierda (visto desde afuera) (Figura 4A). En cada transecto se obtuvo la proporción de Ca y de Mg, así como la proporción

general de otros elementos mayores. Considerando que los elementos suman un 100%, se obtuvo la proporción de cada elemento en peso% (wt%) y en %atómico (atomic%). Es importante aclarar que en lo sucesivo, se presentan ambos valores pues la literatura hace uso indistinto de ellos. Dividiendo el valor de cada proporción de Ca sobre la de Mg se obtuvo la relación Ca/Mg en peso% y %atómico. Asimismo, una mandíbula del organismo grande de cada localidad fue utilizada para medir la proporción de Ca y de Mg a lo largo de tres transectos verticales trazados en el costado izquierdo, centro y costado derecho de la semipirámide (Figura 4B).

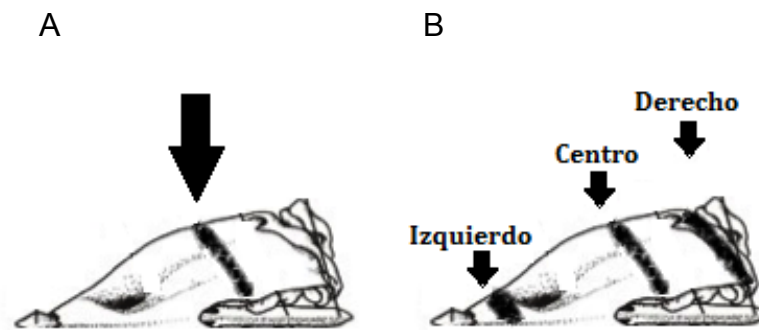


Figura 4. Vista del costado izquierdo de la semipirámide. A) Transecto vertical a lo largo del centro. B) Tres transectos verticales.

2.2.3 Densidad óptica

Se utilizó un mastógrafo digital Lorad M-IV PLATINUM (filtro Rh; kV 39; post mAs 10) para medir la densidad óptica, para lo cual se obtuvieron radiografías del costado izquierdo de la semipirámide izquierda (visto desde afuera). Las radiografías de rayos X obtenidas fueron digitalizadas y convertidas a una imagen positiva. Se utilizó el Programa de análisis de imágenes digitales ImageJ para estimar la densidad óptica de las pirámides. Se seleccionó un transecto a lo largo del costado de la semipirámide izquierda de cada mandíbula (sin incluir al diente) (Figura 5), a partir de lo cual se obtuvo una gráfica de dos dimensiones que representa la intensidad de los pixeles (y) a lo largo del transecto seleccionado (x). Los datos fueron utilizados para calcular la

densidad óptica a partir del promedio de los valores de la variable independiente (valor de grises). Este procedimiento se realizó para cada pirámide.



Figura 5. Transecto a lo largo del costado izquierdo de la semipirámide izquierda.

2.2.4 Variables ambientales

Las variables utilizadas en el estudio fueron temperatura ($^{\circ}\text{C}$), Ω_{Arg} y pH, mismas que se calcularon siguiendo la metodología utilizada por Mozqueda-Torres (2011). Los datos de temperatura ($^{\circ}\text{C}$), así como la concentración de silicatos (μM), fosfatos (μM) y salinidad representan el promedio anual y fueron obtenidos del World Ocean Atlas 2013 (WOA13). Por su parte, los datos de CO_2 se obtuvieron del programa de CO_2 del Instituto Oceanográfico Scripps, La Jolla, CA (Scripps, 2014), utilizando datos mensuales (Abril del 2011 a Abril del 2012) para obtener un promedio anual. La información de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) y salinidad se obtuvo a partir de retículas de cuartos de grado en coordenadas geográficas ($1/4^{\circ} \times 1/4^{\circ}$), mientras que la concentración de silicatos (μM) y fosfatos (μM) en retículas de un grado en coordenadas geográficas ($1^{\circ} \times 1^{\circ}$). Los datos fueron obtenidos para una profundidad de 0,5 y 10m.

De acuerdo a la ubicación del sitio, la alcalinidad total (AT) se obtuvo utilizando la fórmula Ecuatorial ($75^{\circ}\text{W} - 110^{\circ}\text{W}$, $20^{\circ}\text{N} - 20^{\circ}\text{S}$ y $110^{\circ}\text{W} - 140^{\circ}\text{W}$, $10^{\circ}\text{N} - 10^{\circ}\text{S}$) y Subtropical ($30^{\circ}\text{N} - 30^{\circ}\text{S}$), según el criterio de Lee *et al.* (2006).

Subtropical:

$$2305 + 58.66(\text{SSS} - 35) + 2.32(\text{SSS} - 35)^2 - 1.41(\text{SST} - 20) + 0.04(\text{SST} - 20)^2$$

Ecuatorial:

$$2294 + 64.88(\text{SSS} - 35) + 0.39(\text{SSS} - 35)^2 - 4.52(\text{SST} - 29) - 0.232(\text{SST} - 29)^2$$

Donde:

SSS: salinidad (ups)

SST: Temperatura (°C)

Los datos de Ω_{Arg} y pH se obtuvieron para cada cuadrante utilizando el programa CO2sys en el cual se introdujeron los valores de salinidad, temperatura, profundidad, fosfatos, silicatos, alcalinidad y CO₂ atmosférico.

2.2.5 Análisis de datos.

Con los datos obtenidos se conformaron dos matrices; una de variables ambientales: temperatura (°C) pH y Ω_{Arg} y otra de variables biológicas: altura de la testa (mm), longitud de la mandíbula (mm), Ca/Mg en %atómico, Ca/Mg en peso% y densidad óptica.

Con la finalidad de ver si existen diferencias significativas entre sitios, así como dentro de ellos, en cuanto a la longitud de la pirámide (mm), la relación del Ca/Mg en %atómico y en peso% y la densidad óptica, se realizó un Análisis de Varianza Anidado con tres niveles: sitio, organismo y pirámide. En el caso de la altura de la testa (mm), el Análisis de Varianza Anidado se hizo con los niveles organismo y sitio. Para verificar la homogeneidad y normalidad de los datos, se realizó una prueba *a priori* de Levene. Para conocer en qué medida contribuyen los niveles (sitio, organismo, pirámide) en la variación de las variables biológicas, se realizó un análisis de Componentes de Varianza Relativa.

Para ver si existe relación entre las variables biológicas y ambientales se realizaron regresiones lineales simples entre la longitud de la pirámide (mm) y la altura de la testa (mm), con la relación Ca/Mg en peso%, la relación Ca/Mg en %atómico y la densidad óptica como variables dependientes. Así mismo, con la relación Ca/Mg en peso% y en %atómico se realizó una regresión lineal con la densidad óptica como variable dependiente para ver si existe relación entre estas variables.

Para ver si hay relación entre la temperatura, la Ω_{Arg} y el pH con la relación Ca/Mg en peso%, en %atómico y la densidad óptica se realizaron regresiones lineales simples utilizando las variables biológicas como dependientes.

Capítulo 3. Resultados

3.1 Resultados

3.1.1 Relación Ca/Mg.

La relación Ca/Mg en peso% y en %atómico mostró una tendencia latitudinal positiva presentándose los promedios más altos en Bahía de los Ángeles (peso%= 10.78 ± 1.31 , %atómico= 6.55 ± 0.81) y La Paz (peso%= 10.22 ± 0.55 , %atómico= 6.43 ± 0.94) y los más bajos en Huatulco (peso%= 9.98 ± 0.26 , %atómico= 6.05 ± 0.16) e Ixtapa (peso%= 9.8 ± 0.92 , %atómico= 5.96 ± 0.52) (Tabla 1). Para el magnesio la tendencia latitudinal fue negativa, con los promedios más bajos en Bahía de los Ángeles (peso%= 8.49 ± 0.89 , %atómico= 13.24 ± 1.35) y La Paz (peso%= 8.91 ± 0.44 , %atómico= 13.39 ± 0.72), y los más altos en Huatulco (peso%= 9.10 ± 0.21 , %atómico= 14.17 ± 0.32) e Ixtapa (peso%= 9.23 ± 0.72 , %atómico= 14.35 ± 1.06). A pesar de estas variaciones, la relación Ca/Mg en peso% y en %atómico no mostró ser significativamente distinta entre los sitios ($p > 0.05$) (Tablas 2 y 3, Figuras 6 y 7).

Tabla 1. Promedio (n=24) de tallas de testa y pirámide (mm), relación Ca/Mg en peso%, relación Ca/Mg en %atómico y densidad óptica en pirámides de *Eucidaris thouarsii* en los sitios de muestreo.

Sitio	Testa (mm)	Pirámide (mm)	peso%			%atómico			Densidad óptica
			Mg	Ca	Ca/Mg g	Mg	Ca	Ca/Mg	
Bahía de los Ángeles	28.18	14.19	8.49	91.51	10.78	13.24	86.75	6.55	104.42
La Paz	20.78	12.07	8.91	91.09	10.22	13.39	86.11	6.43	131.43
Ixtapa	20.89	11.18	9.23	90.43	9.80	14.35	85.64	5.96	120.30
Huatulco	15.79	9.77	9.10	90.86	9.98	14.17	85.82	6.05	74.37

Tabla 2. Variación de la relación Ca/Mg en peso% en los niveles de sitio, organismo y pirámide elaborado a partir de el Análisis de Varianza Anidado.

Fuente de variación peso%	Efecto	grados de libertad	Mínimos cuadrados	Valor- F	Valor-p
Sitio	Fijo	3	1.288815	0.816729	0.519931
Organismo	Aleatorio	8	1.578021	8.537341	0.000621
Pirámide	Aleatorio	12	0.184838		

Tabla 3. Variación de la relación Ca/Mg en %atómico en los niveles de sitio, organismo y pirámide elaborado a partir de el Análisis de Varianza Anidado.

Fuente de variación %atómico	Efecto	grados de libertad	Mínimos cuadrados	Valor- F	Valor-p
Sitio	Fijo	3	0.609671	0.706708	0.574448
Organismo	Aleatorio	8	0.862692	4.312829	0.011777
Pirámide	Aleatorio	12	0.200029		

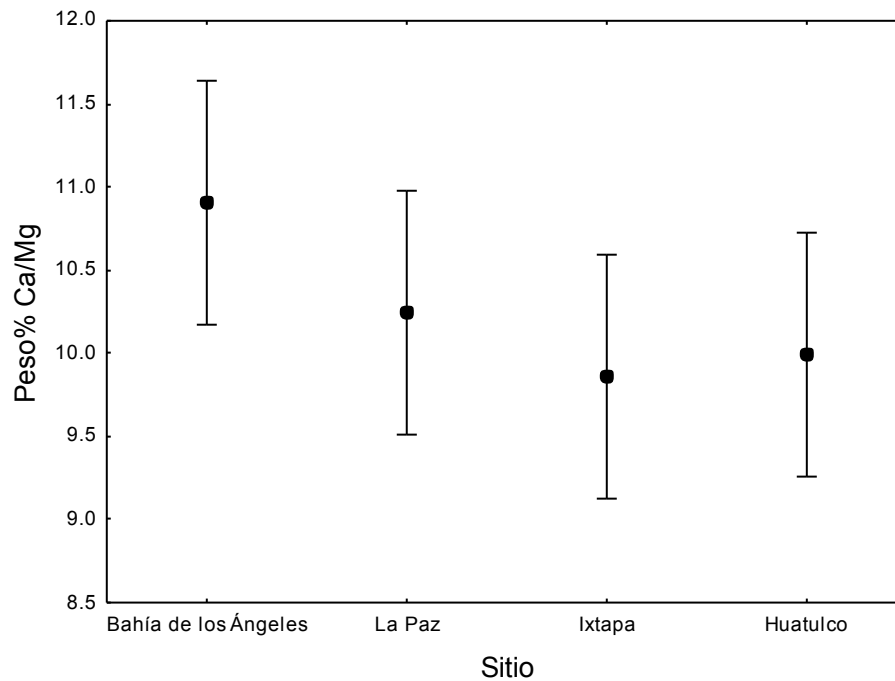


Figura 6. Promedio (n=3) (\pm IC 95%) de la relación Ca/Mg en peso% de las pirámides de *Eucidaris thouarsii* por sitio elaborado a partir de el Análisis de Varianza Anidado ANOVA (F=0.816729, p>0.05).

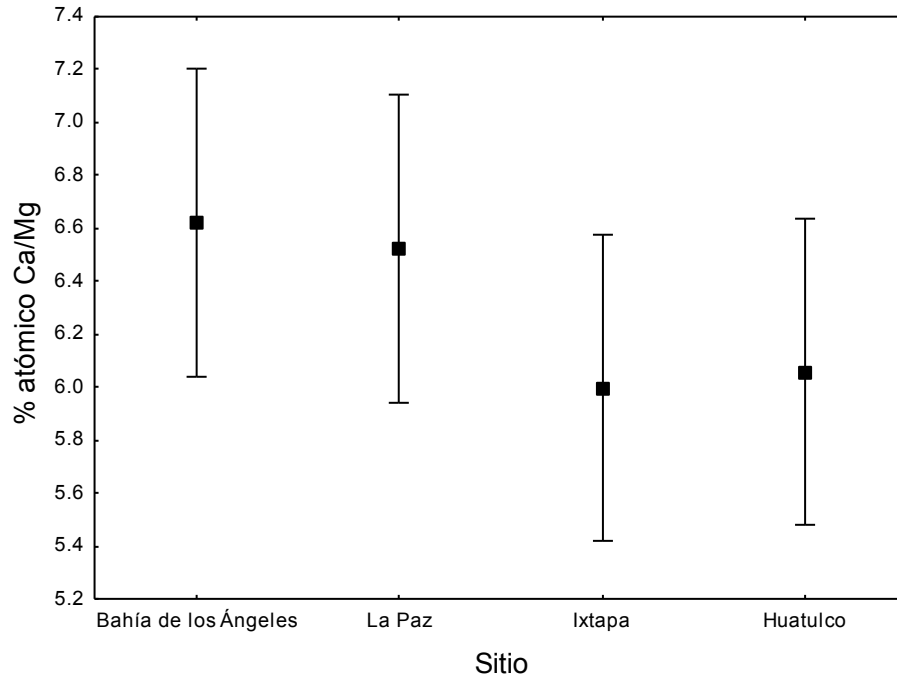


Figura 7. Promedio (n=3) (\pm IC 95%) de la relación Ca/Mg en %atómico de las pirámides de *Eucidaris thouarsii* por sitio elaborado a partir de el Análisis de Varianza Anidado ($F=0.706708$, $p>0.05$).

De acuerdo al análisis de varianza anidado, el porcentaje de varianza explicado por cada nivel de anidación, respecto a la variable Ca/Mg en peso%, fue de 79% por los organismos anidados en los sitios, y 21% por las pirámides anidadas en organismos y en los sitios de estudio, mientras que el nivel sitio explicó 0% de la varianza. Respecto a la relación Ca/Mg en atómico%, 62.4% de la variación estuvo explicada por los organismos anidados en los sitios y 37.6% por las pirámides anidadas en organismos y en sitios, mientras que el nivel sitio explicó 0% de la varianza (Tabla 4). Ambos resultados indican que, en el Pacífico mexicano, las diferencias en la relación Ca/Mg en peso% y en %atómico, no están relacionadas con amplias distancias espaciales (i.e., no hay diferencias significativas entre sitios), sino con variaciones entre individuos dentro de los sitios de estudios (Bahía de los Angeles, La Paz, Ixtapa, Huatulco) y con variaciones entre estructuras esqueléticas dentro de los organismos (Figuras 8 y 9, Tablas 2 y 3).

Tabla 4. Porcentaje de varianza relativa de la relación Ca/Mg en %atómico, en peso% y de la densidad óptica en organismos y pirámides elaborado a partir de el Análisis de Varianza Anidado.

Variable	Porcentaje de varianza relativa	
	Organismos	Pirámide
Ca/Mg %atómico	62.4	37.6
Ca/Mg peso%	79	21
Densidad óptica	99	1

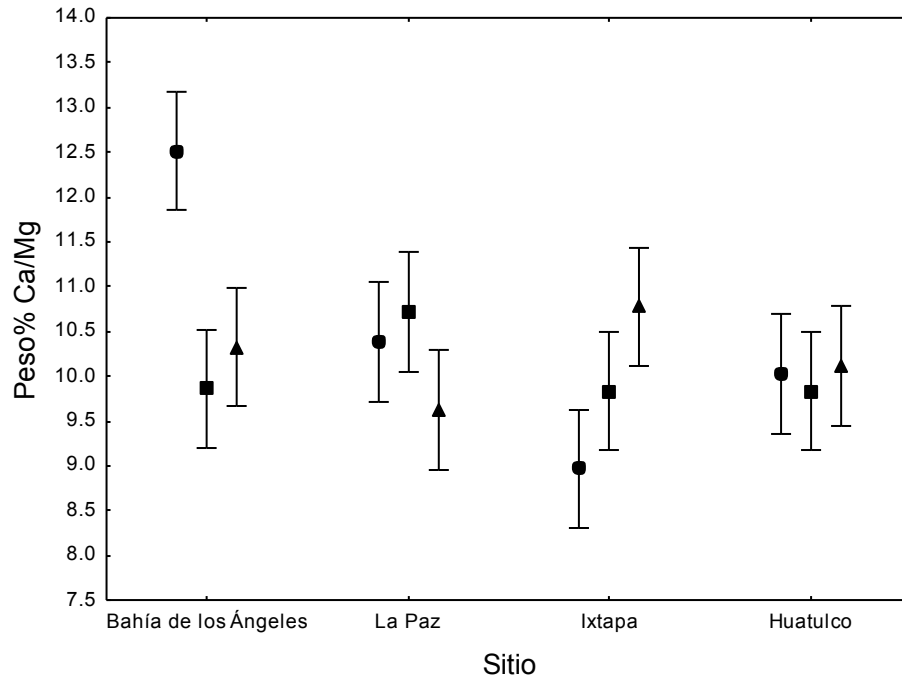


Figura 8. Promedio (n=24) (\pm IC 95%) de la relación Ca/Mg en peso% de las pirámides de *Eucidaris thouarsii* dentro de los sitios elaborado a partir de el Análisis de Varianza Anidado ($F= 8.537341$, $p<0.05$). Círculo = Erizo grande, Cuadro = Erizo mediano y Triángulo = Erizo chico.

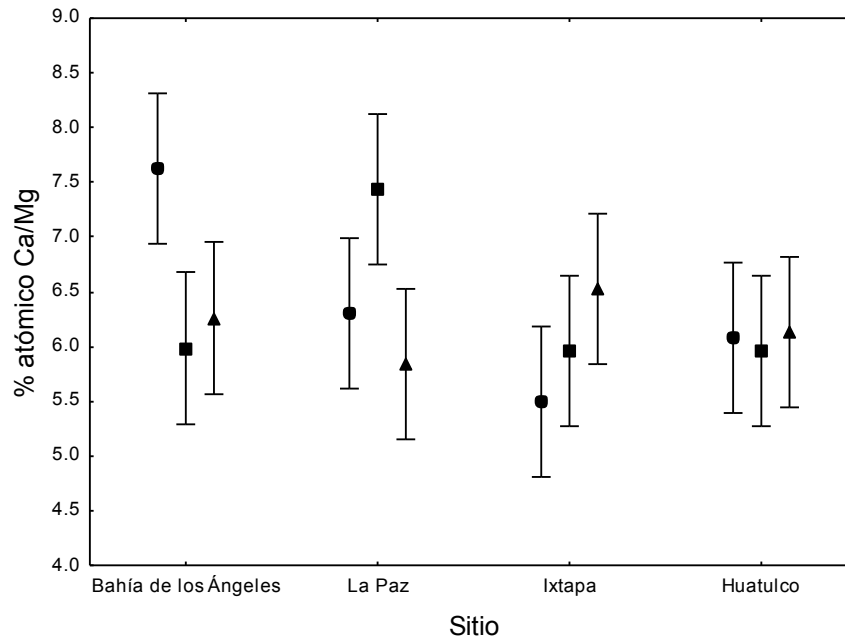


Figura 9. Promedio (n=24) (\pm IC 95%) de la relación Ca/Mg en %atómico de las pirámides de *Eucidaris thoursii* dentro de los sitios elaborado a partir de el Análisis de Varianza Anidado (F= 4.312829, $p < 0.05$). Círculo = Erizo grande, Cuadro = Erizo mediano y Triángulo = Erizo chico.

Los valores de Ca y Mg en peso% y en %atómico no se mostraron homogéneos a lo largo de las pirámides. En Bahía de los Ángeles, La Paz y Huatulco, el valor más alto en la relación Ca/Mg se obtuvo en el centro de la pirámide, mientras que para Ixtapa fue en el lado izquierdo. Por otro lado, el valor más bajo para cada pirámide se observó en el lado derecho en los sitios de Bahía de los Ángeles, La Paz e Ixtapa y en el lado izquierdo en Huatulco (Tabla 5).

Tabla 5. Valores de peso% y %atómico medidos en tres puntos (izquierdo, centro, derecho) de una misma pirámide del erizo grande de cada localidad.

Sitio	Lugar en la mandíbula	peso%			%atómico		
		Mg	Ca	Ca/Mg	Mg	Ca	Ca/Mg
Bahía de los Ángeles	Izquierdo	8.9	91.1	10.23	13.88	86.12	6.20
	Centro	7.4	92.6	12.51	11.6	88.4	7.62
	Derecho	11.3	88.7	7.84	17.36	82.64	4.76
La Paz	Izquierdo	9.16	90.84	9.91	14.25	85.75	6.01
	Centro	8.79	91.21	10.38	13.71	86.29	6.29
	Derecho	9.25	90.75	9.81	14.56	84.87	5.82
Ixtapa	Izquierdo	9.56	90.44	9.46	14.84	85.16	5.73
	Centro	9.94	89.06	8.96	15.4	84.6	5.49
	Derecho	10.15	89.85	8.85	15.7	84.3	5.36
Huatulco	Izquierdo	10.87	89.13	8.19	16.75	83.25	4.97
	Centro	9.08	90.93	10.02	14.14	85.87	6.07
	Derecho	9.7	90.3	9.30	15.04	84.96	5.64

3.1.2 Densidad óptica

Para la densidad óptica, el promedio más alto ocurrió en La Paz (131.43 ± 34.69), seguido de Ixtapa (120.30 ± 45.26), Bahía de Los Ángeles (104.42 ± 40.98) y Huatulco (74.6 ± 32.52) (Tabla I); sin observarse diferencias significativas entre sitios ($p > 0.05$) (Tabla 6, Figura 10.). El análisis de varianza anidado evidenció que el porcentaje de varianza explicado correspondió 99% a nivel de organismo dentro de los sitios de estudio y 1% a nivel pirámide dentro de organismo, pero 0% de la varianza fue explicada a nivel de sitio (Tabla 4). Lo anterior indica que las variaciones en la densidad óptica de las pirámides del erizo *E. thouarsii* en el Pacífico mexicano no están asociadas a diferencias espaciales (i.e., entre sitios de estudio), sino a las diferencias entre organismos dentro de los sitios de estudio ($p < 0.5$) (Tabla 6, Figura 11).

Tabla 6. Variación de la de la densidad óptica en los niveles de sitio, organismo y pirámide elaborado a partir de el Análisis de Varianza Anidado.

Fuente de variación	Efecto	grados de libertad	Mínimos cuadrados	Valor- F	Valor-p
Sitio	Fijo	3	3686.831	1.3668	0.320762
Organismo	Aleatorio	8	2697.493	197.5835	0.000000
Pirámide	Aleatorio	12	13.652		

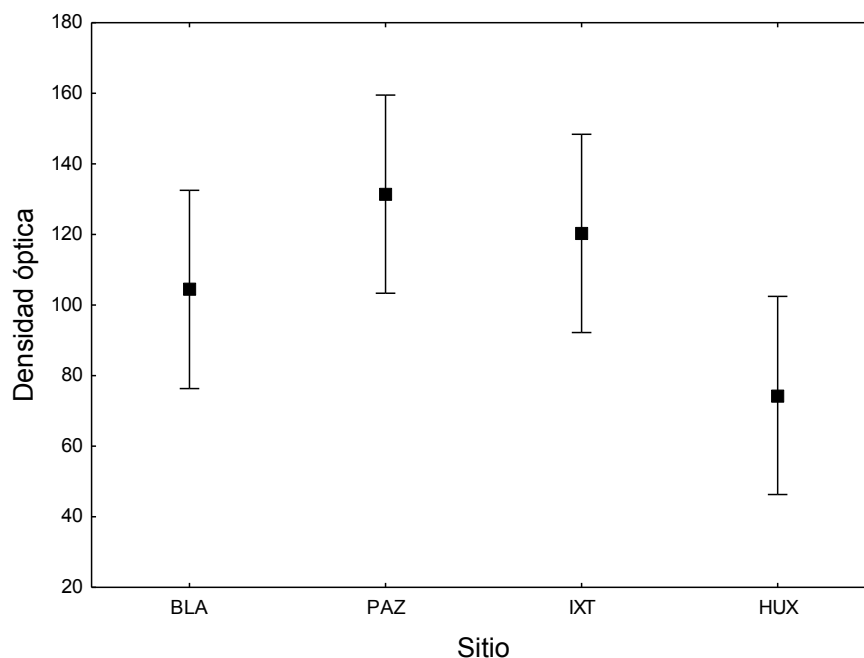


Figura 10. Promedio (n=24) (\pm IC 95%) de la densidad óptica de las pirámides de *Eucidaris thouarsii* por sitio elaborado a partir de el Análisis del Varianza Anidado (F=1.3668, $p > 0.05$).

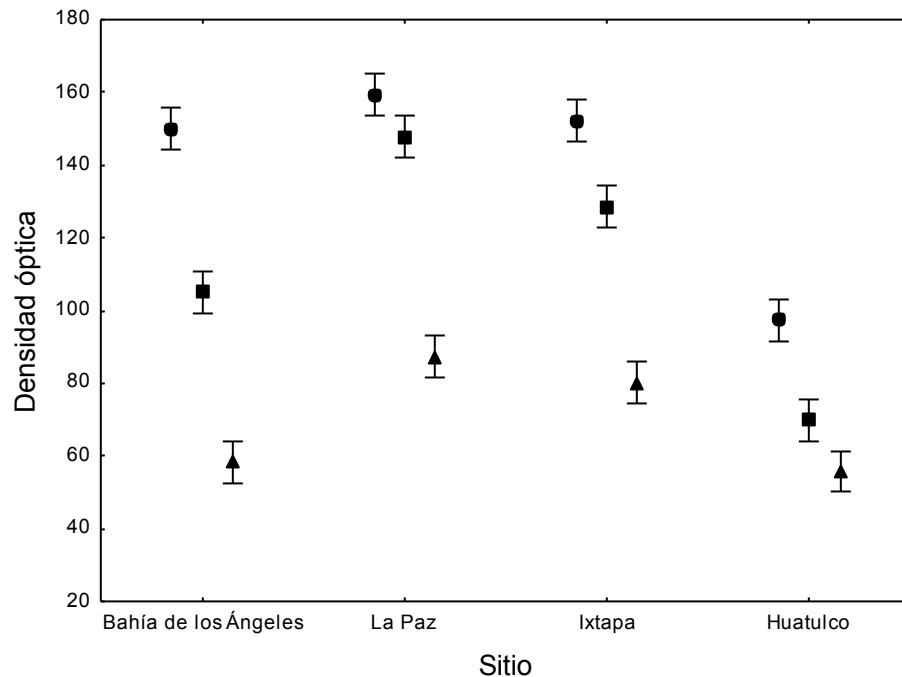


Figura 11. Promedio (n=24) (\pm IC 95%) de la densidad óptica en las pirámides de *Eucidaris thouarsii* entre sitios y dentro de ellos elaborado a partir de el Análisis de Varianza Anidado (F= 197.5835, $p < 0.05$). Círculo = Erizo grande, Cuadro = Erizo mediano, Triángulo = Erizo chico

3.1.3 Altura de testa y longitud de pirámide.

Bahía de los Ángeles mostró en promedio a los organismos con una mayor altura de testa (28.18 ± 10.2 mm) y longitud de pirámides (14.19 ± 5.37 mm). Mientras que en Huatulco se observaron los promedios más bajos (altura de testa= 15.79 ± 5 mm; longitud de pirámides= 9.77 ± 2.28 mm). En Ixtapa y La Paz los valores para estas variables fueron los que presentaron una menor variación entre ellos (altura de testas = 20.89 ± 5.56 y 20.78 ± 7.98 mm; longitud de pirámides= 11.18 ± 1.81 y 12.07 ± 4.51 mm respectivamente). A pesar de las variaciones en estas variables entre sitios, las diferencias no fueron significativas ($p > 0.05$) (Figuras 12 y 13), sin embargo dentro de los sitios, tanto la altura de las testas como la longitud de las pirámides fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$) (Tablas 7 y 8, Figuras 14 y 15).

Tabla 7. Variación de la de la altura de testa en los niveles de sitio y organismo elaborado a partir del Análisis de el Varianza Anidado.

Fuente de variación	Efecto	grados de libertad	Mínimos cuadrados	Valor- F	Valor-p
Altura testa					
Sitio	Fijo	3	79.2912	0.71	0.57427
Organismo	Aleatorio	8	112.144	87102.15	0.00000

Tabla 8. Variación de la de la longitud de pirámide en los niveles de sitio, organismo y pirámide elaborado a partir de el Análisis de Varianza Anidado.

Fuente de variación	Efecto	grados de libertad	Mínimos cuadrados	Valor- F	Valor-p
Long.pirámide					
Sitio	Fijo	3	20.59428	0.57	0.650314
Organismo	Aleatorio	8	36.13277	1241.143	0.000000
Pirámide	Aleatorio	12	0.02911		

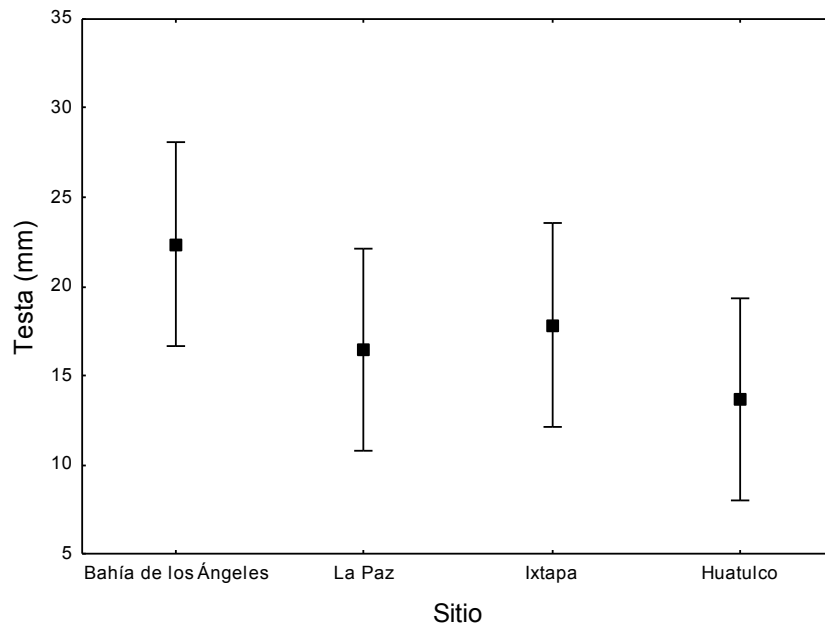


Figura 12. Promedio (n=24) (± IC 95%) de la altura de las testas (mm) de *Eucidaris thouarsii* por sitio elaborado a partir de el Análisis del Varianza Anidado (F= 0.71, p>0.05).

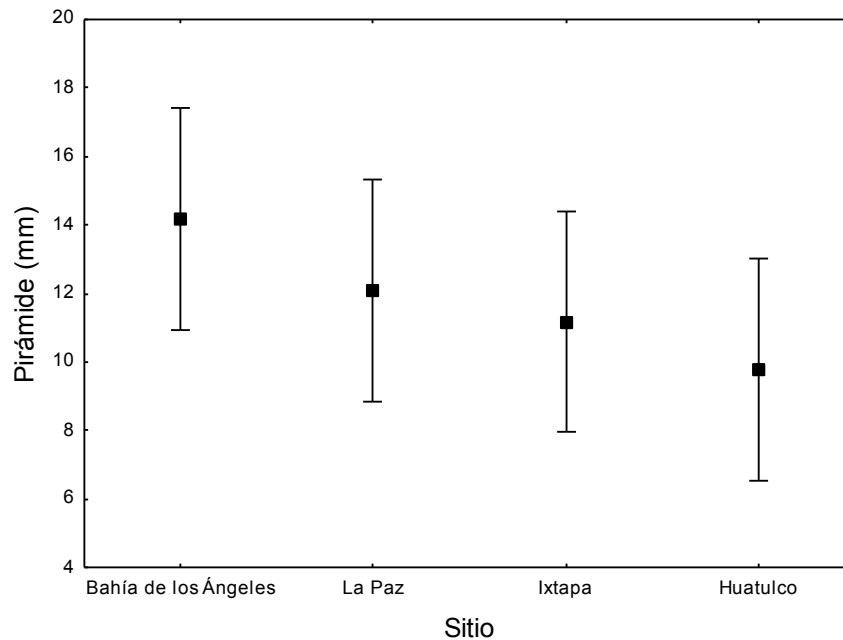


Figura 13. Promedio (n=24)(± IC 95%) de la longitud de las pirámides (mm) de *Eucidaris thouarsii* por sitio elaborado a partir de el Análisis de Varianza Anidado (F= 0.57, p>0.05).

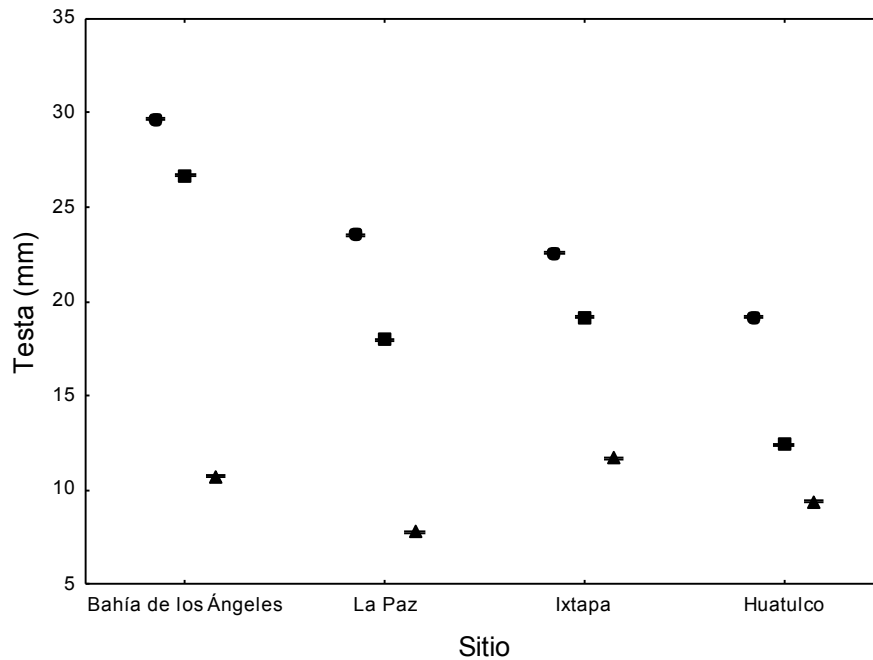


Figura 14. Promedio ($n=24$) (\pm IC 95%) del alto de las testas (mm) de *Eucidaris thouarsii* entre sitios y dentro de ellos elaborado a partir de el Análisis del Varianza Anidado ($F= 87102.15$, $p<0.05$). Círculo = Erizo grande, Cuadro = Erizo mediano, Triángulo = Erizo chico.

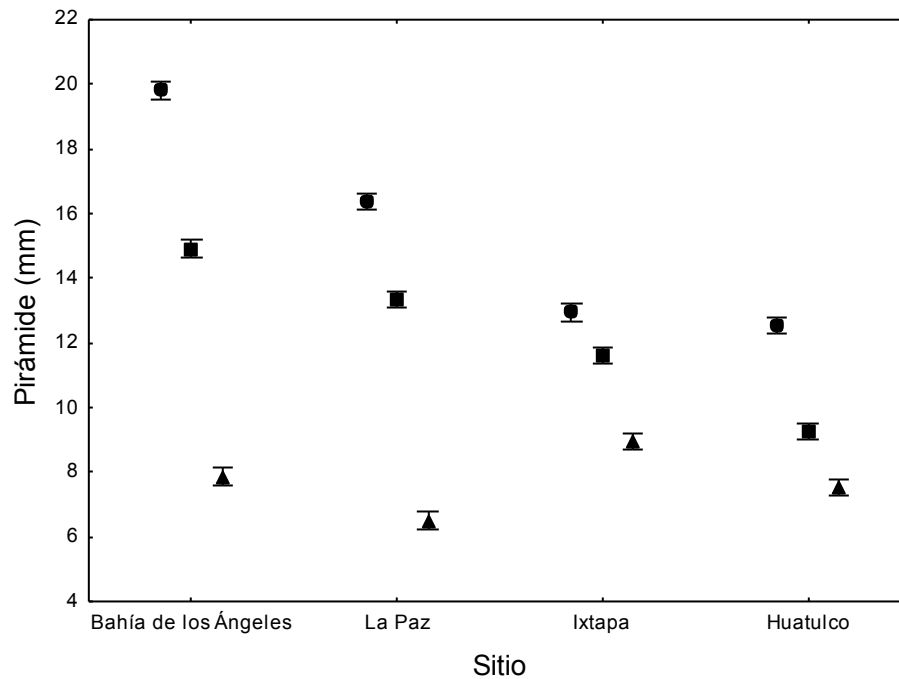


Figura 15. Promedio ($n=24$) (\pm IC 95%) de la longitud de las pirámides (mm) de *Eucidaris thouarsii* entre sitios y dentro de ellos elaborado a partir de el Análisis de Varianza Anidado ($F= 1241.143$, $p<0.05$). Círculo = Erizo grande, Cuadro = Erizo mediano, Triángulo = Erizo chico.

3.1.4 Relación entre variables biológicas.

Respecto a la relación entre variables biológicas (Tabla 9), la altura de la testa no mostró relación con el Ca/Mg en peso% ni con el Ca/Mg en %atómico ($p > 0.05$). Sin embargo, mostró relación con la densidad óptica ($p < 0.05$). Por otro lado, la longitud de la pirámide presentó una relación con el Ca/Mg en peso%, con el Ca/Mg en %atómico y con la densidad óptica ($p < 0.05$). Finalmente tanto la relación Ca/Mg en peso% como en % atómico no guardan relación con la densidad óptica ($p > 0.05$).

Tabla 9. Relación entre variables biológicas a partir de regresiones lineales simples.

Factor	Independiente	R ²	p
Altura testa	Ca/Mg peso%	0.102	0.1283
	Ca/Mg %atómico	0.0742	0.1977
	Densidad óptica	0.6058	0.0000
Longitud pirámide	Ca/Mg peso%	0.2428	0.0144
	Ca/Mg %atómico	0.2004	0.0282
	Densidad óptica	0.6482	0.0000
Ca/Mg peso%	Densidad óptica	0.0406	0.3449
Ca/Mg %atómico	Densidad óptica	0.0899	0.1545

3.1.5 Composición atómica

En cuanto al porcentaje de la composición atómica de las pirámides de *Eucidaris thourasii*, el Ca fue el elemento más abundante (~81.46%) seguido del Mg (~13.42%) y en menor porcentaje del S (~1.95%), el Sr (~0.12 %) y el Y (~0.0021%) (Figura 16). Estos elementos fueron encontrados en todos los sitios a excepción del Y, el cual no se detectó en erizos de Bahía de los Ángeles ni La Paz (Tabla 2).

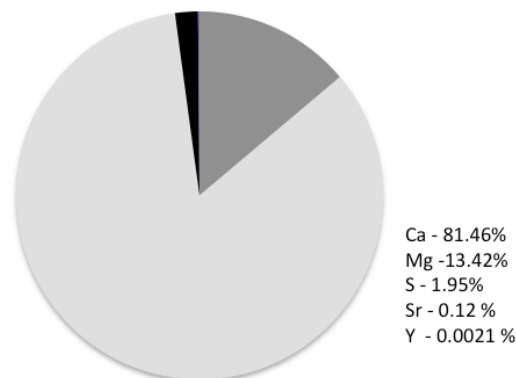


Figura 16. Porcentaje de la composición atómica promedio (n=24) de las pirámides de *Eucidaris thourasii*.

Tabla 10. Composición atómica encontrada en las pirámides de *Eucidaris thouarsii*.

Sitio	peso%					%atómico				
	Mg	Ca	S	Sr	Y	Mg	Ca	S	Sr	Y
Bahía de los Ángeles	8.71	86.75	2.11	0.28	0.00	13.32	80.64	2.44	0.12	0.00
La Paz	8.59	87.34	1.63	0.27	0.00	13.18	81.29	1.89	0.12	0.00
Ixtapa	8.77	88.10	1.32	0.27	0.06	13.51	82.35	1.55	0.12	0.01
Huatulco	8.90	87.52	1.66	0.25	0.03	13.68	81.57	1.94	0.11	0.00

3.1.6 Variables ambientales

Tanto la temperatura como el pH y la Ω_{Arg} mostraron un gradiente latitudinal negativo presentando los promedios anuales más bajos en Bahía de los Ángeles y La Paz y los más altos en Ixtapa y Huatulco (Tabla 11).

Tabla 11. Promedio anual de variables ambientales en los sitios de muestreo.

Sitio	Salinidad	Temperatura (°C)	Fosfatos	Silicatos	Alcalinidad	Co2	pH	Ω aragonita
Bahía de los Ángeles	35.09	21.05	1.14	12.12	2308.71	393.59	8.38	2.77
La Paz	34.64	23.17	0.476	3.99	2280.16	393.59	8.41	2.86
Ixtapa	33.92	28.57	0.276	3.00	2226.81	393.59	8.48	3.14
Huatulco	33.89	28.32	0.27	3.9	2226.18	393.59	8.48	3.12
Promedio	34.38	25.28	0.54	5.75	2260.46	393.59	8.44	2.97

En cuanto a la relación entre variables ambientales y biológicas, el pH, la Ω_{Arg} y la temperatura (°C) no mostraron estar relacionadas con la relación Ca/Mg en peso% ni con la densidad óptica ($p > 0.05$) (Figuras 17 y 18). Sin embargo, sí se relacionaron con la relación Ca/Mg en %atómico ($p < 0.05$) (Figura 19).

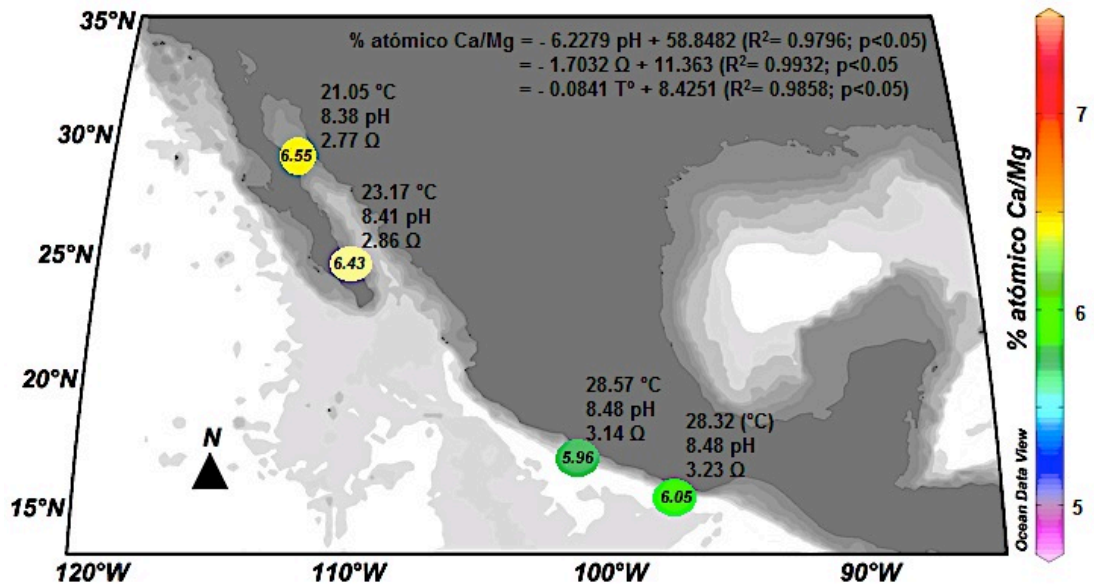


Figura 17. Relación entre el Ca/Mg en %atómico y el pH (gl=1,2; F=98.9389), la Ω_{Arg} (gl=1,2; F=292.9799) y la temperatura (T°) (gl=1,2; F=138.8519) por sitio de muestreo ($\text{p}<0.05$).

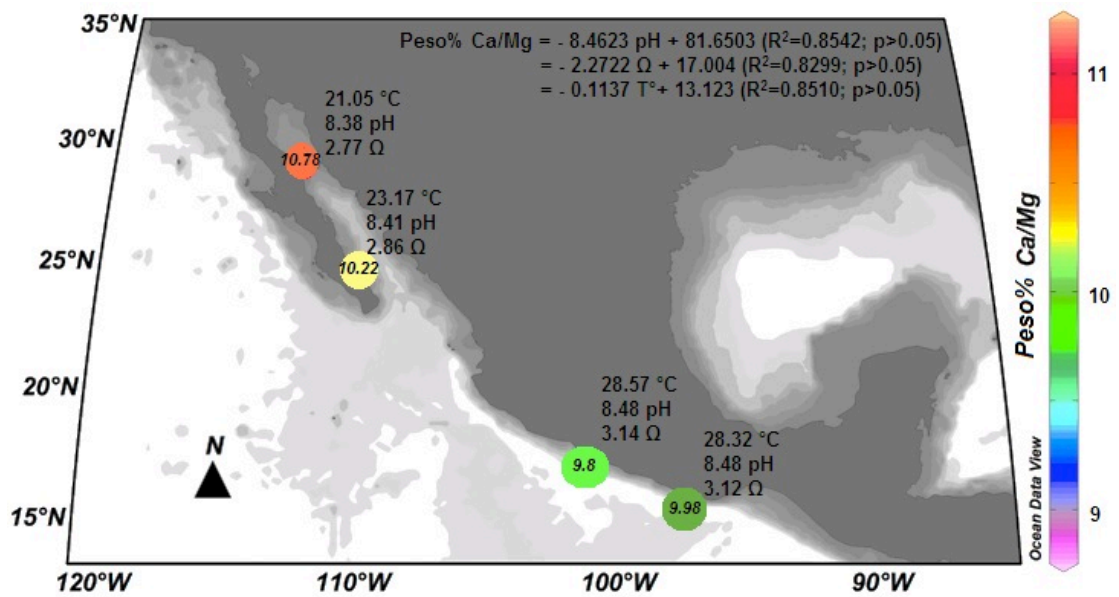


Figura 18. Relación entre el Ca/Mg en peso% y el pH (gl=1,2; F=11.7192), la Ω_{Arg} (gl= 1,2; F=9.7566) y la temperatura (T°) (gl=1,2; F= 11.42155) por sitio de muestreo ($\text{p}>0.05$).

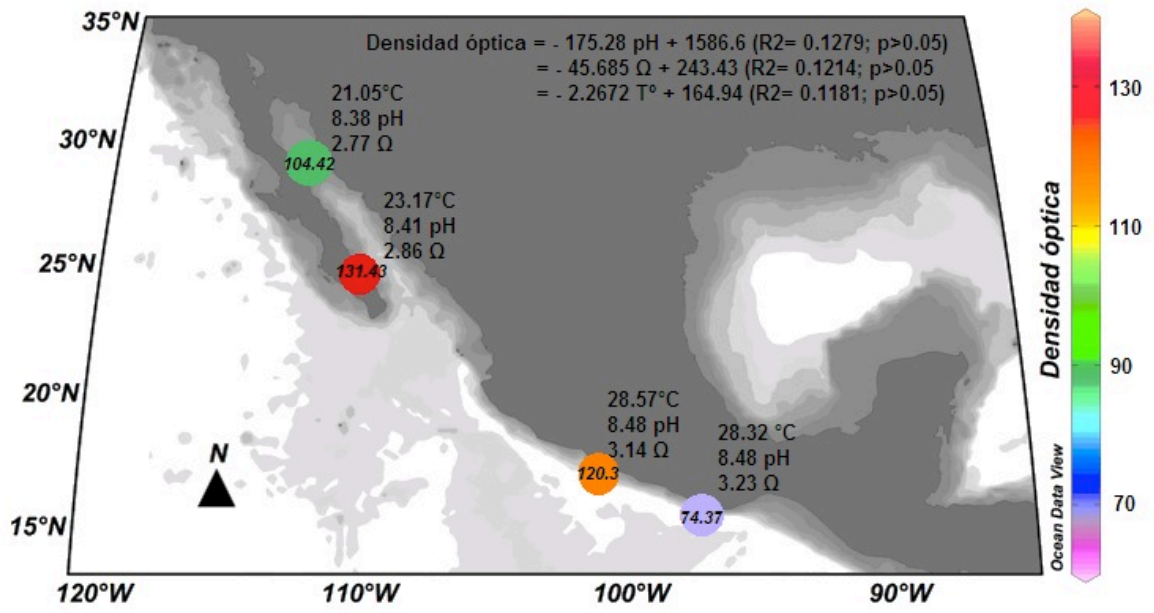


Figura 19. Relación entre la densidad óptica y el pH ($gl= 1,2$; $F=0.2933$), Ω_{Arg} ($gl=1,2$; $F=0.2763$) y temperatura (T°) ($gl=1,2$; $F=0.2678$) por sitio de muestreo ($p>0.05$).

Capítulo 4. Discusión

4.1 Discusión

Debido principalmente a la quema de combustibles fósiles, la concentración de CO₂ en la atmósfera se ha incrementado desde la época preindustrial, de 280 a 380 ppm. De éstos, en los últimos 200 años, los océanos han absorbido alrededor de la mitad, incrementando la concentración de iones hidrógeno y consecuentemente disminuyendo el pH (Raven *et al.* 2005). Se predice que la superficie de nuestros océanos experimentará un descenso entre 0.5 y 0.3 en el pH. Actualmente es de 8.1-8.2 y se espera que sea de 7.6-7.9 en el 2100 (Ross *et al.* 2011), probablemente el valor más bajo experimentado en cientos de milenios y quizá a una tasa de cambio cien veces mayor que en cualquier periodo (Raven *et al.* 2005). La respuesta biológica de organismos marinos ante la acidificación del océano se ha estudiado a través que técnicas de meta-análisis y se han encontrado efectos negativos en supervivencia, calcificación, crecimiento y reproducción (Kroeker *et al.* 2010). Para los organismos calcificadores el riesgo radica en que sus tasas de depósito y disolución de CaCO₃ se verán directamente afectadas (Gattuso y Buddemeier, 2000), en especial para aquellos organismos cuyos esqueletos se componen de calcita magnesiana, como el caso de los equinodermos (McClintock *et al.* 2011).

Para conocer el estado en que se encuentran las estructuras duras de los organismos marinos calcificadores, es necesario llevar a cabo estudios de densidad y de composición atómica. En este trabajo se planeó llevar a cabo la medición de la densidad esquelética de las pirámides de *Eucidaris thouarsii* siguiendo la metodología utilizada por (Carricart-Ganivet y Barnes, 2007) en la cual se utilizan imágenes digitalizadas de radiografías de rayos X para obtener la densidad óptica y una cuña de aragonita de distintos grosores con densidad conocida para convertir la densidad óptica en densidad esquelética. Sin embargo, no fue posible seguir este método ya que para hacer comparable la cuña de aragonita con la estructura, requiere que ésta última tenga un grosor promedio entre 5 y 8 mm, y el de las pirámides de *Eucidaris thouarsii* es de aproximadamente 1mm. Por ello, únicamente se obtuvo la densidad óptica, la cual

también ha sido utilizada en estudios de esclerocronología de corales para medir bandas de crecimiento (Klein *et al.* 1993; Horta-Puga y Carriquiry, 2008). A pesar de que la densidad óptica no presenta sus valores en masa/volumen, sí es un reflejo preciso de la densidad esquelética pues varía en función de ésta (Horta-Puga y Carriquiry, 2008).

La importancia de conocer la composición química de los organismos calcificadores marinos reside en que tanto los elementos que componen sus esqueletos, como su proporción, son indicadores de su nivel de vulnerabilidad esquelética y una posible clave para anticipar el panorama de respuesta ante eventos como la acidificación (McClintock *et al.* 2011). En el caso de los equinodermos, la vulnerabilidad varía entre clases. Se predice que las estrellas de mar y los ofiuroides serán los primeros en sufrir los efectos de la acidificación ya que contienen mayor cantidad de magnesio en sus esqueletos (Lebrato *et al.* 2013).

A partir de los valores de magnesio y de calcio en peso% y en %atómico se obtuvo la relación Ca/Mg en peso% y en %atómico, la cual presenta una relación negativa con el magnesio y positiva con el calcio, por lo que valores más altos de esta proporción indican una menor cantidad de magnesio y mayor de calcio que los valores más bajos. En Bahía de los Ángeles (Tabla 1) la relación Ca/Mg en peso% (10.78 ± 1.31) y en %atómico (6.55 ± 0.81) es la más elevada de todos los sitios. Sin embargo, su diferencia con Ixtapa (peso%= 9.8 ± 0.92 , %atómico= 5.96 ± 0.52), el sitio con el promedio más bajo, únicamente fue de 0.98 respecto al peso% y 0.59 respecto al % atómico, no habiendo diferencias significativas entre los sitios (Tablas 2 y 3, Figuras 6 y 7). Por otro lado, dentro de los sitios si se mostraron diferencias significativas (Tabla 2 y 3), principalmente en Bahía de los Ángeles (Figuras 8 y 9). Los resultados indican que, respecto a la composición química y las proporciones entre los elementos mayores, las pirámides de las mandíbulas de *Eucidaris thouarsii* poseen una estructura esquelética relativamente homogénea a lo largo del Pacífico mexicano, en tanto no existen diferencias entre sitios.

Aún cuando su composición química no muestre variaciones significativas entre sitios, no significa que la vulnerabilidad de los individuos y las poblaciones de *Eucidaris thouarsii* en el Pacífico mexicano sea la misma ante una disminución de pH, ya que

otros procesos (crecimiento, fertilización, reproducción) (Kroeker *et al.* 2010; Stumpp *et al.* 2013) y etapas de vida (i.e., larva, juvenil, adulto) podrían verse afectados (Parker *et al.* 2011; Stumpp *et al.* 2013). Aunado a esto, se cree que los organismos que históricamente han vivido en ambientes con mayores fluctuaciones de CO₂ (i.e., zonas de surgencia), tendrán una mayor capacidad de aclimatación y podrían ser más resilientes a una disminución en el pH (Ross *et al.* 2011). Siguiendo este razonamiento, las poblaciones de erizos que habitan zonas donde ocurren surgencias estacionales como por ejemplo, Huatulco y Bahía de los Ángeles, quizá tengan una mayor probabilidad de adaptarse a condiciones futuras de acidificación. Sin, embargo éstas son solo especulaciones ya que las variaciones en cuanto a la respuesta entre y dentro de poblaciones en cuanto a su resiliencia y adaptación aún es desconocida (Parker *et al.* 2011).

Existieron variaciones en la cantidad de magnesio y de calcio en la pirámide del organismo más grande de cada localidad (Tabla 5). En un estudio hecho con los dientes del erizo *Lytechinus variegatus* por Veis *et al.* (2002) se sugiere que la mineralización dentro de los distintos compartimentos del diente son llevados a cabo por distintas matrices de proteínas lo cual causa variaciones en calcio y magnesio dependiendo de su posición en el diente. En tres de los cuatro organismos medidos (Bahía de los Ángeles, La Paz y Huatulco), los valores más altos tanto de la relación Ca/Mg en peso% como de la relación Ca/Mg en %atómico se obtuvieron en el centro de la pirámide. Sin embargo, dado el número de muestras (n= 3), no es posible asegurar este hecho como un patrón general.

Los resultados mostraron una variación latitudinal con respecto a las concentraciones de magnesio. En general, sitios en latitudes más altas (Bahía de los Ángeles y La Paz) tienen menores concentraciones de magnesio y más altas de la relación Ca/Mg. Por su parte, en las latitudes más bajas (Ixtapa y Huatulco) se observaron las mayores concentraciones de magnesio y las más bajas de la relación Ca/Mg (Tabla 1). A pesar que entre sitios estos valores no son significativamente diferentes entre sí (Figuras 6-7, Tablas 2 y 3), su tendencia latitudinal coincide con la hipótesis presentada por otros estudios (Chave, 1954; Andersson *et al.* 2008) que

sugiere que los niveles de magnesio en equinodermos son inversamente proporcionales a la latitud.

Al comparar los valores obtenidos con otros estudios (Chave, 1954; Pilkey y Hower, 1960; Weber, 1969; Clark *et al.* 2009; McClintock *et al.* 2011), se observa que el promedio del magnesio en peso% obtenido para *Eucidaris thouarsii* en el Pacífico mexicano (7.4-7.99) cae dentro del intervalo reportado para equinoideos regulares (4.5-17). Considerando los valores de Mg en peso% acuerdo a su la latitud, para Bahía de los Ángeles los valores obtenidos (Tabla 1) (7.4-9.21) se encuentran por debajo de los reportados (~ 10-14.5), sin embargo los valores estimados para La Paz (8.57-9.41), Ixtapa (8.51-9.94) y Huatulco (9-9.24) se encuentran en el límite mínimo reportado para su latitud (~ 9-15.7; 8.7-15.9; 8.7-15.9, respectivamente). Lo anterior sugiere que no obstante la vulnerabilidad natural de los equinodermos ante un futuro evento de acidificación dada la presencia de magnesio en sus esqueletos, la vulnerabilidad de los equinodermos en el Pacífico mexicano respecto a su composición química posiblemente sea baja comparada con la de equinodermos en otras localidades.

La idea de que el magnesio en equinodermos disminuye de manera latitudinal ha sido hipotéticamente relacionado con la temperatura, la disponibilidad de luz y el estado de saturación del agua de mar, ya que en promedio anual todos éstos se reducen al incrementarse la latitud (McClintock *et al.* 2011). Se predice que los efectos de acidificación serán detectados en un principio en las regiones de bajas temperaturas (altas latitudes), debido a que en aguas frías se incrementa la disolución de los gases como el CO₂ ocasionando una disminución en el horizonte de saturación en consecuencia dificultando la calcificación (Ross *et al.* 2011).

En el presente estudio, los promedios anuales de temperatura, pH y Ω_{Arg} mostraron una relación inversa con la latitud, presentándose los valores más bajos en Bahía de los Ángeles (pH= 8.3, Ω = 2.77) y La Paz (pH= 8.42, Ω = 2.86) y los más altos en Ixtapa (pH= 8.48, Ω = 3.14) y Huatulco (pH= 8.48, Ω = 3.12) (Tabla 11). Al relacionar estas variables ambientales con las variables biológicas, no se encontró que estuvieran relacionadas con la densidad óptica ($gl=1,2$; $F=0.2933$; $p>0.05$) (Figura 19). En cuanto a su relación con las demás variables biológicas, a pesar de mostrar un comportamiento inversamente latitudinal, tanto la temperatura, como el pH y la Ω_{Arg} no evidenciaron

estar relacionadas con la relación Ca/Mg en peso% ($gI= 1,2$; $F= 11.42155$; $p>0.05$) (Figura 18), sin embargo sí revelaron estar relacionadas con la relación Ca/Mg en %atómico ($gI= 1,2$; $F= 138.8519$; $p<0.05$) (Figura 17).

En cuanto a la densidad óptica no se encontraron diferencias significativas entre sitios ($p>0.05$), sin embargo sí hubieron diferencias entre los tres organismos dentro de cada sitio ($p<0.05$) (Tabla 6, Figuras 10 y 11), donde los más grandes presentaron los mayores valores de densidad óptica y viceversa (Anexo I). El análisis de regresión de la altura de las testas y la longitud de las pirámides con la densidad óptica evidenció una relación positiva entre estas variables (Tabla 9), lo que sugiere que la densidad de los erizos se incrementa con la talla de los mismos. A pesar de que se esperaba que los valores más altos en densidad estuvieran relacionados con una mayor cantidad de elementos por unidad de volumen de la pirámide, los organismos que presentaron las densidades más altas no mostraron una mayor concentración de calcio ni de magnesio que el resto de los erizos de su localidad (Anexo I). Así mismo, no se encontró una relación entre la relación Ca/Mg en peso% y en % atómico con la densidad óptica (Tabla 9).

El tamaño de los organismos muestreados varió entre sitios, encontrándose los de mayor tamaño en Bahía de los Ángeles, mientras que los más pequeños ocurrieron en Huatulco (Tabla 1). La diferencia del promedio máximo y mínimo en la altura de las testas y la longitud de las pirámides entre estos sitios fue de 12.38 mm y 4.42 mm, respectivamente, sin haber diferencias significativas (Figuras 12-13, Tablas 7 y 8). Por otro lado, dentro de los sitios hubo diferencias significativas en la altura de testas y longitud de pirámides de los tres organismos de cada sitio (Tablas 7 y 8, Figuras). Esto era de esperarse ya que al realizar los muestreos, se colectaron intencionalmente tres tallas distintas por sitio. Se ha sugerido que el contenido de Mg varía a lo largo del ciclo de vida del erizo, principalmente entre la etapa larval y metamórfica temprana cuando los niveles son más bajos, posteriormente en la etapa juvenil y adulta los niveles de Mg se mantienen relativamente constantes (LaVigne *et al.* 2013). Sin embargo, al no estar correlacionada la altura de la testa con la relación Ca/Mg en peso% ni con la relación Ca/Mg en %atómico (Tabla 9), los resultados sugieren que la relación Ca/Mg puede ser independiente del tamaño una vez pasada la etapa postmetamórfica.

No obstante que al utilizar el promedio anual de las variables ambientales no se están tomando en cuenta las condiciones que hay en el microambiente donde vivieron los erizos, y que por su talla puede ser que algunos no hayan cubierto todas las temporadas del año, es el mejor estimador con el que se cuenta, ya que lo que se pretende es representar las condiciones promedio tanto de los erizos como de los ambientes de cada sitio. Además de que en ausencia de diferencias en la relación Ca/Mg en %atómico en función de la talla, se puede asumir que en etapas juvenil y adulta no tiene ningún efecto el tiempo de vida que se hayan desarrollado en su ambiente con su relación Ca/Mg.

La composición química de las pirámides de *Eucidaris thouarsii* en el Pacífico mexicano se comprende mayoritariamente de calcio (~81%), seguido de magnesio (~13.4%) y en muy concentración elementos como azufre (~1.45%), estroncio (~0.12%) y yodo (~0.0021%) (Figura 16, Tabla 10). De éstos, el Ca, el Mg y el Sr son parte importante de los constituyentes mayores del agua de mar, cuya abundancia es de 400, 1350 y 8 mg/l respectivamente. La presencia de éste último (Sr), también ha sido reportada en equinodermos en concentraciones hasta de 1 en %peso (Weber, 1969), casi el triple del valor máximo encontrado en el presente estudio (0.28 en peso% para Bahía de los Ángeles). Por otro lado, el azufre (en forma de sulfato SO_4) y el yodo (Y) son parte de la composición elemental del agua de mar (Horne 1969). Todos los organismos marinos con estructuras esqueléticas precipitan, del agua en que viven, los materiales minerales que forman sus esqueletos. Sin embargo, el grado de control acerca del tipo de mineral depositado varía entre organismos, ya que es un proceso bio-regulado. Otros elementos como el hierro, el manganeso, el aluminio y el silicio también han sido reportados en los equinodermos en cantidades muy bajas (Yurong y Limin, 2010).

Los datos presentados reflejan un patrón de enriquecimiento en cuanto al conocimiento de los elementos mayores en las pirámides de *Eucidaris thouarsii* en el Pacífico mexicano. Sin embargo, debido al método utilizado los valores deben ser interpretados con cautela. Al llevar a cabo la estimación de la composición química mediante el microscopio electrónico de barrido, la principal causa de un posible sesgo en los datos se debe a la curvatura de las pirámides, lo que ocasiona que el haz de

electrones emitido incida sobre la muestra con ángulos distintos. Para evitar ese efecto, el acomodo de las muestras fue uniforme en todos los casos para mantener un rango de error análogo.

Los equinodermos contribuyen significativamente al ambiente marino, y efectos nocivos en su población podría traer consecuencias negativas tanto económicas como ecológicas (Ross *et al.* 2011). Tras un incremento en el CO₂, y la ausencia de una adecuada adaptación y aclimatación, los erizos podrían desarrollarse más lentamente, ser más pequeños, tener anomalías esqueléticas, y su respuesta fisiológica, ante el estrés ambiental, podría ser aminorada o bien exacerbada a la par de un incremento en temperatura. Algunos autores sugieren que esto podría resultar en la extinción de los equinodermos en los próximos 50-100 años (Dupont *et al.* 2008; Ross *et al.* 2011).

Capítulo 5. Conclusión

5.1 Conclusión

- La composición química de las pirámides de *Eucidaris thouarsii* poseen una estructura esquelética homogénea a lo largo del Pacífico mexicano.
- Es posible que la relación Ca/Mg en las pirámides de *Eucidaris thouarsii* sea independiente del tamaño una vez pasada la etapa postmetamórfica.
- Las poblaciones de erizos que habitan zonas donde ocurren surgencias estacionales como por ejemplo, Huatulco y Bahía de los Ángeles, quizá tengan una mayor probabilidad de adaptarse a condiciones futuras de acidificación.
- En condiciones de acidificación del océano, la vulnerabilidad de los equinodermos del Pacífico mexicano posiblemente sea menor a la de otros en la misma latitud, debido a su composición química, ya que tienen menos Mg.
- A pesar de no haber diferencias significativas entre sitios en cuanto a la relación Ca/Mg, los valores de Mg en las pirámides de *Eucidaris thouarsii* presentan una tendencia latitudinal negativa, lo cual sugiere que son inversamente proporcionales a la latitud.
- La densidad óptica de los erizos aumenta proporcionalmente a su talla.

Lista de referencias

- Addadi, L., Raz, S., y Weiner, S. (2003). Taking Advantage of Disorder: Amorphous Calcium Carbonate and Its Roles in Biomineralization. *Advanced Materials*, 15(12), 959–970.
- Andersson, A. J., Mackenzie, F. T., y Bates, N. R. (2008). Life on the margin: implications of ocean acidification on Mg-calcite, high latitude and cold water marine calcifiers. *Marine Ecology Progress Series*, 373(2), 265–273.
- Andersson, A. J., Mackenzie, F. T., y Gattuso, J.-P. (2011). Effects of ocean acidification on benthic processes, organisms, and ecosystems. In J.-P. Gattuso & L. Hansson (Eds.), *Ocean Acidification* (p. xix, 326 p.). Oxford England; New York: Oxford University Press.
- Barnes, R. D. (1968). *Invertebrate zoology*. Philadelphia: Saunders.
- Benitez-Villalobos, F. (2001). Comparación de la comunidad de Equinodermos asociada a arrecifes en dos localidades de las Bahías de Huatulco , Oaxaca , México. *Ciencia y Mar*, 5(13), 19–24.
- Berridge, M. J., Bootman, M. D., y Lipp, P. (1998). Calcium - a life and death signal. *Nature*, 395(6703), 645–648.
- Brandt, M. (2003). *Influencia del erizo lapicero (Eucidaris thouarsii) en la estructura de la comunidad submarina de la cara norte del Islote Caamaño, Galápagos*. Geological Journal. John Wiley & Sons Ltd.
- Brusca, R. C., y Brusca, G. J. (2003). *Invertebrates* (p. 936). Sinauer Associates, Incorporated.
- Burton, E. A., y Walter, L. M. (1987). Relative precipitation rates of aragonite and Mg calcite from seawater: Temperature or carbonate ion control? *Geology* , 15(2), 111–114.
- Carricart-Ganivet, J. P., y Barnes, D. J. (2007). Densitometry from digitized images of X-radiographs: Methodology for measurement of coral skeletal density. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 344(1), 67–72.
- Caso, M. E. (1961). *Estado actual de los conocimientos acerca de los Equinodermos de México*. Universidad Autónoma de México.
- Chave, K. E. (1954). Aspects of the biogeochemistry of magnesium 1. Calcareous marine organisms. *The Journal of Geology*, 266–283.

- Clark, D., Lamare, M., y Barker, M. (2009). Response of sea urchin pluteus larvae (Echinodermata: Echinoidea) to reduced seawater pH: a comparison among a tropical, temperate, and a polar species. *Marine Biology*, 156(6), 1432–1793.
- Cruz-Orozco, R., Martínez-Noriega, C., y Mendoza-Maravillas, A. (1996). Batimetría y sedimentos de la Bahía de La Paz, BCS, México. *Oceánides*, 11(1), 21–27.
- Danemann, G. D., y Ezcurra, E. (2008). *Bahía de los Ángeles: recursos naturales y comunidad: línea base 2007*. Instituto Nacional de Ecología.
- Dupont, S., Havenhand, J., Thorndyke, W., Peck, L., y Thorndyke, M. (2008). Near-future level of CO₂-driven ocean acidification radically affects larval survival and development in the brittlestar *Ophiothrix fragilis*. *Marine Ecology Progress Series*, 373, 285–294.
- Espinoza, J., y Rodríguez, H. (1987). Seasonal phenology and reciprocal transplantation of *Sargassum sinicola* Setchell et Gardner in the southern Gulf of California. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 110(2), 183–195.
- Feely, R. a., Sabine, C. L., Lee, K., Millero, F. J., Lamb, M. F., Greeley, D., ... Wong, C. S. (2002). In situ calcium carbonate dissolution in the Pacific Ocean. *Global Biogeochemical Cycles*, 16(4).
- Findlay, H. S., Wood, H. L., Kendall, M. a., Spicer, J. I., Twitchett, R. J., y Widdicombe, S. (2009). Calcification, a physiological process to be considered in the context of the whole organism. *Biogeosciences Discussions*, 6(1), 2267–2284.
- Fortin, D., Ferris, F. G., y Beveridge, T. J. (1997). Surface-mediated mineral development by bacteria. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 35(1), 161–180.
- Frankel, R. B., y Bazylnski, D. A. (2003). Biologically Induced Mineralization by Bacteria. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 54(1), 95–114.
- García, M. (2009). *Estructura comunitaria de la fauna asociada a algas submareales en tres sitios contrastantes en Zihuatanejo, Guerrero*. M. Sc. thesis, Universidad Nacional Autónoma de México, 99 pp.
- Gattuso, J.-P., y Buddemeier, R. W. (2000). Ocean biogeochemistry: calcification and CO₂. *Nature*, 407(6802), 311–312.
- Goldstein, J. (2003). Microscopía electrónica de barrido y microanálisis de rayos X. *Academic Kluwer/Publishers Pleno*.
- Harley, C. D. G., Randall Hughes, A., Hultgren, K. M., Miner, B. G., Sorte, C. J. B., Thornber, C. S., ... Williams, S. L. (2006). The impacts of climate change in coastal marine systems. *Ecology Letters*, 9(2), 228–241.

- Harrison, F. W., y Chia, F. S. (1994). Microscopic Anatomy of Invertebrates. In Echinodermata (Ed.), *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie* (Vol. 74). New York: Wiley-Liss.
- Hendler, G., Miller, J. E., Pawson, D. L., y Kier, P. M. (1995). Sea stars, sea urchins, and allies. Echinoderms of Florida and the Caribbean. *Smithsonian Institution Press*, 76(03), 390.
- Holguin Quinones, O., Wright López, H., y Solís-Marín, F. A. (2000). Asteroidea, Echinoidea y Holothuroidea en fondos someros de la Bahía de Loreto, Baja California Sur, México. *Revista de Biología Tropical*, 48(4), 749-757.
- Honey-Escandón, M. (2008). Equinodermos (Echinodermata) del Pacífico Mexicano. *Revista de Biología Tropical*, 56(3), 57-73.
- Horne, C. (1969). Marine Chemistry. The Structure of Water and the Chemistry of the Hydrosphere. J. W. & Sons (Ed.). *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*, 56 (p. 568). New York-London-Sydney-Toronto: Wiley Interscience.
- Horta-Puga, G., y Carriquiry, J. D. (2008). Growth of the hermatypic coral *Montastraea cavernosa* in the Veracruz Reef System. *Ciencias Marinas*, 34(1), 107-112.
- INEGI. (2010). Síntesis geográfica del estado de Baja California Sur. México.
- Keeling, C. D., Piper, S. C., Bacastow, R. B., Wahlen, M., Whorf, T. P., Heimann, M., y Meijer, H. A. (2001). Exchanges of atmospheric CO₂ and 13CO₂ with the terrestrial biosphere and oceans from 1978 to 2000. I. Global aspects. *Scripta Institution of Oceanography*.
- Klein, R., Pätzold, J., Wefer, G., y Loya, Y. (1993). Depth-related timing of density band formation in *Porites* spp. corals from the Red Sea inferred from X-ray chronology and stable isotope composition. *Marine Ecological Progress Series*, 97(1), 99-104.
- Knoll, A. H. (2003). Biomineralization and Evolutionary History. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 54(1), 329-356.
- Kroeker, K. J., Kordas, R. L., Crim, R. N., y Singh, G. G. (2010). Meta-analysis reveals negative yet variable effects of ocean acidification on marine organisms. *Ecology Letters*, 13(11), 1419-34.
- LaVigne, M., Hill, T. M., Sanford, E., Gaylord, B., Russell, A. D., Lenz, E. A., ... Young, M. K. (2013). The elemental composition of purple sea urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*) calcite and potential effects of pCO₂ during early life stages. *Biogeosciences*, 10(6), 3465-3477.
- Lawrence, J. M. (1987). A functional biology of echinoderms. *Johns Hopkins University Press*.

- Lebrato, M., McClintock, J. B., Amsler, M. O., Ries, J. B., Egilsdottir, H., Lamare, M., ... Baker, B. J. (2013). From the Arctic to the Antarctic: the major, minor, and trace elemental composition of echinoderm skeletons. *Ecology*, *94*(6), 1434–1434.
- Lee, K., Tong, L. T., Millero, F. J., Sabine, C. L., Dickson, A. G., Goyet, C., ... Key, R. M. (2006). Global relationships of total alkalinity with salinity and temperature in surface waters of the world's oceans. *Geophysical Research Letters*, *33*(19).
- López-Pérez, R. A., y Ballesteros, L. M. H. (2004). Coral community structure and dynamics in the Huatulco area, western Mexico. *Bulletin of Marine Science*, *75*(3), 453–472.
- Lowenstam, H. A. (1981). Minerals formed by organisms. *Science*, *211*(4487), 1126–1131.
- Lowenstam, H. A., y Weiner, S. (1983). Mineralization by Organisms and the Evolution of Biomineralization. In P. Westbroek y E. W. de Jong (Eds.), *Biomineralization and Biological Metal Accumulation SE - 17*(191–203). Springer Netherlands.
- Mann, S. (1983). Mineralization in biological systems. In *Inorganic Elements in Biochemistry SE*, *4*(54) 125–174. Springer Berlin Heidelberg.
- Märkel, K., Röser, U., Mackenstedt, U., y Klostermann, M. (1986). Ultrastructural investigation of matrix-mediated biomineralization in echinoids (Echinodermata, Echinoida). *Zoomorphology*, *106*(4), 232–243.
- McClintock, J. B., Amsler, M. O., Angus, R. A., Challener, R. C., Schram, J. B., Amsler, C. D., ... Baker, B. J. (2011). The Mg-Calcite Composition of Antarctic Echinoderms: Important Implications for Predicting the Impacts of Ocean Acidification. *The Journal of Geology*, *119*(5), 457–466.
- Michaelidis, B., Ouzounis, C., Palaras, A., y Pörtner, H.-O. (2005). Effects of long-term moderate hypercapnia on acid-base balance and growth rate in marine mussels *Mytilus galloprovincialis*. *Marine Ecology Progress Series*, *293*(2), 109–118.
- Miles, H., Widdicombe, S., Spicer, J. I., y Hall-Spencer, J. (2007). Effects of anthropogenic seawater acidification on acid-base balance in the sea urchin *Psammechinus miliaris*. *Marine Pollution Bulletin*, *54*(1), 89–96.
- Monreal-Gómez, M. A., Molina-Cruz, A., y Salas-de León, D. A. (2001). Water masses and cyclonic circulation in Bay of La Paz, Gulf of California, during June 1988. *Journal of Marine Systems*, *30*, 305–331.
- Mozqueda-Torres, M. C. (2011). Acidificación del pacífico tropical oriental: situación actual y pronóstico para el desarrollo de los arrecifes coralinos. Universidad Autónoma de Baja California Sur.

- Olivares-Bañuelos, T., Figueroa-Flores, S., y Carpizo-Ituarte, E. (2014). Effect of stress on the ecophysiological response of the sand dollar *Dendraster excentricus* from northwestern Mexico. *Ciencias Marinas*, 40(2), 133-147.
- Pacheco-Ruiz, I., y Zertuche-Gonzalez, J. A. (1996). Brown algae (Phaeophyta) from Bahía de los Angeles, Gulf of California, México. In *Fifteenth International Seaweed Symposium* (pp. 169–172). Springer.
- Parker, L. M., Ross, P. M., y O'Connor, W. A. (2011). Populations of the Sydney rock oyster, *Saccostrea glomerata*, vary in response to ocean acidification. *Biomedical and Life Sciences*, 158(3), 689–697.
- Pecquerie, L., Fablet, R., de Pontual, H., Bonhommeau, S., Alunno-bruscia, M., Petitgas, P., y Kooijman, S. (2012). Archimer. *Marine Ecology Progress Series*, 447(1), 151–164.
- Pilkey, O. H., y Hower, J. (1960). The effect of environment on the concentration of skeletal magnesium and strontium in *Dendraster*. *The Journal of Geology*, 203–214.
- Raven, J., Caldeira, K., Elderfield, H., Hoegh-Guldberg, O., Liss, P., Riebesell, U., ... Watson, A. (2005). Ocean acidification due to increasing atmospheric carbon dioxide. *Coral Reefs*, 5(1), 60.
- Reyes Salinas, A., Cervantes Duarte, R., Valdez Holguín, J. E., y Morales Pérez, R. A. (2003). Variabilidad estacional de la productividad primaria y su relación con la estratificación vertical en la Bahía de La Paz, Baja California Sur. *Hidrobiológica (México, D.F.)*, 13(2), 103–110.
- Reyes-Bonilla, H., y Calderon-Aguilera, L. E. (1999). Population Density, Distribution and Consumption Rates of Three Corallivores at Cabo Pulmo Reef, Gulf of California, Mexico. *Marine Ecology*, 20(3-4), 347–357.
- Riosmena-Rodriguez, R., Woelkerling, W. J., y Foster, M. S. (1999). Taxonomic reassessment of rhodolith-forming species of *Lithophyllum* (Corallinales, Rhodophyta) in the Gulf of California, Mexico. *Phycologia*, 38(5), 401–417.
- Robinson, M. K. (1973). *Atlas of monthly mean sea surface and subsurface temperatures in the Gulf of California, Mexico*. DTIC Document.
- Ross, P. M., Parker, L., O'Connor, W. A., y Bailey, E. A. (2011). The impact of ocean acidification on reproduction, early development and settlement of marine organisms. *Water*, 3(4), 1005–1030.
- Salas-Garza, A., Carpizo-Ituarte, E., Parés-Sierra, G., Martínez-López, R., y Quintana-Rodríguez, R. (2005). Producción de juveniles de erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* (Echinodermata: Echinoidea) en Baja California, México. *Revista de Biología Tropical*, (53), 345.

- Salcedo-Martínez, S., Green, G., Gamboa-Contreras, A., y Gómez, P. (1988). Inventario de macroalgas y macroinvertebrados bénticos, presentes en áreas rocosas de la región de Zihuatanejo, Guerrero, México. In *Anales del Instituto Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México* (Vol. 15, pp. 73–96).
- Shirayama, Y., y Thornton, H. (2005). Effect of increased atmospheric CO₂ on shallow water marine benthos. *Journal of Geophysical Research- Oceans*. 110(9).
- Smith, A. (1984). *Echinoid palaeobiology (special topics in palaeobiology)*. *Geological Journal* (p. 190). Allen y Unwin.
- Smith, A. B., y Kroh, A. (2000). *The echinoid directory*. Natural History Museum.
- Solis, F. A., Laguarda-Figueras, A., y Honey-Escandón, M. (2012). Biodiversidad de equinodermos (Echinodermata) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*.
- Solís-Marín, F. A., Honey-Escandón, M. B. I., Herrero-Perezrul, M. D., Benitez-Villalobos, F., Díaz-Martínez, J. P., Buitrón-Sánchez, B. E.,... Durán-González, A. (2013). The Echinoderms of Mexico: Biodiversity, Distribution and Current State of Knowledge. In J. J. Alvarado & F. A. Solis-Marin (Eds.), *Echinoderm Research and Diversity in Latin America* (pp. 11–65). Springer Berlin Heidelberg.
- Stumpp, M., Hu, M., Casties, I., Saborowski, R., Bleich, M., Melzner, F., y Dupont, S. (2013). Digestion in sea urchin larvae impaired under ocean acidification. *Nature Climate Change*, 3(12), 1044–1049.
- Tebo, B. M., Ghiorse, W. C., van Waasbergen, L. G., Siering, P. L., y Caspi, R. (1997). Bacterially mediated mineral formation; insights into manganese(II) oxidation from molecular genetic and biochemical studies. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 35(1), 225–266.
- Trasviña, A., Barton, E. D., Brown, J., Velez, H. S., Kosro, P. M., y Smith, R. L. (1995). Offshore wind forcing in the Gulf of Tehuantepec, Mexico: The asymmetric circulation. *Journal of Geophysical Research: Oceans* (1978–2012), 100(C10), 20649–20663.
- Vargas-Márquez, F., Escobar, S., y del Ángel, R. (2000). Áreas naturales protegidas de México con decretos federales. *Instituto Nacional de Ecología y Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca, México, DF*
- Weis, A., Barss, J., Dahl, T., Rahima, M., y Stock, S. (2002). Mineral-related proteins of sea urchin teeth: *Lytechinus variegatus*. *Microscopy Research and Technique*, 59(5), 342–351.
- Weber, J. N. (1969). The incorporation of magnesium into the skeletal calcites of echinoderms. *American Journal of Science*, 267 (5), 537–566.

- Weiner, S., y Dove, P. M. (2003). An Overview of Biomineralization Processes and the Problem of the Vital Effect. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 54(1), 1-29.
- Wilkie, I. C., Carnevali, C., y Bonasoro, F. (1992). The compass depressors of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata, Echinoida): ultrastructural and mechanical aspects of their variable tensility and contractility. *Zoomorphology*, 112(3), 99.
- Wood, H. L., Spicer, J. I., y Widdicombe, S. (2008). Ocean acidification may increase calcification rates, but at a cost. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 275(1644), 1767-1773.
- Wyrski, K. (1965). Corrientes superficiales del Océano Pacífico oriental tropical. *Comisión Interamericana Del Atún Tropical*, 9(5), 99.
- Yurong, M., y Limin, Q. (2010). Biomineralization of sea urchin teeth. *Frontiers of Chemistry in China*, 5(3), 299–308.
- Zamorano, P., y Leyte Morales, G. (2005). Cambios en la diversidad de equinodermos asociados al arrecife coralino en La Entrega, Oaxaca, México. *Ciencia y Mar*, (27), 99.

Anexos

Anexo I

Sitio	Organismo	Testa (mm)	Pirámide (mm)	peso%			% atómico			Densidad óptica
				Mg	Ca	Ca/Mg	Mg	Ca	Ca/Mg	
Bahía de los Ángeles	Grande	29.66	19.8	7.4	92.6	12.51	11.6	88.4	7.62	149.89
	Mediano	26.70	14.9	9.21	90.80	9.86	14.32	85.68	5.98	105.12
	Chico	10.7	7.9	8.85	91.15	10.30	13.81	86.20	6.24	58.27
La Paz	Grande	23.54	16.4	8.79	91.21	10.38	13.71	86.29	6.29	159.38
	Mediano	17.99	13.3	8.53	91.47	10.72	11.83	86.67	7.33	147.70
	Chico	7.8	6.5	9.41	90.59	9.63	14.63	85.37	5.84	87.22
Ixtapa	Grande	22.57	12.9	9.94	89.06	8.96	15.4	84.6	5.49	152.26
	Mediano	19.2	11.6	9.24	90.77	9.83	14.37	85.63	5.96	128.43
	Chico	11.7	9.0	8.51	91.49	10.75	13.31	86.70	6.52	80.21
Huatulco	Grande	19.17	12.5	9.08	90.93	10.02	14.14	85.87	6.07	97.45
	Mediano	12.41	9.3	9.24	90.77	9.83	14.37	85.63	5.96	69.85
	Chico	9.4	7.5	9	91	10.11	14.02	85.98	6.13	55.83