

**Centro de Investigación Científica y de Educación  
Superior de Ensenada, Baja California**



---

**Programa de Posgrado en Ciencias  
en Ecología Marina**

---

**Caracterización del ciclo gonádico del pepino de mar  
(*Isostichopus fuscus*) en la costa oriental de Baja California.**

Tesis

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

Presenta:

**Abigail Pañola Madrigal**

Ensenada, Baja California, México  
2016.

Tesis defendida por

**Abigail Pañola Madrigal**

Y aprobada por el comité

---

Dr. Luis Eduardo Calderón Aguilera  
Director de tesis

Dra. Ma. Elena Solana Arrellano

Dra. Carmen Guadalupe Paniagua Chávez



---

Dr. David Alberto Rivas Camargo  
Coordinador del Posgrado en Ecología Marina

---

Dra. Rufina Hernández Martínez  
Directora de estudios de Posgrado

Abigail Pañola Madrigal © 2016

*Queda prohibida la reproducción total o parcial de esta obra sin el permiso formal y explícito del autor y director de la tesis*

Resumen de la tesis que presenta **Abigail Pañola Madrigal**, como requisito parcial para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Ecología Marina.

**Caracterización del ciclo gonádico del pepino de mar (*Isostichopus fuscus*) en la costa oriental de Baja California.**

Resumen aprobado por:

---

Dr. Luis Eduardo Calderón Aguilera  
Director de tesis

A pesar de que *Isostichopus fuscus* es un recurso altamente explotado y de gran valor comercial no hay estudios sobre su ciclo reproductivo en Baja California. Con el fin de caracterizar el periodo reproductivo, se realizaron expediciones mensuales de octubre 2014 a octubre 2015, se visitaron 118 sitios comprendidos en la zona costera e insular desde Bahía San Luis Gonzaga hasta el Paralelo 28 para recolectar gónadas. Mediante análisis histológico se identificó sexo y estadios de desarrollo gonádico. Se analizaron 274 gónadas, de las cuales 34% fueron hembras, 22% machos, 41% indiferenciados y 3% hermafroditas. Con respecto a los estadios de madurez, 41% de las gónadas se catalogaron como indiferenciadas, 11% en gametogénesis, 14% en madurez, 22% en expulsión y 12% en post- expulsión. No se encontró diferencias estadísticamente significativas ni en la longitud ni en el peso entre hembras y machos, aunque las hembras fueron más grandes, tampoco hubo diferencias con hermafroditas e indiferenciados. Los organismos presentaron una talla media  $\pm$ DE de  $25.03 \pm 5.8$  cm (min: 8, max: 41) y un peso de  $497.11 \pm 203.17$  g (min: 16.9, max: 1100); el individuo maduro de menor talla fue de 16 cm (de una edad estimada de 2-3 años), pero el 50% de individuos maduros se alcanzó hasta los 26 cm. La proporción sexual hembra-macho fue de 1.65:1. Se estimó el diámetro teórico del ovocito (DTO) a partir de la medición del área de 10,291 ovocitos (ImageJ 1.46). La media del DTO  $\pm$  DE en estadio de ovogénesis fue de  $66.03 \pm 17.88 \mu\text{m}$ ,  $n=2,037$ , en madurez de  $73.87 \pm 14.67 \mu\text{m}$ ,  $n=3,630$ , en desove el DTO fue de  $60.48 \pm 20.86 \mu\text{m}$ ,  $n=3,756$  y en post-desove  $49.18 \pm 20.69 \mu\text{m}$ ,  $n=868$ . El análisis de progresión modal (APM) indicó que los ovocitos al pasar de la ovogénesis a la madurez incrementan su DT  $15 \mu\text{m} \text{mes}^{-1}$  (23%), mientras que de la madurez al desove disminuyen  $7 \mu\text{m} \cdot \text{mes}^{-1}$  (9%) de diámetro; finalmente, el DT de los ovocitos en fase de post-desove son en promedio  $53 \mu\text{m} \text{mes}^{-1}$  más chicos que en desove (72%).

Palabras clave: pepino de mar, Baja California, reproducción, *Isostichopus fuscus*.

Abstract of the thesis presented by **Abigail Pañola Madrigal**, as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Marine Ecology.

**Characterization of the gonadal cycle of sea cucumber (*Isostichopus fuscus*) from the east coast of Baja California.**

Abstract approved by:

---

Dr. Luis Eduardo Calderón Aguilera  
Thesis director

In spite of being a high valued resource, there are no studies of the reproductive biology of the brown sea cucumber *Isostichopus fuscus* in Baja California. To fill this gap, monthly surveys were conducted from October 2014 to October 2015 in 118 sites along the coast and in islands between Bahía San Luis Gonzaga and Parallel 28 to collect gonads. Through histological techniques gender and stage of gonad development were identified. A total of 274 gonads from which 34% were females, 22% males, 41 undifferentiated and 3% hermaphrodites. Regarding gonad stage, 41% were undifferentiated, 11% were in gametogenesis, 14% in mature stage, 22% expulsion and 12% post- expulsion. There was no statistical difference between sex size and weight, but females were larger. Mean length ( $\pm$ SD) was 25.03 $\pm$ 5.8 cm (min: 8, max: 41) and mean weight was 497.11 $\pm$ 203.17 g (min: 16.9, max: 1100); the smallest mature individual was 16 cm long (estimated 2-3 years old), but 50% of the population was mature at 26 cm. Sex ratio was 1.65:1. A total of 10,991 oocytes were measured (ImageJ 1.46) to estimate the theoretical oocyte diameter (TOD), founding a mean of 66.03 $\pm$ 17.88  $\mu$ m, n=2,037 in oogenesis, 73.87 $\pm$ 14.67  $\mu$ m, n=3,630 in maturity stage, 60.48 $\pm$ 20.86  $\mu$ m, n=3,756 in spawning and 49.18 $\pm$ 20.69  $\mu$ m, n=868 in post-spawning. Modal progression analysis (MPA) shows that oocytes increase their size 15  $\mu$ m month<sup>-1</sup> (23%) from oogenesis to maturity and decrease 7  $\mu$ m·month<sup>-1</sup> (9%) from maturity to spawning and TOD were on average 53  $\mu$ m month<sup>-1</sup> (72%) smaller from expulsion to post-expulsion.

Keywords: sea cucumber, Baja California, reproduction, *Isostichopus fuscus*.

## Dedicatoria

A la niña de mis ojos, mi sobrina *Zoe Jeliel*.

A mi *padre*, el único hombre capaz de detener mi mundo.

A mi *madre*, la mujer más maravillosa de mi mundo.

A todos los que tengo el privilegio de poder llamar *FAMILIA*.

“Defiende tu derecho a pensar, porque incluso pensar de manera errónea es mejor  
que no pensar” Hipatia de Alejandría

## Agradecimientos

Al *Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE)*, por la otorgarme la inmensa dicha de ser alumna de esta institución.

Al *Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)*, por el apoyo económico otorgado a través del programa de becas de maestría a través del No. Becario 339282.

Al proyecto **Evaluación de la biología y dinámica de población del pepino de mar (*Isostichopus fuscus* L.) y diseño de áreas de reproducción y explotación comercial en el estado de Baja California (Ref. SAGARPA–CONACYT 2013-2-02235).**

Al *Dr. Luis Eduardo Calderón Aguilera* por su tiempo, apoyo, dedicación, animo, por el inmenso voto de confianza, por brindarme no solo sus conocimientos sino su sincera amistad, jamás poder terminar de agradecerle todo su apoyo.

Al *Biol. Carlos Augusto Aguilar Cruz*, por su tiempo y conocimientos. Por brindarme sus consejos, apoyo y amistad.

A los miembros del comité la *Dra. Ma. Elena Solana Arrellano* y la *Dra. Carmen Guadalupe Paniagua Chávez*, por su tiempo, apoyo y comentarios que contribuyeron a mi formación profesional y personal.

Al *Laboratorio de Ecología y Pesquerías de la Zona Costera (EPZC)* y su equipo de trabajo *Víc Moreno, Juan Galaviz y Fran Castañeda* por sus comentarios, por el apoyo y por las risas.

A *Juanma* por su apoyo incondicional con todo lo que le solicitaba para la tesis (imágenes, graficas, etc.), por las buenas vibras, las bromas, risas, y seguirme la corriente.

Al *personal de CICESE* que siempre tienen una sonrisa cordial que ofrecer, en especial a *Ely Farías* por las interminables charlas psicológicas y a *Lucy Román* por su incondicional apoyo en los bochornosos trámites burocráticos que hicieron mis estancias y viajes increíblemente placenteros.

A los *profesores* que el trascurso de la maestría compartieron conmigo sus conocimientos y consejos.

A los **responsables de las salidas campo**, por su tiempo, esfuerzo y desvelos, sin su ayuda esta tesis no hubiera sido posible.

A mis padres *Beatriz* y *Alfredo*, por su incondicional amor y por su ilimitado apoyo. Son mi inspiración.

A *Jennifer* y *Alfredo* por la infinita alegría de poder llamarlos hermanos.

A *Jennifer* y *Alan* por hacerme la dichosa tía de la niña más maravillosa en la faz de mi mundo *Zoe*.

A la *familia Madrigal y Cía.* por su apoyo, por animarme a conseguir mis metas, por disfrutar cada momento juntos y formar parte de mi vida.

A los *Dueñas* y a los *Pañola*, que aunque nos veamos poco el amor que nos tenemos es inmenso.

A *Alma Ascencio, Ana Meléndez, Eve Bellizia, Hei Rodríguez, Luzzy Solís, Xo Utrera, Chuy Zalaya, Fran Jasso, Héctor Pérez* e *Iván Guzmán* porque a pesar de la enorme distancia siento su apoyo y amor en todo momento.

A mis compañeros de generación y anexos *Anahí, Cecy, Daisy, Ivonne, Jocelyn, Karina, Laura, Manet, Marianne, Nayeli, Tatiana, Zurisaday, Lubi* y *Miguel*.

A los *VIP's: Anamox, Gachu, Manetuchis, Lubix* y *Peps*, por compartir experiencias, risas y gloriosos momentos, lo que vivimos juntos ha sido extraordinario.

A *Karlita, Lu, Mariana, Nan, Chama, Clark, Dan, Dieguito, Diosdado, Ehe, George, Kalid, Memo, Primo, Rafa, Rana* y *Rodro* por hacer mi estadía en La Paz, BCS memorable y placentera.

A los *Gang's: Babu, Chilakill, Sarchis, Steven Seagull, Micro<sup>+</sup>, Pana* y *Pelón Valdez* por su amistad, que a pesar de los años no deja de crecer.

A *Karlis, Lupita* y *Nan* por ser unas mujeres espectaculares, llenas de vida, amor, alegría y no tener miedo a demostrarlo.

A *Dan* y *Rodro* por los ánimos, las buenas vibras, las pláticas que disminuían mi estrés y subían mi amino y mi ego.

A cada una de las personas que formaron parte de esta ajetreada y magnífica experiencia, que no puedo nombrar por falta de espacio y temor a no mencionarlos a todos.

En especial a la *sociedad mexicana* que con su arduo trabajo y el consecuente pago de impuestos, permiten que personas como yo sigamos adelante en la realización de nuestros sueños.

A ti que siempre formarás parte de mi vida, aunque ya no estés presente.

**GRACIAS.**

## Tabla de contenido

Resumen en español.....	i
Resumen en inglés .....	ii
Dedicatoria .....	iii
Agradecimientos.....	iv
Lista de figuras.....	viii
Lista de tablas .....	x
Lista de acrónimos.....	xi
<b>Capítulo 1 .....</b>	<b>1</b>
1.1.Introducción.....	1
1.1.1. Características biológicas del pepino de mar.....	1
1.1.2. Reproducción del pepino de mar.....	3
1.1.3. Factores ambientales asociados a la reproducción .....	5
1.2. Antecedentes .....	6
1.3. Justificación .....	12
1.4. Hipótesis.....	13
1.5. Objetivos .....	13
1.5.1. Objetivo general.....	13
1.5.2. Objetivos específicos.....	13
<b>Capítulo 2 .....</b>	<b>14</b>
2. Metodología .....	14
2.1. Área de estudio .....	14
2.2. Trabajo de campo.....	16
2.3. Trabajo de laboratorio .....	20
<b>Capítulo 3 .....</b>	<b>24</b>
3. Resultados .....	24
3.1. Relaciones morfométricas.....	24
3.2. Proporción de sexos .....	28
3.3. Caracterización histológica de gónadas de <i>I. fuscus</i> .....	30
3.3.1. Descripción del desarrollo gonádico de <i>I. fuscus</i> .....	31

3.3.1.1. Estadio indiferenciado del desarrollo gonádico de <i>I. fuscus</i> .....	31
3.3.1.2. Estadios de desarrollo gonádico de hembras de <i>I. fuscus</i> .....	33
3.3.1.3. Estadios de desarrollo gonádico de machos de <i>I. fuscus</i> .....	34
3.4. Ciclo gonádico anual de <i>I. fuscus</i> .....	38
3.4.1. Ciclo gonádico anual de hembras <i>I. fuscus</i> .....	38
3.4.2. Ciclo gonádico anual de machos <i>I. fuscus</i> .....	39
3.4.3. Ciclo gonádico anual de hermafroditas <i>I. fuscus</i> .....	40
3.5. Relación entre desarrollo gonádico y variables ambientales.....	40
3.6. Análisis de progresión modal de ovocitos.....	43
<b>Capítulo 4</b> .....	<b>45</b>
4. Discusión.....	45
<b>Capítulo 5</b> .....	<b>53</b>
5. Conclusión .....	53
<b>Lista de referencias</b> .....	<b>55</b>
<b>Anexos</b> .....	<b>64</b>

## Lista de figuras

- Figura 1.-** Zonificación de la costa oriental de Baja California para la evaluación del ciclo gonádico de *I. fuscus*.....17
- Figura 2.-** Longitud promedio de organismos de *I. fuscus* recolectados de octubre 2014 a octubre 2015. El cuadro representa el promedio y la línea la desviación estándar. ....25
- Figura 3.-** Peso promedio de organismos de *I. fuscus* recolectados de octubre 2014 a octubre 2015. El cuadro representa el promedio y la línea la desviación estándar. ....25
- Figura 4.-** Distribución de sexos por intervalo de talla de *I. fuscus* de octubre 2014 a octubre 2015. Los colores indican el sexo: rojo para hembras, azul para machos, morado para hermafroditas y amarillo para indiferenciados.....27
- Figura 5.-** Distribución de sexos por intervalo de peso de *I. fuscus* de octubre 2014 a octubre 2015. Los colores indican el sexo: rojo para hembras, azul para machos, morado para hermafroditas y amarillo para indiferenciados.....27
- Figura 6.-** Ejemplares de *I. fuscus* sexados de octubre 2014 a octubre 2015. Los colores indican el sexo: rojo para hembras, azul para machos, morado para hermafroditas y amarillo para indiferenciados. La línea punteada indica el promedio mensual de la concentración Clorofila *a* y la línea continua el promedio mensual de la temperatura superficial del mar. ....29
- Figura 7.-** Ejemplares de *I. fuscus* por estadio de desarrollo gonádico de octubre 2014 a octubre 2015. Los colores indican el desarrollo gonádico: amarillo para indiferenciados, naranja para gametogénesis, verde para madurez, azul para expulsión y gris para post-expulsión. La línea punteada indica el promedio mensual de la concentración Clorofila *a* y la línea continua el promedio mensual de la temperatura superficial del mar. ....30
- Figura 8.-** Estadio indiferenciado en gónadas de *I. fuscus* de octubre 2014 a octubre 2015. EG: epitelio germinal, TC: tejido conectivo, SH: seno hemal; PG: pared gonadal.....31
- Figura 9.-** Estadios de desarrollo gonádico en gónadas de hembras de *I. fuscus* de octubre 2014 a octubre 2015. a) ovogénesis, b) madurez, c) desove d) post-desove. EG: epitelio germinal, TC: tejido conectivo, SH: seno hemal; PG: pared gonadal. Oo: ovogonias, OP; ovocitos previtelogénicos, OV: ovocitos vitelogénicos, O: óvulos maduros, OL: óvulos en lisis, OR: óvulos en reabsorción, F: fagocitos. ....34
- Figura 10.-** Estadios de desarrollo gonádico en gónadas de machos de *I. fuscus* de octubre 2014 a octubre 2015. a) espermatogénesis, b) madurez, c) eyaculación, d) post-eyaculación. EG: epitelio germinal, TC: tejido conectivo, SH: seno hemal; PG: pared gonadal, CE: columnas espermáticas, E: espermatozoides. ....36
- Figura 11.-** Estadios de desarrollo gonádico en gónadas hermafroditas de *I. fuscus* de octubre 2014 a octubre 2015. EG: epitelio germinal, TC: tejido conectivo, SH: seno hemal; PG: pared gonadal. Oo: ovogonias, OP; ovocitos previtelogénicos, OV: ovocitos vitelogénicos, O: óvulos maduros, OL: óvulos en lisis, OR: óvulos en reabsorción, F: fagocitos, CE: columnas espermáticas, E: espermatozoides, ER: espermatozoides en reabsorción.....37

- Figura 12.-** Porcentaje de los estadios de desarrollo gonádico de hembras de *I. fuscus* de octubre 2014 a octubre 2015. Los colores indican el estadio gonádico: naranja indica ovogénesis, verde madurez, azul desove y gris post-desove. La línea punteada indica el promedio mensual de la concentración Clorofila *a* y la línea continua el promedio mensual de la temperatura superficial del mar. ....42
- Figura 13.-** Porcentaje de los estadios de desarrollo gonádico de machos de *I. fuscus* de octubre 2014 a octubre 2015. Los colores indican el estadio gonádico: naranja indica espermatogénesis, verde madurez, azul eyaculación y gris post-eyaculación. La línea punteada indica el promedio mensual de la concentración Clorofila *a* y la línea continua el promedio mensual de la temperatura superficial del mar. ....43
- Figura 14.-** Valores promedio mensual de la temperatura superficial del mar y concentración de clorofila *a*. La línea punteada verde indica el promedio mensual de la concentración Clorofila *a* histórica de enero 2003 a agosto 2014 y la línea continua verde el promedio mensual de la concentración Clorofila *a* de septiembre 2014 a octubre 2015. La línea punteada roja indica el promedio mensual de la temperatura superficial del mar histórica de enero 2003 a agosto 2014 y la línea continua roja el promedio mensual de la temperatura superficial del mar de septiembre 2014 a octubre 2015. ....44
- Figura 15.-** Progresión del diámetro teórico de los ovocitos (DTO) de octubre de 2014 a octubre 2015. Los colores indican el estadio gonadico: naranja indica ovogénesis, verde madurez, azul desove y gris post-desove.....44

## Lista de tablas

<b>Tabla 1.-</b> Clasificación taxonómica del pepino de mar café <i>Isostichopus fuscus</i> .....	2
<b>Tabla 2.-</b> Proceso histológico por inclusión en parafina de gónadas de <i>I. fuscus</i> .....	20
<b>Tabla 3.-</b> Proceso de tinción Hematoxilina de Gill–Eosina y Floxina.....	21
<b>Tabla 4.-</b> Estadios de desarrollo gonádico utilizados y descritos para este estudio. Modificado de Conand (1982).....	23
<b>Tabla 5.-</b> Longitud y peso promedio (+DE) y número de ejemplares procesados de <i>I. fuscus</i> de octubre 2014 a octubre 2015. ....	24
<b>Tabla 6.-</b> Estadísticas básicas mensuales de longitudes y tallas de <i>I. fuscus</i> de octubre 2014 a octubre 2015.....	26
<b>Tabla 7.-</b> Composición de sexos (%) y prueba de $\chi^2$ de <i>I. fuscus</i> de octubre 2014 a octubre 2015.....	28
<b>Tabla 8.-</b> Clasificación de los estadios de desarrollo gonádico de <i>I. fuscus</i> para BC. Elaboración propia, modificada de Conand (1982).....	31
<b>Tabla 9.-</b> Guía para describir los estadios de desarrollo gonádico. Elaboración propia, modificada de (Epherra, <i>et al.</i> , 2015).....	32
<b>Tabla 10.-</b> Composición mensual (%) de estadios de desarrollo gonádico de <i>I. fuscus</i> de octubre 2014 a octubre 2015. El inciso (a) hace referencia a ambos sexos, el inciso (b) a hembras y el inciso (c) a machos. ....	42
<b>Tabla 11.-</b> Sitios visitados de octubre 2014 a octubre 2015 en la costa oriental de Baja California.....	64
<b>Tabla 12.-</b> Compendio de registros de holoturoideos con especímenes hermafroditas. Modificada de (Herrero-Pérezrul, <i>et al.</i> , 1998).....	70

## Lista de acrónimos

ANP	Área Natural Protegida
APM	Análisis de Progresión Modal
BC	Baja California
BCS	Baja California Sur
CB	Canal de Ballenas
Chl <i>a</i>	Clorofila a
DGVS	Dirección General de Vida Silvestre
GC	Golfo de California
IAG	Isla Ángel de la Guarda
IG	Índice Gonadosomático
IT	Isla Tiburón
LGVS	Ley General de Vida Silvestre
MODIS	Moderate Resolution Imaging Spectroradiometer
NOM-059	Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010
PNZMASL	Parque Nacional Zona Marina del Archipiélago de San Lorenzo
RBBLA	Reserva de la Biosfera de Bahía de los Ángeles, canales de Ballenas y Salsipuedes
SEMARNAT	Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales
TSM	Temperatura Superficial del Mar
UABCS	Universidad Autónoma de Baja California Sur

# Capítulo 1

---

## 1.1. Introducción

### 1.1.1. Características biológicas del pepino de mar

Los holoturias o pepinos de mar (Echinodermata: Holothuria) son un grupo abundante y diverso de invertebrados marinos, con aproximadamente 1,400 especies descritas, en 160 géneros (Kerr, 2000; Kerr y Kim, 2001), agrupados en seis ordenes: Dentrechirotida, Aspidochirotida, Molpadonia, Dactylonchirotida, Elasipodida y Apoda (Caso, 1961; Deichmann, 1958). Son equinodermos de cuerpo alargado y blando, cuyo esqueleto calcáreo se encuentra reducido a espículas microscópicas embebidas en la pared corporal (Brusca y Brusca, 2002). La mayoría de los holoturias son bentónicos y habitan sobre sustratos suaves o rocosos y arrecifes coralinos (Conand, 1990). Se distribuyen en casi todas las latitudes, habitando todas las profundidades conocidas, desde la zona intermareal hasta las trincheras oceánicas, en donde constituyen hasta el 90% de la biomasa abisal (Kerr y Kim, 2001) e incluso en ventilas hidrotermales (Smirnov *et al.*, 2000).

Los organismos pertenecientes a la clase Holoturoidea presentan simetría bilateral secundaria, sin embargo sus órganos y sistemas se encuentran dispuestos en múltiplos de cinco (Brusca y Brusca, 2002). La boca se encuentra en un extremo del cuerpo, en posición terminal o ventral, se encuentra rodeada por una corona de tentáculos orales que desplazan el alimento hacia la boca (Caso, 1961). Los holoturias poseen un anillo calcáreo alrededor de la faringe el cual sostiene los músculos que contraen al cuerpo longitudinalmente, así como aquellos que operan los tentáculos orales (Kerr, 2000). La parte dorsal y ventral del cuerpo se distingue, ya que esta última presenta podios o pies ambulacrales con una pequeña ventosa en el extremo distal, que sirven para la locomoción y adhesión al sustrato (Brusca y Brusca, 2002).

En los ecosistemas marinos los equinodermos representan diferentes niveles tróficos y sus hábitos alimenticios pueden influir en la estructura comunitaria del bentos (Lawrence, 1987). La importancia ecológica de las holoturias radica en su papel como detritívoros, pues son recicladores de nutrientes y agentes de bioturbación, lo que propicia cambios fisicoquímicos en el sustrato al consumir, modificar y reciclar la composición de la materia (Uthicke, 2001).

Se ha observado que los holoturoideos tienen cierta selectividad hacia sedimentos ricos en nutrientes (Hammond, 1983; Moriarty, 1982) pues los aprovechan junto con la materia orgánica y microbiota (Tagliafico *et al.*, 2011) evitando la estratificación y acumulación de patógenos en la superficie del mismo, permitiendo la oxigenación de los suelos provocando concentración de nutrientes (Conde *et al.*, 1995; Purcell *et al.*, 2010), sus deposiciones se encuentran enriquecidas hasta con el doble de nitrógeno que el sedimento contiguo (Conde, *et al.*, 1995). Por su participación en estos procesos son individuos indispensables para el correcto mantenimiento de la productividad de los sistemas marinos (González-Navarro, 2012)

El holotúrido *Isostichopus fuscus* (Ludwig, 1875) (Tabla 1) es un organismo de cuerpo alargado, blando y robusto de bordes gruesos, de color pardo oscuro, con pápulas romas dispuestas irregularmente. La superficie ventral es plana, de color pardo, con ambulacros dispuestos en bandas. La boca es ventral y está rodeada por 20 tentáculos. El ano es terminal. La especie habita fondos marinos rocosos, coralinos, ocasionalmente arenosos y fangosos, desde aguas someras hasta 61 m de profundidad. Su distribución abarca desde el interior del golfo de California (GC) hasta las islas Galápagos y el Ecuador (Deichmann, 1958), se ha reportado en la costa oeste de Baja California Sur (BCS) (Herrero-Pérezrul *et al.*, 1999; Turrubiates-Morales, 2009). Su distribución en el sustrato depende de factores como: profundidad, temperatura, salinidad, luz, rugosidad, complejidad del sustrato y disponibilidad de alimento (Asha y Muthiah, 2005; Navarro *et al.*, 2013; Pelegrín-Morales *et al.*, 2009).

**Tabla 1.-** Clasificación taxonómica del pepino de mar café *Isostichopus fuscus*.

Reino	Animalia
Filo	Echinodermata
Clase	Holothuroidea
Orden	Aspidochirotida
Familia	Stichopodidae
Genero	<i>Isostichopus</i>
Especie	<i>Isostichopus fuscus</i> (Ludwig, 1875)

### 1.1.2. Reproducción del pepino de mar

El estudio de la biología reproductiva de holoturoideos, conlleva a un mejor conocimiento del ciclo de vida de la especie. Conand (1990), señala que este conocimiento es de suma importancia al establecer las bases para el manejo de las especies de interés comercial. En México los holoturoideos son una especie altamente explotada y de alto valor comercial en el mercado asiático.

La mayoría de las especies de la clase Holothuroidea son dioicas y no existe un dimorfismo sexual aparente. El sistema reproductor de las holoturias ha perdido la división pentámera que caracteriza a los equinodermos. Poseen una única gónada formada por uno o dos haces de túbulos dispersos a la izquierda o a derecha e izquierda, respectivamente del mesenterio dorsal. La salida al exterior tiene lugar mediante un gonoporo, con o sin papila genital, localizado en el interrradio mediodorsal, muy próximo a la corona tentacular. En la mayoría de las especies, cuando los gametos están maduros, se liberan directamente en el agua (González-Navarro, 2012).

Los estadios gonadales de holoturoideos han sido descritos por distintos autores (Cameron y Fankboner, 1986; Conand, 1982; Conand, 1993a; Fajardo-León *et al.*, 1995; Fajardo-León *et al.*, 2008; Ghobadyan *et al.*, 2012; Hamel *et al.*, 1993; Hamel y Mercier, 1996b; Herrero-Pérezrul, *et al.*, 1999; Morgan y Neal, 2012; Morgan, 2000; Nuño-Hermosillo, 2003; Omar *et al.*, 2013; Ortiz-Gómez, 2011; Ramofafia *et al.*, 2000; Ramofafia *et al.*, 2003; Ramofafia *et al.*, 2001; Santos *et al.*, 2015; Shiell y Uthicke, 2006; Tapia Vázquez *et al.*, 1996; Toral-Granda y Martínez, 2007; Tuwo, 1999) la mayoría de los cuales ha descrito de cuatro a cinco estadios, siendo mayormente utilizados: Indiferenciado (I), Gametogénesis (II), Madurez (III), Desove (IV) y Post-desove (V).

La época de reproducción de *I. fuscus* en Baja California (BC) no ha sido descrita, sin embargo se tiene registro de que la especie muestra un patrón anual en BCS (Herrero-Pérezrul, *et al.*, 1999). La temperatura superficial e intensidad lumínica, son factores fundamentales que afectan su reproducción. La disponibilidad de oxígeno, pH, amonio, concentraciones de fosforo inorgánico y valores de nitritos son variables que influyen tanto en el desarrollo óptimo de la especie, como la calidad de agua y sitios adecuados para su desarrollo (Asha y Muthiah, 2005; González *et al.*, 2004; Pelegrín-Morales, *et al.*, 2009).

En el caso de *I. fuscus* se han descrito cinco etapas de desarrollo gonádico: Indiferenciado (I), Gametogénesis (II), Madurez (III), Desove (IV) y Post-desove (V), que se relacionan principalmente con el aumento de la temperatura e intensidad de luz (Fajardo-León, *et al.*, 1995; Herrero-Pérezrul, *et al.*, 1999; Nuño-Hermosillo, 2003; Toral-Granda y Martínez, 2007). Es una especie gonocórica, sin embargo, se ha observado hermafroditismo casual, el cual, según señalan los autores, puede estar favorecido por las bajas densidades en el medio debido a la sobrepesca (Herrero-Pérezrul *et al.*, 1998).

Desde los años 80 *I. fuscus* ha sufrido una intensa explotación pesquera, en 1994 su extracción fue vedada por sobrepesca y se catalogó a la especie como en “peligro de extinción”. Debido a la intensa demanda de los permisionarios y al alto precio en el mercado, actualmente la especie se encuentra en la NOM-059-SEMARNAT-2010 en la categoría de “especie sujeta a protección especial”. Dicha categoría incluye a especies amenazadas que requieren de programas de manejo para su recuperación y conservación (Diario Oficial de la Federación, 2002; Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2002). Dada esta regulación, el único modo de acceder a poblaciones de *I. fuscus* es de forma precautoria mediante permisos de pesca aprovechamiento (Diario Oficial de la Federación, 2002). La Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), a través de la Dirección General de Vida Silvestre (DGVS) está a cargo de la administración del recurso pepino de mar con fundamentos en la Ley General de Vida Silvestre (LGVS) (Avenidaño-Ceceña, 2007), sin embargo la explotación de este recurso no ha disminuido.

Actualmente la información pertinente sobre los estadios reproductivos de las poblaciones de *I. fuscus* en la región central del golfo California es escasa o nula, esto anudado a las variaciones estacionales en las condiciones ambientales, dan lugar a suposiciones inciertas sobre la pesquería, desarrollo y abundancia de la especie.

### 1.1.3. Factores ambientales asociados a la reproducción

Los ecosistemas bentónicos se mantienen, en gran medida, por la solución de materia orgánica procedente de la zona eufótica. Estos flujos por lo general tienen un componente estacional cuasi definido, a menudo con dos picos, uno en primavera principios del verano y el otro a finales del año (Gooday, 2002). En muchos invertebrados marinos los gametos son liberados directamente en la columna de agua, por lo cual el desove ocurre en condiciones favorables para la fertilización y el consecuente desarrollo de las larvas es de vital importancia (Himmelman, 1975).

Hay literatura que expone que la temperatura es uno de los principales factores que inducen el desarrollo gonádico en invertebrados marinos (Calderon-Aguilera *et al.*, 2010; Garrido *et al.*, 2000; Lodeiros y Himmelman, 1999; Ruiz *et al.*, 1992; Sewell y Bergquist, 1990), del mismo modo diversos autores exponen que la concentración de clorofila *a* (Chl *a*) o aumento de fitoplancton concuerda con el desarrollo gonádico (Calderon-Aguilera *et al.*, 2014; Himmelman, 1975; López *et al.*, 2005; Wigham *et al.*, 2003), experimentalmente se han realizado estudios que indican que un aumento en la concentración de Chl *a* o incremento de fitoplancton provoca el proceso de desove (Hamel, *et al.*, 1993; Hamel y Mercier, 1995; Himmelman, 1975).

Se ha reportado que los patrones reproductivos de holoturias son variables y diversos factores controlan la gametogénesis y el desove (Smiley S. *et al.*, 1991). Por ejemplo, factores ambientales controlan la gametogénesis (Drumm y Loneragan, 2005; Morgan, 2000; Ramofafia, *et al.*, 2003), mientras que se ha sugerido que el desove es desencadenado por cambios en la salinidad (Krishnaswamy y Krishnan, 1967), turbulencia del agua (Engstrom, 1980), intensidad y duración del fotoperiodo (Cameron y Fankboner, 1986), disponibilidad de alimentos (Cameron y Fankboner, 1986; Hamel, *et al.*, 1993; Himmelman, 1981) y temperatura (Battaglione *et al.*, 2002; Ramofafia, *et al.*, 2001). Sin embargo no hay estudios que incluyan la concentración de clorofila (Chl *a*) como variable ambiental reguladora del ciclo reproductivo en *I. fuscus*.

## 1.2. Antecedentes

Himmelman (1975) a través de observaciones de campo y experimentos de laboratorio estudió el ciclo reproductivo del erizo *Strongylocentrotus droebachiensis* y los quitones *Tonicella lineata* y *Tonicella insignis* de una comunidad sublitoral de Vancouver. Al realizar las observaciones en campo obtuvo valores de abundancia y composición de especies de fitoplancton, así como temperatura y salinidad, y los relacionó con el proceso de desove de *S. droebachiensis*, *T. lineata* y *T. insignis*. Encontró que la temperatura y salinidad son medidas que varían poco en el tiempo y no asevera su efecto sobre el desove, sin embargo encontró una relación entre los florecimientos de fitoplancton en primavera y el desove, por lo que sugiere que el fitoplancton o algún factor asociado a los florecimientos estimulan el desove. Para probar la hipótesis de que la presencia del fitoplancton induce el desove, realizó experimentos controlados, encontrando que la presencia de fitoplancton puede estimular el desove en las tres especies, sin embargo, es la combinación de temperatura y fitoplancton la que provoca el desove. Expone también que, en experimentos de laboratorio el desove es afectado por la presencia de esperma suspendido en la columna de agua.

Lodeiros y Himmelman (1999) examinaron el ciclo reproductivo del bivalvo *Lima scabra* y la relación entre el crecimiento gonadal y el desove con factores ambientales en el Golfo de Cariaco, Venezuela. Observaron que *L. scabra* tiene tres desoves en el año, los cuales son masivos y sincrónicos entre sexos. Concluyeron que la Chl *a* como indicador de la biomasa fitoplanctónica es el factor principal que afecta el crecimiento gonadal y que la temperatura parece no afectar el mismo. Por otra parte, la temperatura puede tener un efecto en el desove ya que los desoves están asociados a una disminución de la misma. Calderon-Aguilera, *et al.* (2010) estudiaron el desarrollo gametogénico y el desove de la almeja *Panopea globosa* y su relación con cambios en la TSM y la Chl *a* en el noreste del GC. A pesar de que no encontraron diferencias estadísticas, observaron que la actividad reproductiva coincide con un incremento en la temperatura. Los gametos son liberados durante la estación fría del año, coincidiendo con altas concentraciones de Chl *a*, lo que da lugar a una alta disponibilidad de alimentos para las larvas.

Garrido, *et al.* (2000) analizaron el periodo reproductivo del erizo *Diadema antillarum* en dos localidades de la Isla Gran Canaria. Observaron que a pesar de la diferencia de temperatura (3 °C), el ciclo reproductivo es similar en ambas localidades. El desove coincide con un aumento rápido de la temperatura, sin embargo el nuevo ciclo reproductivo comienza rápidamente sin ningún cambio en el aumento de la temperatura. Mencionan que el fotoperiodo y florecimientos de fitoplancton son factores que no afectan el ciclo reproductivo, sin embargo la disponibilidad de alimentos para los adultos puede no ser del todo ajeno a la reproducción.

En un estudio con otro erizo (*Arbacia dufresnii*) Epherra *et al.* (2015) analizaron su ciclo reproductivo en dos poblaciones contrastantes en Golfo Nuevo (GN) y Golfo San Jorge (GSJ) sobre la costa oriental de la Patagonia. Ambas poblaciones mostraron un ciclo anual, produciéndose la gametogénesis en otoño e invierno. Concluyen que los erizos del GN muestran un fuerte patrón estacional de reproducción, con estadios gonadales que indican re-absorción y acumulación de nutrientes, en las diferentes estaciones del año, mientras que los erizos de GSJ mantenían gametos maduros durante la mayor parte del año. Observaron también que el fotoperiodo y la Temperatura Superficial del Mar (TSM) son las variables ambientales que más afectan la producción de gametos y la duración del desove. Las altas temperaturas durante la gametogénesis provocan un mayor crecimiento gonadal y una liberación anticipada. La TSM no solo influye en el desarrollo de la gónada sino también puede afectar la disponibilidad de alimento.

En general los estudios concernientes a la reproducción del pepino de mar han abarcado aspectos básicos de la reproducción, centrándose principalmente en: desove, gametogénesis e IG. Sin embargo, los esfuerzos de investigación han sido mayores en especies y áreas de interés comercial y pesqueros (Lovatelli y Conand, 2004; Mercier y Hamel, 2013; Purcell *et al.*, 2013; Toral-Granda *et al.*, 2008; Wolff *et al.*, 2012).

Hamel, *et al.* (1993) observaron el proceso de gametogénesis y desove de *Psolus fabricii* en el estuario de San Lawrence, Canadá. Al realizar análisis histológicos observaron que las estructuras gonadales de machos y hembras, consisten en túbulos germinales raramente ramificados que se distribuyen en la cavidad perivisceral y describieron cinco etapas de desarrollo gonádico. Aplicando el IG, observaron que tanto machos como hembras muestran ciclos gonadales semejantes, mostrando un pico de desarrollo en los meses de mayo a agosto, concluyeron que el desove puede estar relacionado con una disminución de la entrada de agua al estuario y con el incremento anual de fitoplancton.

En un estudio semejante Hamel y Mercier (1995) investigaron el proceso de desove de *Cucumaria frondosa* en la misma área (estuario de San Lawrence, Canadá), hallando que el desove ocurre en verano entre los meses de mayo a junio cuando la temperatura oscila alrededor de 7° C y cuando la estratificación de la columna de agua se encuentra bien establecida, con la capa superficial más caliente. Los desoves parecen estar provocados por un incremento progresivo de la temperatura y un cambio drástico de la intensidad de luz. Se observó también el desove abrupto al reportarse un incremento en la concentración de clorofila, a mediados de junio. Concluyendo que factores como temperatura, intensidad de luz y disponibilidad de alimento provocan el proceso de desove.

En el caribe panameño Guzmán, *et al.* (2003) analizaron el ciclo reproductivo de *Isostichopus badiotus* y *Holothuria mexicana*, observándose que ninguna de las especies exhibe un claro patrón de reproducción. Describieron cinco etapas de desarrollo gonádico y concluyeron que la gametogénesis de ambas especies parecía coincidir con las temperaturas más cálidas, sin observarse superposición en los periodos reproductivos. Los autores no descartan la posibilidad de que el desove puede ser inducido por la reducción en la salinidad asociada con la escorrentía y precipitación que afecta la productividad de los ecosistemas costeros.

Ramofafia *et al.* (2000; 2001) analizaron la reproducción de *Holothuria fuscogilva* y *Actinopyga mauritiana* durante cuatro años en las Islas Salomón. Concluyeron que ambas especies presentan un claro patrón anual sincrónico de reproducción, describieron cinco etapas de desarrollo gonádico y gametogénico. El desove de *H. fuscogilva* ocurre naturalmente en los meses de verano, sin embargo, lograron inducir el desove en machos al ser expuestos al estrés de un shock térmico e inducción del alga seca *Schizochytrium sp* (Ramofafia, *et al.*, 2000). La fase gametogénica de *A. mauritiana* coincide con la disminución de la duración del día, mientras que el desove ocurre entre octubre y diciembre, coincidiendo con el incremento de la temperatura del mar y la duración del día. Lograron inducir el desove por estímulos térmicos, apoyando la hipótesis de que la temperatura puede ser un factor de señalización para la liberación de los gametos. Concluyen que la gametogénesis y desove pueden estar mediados por niveles de temperatura y fotoperiodo (Ramofafia, *et al.*, 2001).

La especie *Holothuria scabra* ha sido extensamente estudiada. Tuwo (1999) estudió su ciclo reproductivo en Sulawesi, Indonesia, describió tres etapas de desarrollo gonádico: maduración (III), madurez (IV) y post-desove (V). Descubrió que la especie presenta un ciclo semestral de reproducción, el primer pico reproductivo sucede a principios de la estación seca, cuando la temperatura aumenta y el segundo al inicio de la temporada de lluvias, cuando la temperatura disminuye. En Kenia, Muthiga, *et al.* (2009) encontraron el mismo patrón de reproducción semestral sincrónico para *H. scabra*, a través del IG y mediciones mensuales de temperatura y luz, encontraron que estos factores tienen un alcance importante en la sincronización de la gametogénesis y el desove.

En un estudio similar Morgan (2000) analizó los mecanismos de control sobre la reproducción de *H. scabra* en la Isla Stradbroke, Australia. Llegó a la conclusión de que una combinación entre el fotoperiodo, temperatura y disponibilidad de alimento pueden ser los reguladores del proceso de gametogénesis y vitelogénesis durante el ciclo reproductivo de la especie. Por otro lado, Ramofafia, *et al.* (2003) estudiaron la reproducción *H. scabra* por un periodo de tres años, encontrando que la especie no presenta reproducción continua, siendo el proceso de gametogénesis asincrónico y continuo entre ambos géneros, con un potencial para la liberación prolongada de gametos.

*Holothuria leucospilota* en Rarotonga, Islas Cook, presenta un patrón de reproducción anual sincrónico entre géneros, la fase gametogénica está relacionada con cambios en la temperatura y el fotoperiodo, mientras que el desove ocurre durante los meses de verano probablemente influenciado por el aumento de la temperatura (Drumm y Loneragan, 2005). En el golfo Pérsico Ghobadyan, *et al.* (2012), determinaron los estadios gonadales de *H. leucospilota*, utilizando como criterios para determinar la madurez de la gónada: color, peso, longitud, diámetro y número de túbulos, obtuvieron que las gónadas de individuos machos son de color blanco cremoso, mientras que las gónadas de las hembras son más transparentes con apariencia granulada y cambian a color rojizo-anaranjado conforme el desarrollo gonádico sucede. Utilizando los criterios anteriores, Omar, *et al.* (2013) determinaron el periodo reproductivo de *Bohadschia vitiensis* en Hurgada, Egipto. Concluyeron que la especie presenta un ciclo reproductivo anual sincrónico, el proceso gametogénico comienza en el mes de mayo, presentando un pico de desove en los meses de junio y julio. Los autores consideran que la temperatura podría tener un papel controlando la reproducción.

Muthiga (2006) analizó las posibles relaciones de la luz y temperatura sobre la reproducción de la especie excavadora *Holothuria arenacava* en Mombasa, Kenia. Notó que la especie presenta un patrón de reproducción anual, en el cual el crecimiento gonádico tiene un pico al finalizar los monzones del nordeste (febrero y marzo) cuando la temperatura e intensidad de luz llegan al punto máximo, mientras que la gametogénesis se presenta durante los monzones del sudeste (julio), cuando la temperatura e intensidad de luz son más bajas. El desove es sincrónico entre ambos géneros y ocurre durante un corto periodo inter-monzónico (marzo y mayo) cuando la temperatura y la intensidad de luz disminuyen. Supone que en esta especie la influencia de la temperatura e intensidad de luz pueden tener un efecto indirecto sobre la reproducción, mediante el aumento de la productividad bentónica y por ende de la disponibilidad de alimentos.

En la especie sud-antártica *Pseudostichopus mollis*, se observó que la especie no exhibe un patrón de reproducción, sino que la reproducción fluctúa estacionalmente dependiendo de la disponibilidad de alimento, ya que en hábitats con baja disponibilidad de alimento, la reproducción es intermitente, debido a que la escasez de recursos no permite una sincronización reproductiva (Morgan y Neal, 2012). Fajardo-León, *et al.* (2008) analizaron la reproducción de *Parastichopus parvimensis* en Isla Natividad y Bahía Tortugas, BCS. Concluyeron que la especie tiene un patrón de reproducción sincrónico anual en ambas localidades. En los meses de noviembre y diciembre observaron la fase de gametogénesis considerándolo como el inicio del ciclo reproductor, describieron e identificaron cinco etapas de desarrollo gonadal.

Los estudios sobre *I. fuscus* se han llevado a cabo principalmente en BCS y Galápagos, sitios de gran interés debido a la demanda pesquera en que se encuentra la especie. En Ecuador Mercier *et al.* (2007) monitorearon y analizaron los patrones de desove de *I. fuscus* en Punta Ayangue y Anconcito, para lo cual capturaban y mantenían individuos en tanques, así como individuos recién capturados. Concluyeron que la especie muestra una periodicidad de desove lunar, efectuándose el mismo de 1 a 4 días después de la luna nueva, el desove se limita a una porción de la población y el mismo siempre se presentó alrededor de la puesta del sol, finalmente individuos mantenidos en cautiverio mantuvieron su periodicidad de desove y sincronía con el ciclo lunar. Por otra parte, Toral-Granda y Martínez (2007) en Isla Caamaño, Galápagos, concluyeron que *I. fuscus* se encuentra continuamente en estado de madurez gonadal, independientemente de los cambios en la temperatura del agua. Observaron también que en la región *I. fuscus* presenta cuatro picos reproductivos, tres ocurren durante la estación cálida y uno durante la estación fría, el segundo en importancia.

En Santa Rosalia, BCS Fajardo-León, *et al.* (1995) realizaron un estudio sobre la ecología poblacional y ciclo reproductor de *I. fuscus* durante un ciclo anual. Describieron cinco etapas de desarrollo gonádico, llegando a la conclusión de que la especie presenta un ciclo de reproducción anual sincronizada con los cambios de temperatura superficial del agua, los desoves ocurrieron en verano, asociadas a un incremento de la temperatura.

Herrero-Pérezrul, *et al.* (1999) analizaron el desarrollo reproductivo de *I. fuscus* en Isla Espiritu Santo, BCS. De acuerdo al tipo de células presentes en las gónadas describieron cinco etapas de desarrollo gonadal. En BCS la especie muestra un patrón anual de reproducción, el desove se lleva a cabo en los meses de julio a septiembre, el post-desove se observó en octubre y estadios indeterminados fueron encontrados en los meses de octubre a enero. La fase de gametogénesis fue observada de enero a junio, en esta fase las hembras comienzan el proceso un mes antes que los machos. Observaron que el desarrollo gonádico está relacionado con las variaciones de temperatura.

En 2003 (Nuño-Hermosillo) realizo un análisis similar en *I. fuscus* en Bahía Chamela, Jalisco. Basándose en el criterio de Herrero-Pérezrul, *et al.* (1999) y utilizando IG e histología describió cinco estadios de desarrollo gonadal. Encontró que el mayor valor de IG coincidió con la temperatura máxima superficial del mar en el mes de agosto, cuando la gónada alcanza su máximo desarrollo, el desove ocurre en septiembre coincidiendo con el descenso de la temperatura. La fase de madurez gonadal se observó durante la mayor parte del año en machos, mientras que en las hembras persistió hasta la época fría. Observó que la especie presenta asincronía en el desarrollo gametogénico, es decir, observó la presencia simultánea de distintos estadios gonádicos. Concluyo que en la Bahía Chamela las fases de madurez y desove predominan en los meses cálidos, mientras que en los meses fríos predominan las fases de reposo y post-desove. *I. fuscus* puede presentar de acuerdo a su distribución latitudinal, un régimen reproductivo anual, con una extensión temporal del ciclo reproductivo influenciada por la temperatura cálida del mar.

### 1.3. Justificación

El pepino de mar café *Isostichopus fuscus*, posee un alto valor comercial por lo cual ha sido una fuente de ingresos para las comunidades locales en el GC y Pacífico mexicano. La pesquería de *I. fuscus* llegó a su auge a mediados de los 90, posteriormente se implementó la prohibición de la pesca de *I. fuscus* debido a que las poblaciones mostraban signos de sobreexplotación.

Ciertamente los estudios sobre *I. fuscus* han incluido aspectos comerciales, sociales y biológicos, incluyendo el ciclo reproductivo de la especie. Sin embargo, en México los estudios reproductivos no abarcan la distribución total de la especie, en especial el límite norte de su distribución. Por lo cual se desconocen las particularidades y asociaciones ambientales sobre la especie en la región central del GC, por ende se tiende a transponer conocimientos, creando inconvenientes a escala regional. *I. fuscus* puede alcanzar tallas de hasta 40 cm de longitud, sin embargo, es una especie de lento crecimiento y baja fecundidad, que alcanzan la madurez sexual aproximadamente a los 5 años de edad, lo que la hace muy vulnerable a la pesca. En Ecuador *I. fuscus* presenta un ciclo reproductor continuo, en BCS su ciclo reproductivo es anual, mientras que en BC se desconoce la duración del ciclo reproductivo de *I. fuscus*.

La situación de amenaza y desconocimiento en la que se encuentran las poblaciones de *I. fuscus* en BC, así como las alteraciones naturales y antropogénicas en la región evidencian la necesidad de realizar esfuerzos para proteger y conservar la especie. Este trabajo toma vital importancia ya que no solo pretende describir el ciclo reproductor de *I. fuscus* en la costa oriental de BC, sino que también correlaciona variables ambientales con el desarrollo gonadal de la especie.

Para un manejo adecuado y pesca sostenible de la especie es necesario realizar estudios que consideren variables oceanográficas (clorofila *a*, temperatura, salinidad, oxígeno disuelto, etc), tener un control pesquero que regule su extracción y una veda adecuada que concuerde con el ciclo reproductivo de la especie en la región y por lo tanto que permita su reproducción. Este trabajo se enmarca dentro del proyecto *Evaluación de la biología y dinámica de población del pepino de mar (Isostichopus fuscus L.) y diseño de áreas de reproducción y explotación comercial en el estado de Baja California (Ref. SAGARPA – CONACYT 2013-2-02235)*.

## 1.4. Hipótesis

- La temperatura y la concentración de Chl *a* (como proxy de la disponibilidad de alimento) son variables ambientales que controlan el desarrollo y duración de los ciclos gonádicos de *I. fuscus* en la costa oriental de Baja California, por lo que se espera encontrar una correlación positiva entre dichas variables y la maduración gonadal de *I. fuscus*.

## 1.5. Objetivos

### 1.5.1. Objetivo general

- Describir el desarrollo gonádico, así como el periodo de duración del ciclo gonadal del pepino de mar café (*Isostichopus fuscus*) y las condiciones ambientales asociadas a su reproducción en la costa oriental de Baja California.

### 1.5.2. Objetivos específicos

- Describir el desarrollo gonádico del pepino de mar café (*Isostichopus fuscus*) en la costa oriental de Baja California.
- Determinar la duración de las etapas del ciclo gonádico del pepino de mar café (*Isostichopus fuscus*) en la costa oriental de Baja California.
- Relacionar temperatura y concentración de Chl *a* (como proxy de disponibilidad de alimento) con la duración del ciclo gonádico del pepino de mar café (*Isostichopus fuscus*) en la costa oriental de Baja California.

## Capítulo 2

---

### 2. Metodología

#### 2.1. Área de estudio

El golfo de California se localiza entre los 23° y 32° latitud Norte y los 107° y 115° longitud Oeste, en el Pacífico oriental, y es considerada como la única cuenca de evaporación en América con comunicación directa con el océano Pacífico (Soto-Mardones *et al.*, 1999). Se ubica entre la península de BC y los estados de Sonora y Sinaloa, al noroeste de México. Rebasa los 1,200 km de longitud, mientras que su ancho oscila entre los 100 a 200 km, acumulando un área de 258,593 km<sup>2</sup>, la cual alberga gran variedad de ambientes costeros ya que circunscribe a 256 mil hectáreas de manglares, 600 mil hectáreas de lagunas costeras con pantanos, arrecifes rocosos y coralinos y más de 900 islas e islotes, lo que conlleva a una gran diversidad de hábitats y de especies (Brusca *et al.*, 2005; Solís-Marín *et al.*, 2009).

La variabilidad estacional del GC está forzada principalmente por el Océano Pacífico, el esfuerzo del viento y los flujos superficiales de calor (Lavín *et al.*, 1997; Lavín y Marinone, 2003). El GC se caracteriza por tener características oceanográficas únicas. La temperatura superficial del mar presenta una gran variabilidad anual; en invierno la temperatura fluctúa entre los 8° y 12° C, mientras que en verano puede alcanzar los 30 °C (Brusca, *et al.*, 2005). En contraste, la salinidad es un parámetro que no varía significativamente ni estacional ni geográficamente a excepción de áreas de esteros o desembocaduras de ríos, manteniéndose entre 35.0 ppt y 35.8 ppt (Roden, 1964).

El clima en el GC es seco, con una precipitación anual menor a los 100 mm (Brusca, *et al.*, 2005). Los vientos presentan una estacionalidad muy marcada, misma que influye en las surgencias. Durante invierno los vientos del noroeste desplazan el agua superficial hacia el sur, causan surgencias en la costa del golfo, mientras que en verano los vientos provenientes del sureste desplazan las aguas hacia el noroeste, causando surgencias a lo largo de la costa de BC (Roden, 1964).

El GC ha sido dividido en tres regiones faunísticas, la región del norte, influenciada por el delta del Río Colorado, la región central o de las Grandes Islas y la región del sur o Boca del Golfo (Walker, 1960). La región norte se caracteriza por tener altas salinidades superficiales y temperaturas que oscilan entre los 10° C en invierno a los 32° C en verano (Soto-Mardones, *et al.*, 1999). Se sugiere que la distribución de salinidad y temperatura están determinados por flujos estacionales de calor y humedad, con presencia de fuertes mezclas por marea y mezclas convectivas (en invierno) (Lavín y Organista, 1988; Paden *et al.*, 1993)

La región de las Grandes Islas, constituye una de las características topográficas más sobresalientes del golfo, siendo las isla Tiburón (IT) y Ángel de la Guarda (IAG) las más grandes en extensión (Walker, 1960), y en sus inmediaciones se registran las temperaturas superficiales más bajas debido a la intensa mezcla por marea (Álvarez-Borrego, 2008; Paden, *et al.*, 1993; Soto-Mardones, *et al.*, 1999). En la región central, la temperatura superficial muestra una marcada diferencia entre el invierno y el verano, alcanzando valores de 16° C y 31° C, respectivamente (Robles y Marinone, 1987). En esta región ocurren mínimos de salinidad en la capa superficial, cuyo origen probable es una corriente que fluye a lo largo de la costa este hacia el noroeste (Roden, 1964). Al sur de las IAG e IT la temperatura disminuye paulatinamente con la profundidad, al igual que en océano abierto, mientras que en el canal de Ballenas (CB), entre IAG y la península de BC, la distribución vertical de temperatura es notablemente diferente, con valores alrededor de 11° C aún en las partes más profundas (Álvarez-Borrego, 2008)

Finalmente, la región sur que está en comunicación abierta con el Océano Pacífico tropical a través de la boca, tiene una estructura hidrográfica complicada debido a la confluencia de distintas masas de agua. Esencialmente, su estructura termohalina corresponde a la del Pacífico tropical oriental, modificada en la superficie por evaporación (Álvarez-Borrego y Schwartzlose, 1979; Roden, 1958; Roden, 1964) La circulación superficial en el GC es predominantemente estacional. En promedio, el agua entra durante primavera y verano y sale durante otoño e invierno (Roden, 1958). Beier (1997) realizó una descripción detallada de la estructura superficial de la circulación estacional horizontal y de su variación en el tiempo, la cual muestra que la circulación superficial es ciclónica en verano y anticiclónica en invierno.

En el GC el aporte de nutrientes proviene de los eventos de surgencia inducidos por el viento, la mezcla de mareas y el intercambio de agua que se produce entre el golfo y el Océano Pacífico (Lavín y Marinone, 2003). Los eventos de surgencia en la costa este del golfo son fuertes y se producen con los vientos del noroeste de diciembre a mayo, generando concentraciones de clorofila que pueden exceder

los  $10 \text{ mg m}^{-3}$  (Álvarez-Borrego, 2010), la productividad primaria es alta y soporta gran cantidad de especies (Tershy *et al.*, 1991).

Todas las corrientes de marea en la región del golfo son fuertes. La velocidad de estas corrientes es variable y depende de la fase lunar y los vientos dominantes. Diversos autores han estimado la velocidad de las corrientes por diferentes métodos, que van desde los  $60 \text{ cm s}^{-1}$  (Marinone y Lavín, 2003), hasta los  $3 \text{ m s}^{-1}$  registrados en el CB (Álvarez-Sánchez *et al.*, 1984). Álvarez-Sánchez *et al.* (2003) reportaron que frecuentemente los medidores de deriva fueron encontrados siguiendo complicadas trayectorias en forma de remolino en la parte más amplia del CB (Álvarez-Borrego, 2008).

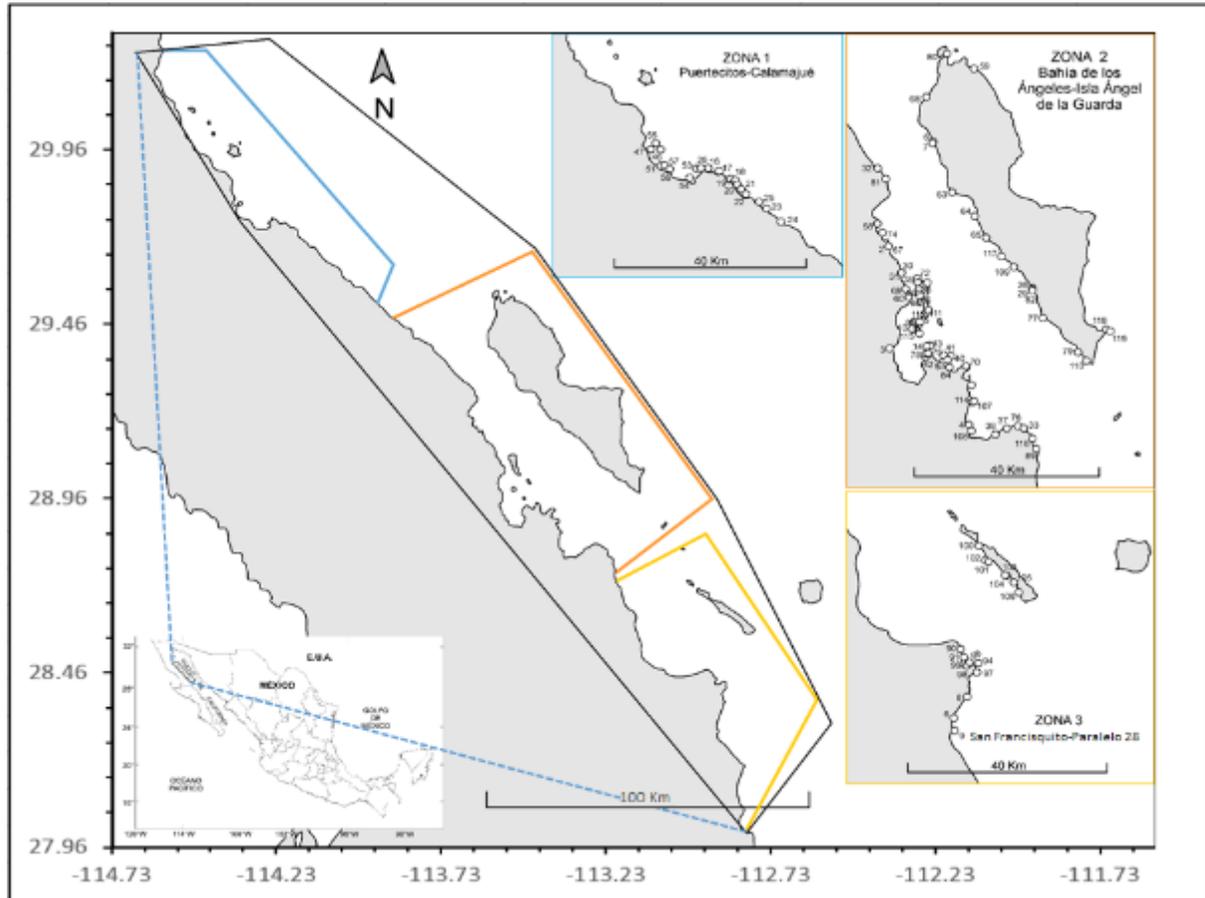
Para fines logísticos de muestreo, la costa oriental de BC se dividió en tres zonas (Figura 1):

- **Zona 1.-** Comprende 27 puntos, desde Puertecitos a Calamajué, incluyendo las islas e islotes cercanos. Abarca los sitios principales de pesca de *I. fuscus*, frente a la comunidad de San Luis Gonzaga.
- **Zona 2.-** Comprende 72 puntos, desde Bahía de Los Ángeles a Isla Ángel de la Guarda. Incluye los sitios principales de pesca de *I. fuscus*, frente a la comunidad de Bahía de Los Ángeles, incluyendo el conjunto de islas e islotes dentro de la bahía, contemplando las islas de Coronado y Ángel de la Guarda. Es importante mencionar que dicha zona se encuentra dentro del Área Natural Protegida (ANP) Reserva de la Biosfera de Bahía de los Ángeles, canales de Ballenas y Salsipuedes (RBBLA).
- **Zona 3.-** Comprende 19 puntos, desde San Francisquito al paralelo 28. Contiene los sitios principales de pescas de *I. fuscus* frente a la comunidad del Barril, contemplando parte del ANP Parque Nacional Zona Marina del Archipiélago de San Lorenzo (PNZMASL)

## 2.2. Trabajo de campo

El proceso de recolección de pepino de mar café (*I. fuscus*) se realizó de octubre de 2014 a octubre de 2015; se visitaron 18 sitios y 118 puntos (anexo Tabla 11) en las tres zonas especificadas en la Figura 1 Cuando las condiciones ambientales fueron favorables se visitaron hasta tres sitios por día.

Se emplearon transectos de banda a tres diferentes profundidades: somero (0-9 m), medio (9-18 m) y profundo (18-27 m) de 2 m de ancho por 25 m de largo, de tal manera que se cubría una superficie de 50 m<sup>2</sup> por transecto. En todos los casos participaron dos buzos (pescadores profesionales previamente capacitados), utilizando equipo semi-autónomo (hooka) y un técnico que permaneció en la embarcación. El objetivo fue realizar al menos 3 caídas por día.



**Figura 1.-** Zonificación de la costa oriental de Baja California para la evaluación del ciclo gonádico de *I. fuscus*.

Los datos por localidad incluyeron densidad (no. de individuos por m<sup>2</sup>), talla y peso de una muestra biológica. Se conservaron 10 ejemplares por localidad para análisis de reproducción, para lo cual se colectaron las gónadas, las cuales fueron fijadas en una solución de formol al 10% en agua de mar para su posterior procesamiento.

Con la finalidad de abarcar los aspectos planeados en campo, la recolección de datos se asignó de la siguiente manera: el primer buceador se encargó de desplegar el transecto, censar y coleccionar los individuos de *I. fuscus* dentro del transecto establecido, así como tomar las variables de temperatura de

fondo y profundidad. El segundo buceador se encargó de realizar la caracterización del sustrato mediante la técnica de Punto Contacto Uniforme (PCU) (Fernández-Rivera Melo *et al.*, 2012), que consiste en recolectar datos de sustrato, cobertura y relieve en cada metro del transecto. El técnico abordo de la embarcación se encargó de la toma de los parámetros de temperatura superficial, salinidad y oxígeno disuelto.

El procesamiento de los individuos colectados consistió en obtener datos de talla, midiendo cada organismo de la región proximal a la distal por la parte dorsal utilizando una cinta métrica flexible y el peso, utilizando una serie de dinamómetros según fuese necesario. Para la extracción de gónadas, a cada organismo colectado se le realizó un corte en la zona ventral, en dirección del ano a la boca, se separaron las gónadas del resto de las vísceras, siendo éstas colocadas en frascos previamente etiquetados con formol al 10% en agua de mar. Se dejaron fijar durante aproximadamente tres días, tras los cuales las gónadas se cambiaron a una solución de alcohol al 70%. Posteriormente las gónadas fijadas fueron enviadas a la ciudad de La Paz para su procesamiento en el laboratorio de histología de la unidad Pichilingue de la Universidad Autónoma de Baja California Sur (UABCS).

Con la finalidad de completar la información de parámetros ambientales se obtuvo una serie de imágenes satelitales con una resolución de 4 km por pixel del satélite Aqua-MODIS (disponibles en Ocean Color Web <http://oceancolor.gsfc.nasa.gov/cms/>). Mensualmente de septiembre 2014 a noviembre 2015 se obtuvieron imágenes satelitales de Chl *a* y TSM, las cuales se trabajaron en el software SeaDAS (ver. 7.3.1) en el cual se localizaron las coordenadas geográficas o en su defecto los puntos más cercanos a los sitios de recolección visitados y se obtuvieron los valores de Chl *a* y TSM. Posteriormente se catalogaron de tal manera que todos los meses tuvieran el mismo número de datos para cada sitio. Para finalizar se realizaron análisis de correlación entre Chl *a* y TSM y se relacionaron con el ciclo gonádico de *I. fuscus*.

También se obtuvo una serie histórica de Chl *a* y TSM desde 2004 a 2014 de Ocean Color Radiometry Online Visualization and Analysis Tool of the National Aeronautics and Space Administration of the United States ([http://gdata1.sci.gsfc.nasa.gov/daac-bin/G3/gui.cgi?instance\\_id=ocean\\_month](http://gdata1.sci.gsfc.nasa.gov/daac-bin/G3/gui.cgi?instance_id=ocean_month)), con el propósito de observar si existieron anomalías en dichos parámetros.

Con los datos de longitud total y peso, se elaboraron histogramas y tablas condensando la información obtenida. Se realizaron histogramas de talla, peso y se estimó la relación longitud total-peso de acuerdo a la ecuación:

$$P = aL^b \quad (1)$$

Donde  $P$  es el peso del organismo (g),  $L$  es la longitud total del organismo (cm),  $a$  es la ordenada al origen de la curva o factor de condición y  $b$  es la pendiente de la curva o coeficiente de alometría (Safran, 1992).

Se estimaron los parámetros de crecimiento y talla de primera madurez, para la cual se utilizó el paquete ELEFAN (Electronic Frequency Analysis) del programa FISAT (ver. 1.2.2). (© FAO 2006-2016), siguiendo los procedimientos descritos por Gayanilo *et al.* (1997).

Para calcular los parámetros de crecimiento, es necesario calcular los parámetros de crecimiento y la relación edad-talla mediante la ecuación de crecimiento de Von Bertalanffy:

$$L_t = L_\infty(1 - [e^{-k(t-t_0)}]) \quad (2)$$

Donde  $L_t$  es la talla o longitud media por edad al tiempo  $t$ ,  $t$  es la edad,  $L_\infty$  es la longitud teórica máxima que puede alcanzar un individuo,  $k$  es el parámetro de curvatura de la recta o constante de catabolismo y  $t_0$  es el parámetro de condición inicial.

Se aplicó una prueba chi cuadrada ( $\chi^2$ ) de bondad de ajuste, para verificar que la proporción sexual de los datos obtenidos fuera 1:1, por medio de la comparación de los valores observados y los valores esperados de frecuencia de ocurrencia de hembras y machos. Esto se realizó para cada mes en el que fue posible la identificación del sexo y para el total de gónadas en el año de muestreo.

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(f_i - \hat{f}_i)^2}{\hat{f}_i} \quad (3)$$

Donde  $\chi^2$  es el valor de la prueba,  $f_i$  es la frecuencia observada y  $\hat{f}_i$  es la frecuencia esperada. El valor  $\chi^2$  se compara con el valor crítico a un nivel de significancia del 5% y grados de libertad  $k-1$ , donde  $k$  es el número de categorías donde se distribuyen los datos por frecuencias.

### 2.3. Trabajo de laboratorio

Para llevar a cabo el estudio histológico, las gónadas se procesaron en el laboratorio de histología de la unidad Pichilingue de la UABCS. Se tomó una fracción del tejido fijado y se colocó en histocassettes con etiquetas individualizadas. Mediante una serie de lavados en agua corriente, el fijador fue retirado de la fracción de las muestras a utilizar. El tejido restante fue preservado en su misma solución fijadora (alcohol al 70%). Para continuar con el proceso histológico, las gónadas se deshidrataron con una serie gradual de etanol, se aclararon con Citrisolv como se especifica en la Tabla 2 y se incluyeron en bloques de Paraplast para ser cortados con un micrótopo de rotación Leica 2040 Autocut a 4  $\mu$ m de grosor.

**Tabla 2.-** Proceso histológico por inclusión en parafina de gónadas de *I. fuscus*.

<b>Etapas de proceso</b>	<b>Reactivo</b>	<b>Tiempo en el reactivo</b>
Deshidratación	Etanol 70%	60 minutos
	Etanol 80%	60 minutos
	Etanol 90%	60 minutos
	Etanol 96%	60 minutos
	Etanol 100% I	60 minutos
	Etanol 100% II	60 minutos
	Etanol 100% III	60 minutos
Aclaramiento	Etanol 100%/ Citrisolv	60 minutos
	Citrisolv	30 minutos
Infiltración	Citrisolv/Parafina	30 minutos
	Parafina I	60 minutos
	Parafina II	120 minutos

Los cortes fueron teñidos siguiendo la técnica de tinción Hematoxilina de Gill-Eosina y Floxina (Tabla 3) según las recomendaciones de Humason (1962) y Bancroft *et al.* (1988). La hematoxilina por su naturaleza básica, tiñe estructuras ácidas (basófilas) en tonos azulados y púrpuras, como los núcleos celulares; por otra parte la eosina por su naturaleza ácida tiñe componentes básicos (acidófilos) en tonos rosas, como el citoplasma. Posteriormente los cortes se montaron en laminillas permanentes con Cytoseal XYL. Los tejidos de las laminillas resultantes, fueron observados con un microscopio Nikon

Optiphot-II para identificar el sexo, clasificar y describir los estadios de desarrollo gonádico (Tabla 4). También se tomaron microfotografías digitales con un microscopio Nikon Optiphot-II, el cual tiene acoplada una cámara digital Sight DS-5M conectada a un sistema digital de captura Digital Sight DS-L1.

Con las microfotografías obtenidas se determinó el área de los ovocitos, mediante el software ImageJ 1.46 (<http://imagej.net/ImageJ>). Para lo cual se siguió el contorno de los ovocitos con una tableta gráfica Genius i608x. Los ovocitos fueron medidos en su totalidad bajo la condición de que se encontraran íntegros, es decir, que se observara toda la circunferencia por completo sin importar la deformidad de la misma. El diámetro de los ovocitos fue estandarizado mediante la ecuación para el diámetro teórico de células esféricas, debido a que los ovocitos cambian conforme éstos crecen y desarrollan:

$$DT = \sqrt{4A/\pi} \quad (4)$$

Donde  $DT$  es el diámetro teórico del ovocito ( $\mu\text{m}$ ),  $A$  es el área del ovocito y  $\pi$  un valor constante (Saout *et al.*, 1999). Con los datos de diámetro teórico de los ovocitos (DTO) se calculó media, desviación estándar y se construyó un histograma de frecuencias para poder realizar un Análisis de Progresión Modal (APM) del diámetro de los ovocitos (Hmida *et al.*, 2010). Para el APM se utilizó el paquete ELEFAN del programa FISAT II.

**Tabla 3.-** Proceso de tinción Hematoxilina de Gill–Eosina y Floxina.

<b>Etapas de proceso</b>	<b>Reactivo</b>	<b>Tiempo en el reactivo</b>
Desparafinación	Xilol I	15 minutos
	Xilol II	15 baños
	Xilol III	15 baños
Hidratación	Etanol 100 %	15 baños
	Etanol 95 %	15 baños
	Etanol 70 %	15 baños
	Agua destilada	15 baños
Tinción	Hematoxilina de Gil	10 minutos
	Agua corriente	2 minutos
	Agua acetificada 1 %	2 baños
	Agua corriente	1 minuto
	Bicarbonato de sodio	5 baños

	Agua corriente	1 minuto
	Eosina-Floxina	30 segundos
Deshidratación	Etanol 95 %	15 baños
	Etanol 100 % I	15 baños
	Etanol 100 % II	15 baños
Aclaramiento	CitriSolv I	15 baños
	CitriSolv II	15 baños
	CitriSolv III	15 baños
Montaje	Montar en medio permanente Cytoseal XYL y colocar cubreobjetos.	

**Tabla 4.-** Estadios de desarrollo gonádico utilizados y descritos para este estudio. Modificado de Conand (1982)

<b>Estadio</b>	
I	Indiferenciado
II	Gametogénesis (ovogénesis y espermatogénesis)
III	Madurez
IV	Expulsión (desove y eyaculación)
V	Post-expulsión (post-desove y post-eyaculación)

## Capítulo 3

---

### 3. Resultados

#### 3.1. Relaciones morfométricas

Durante el periodo de Octubre 2014 a Octubre 2015 se disectaron un total de 392 organismos de *Isostichopus fuscus* (Tabla 5), de los cuales a 274 fue posible la extracción de gónadas.

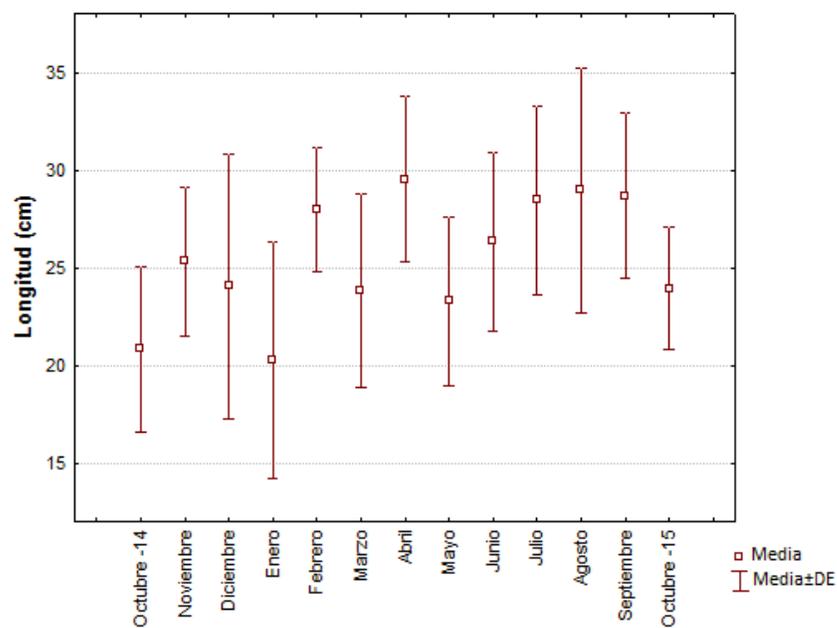
**Tabla 5.-** Longitud y peso promedio (+DE) y número de ejemplares procesados de *I. fuscus* de octubre 2014 a octubre 2015.

	N	
Longitud (cm)	392	25.03±5.8
Peso (g)	390	477.11±203.17
Peso gónada (g)	68	7.26±6.1
Organismos con gónada	274	
Organismos sin gónada	118	
Organismos sexados	162	
Organismos indiferenciados	112	

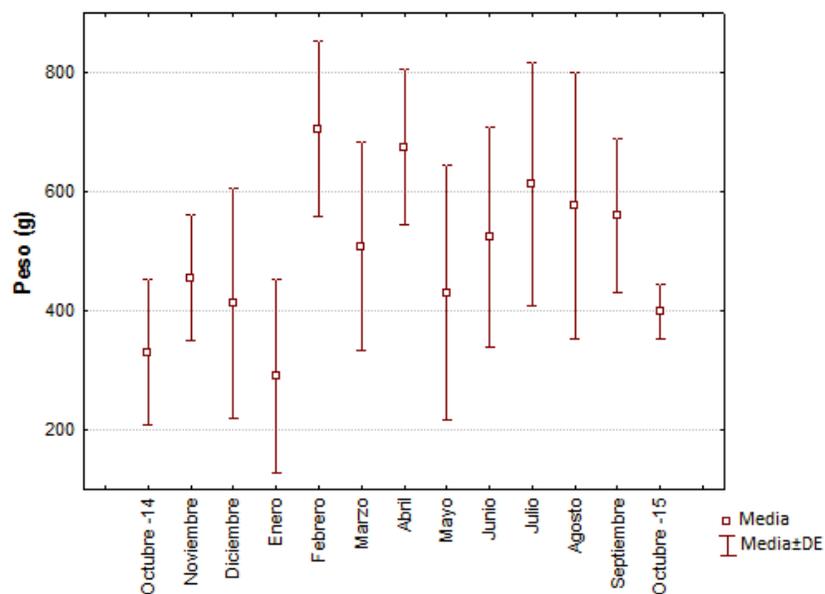
En abril de 2015 se registró la longitud promedio mayor 29.52±4.24 cm, mientras que la menor fue de 20.26±6.04 cm y se registró en diciembre de 2014; el valor mínimo registrado fue de 8 cm en enero de 2015 y el máximo de 41 cm en diciembre de 2014 (Tabla 6, Figura 2). El peso promedio mensual mayor fue de 705±146.66 g registrado en enero de 2015 y el menor de 289.85±162.21 en diciembre de 2014; el valor mínimo registrado fue de 16.9 g en enero de 2015 y el máximo de 1100 g en agosto de 2015 (Tabla 6, Figura 3).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ni en la longitud ni en el peso entre hembras y machos ( $p > 0.05$ ), aunque las hembras fueron relativamente más grandes. Tampoco hubo diferencias estadísticas entre hermafroditas e indiferenciados ( $p > 0.05$ ).

Se obtuvieron 274 gónadas que representan 70% de ocurrencia, respecto a los 392 organismos disectados. Los organismos sexualmente activos, 42% de la muestra, presentaron una talla media ±DE de 26.32±5.06 cm (mín: 13, máx: 41) y un peso de 525.02±187.05 g (mín: 50, máx: 1100).



**Figura 2.-** Longitud promedio de organismos de *I. fuscus* recolectados de octubre 2014 a octubre 2015. El cuadro representa el promedio y la línea la desviación estándar.



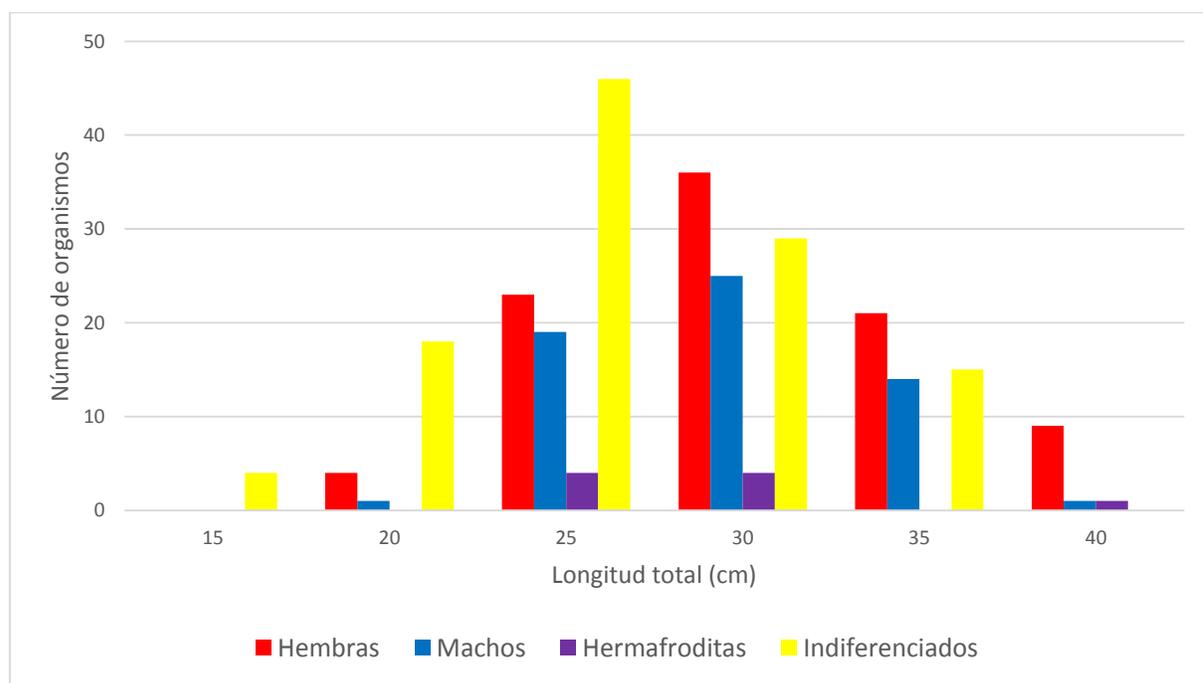
**Figura 3.-** Peso promedio de organismos de *I. fuscus* recolectados de octubre 2014 a octubre 2015. El cuadro representa el promedio y la línea la desviación estándar.

**Tabla 6.-** Estadísticas básicas mensuales de longitudes y tallas de *I. fuscus* de octubre 2014 a octubre 2015.

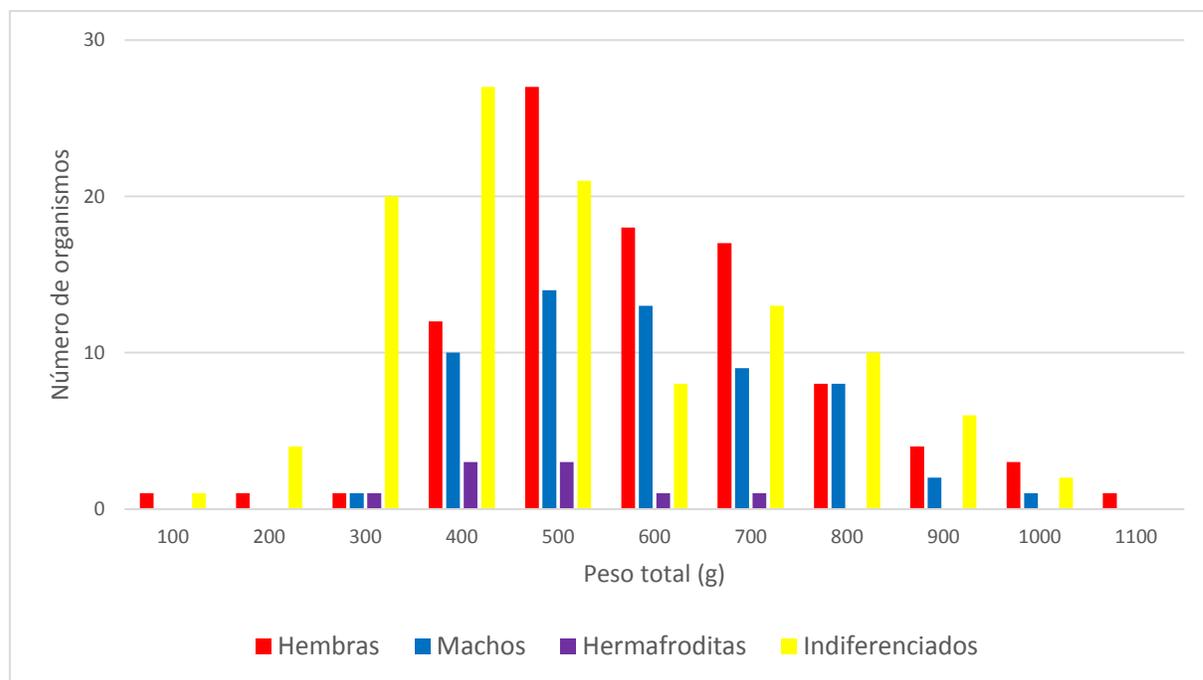
Fecha	N	Longitud				Peso			
		Media	DE	Máy	Mín	Media	DE	Máy	Mín
Oct. 2014	28	20.8	4.2	28	13	330.6	121.3	616	145
Nov. 2014	36	25.3	3.8	34	20	455.7	106.1	746	227
Dic. 2014	23	24	6.8	41	9	413.1	193.8	739	28
Ene. 2015	65	20.3	6	35	8	289.8	162.2	666	17
Feb. 2015	20	28	3.2	33	23	705	146.7	980	420
Mar. 2015	30	23.8	5	35	12	508.3	175	800	180
Abr. 2015	25	29.5	4.2	36	22	674.8	129.8	1000	450
Mayo 2015	14	23.3	4.3	29	14	430.7	213.8	800	100
Jun. 2015	34	26.3	4.6	35	17	523.8	184.1	900	150
Jul. 2015	30	28.5	4.8	38	21	612.3	205.1	1100	300
Ago. 2015	27	29	6.3	40	15	575.6	223.8	1000	180
Sep. 2015	30	28.7	4.2	36	21	559.7	130.1	800	50
Oct. 2015	30	23.9	3.1	28	14	399	46.2	500	280

Respecto a la distribución por intervalos de tallas (Figura 4) se observa que tanto las hembras como los machos de *I. fuscus* son abundantes entre los 25 cm y 35 cm y los hermafroditas se observan mayormente entre el rango de los 25 cm y 30 cm. De igual modo en la distribución por intervalos de pesos (Figura 5) se observa que las hembras de *I. fuscus* son relativamente más abundantes entre los 400 g y 700 g, los machos entre los 500 g y 600 g, mientras que los hermafroditas se observaron entre los 300 g y 700 g. La relación peso total-longitud fue  $PT = 0.18 L^{2.4}$  con una  $r^2 = 0.82$ .

De acuerdo a la ecuación de crecimiento de Von Bertalanffy ( $L_{\infty} = 39.9$ cm,  $k = 0.18$ ) se calculó la edad de primera madurez. Para este estudio la primera talla de madurez fue entre los 16 y 18 cm, que corresponde a una edad estimada de entre 2 y 3 años.



**Figura 4.-** Distribución de sexos por intervalo de talla de *I. fuscus* de octubre 2014 a octubre 2015. Los colores indican el sexo: rojo para hembras, azul para machos, morado para hermafroditas y amarillo para indiferenciados.



**Figura 5.-** Distribución de sexos por intervalo de peso de *I. fuscus* de octubre 2014 a octubre 2015. Los colores indican el sexo: rojo para hembras, azul para machos, morado para hermafroditas y amarillo para indiferenciados.

### 3.2. Proporción de sexos

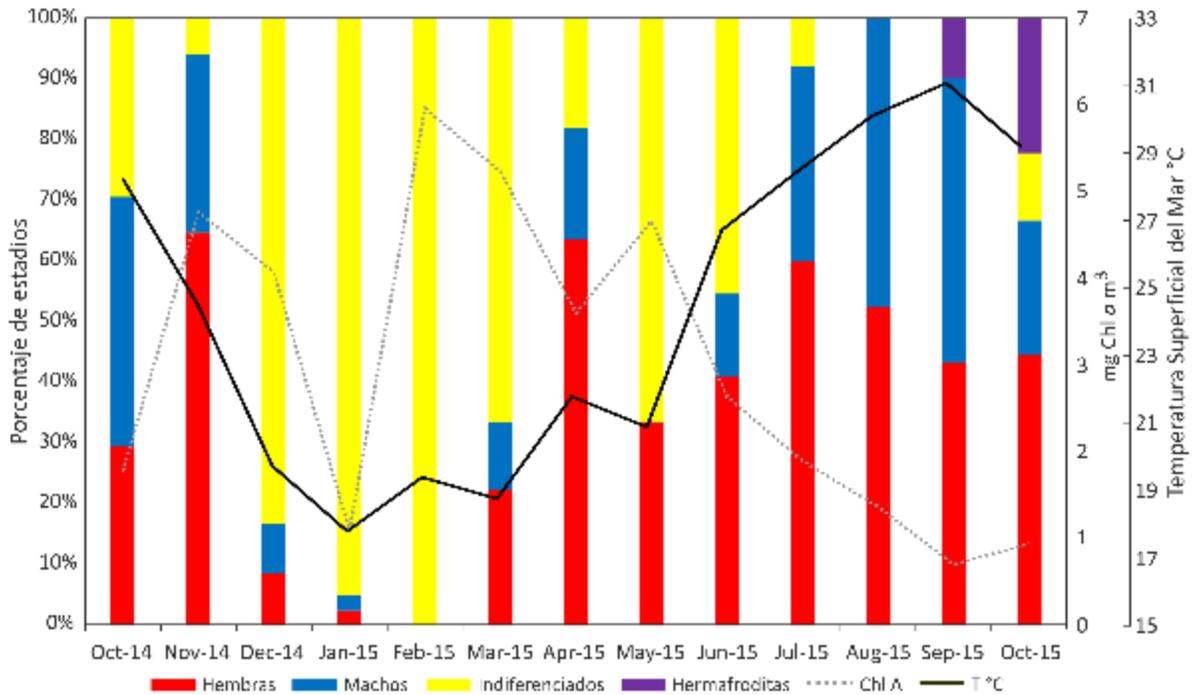
La proporción sexual hembras-machos es estadísticamente diferente de una proporción 1:1 (prueba  $\chi^2$ ,  $P < 0.05$ ,  $gl = 153$ ), al analizar el año de muestreo; sin embargo, esta proporción no difiere estadísticamente de 1:1 al analizar los datos de cada mes muestreado (Tabla 7).

De las 274 muestras de gónadas, 92 (34%) correspondieron a hembras, 61 (22%) machos, 112 (41%) indiferenciados y 9 (3%) organismos hermafroditas (Figura 6). En referencia al desarrollo gonádico 112 (41%) se identificaron como indiferenciados, 30 (11%) en gametogénesis, 39 (14%) madurez, 61 (22%) expulsión y 32 (11%) post-expulsión (Figura 7).

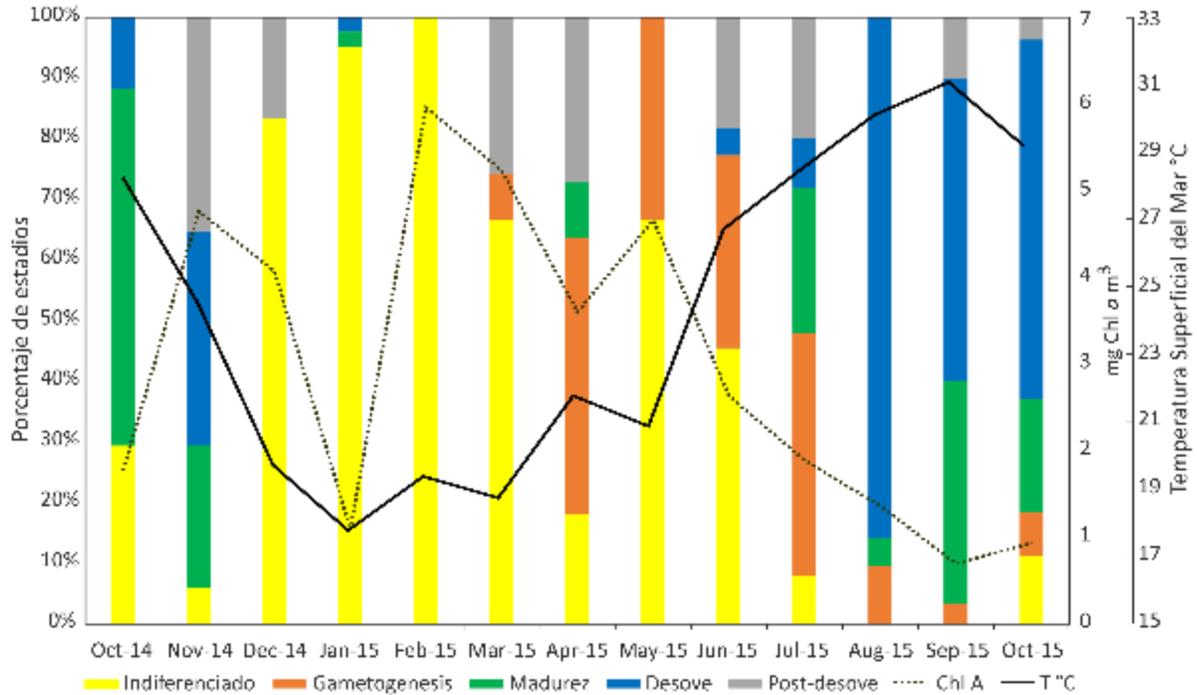
**Tabla 7.-** Composición de sexos (%) y prueba de  $\chi^2$  de *I. fuscus* de octubre 2014 a octubre 2015.

Fecha	Porcentaje		N	$\chi^2$	Valor P
	Hembras	Machos			
Oct. 2014	42	58	12	0	1
Nov. 2014	69	31	16	1.13	0.13
Dic. 2014	50	50	2	0	1
Ene. 2015	50	50	2	0	1
Feb. 2015	0	0	0	0	-
Mar. 2015	67	33	9	0.5	0.32
Abr. 2015	78	22	9	1.39	0.10
Mayo 2015	100	0	2	1	0.16
Jun. 2015	75	25	12	1.5	0.08
Jul. 2015	61	39	23	0.54	0.30
Ago. 2015	48	52	21	0.02	0.83
Sep. 2015	43	47	27	0.02	0.85
Oct. 2015	54	21	18	1.8	0.06
Total	57	37	154	3.56	0.01

Durante el periodo de estudio se distingue un ciclo anual de reproducción (Figura 7). Observándose organismos indiferenciados prácticamente todo el año, con un aumento en los meses de diciembre a marzo, y una notable disminución en los meses de agosto y septiembre. Organismos en estadio gametogénico se observaron de marzo a octubre, con un notable aumento en los meses de abril y julio. Organismos en estadio de madurez se observaron de junio a noviembre, teniendo un pico reproductivo en los meses de septiembre a octubre. Organismos en expulsión se observaron en los meses de junio a noviembre, observándose un auge de expulsión en los meses de agosto a octubre. Organismos en estadio de post-expulsión se observaron prácticamente todo el año de muestreo a excepción de los meses de enero y febrero.



**Figura 6.-** Ejemplares de *I. fuscus* sexados de octubre 2014 a octubre 2015. Los colores indican el sexo: rojo para hembras, azul para machos, morado para hermafroditas y amarillo para indiferenciados. La línea punteada indica el promedio mensual de la concentración Clorofila *a* y la línea continua el promedio mensual de la temperatura superficial del mar.



**Figura 7.-** Ejemplares de *I. fuscus* por estadio de desarrollo gonádico de octubre 2014 a octubre 2015. Los colores indican el desarrollo gonádico: amarillo para indiferenciados, naranja para gametogénesis, verde para madurez, azul para expulsión y gris para post-expulsión. La línea punteada indica el promedio mensual de la concentración Clorofila *a* y la línea continua el promedio mensual de la temperatura superficial del mar.

### 3.3. Caracterización histológica de gónadas de *I. fuscus*

La gónada *Isostichpus fuscus* está constituida por tres capas: la externa o peritoneo, compuesta por células epiteliales, nervios y células musculares; la media compuesta por tejido conectivo, asociada a células mesenquimales y al seno hemal y la interna que constituye el epitelio interno, asociado a los gametos y células epiteliales somáticas.

En este estudio el desarrollo gonádico de *I. fuscus* se clasificó para hembras y machos en cinco estadios (Tabla 8). Basado su descripción en cuatro puntos principales: tejido conectivo, seno hemal, epitelio germinal y lumen (Tabla 9). El estadio *Indiferenciado* se describe para ambos sexos, puesto que sus características celulares no permiten identificar histológicamente el sexo. Los demás estadios se describieron por separado para cada sexo.

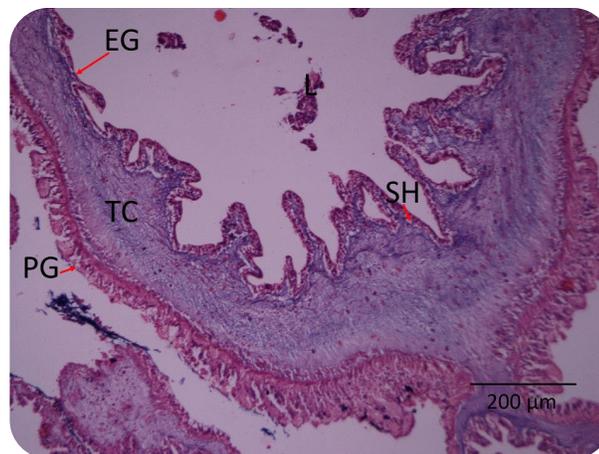
**Tabla 8.-** Clasificación de los estadios de desarrollo gonádico de *I. fuscus* para BC. Elaboración propia, modificada de Conand (1982)

	Hembras	Machos	Hermafroditas
I	Indiferenciado		
II	Gametogénesis		
	Ovogénesis	Espermatogénesis	Gametogénesis
III	Madurez		
IV	Expulsión		
	Desove	Eyaculación	Expulsión
V	Post-expulsión		
	Post-desove	Post-eyaculación	Post-expulsión

### 3.3.1. Descripción del desarrollo gonádico de *I. fuscus*

#### 3.3.1.1. Estadio indiferenciado del desarrollo gonádico de *I. fuscus*

- **Indiferenciado (I).** En esta etapa no es posible realizar una distinción entre gónadas masculinas o femeninas. La apariencia y tamaño células observadas en las gónadas en estadio indeterminado son similares haciendo imposible la distinción de gametos. Se observa claramente la presencia de abundante tejido conjuntivo y una gruesa pared gonadal. En algunos casos es posible observar la presencia de fagocitos (Figura 8).



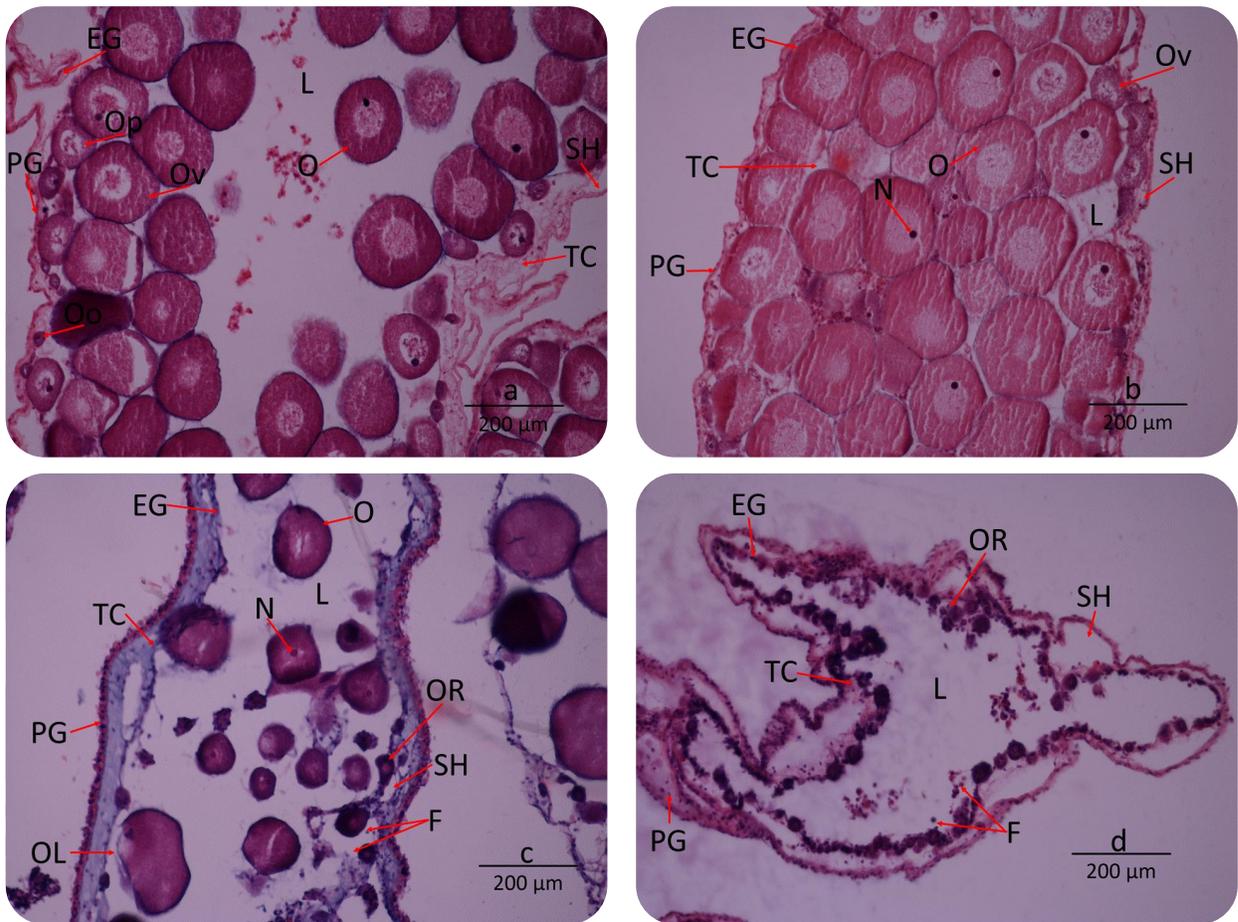
**Figura 8.-** Estadio indiferenciado en gónadas de *I. fuscus* de octubre 2014 a octubre 2015. EG: epitelio germinal, TC: tejido conectivo, SH: seno hemal; PG: pared gonadal.

**Tabla 9.-** Guía para describir los estadios de desarrollo gonádico. Elaboración propia, modificada de (Epherra, *et al.*, 2015)

<b>Estadio</b>	<b>Ovarios</b>	<b>Testículos</b>
Gametogénesis	Tejido conectivo grueso, laxo y con ondulaciones.	Tejido conectivo grueso, laxo y con ondulaciones.
	Seno hemal visible.	Seno hemal visible.
	Actividad del epitelio germinal.	Actividad del epitelio germinal.
	Lumen vacío o semivacío.	Lumen vacío o semivacío.
	Ovocitos primarios.	Columnas de espermatoцитos primarios acomodados en ondulaciones.
Madurez	Tejido conectivo no visible.	Tejido conectivo semilaxo, poco visible.
	Seno hemal no visible.	Seno hemal no visible.
	Nula actividad del epitelio germinal.	Poca actividad del epitelio germinal.
	Lumen lleno con ovocitos poliédricos.	Lumen lleno con espermatoцитos.
Expulsión	Tejido conectivo visible, fino y laxo.	Tejido conectivo visible, fino y laxo.
	Seno hemal poco visible.	Seno hemal poco visible.
	Nula actividad del epitelio germinal.	Nula actividad del epitelio germinal.
	Lumen semivacío con concentración de ovocitos en el centro.	Lumen semivacío, aglomeración de espermatoцитos en el centro y espacios vacíos en la periferia.
	Ovocitos residuales.	
	Fagocitos	Fagocitos
Post-expulsión	Tejido conectivo grueso, laxo y con ondulaciones.	Tejido conectivo grueso, laxo y con ondulaciones.
	Seno hemal visible.	Seno hemal visible.
	Poca o nula actividad del epitelio germinal.	Poca o nula actividad del epitelio germinal.
	Lumen vacío o semivacío.	Lumen vacío o semivacío.
	Ovocitos residuales y en proceso de lisis.	Espermatoцитos residuales y en proceso de lisis.

### 3.3.1.2. Estadios de desarrollo gonádico de hembras de *I. fuscus*

- **Ovogénesis (II).** En esta etapa hay proliferación de gametos femeninos. En la pared gonadal se observan ovogonias incrustadas o unidas al epitelio germinal, comenzando a proliferar hacia el lumen. Los ovocitos primarios tienen núcleo definido y nucléolos periféricos. En algunos casos se logra observar pequeñas células (dos o tres producto de la meiosis) alrededor del ovocito primario. Se observa gran cantidad de tejido conjuntivo así como pliegues en pared de la gónada, que se reducen conforme avanza la gametogénesis (Figura 9 a).
- **Madurez (III).** Durante este estadio, los ovocitos maduros abarcan todo o la mayor parte del lumen de los túbulos, en la periferia todavía se logran observar ovocitos en desarrollo. El núcleo de los ovocitos es fácilmente distinguible, en algunos casos es posible se observen de dos a tres nucléolos periféricos definidos en las células. La pared gonadal es delgada y no se observa tejido conjuntivo. Aunque es poco común, se puede observar la presencia de atresias en el lumen, rodeadas de fagocitos. Se observan fagocitos dentro y fuera del lumen, formando células esféricas dentro de los túbulos. Es común observar que las membranas de los ovocitos estén separadas del citoplasma, esto se debe al proceso de fijación e histológico (Figura 9 b)
- **Desove (IV).** En este estadio se observa una notable disminución de la abundancia de ovocitos dentro de los túbulos. Los ovocitos presentes se encuentran en estados de madurez u ovogénesis. Nuevamente se observan pliegues en la pared gonadal, así como un engrosamiento de la misma y tejido conjuntivo en aumento. Los ovocitos restantes en los túbulos pierden su tamaño y forma característica. Se observa gran cantidad de fagocitos dentro y fuera del lumen, así como células atrofiadas (Figura 9 c)
- **Post-desove (V).** El lumen de los túbulos de las gónadas en post-desove se observan prácticamente vacíos. Los pocos ovocitos presentes se observan amorfos y de menor tamaño, son claramente distinguibles atresias en distintos tamaños. Dentro y fuera de los túbulos hay gran cantidad de fagocitos, su actividad se relaciona a la reabsorción del material. Las paredes gonadales son gruesas y presentan gran cantidad de tejido conjuntivo. La gónada en su totalidad es prácticamente reabsorbida por fagocitosis (Figura 9 d)



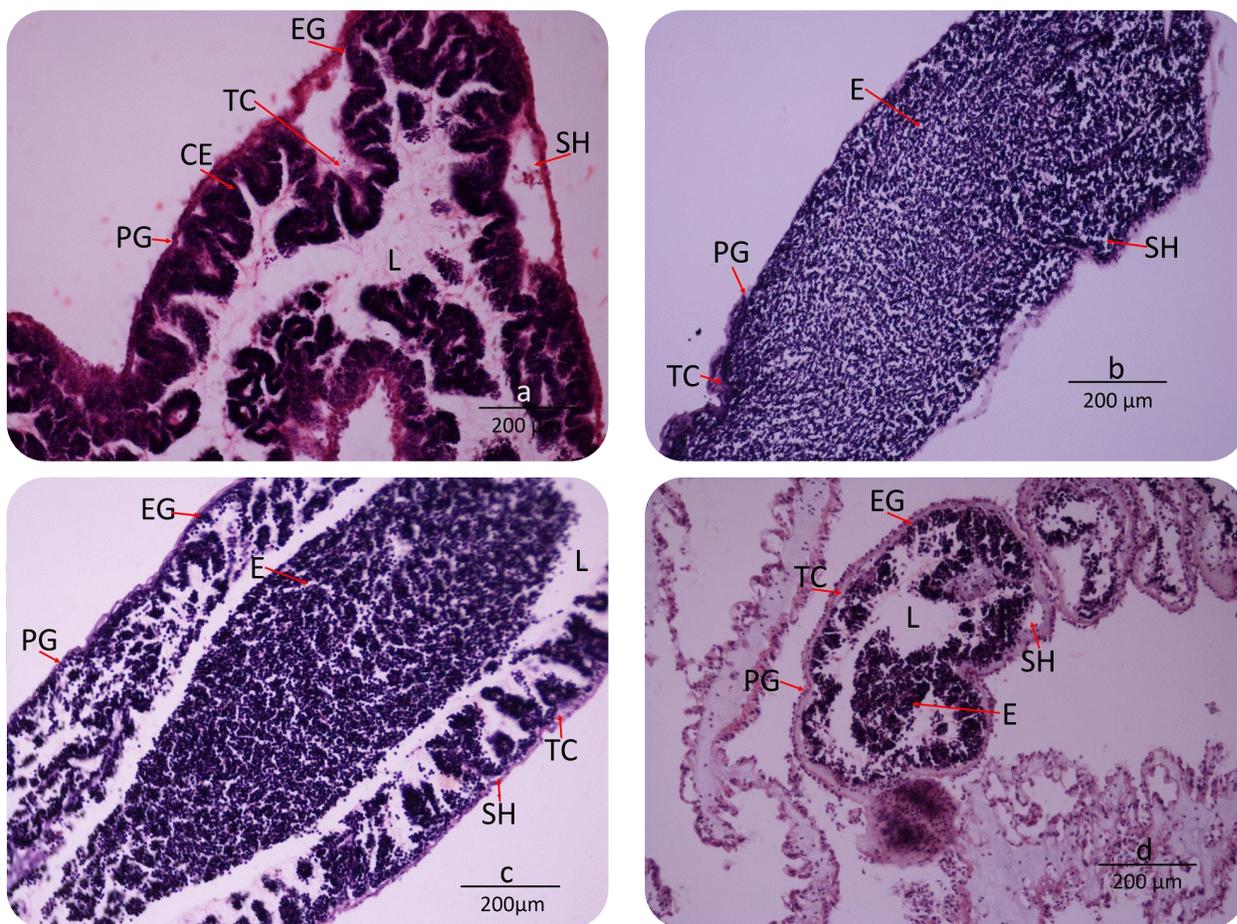
**Figura 9.-** Estadios de desarrollo gonádico en gónadas de hembras de *I. fuscus* de octubre 2014 a octubre 2015. a) ovogénesis, b) madurez, c) desove d) post-desove. EG: epitelio germinal, TC: tejido conectivo, SH: seno hemal; PG: pared gonadal. Oo: ovogonias, OP; ovocitos previtelogénicos, OV: ovocitos vitelogénicos, O: óvulos maduros, OL: óvulos en lisis, OR: óvulos en reabsorción, F: fagocitos.

### 3.3.1.3. Estadios de desarrollo gonádico de machos de *I. fuscus*

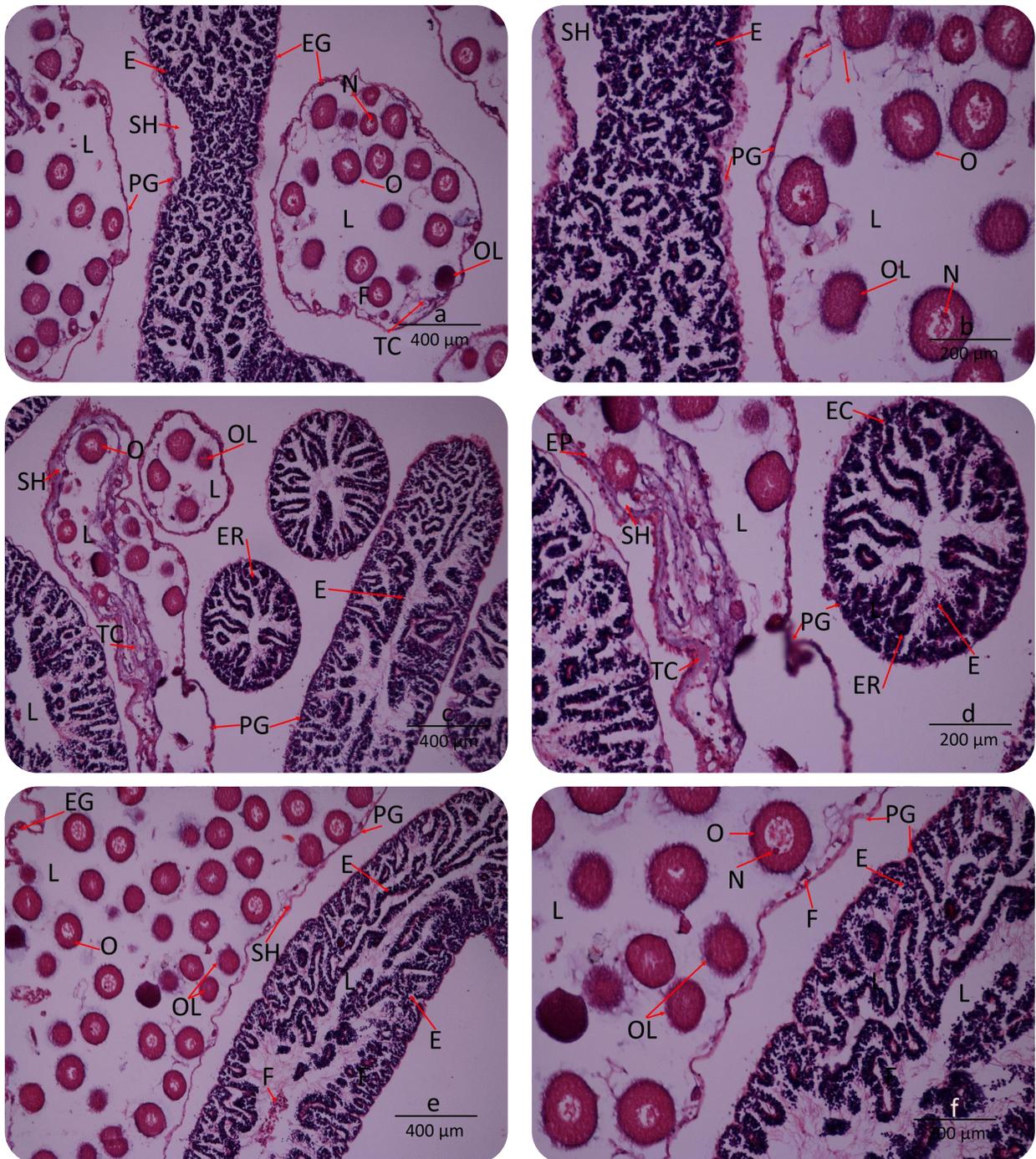
- **Espermatogénesis (II).** En la pared de la gónada masculina se observan pliegues longitudinales que se extienden hacia el lumen, en la parte externa de la pared germinal se divisan espermatogonias de apariencia esférica. Hay proliferación de espermatoцитos primarios, de forma ovoide y aspecto grumoso, los espermatoцитos se observan ordenados a lo largo de los pliegues. En el lumen se pueden observar espermatoцитos maduros. El tejido conjuntivo empieza a disminuir en grosor debido a la acumulación de espermatoцитos (Figura 10 a).

- **Madurez (III).** En esta etapa se observa los folículos casi completamente saturados de espermatozoides maduros, dispuestos en densas capas. Los espermatozoides maduros presentan una forma esférica, aplanados ligeramente en sentido dorsoventral. La pared gonadal es delgada y se encuentra por completo desplegada, en la periferia se observan espermatocitos y espermatidas (Figura 10 b).
- **Eyacuación (IV).** En esta etapa las gónadas se observan flácidas, con grandes espacios vacíos dentro de los folículos por la expulsión de los espermatozoides. En la periferia se observan algunos espermatocitos en desarrollo, aunque la pared gonadal sigue siendo delgada se observa una fina capa de tejido conjuntivo. Es posible observar células fagocíticas (Figura 10 c).
- **Post-eyacuación (V).** En la etapa de post-desove el lumen se encuentra prácticamente vacío. En la pared gonadal se observa abundante tejido conjuntivo. Se observan numerosos fagocitos dentro y fuera de los folículos, los espermatozoides restantes están siendo fagocitados y es posible observar atresias de las células fagocitadas. La gónada en su totalidad es prácticamente reabsorbida por fagocitosis (Figura 10 d).

El hermafroditismo simultáneo es un fenómeno en el cual gametos masculinos y femeninos son producidos por el mismo organismo al mismo tiempo, por lo cual las características son las mismas descritas para machos y hembras (Figura 11).



**Figura 10.-** Estadios de desarrollo gonádico en gónadas de machos de *I. fuscus* de octubre 2014 a octubre 2015. a) espermatogénesis, b) madurez, c) eyaculación, d) post-eyaculación. EG: epitelio germinal, TC: tejido conectivo, SH: seno hemal; PG: pared gonadal, CE: columnas espermáticas, E: espermatozoides.



**Figura 11.-** Estadios de desarrollo gonádico en gónadas hermafroditas de *I. fuscus* de octubre 2014 a octubre 2015. EG: epitelio germinal, TC: tejido conectivo, SH: seno hemal; PG: pared gonadal. Oo: ovogonias, OP: ovocitos previtelogénicos, OV: ovocitos vitelogénicos, O: óvulos maduros, OL: óvulos en lisis, OR: óvulos en reabsorción, F: fagocitos, CE: columnas espermatídicas, E: espermatozoides, ER: espermatozoides en reabsorción.

### 3.4. Ciclo gonádico anual de *I. fuscus*

**Indiferenciado:** se presentó casi todo el año de muestreo, con excepción de los meses de agosto y septiembre 2015. Se observan valores mínimos en noviembre 2014 y julio 2015 (6% y 8% respectivamente) y valores máximos en enero, febrero y marzo 2015 (95%, 100% y 68% respectivamente).

**Gametogénesis:** se presentó de marzo a agosto 2015, con valores mínimos en marzo y octubre (7%) y el valor máximo en mayo (67%).

**Madurez:** se presentó en los meses de octubre y noviembre 2014 y enero, abril, julio, agosto, septiembre y octubre 2015. El valor mínimo se observa en enero y agosto 2015 (2% y 5% respectivamente) y el valor máximo en octubre 2014 (59%).

**Expulsión:** se presentó en los meses de octubre y noviembre 2014 y enero, junio, julio, agosto, septiembre y octubre 2015. El valor mínimo se observa en enero y junio 2015 (2 y 5% respectivamente) y valores máximos en agosto, septiembre y octubre (86%, 53% y 59% respectivamente).

**Post-expulsión:** se presentó en los meses de noviembre y diciembre 2014 y marzo, abril, junio, julio, septiembre y octubre 2015. El valor mínimo se observa en octubre 2015 (4%) y el valor máximo en noviembre 2014 (35%) (Figura 7).

La composición porcentual de cada estadio se resume en la Tabla 10 <sup>(a)</sup>.

#### 3.4.1. Ciclo gonádico anual de hembras *I. fuscus*

**Ovogénesis:** se presentó en los meses de marzo a julio 2015, los valores mínimos se observan en marzo y junio (33% cada uno) y el valor máximo en mayo (100%).

**Madurez:** se presentó en los meses de octubre y noviembre 2014 y enero, abril, julio, septiembre y octubre 2015. El valor mínimo se observa en abril 2015 (14%) y el valor máximo en octubre 2014 y enero 2015 (80% y 100% respectivamente).

**Desove:** se presentó en los meses de octubre y noviembre 2014 y de junio a octubre 2015. El valor mínimo se observa en junio y julio 2015 (11% y 7% respectivamente) y valores máximos en agosto y octubre 2015 (100% y 54% respectivamente).

**Post-desove:** se presentó en los meses de noviembre y diciembre 2014 y marzo, abril, junio, julio, septiembre y octubre 2015. El valor mínimo se observa en octubre 2015 (8%) y valores máximos en noviembre y diciembre 2014 y marzo y junio 2015 (55%, 100%, 67% y 56% respectivamente) (Figura 12).

La composición porcentual de cada estadio se resume en la Tabla 10b.

### 3.4.2. Ciclo gonádico anual de machos *I. fuscus*

**Espermatogénesis:** se presentó en los meses de abril, junio, julio y agosto 2015, el valor mínimo se observa en septiembre 2015 (20%) y los valores máximos en abril y junio (100% y 100%).

**Madurez:** se presentó en los meses de octubre 2014 y julio, agosto y septiembre 2015. El valor mínimo se observa en agosto 2015 (10%) y el valor máximo en octubre 2014 (86%).

**Eyaculación:** se presentó en los meses de octubre y noviembre 2014 y enero, julio, agosto, septiembre y octubre 2015. El valor mínimo se observa en octubre 2014 y julio 2015 (14% y 11% respectivamente) y se observan valores de 100% para los meses de noviembre 2014 y enero y octubre 2015.

**Post-eyaculación:** se presentó en los meses de diciembre 2014 y marzo 2015, con valores máximos de 100% para cada mes (Figura 13).

La composición porcentual de cada estadio se resume en la Tabla 10c.

### 3.4.3. Ciclo gonádico anual de hermafroditas *I. fuscus*

Organismos hermafroditas se observaron únicamente en los meses de septiembre y octubre 2015, los cuales estaban en estadios de gametogénesis, madurez y expulsión.

**Gametogénesis:** se presentó en el mes de octubre con un valor de 33%.

**Madurez:** se presentó en el mes de septiembre con un valor de 33%.

**Expulsión:** se presentó en ambos meses, con un valor de 67%.

### 3.5. Relación entre desarrollo gonádico y variables ambientales

Para los equinodermos la temperatura y la disponibilidad de alimento son las principales variables que influyen en su desarrollo. En el caso de *I. fuscus* se sabe que las fases lunares, la TSM y la Chl *a* influyen en el desarrollo gonádico.

Las fechas de muestreo se planearon de tal forma que hubiera la menor cantidad de luz lunar posible, encontrando que en este estudio y para el área muestreada no hay relación entre las fases lunares y el desarrollo gonádico.

El año de muestreo de (octubre 2014 - octubre 2015) resulto ser un año anómalo de TSM y Chl *a* en comparación con años anteriores. Aunque la TSM sigue un patrón anual, con temperaturas mínimas de hasta 17 °C en invierno y máximas de hasta 31 °C en verano. Se observa una diferencia de entre 1.3°C a 3.5°C entre el año de muestreo y la serie histórica realizada (Figura 14).

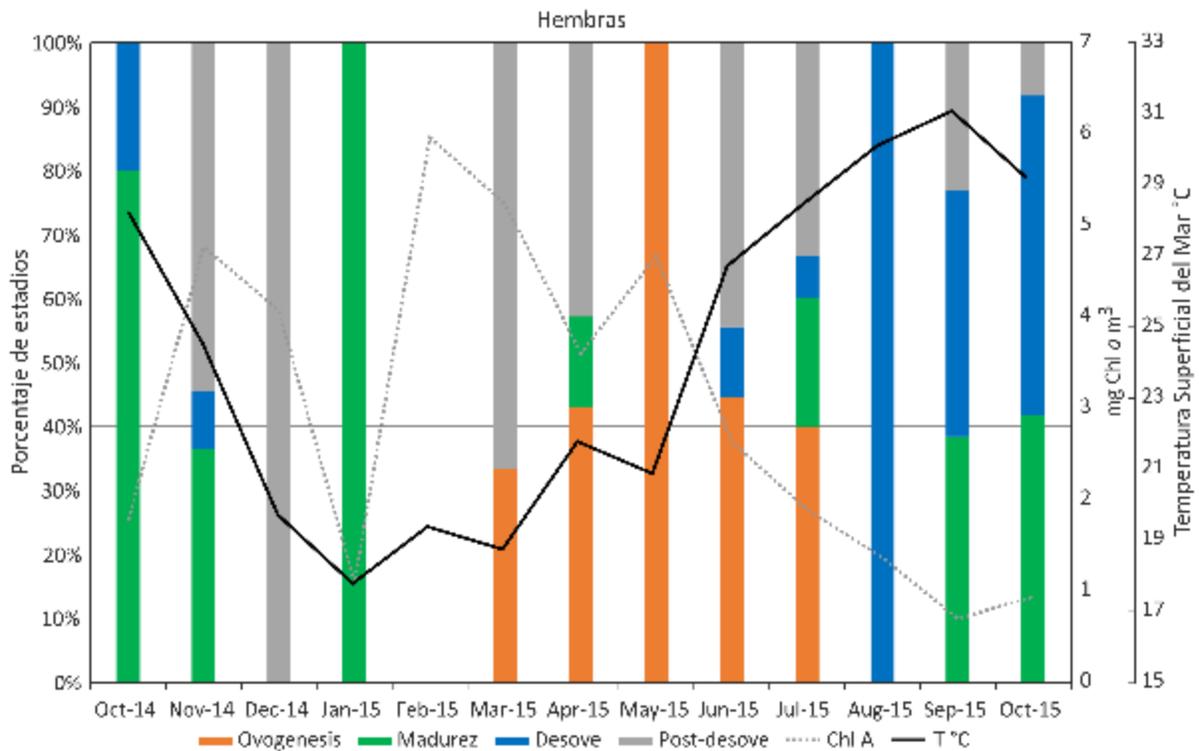
La Chl  $a$  por otro lado sigue un patrón más irregular, observándose tres puntos máximos en noviembre, febrero y mayo. Noviembre y febrero registraron los valores más altos (4.76 mg Chl  $a$  m<sup>3</sup> y 5.96 mg Chl  $a$  m<sup>3</sup> respectivamente). Se observa una diferencia en la concentración de Chl  $a$  de entre -0.73 mg Chl  $a$  m<sup>3</sup> a 3.01 mg Chl  $a$  m<sup>3</sup> entre el año de muestreo y la serie histórica realizada (Figura 14).

El pico de desarrollo gametogénico se lleva a cabo en el mes de junio, coincidiendo con un aumento de la TSM, el análisis de correlación cruzada mostró una correlación entre estas variables dos meses antes del pico gametogénico ( $r = 0.66$ ,  $P \leq 0.05$ ). De manera contraria hay una correlación negativa entre la Chl  $a$  y la gametogénesis ( $r = -0.65$ ,  $P \leq 0.05$ ) cuatro meses antes del desarrollo gametogénico. El pico de Chl  $a$  se observa en febrero, momento en el cual los organismos de *I. fuscus* tienen la disponibilidad de alimento necesaria para comenzar el proceso reproductivo.

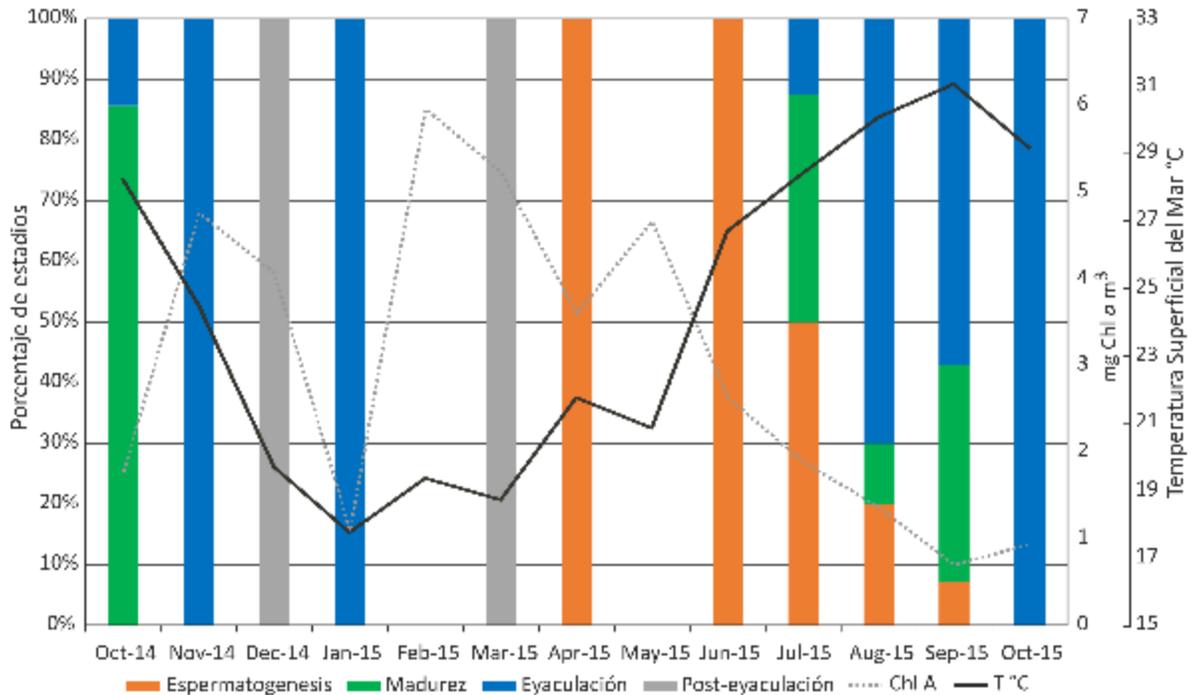
La expulsión se lleva a cabo en los meses de agosto, septiembre y octubre cuando la TSM alcanza su máximo; el análisis de correlación cruzada mostró una correlación entre estas variables ( $r = 0.57$ ,  $P \leq 0.05$ ). Asimismo, se encontró una correlación negativa entre Chl  $a$  y el estadio de expulsión ( $r = -0.71$ ,  $P \leq 0.05$ ) en el mismo momento.

**Tabla 10.-** Composición mensual (%) de estadios de desarrollo gonádico de *I. fuscus* de octubre 2014 a octubre 2015. El inciso (a) hace referencia a ambos sexos, el inciso (b) a hembras y el inciso (c) a machos.

Mes	N	Estadio (a)					N	Estadios (b)					N	Estadios (c)			
		I	II	III	IV	V		II	III	IV	V	II		III	IV	V	
Oct. 2014	17	29	0	59	12	0	5	0	80	20	0	7	0	86	14	0	
Nov. 2014	17	6	0	24	35	35	11	0	36	9	55	5	0	0	100	0	
Dic. 2014	12	83	0	0	0	17	1	0	0	0	100	1	0	0	0	100	
Ene. 2015	42	95	0	2	2	0	1	0	100	0	0	1	0	0	100	0	
Feb. 2015	19	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Mar. 2015	28	68	7	0	0	25	6	33	0	0	67	3	0	0	0	100	
Abr. 2015	11	18	45	9	0	27	7	43	14	0	43	2	100	0	0	0	
Mayo 2015	3	33	67	0	0	0	2	100	0	0	0	0	0	0	0	0	
Jun. 2015	22	45	27	0	5	23	9	33	0	11	56	3	100	0	0	0	
Jul. 2015	25	8	44	24	8	16	14	43	21	7	29	9	56	33	11	0	
Ago. 2015	21	0	10	5	86	0	11	0	0	100	0	10	20	10	70	0	
Sep. 2015	30	0	0	37	53	10	13	0	38	38	23	14	0	36	64	0	
Oct. 2015	27	11	7	19	59	4	13	0	38	54	8	5	0	0	100	0	



**Figura 12.-** Porcentaje de los estadios de desarrollo gonádico de hembras de *I. fuscus* de octubre 2014 a octubre 2015. Los colores indican el estadio gonádico: naranja indica ovogénesis, verde madurez, azul desove y gris post-desove. La línea punteada indica el promedio mensual de la concentración Clorofila a y la línea continua el promedio mensual de la temperatura superficial del mar.

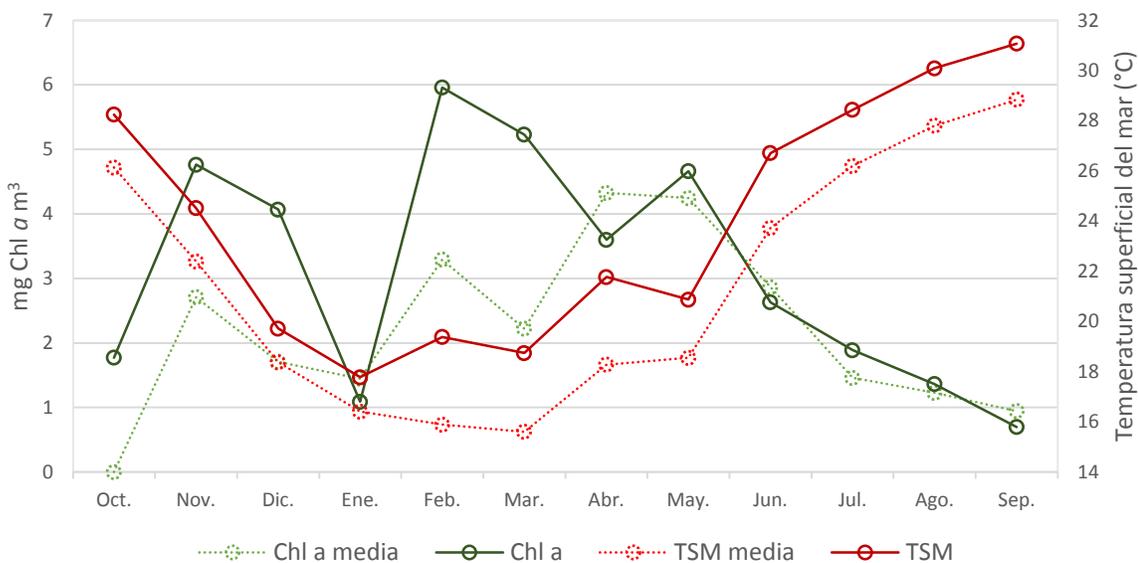


**Figura 13.-** Porcentaje de los estadios de desarrollo gonádico de machos de *I. fuscus* de octubre 2014 a octubre 2015. Los colores indican el estadio gonádico: naranja indica espermatogénesis, verde madurez, azul eyaculación y gris post-eyaculación. La línea punteada indica el promedio mensual de la concentración Clorofila *a* y la línea continua el promedio mensual de la temperatura superficial del mar.

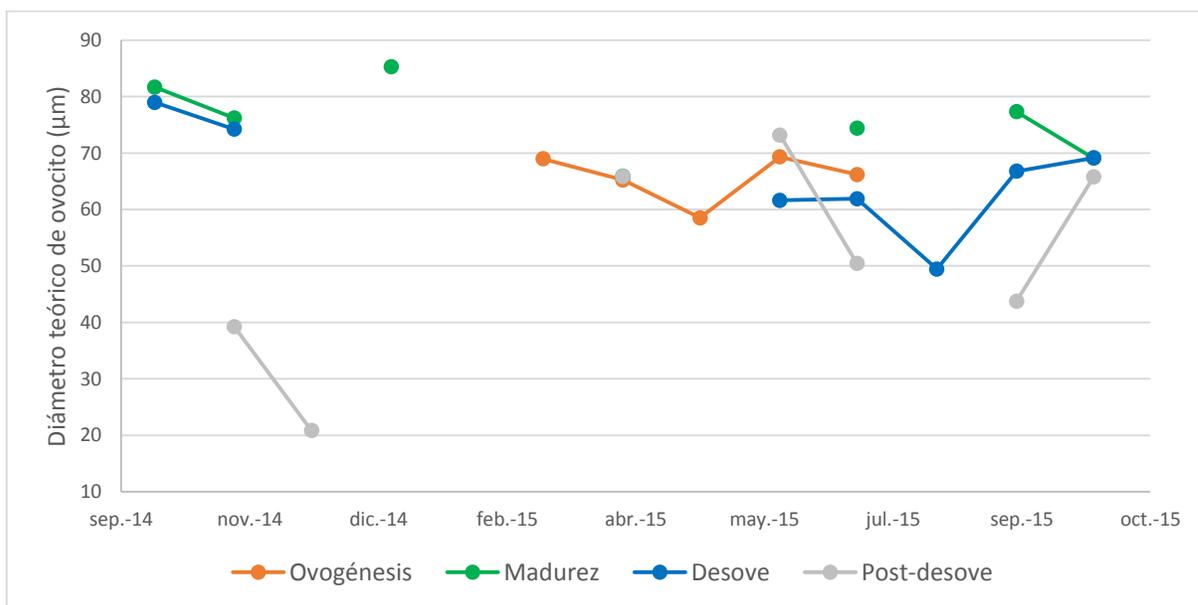
### 3.6. Análisis de progresión modal de ovocitos

Se midieron un total de 10, 291 ovocitos, con un diámetro promedio y DE de  $65.32 \pm 19.77 \mu\text{m}$ . Al analizar los datos de crecimiento de ovocitos se observa un aumento y disminución del tamaño de los ovocitos según transcurren los estadios gametogénicos. Siendo los valores de media y DE para gametogénesis de  $66.03 \pm 17.88 \mu\text{m}$ , madurez  $73.87 \pm 14.67 \mu\text{m}$ , desove  $60.48 \pm 20.86 \mu\text{m}$  y post-desove  $49.18 \pm 20.69 \mu\text{m}$ .

El APM indicó que los ovocitos al pasar de la ovogénesis a la madurez incrementan su DT  $15 \mu\text{m mes}^{-1}$ , esto es 23%, mientras que de la madurez al desove disminuyen  $7 \mu\text{m} \cdot \text{mes}^{-1}$ , lo que equivale al 9% de diámetro; finalmente, el DT de los ovocitos en fase de post-desove son en promedio  $53 \mu\text{m mes}^{-1}$  más chicos que en desove, o sea un 72% (Figura 15).



**Figura 14.-** Valores promedio mensual de la temperatura superficial del mar y concentración de clorofila *a*. La línea punteada verde indica el promedio mensual de la concentración Clorofila *a* histórica de enero 2003 a agosto 2014 y la línea continua verde el promedio mensual de la concentración Clorofila *a* de septiembre 2014 a octubre 2015. La línea punteada roja indica el promedio mensual de la temperatura superficial del mar histórica de enero 2003 a agosto 2014 y la línea continua roja el promedio mensual de la temperatura superficial del mar de septiembre 2014 a octubre 2015.



**Figura 15.-** Progresión del diámetro teórico de los ovocitos (DTO) de octubre de 2014 a octubre 2015. Los colores indican el estadio gonádico: naranja indica ovogénesis, verde madurez, azul desove y gris post-desove.

## Capítulo 4

---

### 4. Discusión

*Isostichopus fuscus* se distribuye desde el interior del GC hasta el Ecuador, incluyendo las Islas Galápagos (Deichmann, 1958), a pesar de los esfuerzos realizados para su conservación sigue siendo una especie altamente amenazada. *I. fuscus* se encuentra altamente explotado en BC por su alto valor comercial, por lo cual estudiar su biología es indispensable para poder llevar a cabo un manejo sustentable de la especie. Este estudio es de vital importancia, por ser el primer estudio realizado en el límite norte de la distribución de *I. fuscus*, así como en incorporar la influencia de factores ambientales asociados a su ciclo reproductivo en la región.

Para este estudio los pepinos de mar café provenientes de la costa oriental de BC registraron una longitud y peso promedio de 25.03 cm y 477.11 g respectivamente, medidas mayores a lo observado para la especie por Herrero-Pérezrul (1994) y Nuño-Hermosillo (2003) en México y por Toral-Granda y Martínez (2007) en Ecuador. Sin embargo, en comparación con otras especies de aspidoquirotas de valor comercial pueden considerarse medidas pequeñas. Conand (1990) menciona que *Holothuria scabra*, *H. nobilis* y *H. fuscogilva* especies aspidoquirotas de alto valor comercial tiene longitudes mayores a 28 cm y pesos superiores a 900 g. En el ámbito pesquero y comercial, toma importancia ya que durante el proceso de deshidratación se pierde hasta el 90% del peso corporal (Herrero-Pérezrul, 1994).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el sexo y la longitud o peso, lo que concuerda con lo encontrado por Herrero-Pérezrul (1994). Sin embargo, la misma autora menciona que las hembras son abundantes en los pesos menores al promedio, mientras que en este estudio las hembras son más abundantes en pesos superiores al promedio, lo cual difiere de lo encontrado en otros holoturioideos (Colwin, 1948; Costelloe, 1985; Tuwo y Conand, 1992). Suponemos que esto se debe a que la mayoría de las hembras que superaban el peso promedio se encontraban en estadios de desarrollo gonadal.

En la relación peso-longitud, los parámetros  $a$  y  $b$  tienen un significado biológico. Se asume que  $a$  es el factor de condición y que su variación puede explicar fluctuaciones en el peso, debidas a la cantidad de contenido estomacal, estadios de madurez y aspectos fisiológicos de los individuos en determinadas épocas de su ciclo de vida; y  $b$  es un factor de isometría de los individuos (Safran, 1992). En el caso de holoturoideos el 35% del peso total corresponde a partes blandas (viseras y gónadas) y agua, por lo cual la relación peso-longitud puede verse afectada por la cantidad de agua absorbida o expulsada por estos organismos al momento de manipularlos (Fajardo-León, *et al.*, 1995)

Las magnitudes de los parámetros  $a$  y  $b$  (0.18 y 2.4 respectivamente) son similares a lo obtenido por Fajardo-León, *et al.* (1995) y Herrero-Pérezrul y Reyes-Bonilla (2008) ( $a=0.60$  y  $b=1.6$ ;  $a=1.6$  y  $b=1.8$  respectivamente) para *I. fuscus*. Las diferencias entre las relaciones pueden estar asociadas al ciclo reproductor, la localización entre otros factores. Se asume que, al igual que lo encontrado anteriormente, el crecimiento de *I. fuscus* es alométrico.

Toral-Granda *et al.* (2003) considera organismos juveniles aquellos que se encuentran por debajo de los 150 g y Nuño-Hermosillo (2003) menciona que en el mes de julio observó reclutamiento al tener organismos menores de 13 cm de longitud, siguiendo estos criterios podemos señalar que al menos 6% de la población muestreada se encontraba en etapa juvenil y que el proceso de reclutamiento en la región se lleva a cabo en el mes de enero. Tomando en cuenta que los organismos pequeños se encontraban entre los 8 y 12 cm de longitud o 1 año de edad podemos suponer que fueron producto de la reproducción del año anterior.

En BCS se calculó talla de primera madurez a los 5 años o 21 cm de longitud total (Herrero-Pérezrul y Chávez, 2005; Herrero-Pérezrul y Reyes-Bonilla, 2008). En este estudio se encontraron organismos maduros entre los 16 y 18 cm, que corresponde a una edad estimada de entre 2 y 3 años. Sin embargo, es entre los 4 y 5 años de vida cuándo el 50% de la población se encuentra activa reproductivamente.

Lawrence (1987) menciona que los organismos gonocóricos presentan una proporción sexual 1:1, esta proporción es característica de especies con reproducción sexual (Hamel y Mercier, 1996a; Pennington, 1985) Diversos autores han estudiado la proporción 1:1 en holoturoideos, históricamente especies como *Actinopyga echinites* (Conand, 1982), *Aslia lefevrei* (Costelloe, 1985), *Holothuria forskali* (Tuwo y Conand, 1992), *Parastichopus californicus* (Cameron y Fankboner, 1986), *A. mauritiana*, *H. nobilis*, *H. fuscogilva*, *H. fuscopunctata*, *H. scabra*, *Thelenota ananas*, *Stichopus variegatus* (Conand, 1993b), *Psoplus fabricii* (Hamel, et al., 1993), *Cucumaria frondosa* (Hamel y Mercier, 1996b), *P. parvimensis* (Fajardo-León, et al., 2008; Tapia Vázquez, et al., 1996), *H. fuscogilva* (Ramofafia, et al., 2000), *A. mauritiana* (Ramofafia, et al., 2001), *H. scabra* (Ramofafia, et al., 2003), *I. badionotus*, *H. mexicana* (Guzmán, et al., 2003), *H. whitmaei* (Shiell y Uthicke, 2006), *H. spinifera* (Asha y Muthiah, 2008), *H. glaberrima* (Ortiz-Gómez, 2011), *H. fuscocinerea* (Benítez-Villalobos et al., 2013; Gutiérrez-Méndez, 2011) y *H. sanctori* (González-Navarro et al., 2012) han presentado un proporción no significativamente diferente de 1:1. Sin embargo esta proporción ha diferido en especies tales como *H. arenacava* (Muthiga, 2006), *H. scabra* (Muthiga, et al., 2009), *Bohadschia vitiensis* (Omar, et al., 2013) y *H. forskali* (Santos, et al., 2015).

Para *I. fuscus* las evidencias sobre la proporción de sexos son contradictorias. Herrero-Pérezrul, et al. (1999) en un total de 243 organismos obtuvo 78 hembras y 64 en BCS, por otro lado Nuño-Hermosillo (2003) obtuvo en un total de 164 organismo 79 hembras y 89 machos en Jalisco. La proporción sexual 1:1 en estos estudios no varía significativamente. Por su parte Toral-Granda y Martínez (2007) de 299 organismos 131 fueron hembras y 168 machos, señalando que la proporción 1:1 no se cumple en las Islas Galápagos, Ecuador. Para este estudio de 162 gónadas, nueve fueron hermafroditas, 93 hembras y 60 machos, por lo cual la proporción de sexos difiere de 1:1 al analizar el conjunto de los datos del año de muestreo lo que concuerda con lo encontrado en Ecuador por Toral-Granda y Martínez (2007).

Al analizar los meses por separado la proporción de sexos no difiere de una proporción 1:1. Tapia Vázquez, et al. (1996) y Nuño-Hermosillo (2003) observaron que la proporción sexual varía para *P. parvimensis* e *I. fuscus* según el mes de muestreo. Conjeturamos que la diferencia entre la proporción sexual anual y mensual se debe a los puntos y meses de muestreo, así como a la disponibilidad de alimento y TSM. “La proporción sexual encontrada por Tapia y Castro indica que durante el proceso reproductor y el desove existe una relación 1:1, lo que indica agregación de reproductores” (Tapia Vázquez, et al., 1996) Esta proporción se observó en este estudio para los estadios de madurez y desove.



Otro punto a destacar en este trabajo es el relativo alto porcentaje de hermafroditismo encontrado (3%). El hermafroditismo simultáneo es un fenómeno en el cual gametos masculinos y femeninos son producidos por el mismo organismo en un mismo tiempo. Si bien este es un fenómeno ampliamente estudiado en vertebrados e invertebrados de diversas especies (Avisé, 2011), son inciertas las razones por las que se presentan en organismos gonocóricos. Se ha sugerido que además de factores genéticos, el hermafroditismo se ve influenciado por contaminantes y sobrepesca en organismos marinos (Ghiselin, 1969).

En el caso de holoturoideos este es el séptimo caso reportado y el tercero para *I. fuscus* (ver anexo Tabla 12), siendo éste el de mayor número de organismos hermafroditas reportados. De los 264 organismos sexados 9 fueron hermafroditas, si bien no es un porcentaje alto (3%) supera al encontrado por Herrero-Pérezruel, *et al.* (1998) en BCS (2 de 173 organismo 1.16%) y por Nuño-Hermosillo (2003) en Jalisco (1 de 165 organismos 0.61%).

Este es el primer registro de hermafroditismo para la zona norte del golfo de California. Los organismos hermafroditas se localizaron en el sitio San Luis Gonzaga, zona de influencia minera y con presencia de metales pesados y pesticidas (Servicio-Geológico-Mexicano, 1999; Servicio-Geológico-Mexicano, 2003). A pesar de que el margen occidental del golfo de California es una región caracterizada por su escasa actividad antropogénica, la resuspensión de material sedimentario, la actividad minera y los procesos de mezcla por surgencias han sido reconocidos como las principales fuentes de metales pesados en la región. Se han detectado concentraciones altas de Mn, Al, Zn, Cd y Cu en Mejillones de la parte norte del golfo de California (Gutiérrez-Galindo *et al.*, 1999) y se sabe que metales pesados y metaloides afectan el sistema endócrino, la función reproductora y procesos biológicos (Avisé, 2011). Suponemos que la presencia de metales y pesticidas afecta de manera directa la función reproductora de *I. fuscus* en el sitio, provocando la presencia de hermafroditismo.

Los cortes de los tejidos hermafroditas se encontraban en segmentos de hembras y machos; en las hembras predominó el estadio desove y en machos gametogénesis. Se sabe que en casos de especies dioicas sobreexplotadas se incrementa el porcentaje de hermafroditas (Borgia y Blick, 1981; Ghiselin, 1969), *I. fuscus* es una especie altamente explotada en la región. Suponemos que la presencia de actividad minera, de químicos y la intensa presión de pesca influyen en el aumento de organismos hermafroditas de *I. fuscus*.

Se observaron y describieron los cinco estadios de desarrollo gonádico anteriormente clasificados para otras especies de holoturoideos (Conand, 1982), e *I. fuscus* (Fajardo-León, et al., 1995). Para este estudio se catalogan nuevamente los estadios para una clasificación más acorde, quedando: I) indiferenciado, II) gametogénesis (ovogénesis y espermatogénesis), III) madurez, IV) expulsión (desove y eyaculación) y V) post-expulsión (post-desove y post-eyaculación).

En el área de estudio *I. fuscus* exhibe un ciclo anual de reproducción sincrónico entre sexos, esto se ha observado en otros holoturoideos y en *I. fuscus* en regiones tropicales (Conand, 1982; Fajardo-León, et al., 1995; Tapia Vázquez, et al., 1996). Sin embargo la misma especie puede presentar un ciclo continuo de reproducción y desoves mensuales (Toral-Granda y Martínez, 2007), dichas diferencias están relacionadas a las condiciones ambientales presentes en cada región. Los organismos de *I. fuscus* para este estudio presentaron una asincronía en el desarrollo gametogénico, es decir, se observan simultáneamente la presencia de diferentes estadios gonádicos, Nuño-Hermosillo (2003) observó el mismo patrón asincrónico en Jalisco para la especie.

En Ecuador *I. fuscus* exhibe una periodicidad lunar de desove, efectuándose de 1 a 4 días después de la luna nueva (Mercier, et al., 2007). Al contrario de lo observado por dichos autores, *I. fuscus* en la región de estudio no muestra relación entre las fases lunares y el desarrollo gametogénico, suponemos que esto se debe a que en BC aspectos ambientales tales como fotoperiodo, temperatura y disponibilidad de alimento muestran mayor variación, a las condiciones ambientales observadas en Ecuador.

El desarrollo gonádico da inicio en el mes de marzo, observándose el mayor porcentaje gametogénico entre abril y julio coincidiendo con el incremento de temperatura en la región, distintos autores han encontrado que el proceso gametogénico está altamente relacionado con el aumento de la temperatura para holoturoideos (Drumm y Loneragan, 2005; Guzmán, et al., 2003; Hamel, et al., 1993; Hamel y Mercier, 1995; Muthiga, et al., 2009; Nuño-Hermosillo, 2003; Omar, et al., 2013; Ramofafia, et al., 2000; Ramofafia, et al., 2001). El proceso gametogénico en hembras empieza un mes antes que en machos, probablemente coincidiendo con el pico de Chl *a* un mes anterior y debido al gasto energético necesario para llevar a cabo dicho proceso. Herrero-Pérezrul (1994) encontró que en BCS las hembras comienzan el proceso gametogénico un mes antes que los machos.

La expulsión de gametos ocurre de junio a noviembre, observándose el mayor porcentaje de expulsión entre agosto y septiembre coincidiendo con las temperaturas más altas en la región. La relación entre desove y temperatura se ha estudiado para *I. fuscus* en BCS (Fajardo-León, *et al.*, 1995; Herrero-Pérezrul, *et al.*, 1999) y en Bahía Chamela (Nuño-Hermosillo, 2003), *H. fuscogilva* (Ramofafia, *et al.*, 2000) y *A. mauritiana* (Ramofafia, *et al.*, 2001) en las islas Solomon y *H. leucospilota* en las islas Cook (Drumm y Loneragan, 2005), siendo la temperatura el detonante de la expulsión para estas especies. Nuño-Hermosillo (2003) menciona que la expulsión se observa cuando hay un descenso de la temperatura, patrón que se observa también en BC. (Guzmán, *et al.*, 2003) encontró que para *I. badionotus* y *H. mexicana* la reducción de salinidad es un factor que puede inducir el proceso de expulsión, en la región la variación de la salinidad es tan poco que no afecta el desarrollo gametogénico. En la región los estadios de *I. fuscus* se observan en estaciones definidas, estadios de madurez y desove predominan en meses cálidos, mientras que estadios indiferenciados y de post-desove predominan en meses fríos.

Hamel, *et al.* (1993) observó que para *P. fabricii* el factor principal que induce el desove es el incremento del fitoplancton, mientras que en este estudio para *I. fuscus* se observa que la concentración de Chl *a* es un factor que induce el proceso gametogénico.

Nuño-Hermosillo (2003) menciona que en Bahía Chamela, Jalisco *I. fuscus* puede presentar un régimen reproductivo anual, con una extensión temporal del ciclo reproductivo influenciado por la temperatura superficial del mar. Creemos que en BC *I. fuscus* también tiende a mostrar cierta extensión temporal, ya que el desarrollo, crecimiento y madurez gonadal se observó prácticamente todo el año y el periodo de muestreo resultó ser positivamente anómalo en relación a la TSM y la concentración de Chl *a*. La mayoría de los estudios concuerdan en el hecho de que el desarrollo gonádico y la reproducción de la clase Holothuroidea coincide con las altas temperaturas, la disponibilidad de alimento y la duración del fotoperiodo (Drumm y Loneragan, 2005; Fajardo-León, *et al.*, 1995; Fajardo-León, *et al.*, 2008; Galley *et al.*, 2008; Guzmán, *et al.*, 2003; Hamel, *et al.*, 1993; Hamel y Mercier, 1995; Herrero-Pérezrul, 1994; Herrero-Pérezrul, *et al.*, 1999; Morgan y Neal, 2012; Morgan, 2000; Muthiga, 2006; Muthiga, *et al.*, 2009; Nuño-Hermosillo, 2003; Omar, *et al.*, 2013; Ramofafia, *et al.*, 2000; Ramofafia, *et al.*, 2001).

Los valores encontrados para el diámetro teórico de los ovocitos fluctúan entre 8.93  $\mu\text{m}$  y 119.83  $\mu\text{m}$ , valores encontrados para otros holoturoideos (Conand, 1982; Herrero-Pérezrul, 1994). Costelloe (1985) menciona que los valores promedios de *A. lefevrei* son de 40 a 220  $\mu\text{m}$  en ovogénesis, 250 a 340  $\mu\text{m}$  en estadios de madurez y desove, mientras que en post-desove fluctúan entre 20 a 40  $\mu\text{m}$ . Herrero-Pérezrul (1994) encontró valores promedio de 20  $\mu\text{m}$  en ovogénesis, 100  $\mu\text{m}$  para madurez y desove y 93  $\mu\text{m}$  en post-desove. Los valores promedio para este estudio son  $66.03 \pm 17.88$   $\mu\text{m}$  en ovogénesis,  $73.87 \pm 14.67$   $\mu\text{m}$  en madurez,  $60.48 \pm 20.86$   $\mu\text{m}$  en desove y  $49.18 \pm 20.69$   $\mu\text{m}$  en post-desove. Consideramos que estas variaciones se deben tanto al método de fijación que tiende a fragmentar las células, como al método de medición. En este estudio se utilizó la fórmula del DTO para intentar disminuir el sesgo ocasionado por los métodos de fijación utilizados.

## Capítulo 5

---

### 5. Conclusión

- Los organismos de *I. fuscus* provenientes de la costa oriental de BC son relativamente más grandes que lo anteriormente registrado en las costas mexicanas.
- Se encontraron organismos sexualmente maduros de *I. fuscus* desde 16 cm de longitud. Sin embargo, no se recomienda su extracción sino hasta mínimo los 26 cm de longitud, que es cuando el 50% de los organismos se encontraban sexualmente maduros.
- Para *I. fuscus* en la región oriental de BC la proporción de sexos 1:1 no se cumplió para todo el año, siendo las hembras más abundantes que los machos. Sin embargo, mensualmente la proporción sexual no difirió de 1:1.
- Se registraron los primeros nueve casos de hermafroditismo de *I. fuscus* para la zona norte del golfo de California. Todos los organismos hermafroditas se encontraron en Bahía San Luis Gonzaga.
- Se catalogan cinco estadios de desarrollo gonádico: I) indiferenciado, II) gametogénesis (ovogénesis y espermatogénesis), III) madurez, IV) expulsión (desove y eyaculación) y V) post-expulsión (post-desove y post-eyaculación).
- En BC *I. fuscus* exhibe un ciclo anual de reproducción sincrónico entre sexos y una asincronía en el desarrollo gametogénico.
- Se determinó la duración de los estadios de desarrollo gonádico:
  - Indiferenciado: se presentó casi todo el año de muestreo, con excepción de los meses de agosto y septiembre.
  - Gametogénesis: se presentó de marzo a octubre.
  - Madurez: se presentó en los meses de abril a noviembre.

- Expulsión: se presentó en los meses de junio a noviembre.
  - Post- expulsión: se presentó casi todo el año, con excepción de los meses de enero y febrero.
  - El pico gametogénico ocurre entre abril y julio coincidiendo con el incremento de temperatura en la región.
- 
- Las hembras comienzan el desarrollo gametogénico un mes antes que los machos, observándose un desfase con el pico de Chl  $a$  un mes anterior.
  - El mayor porcentaje de expulsión de gametos ocurre entre agosto y septiembre coincidiendo con las temperaturas más altas en la región.
  - En BC *I. fuscus* puede mostrar un ciclo reproductivo prolongado, presumiblemente por influencia de la TSM y la concentración de Chl  $a$ .

## Lista de referencias

- Álvarez-Borrego, S. (2008). Oceanografía de la región de las grandes islas. In Danemann, G. D. y Ezcurra, E. (Eds.), *Bahía de los Ángeles: recursos naturales y comunidad: línea base 2007*: Instituto Nacional de Ecología.
- Álvarez-Borrego, S. (2010). Physical, chemical, and biological oceanography of the Gulf of California. *The Gulf of California: biodiversity and conservation*. University Arizona Press, Arizona, 24-48.
- Álvarez-Borrego, S. y Schwartzlose, R. (1979). Water Masses Of The Gulf Of California. *Ciencias Marinas*, 6(1), 43-63.
- Álvarez-Sánchez, L. G., Badan-Dangon, A. y Robles, J. M. (1984). Lagrangian observations of near-surface currents in Canal de Ballenas. *CalCOFI Rep*, 25, 35-42.
- Asha, P. y Muthiah, P. (2005). Effects of temperature, salinity and pH on larval growth, survival and development of the sea cucumber *Holothuria spinifera* Theel. *Aquaculture*, 250(3), 823-829.
- Asha, P. y Muthiah, P. (2008). Reproductive biology of the commercial sea cucumber *Holothuria spinifera* (Echinodermata: Holothuroidea) from Tuticorin, Tamil Nadu, India. *Aquaculture International*, 16(3), 231-242.
- Avendaño-Ceceña, L. (2007). *Bases para el manejo de la pesquería del pepino de mar (Isostichopus fuscus) en Bahía de los Ángeles, Baja California, México*. Maestría Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada.
- Awise, J. C. (2011). *Hermaphroditism: a primer on the biology, ecology, and evolution of dual sexuality*: Columbia University Press.
- Bancroft, J. D., Cook, H. C. y Turner, D. R. (1988). *Manual of histological techniques*: Churchill Livingstone.
- Battaglione, S. C., Seymour, J. E., Ramofafia, C. y Lane, I. (2002). Spawning induction of three tropical sea cucumbers, *Holothuria scabra*, *H. fuscogilva* and *Actinopyga mauritiana*. *Aquaculture*, 207(1), 29-47.
- Beier, E. (1997). A numerical investigation of the annual variability in the Gulf of California. *Journal of Physical Oceanography*, 27(5), 615-632.
- Bell, J. D., Purcell, S. W. y Nash, W. J. (2008). Restoring small-scale fisheries for tropical sea cucumbers. *Ocean & Coastal Management*, 51(8), 589-593.
- Benítez-Villalobos, F., Avila-Poveda, O. H. y Gutiérrez-Méndez, I. S. (2013). Reproductive biology of *Holothuria fuscocinerea* (Echinodermata: Holothuroidea) from Oaxaca, Mexico. *Sexuality and Early Development in Aquatic Organisms*, 1, 13-24.
- Borgia, G. y Blick, J. (1981). Sexual competition and the evolution of hermaphroditism. *Journal of theoretical biology*, 89(3), 523-532.
- Brusca, R. C. y Brusca, G. J. (2002). *Invertebrates* (2 ed ed.): Sinauer Associates Incorporated.

- Brusca, R. C., Findley, L. T., Hastings, P. A., Hendrickx, M. E., Torre-Cosio, J. y Van Der Heiden, A. M. (2005). Macrofaunal diversity in the Gulf of California. *Biodiversity, ecosystems, and conservation in Northern Mexico*, 179.
- Calderon-Aguilera, L. E., Aragón-Noriega, E. A., Morales-Bojórquez, E., Alcántara-Razo, E. y Chávez-Villalba, J. (2014). Reproductive cycle of the geoduck clam *Panopea generosa* at its southernmost distribution limit. *Marine Biology Research*, 10(1), 61-72.
- Calderon-Aguilera, L. E., Aragón-Noriega, E. A., Reyes-Bonilla, H., Paniagua-Chavez, C. G., Romo-Curiel, A. E. y Moreno-Rivera, V. M. (2010). Reproduction of the Cortes geoduck *Panopea globosa* (Bivalvia: Hiatellidae) and its relationship with temperature and ocean productivity. *Journal of Shellfish Research*, 29(1), 135-141.
- Cameron, J. L. y Fankboner, P. V. (1986). Reproductive biology of the commercial sea cucumber *Parastichopus californicus* (Stimpson)(Echinodermata: Holothuroidea). I. Reproductive periodicity and spawning behavior. *Canadian Journal of Zoology*, 64(1), 168-175.
- Caso, M. (1961). Los equinodermos de México. *Universidad Nacional Autonoma de México, Facultad de Ciencias*, 123.
- Colwin, L. H. (1948). Note on the spawning of the holothurian, *Thyone briareus* (Lesueur). *The Biological Bulletin*, 95(3), 296-306.
- Conand, C. (1982). *Reproductive cycle and biometric relations in a population of Actinopyga echinites (Echinodermata: Holothuroidea) from the lagoon of New Caledonia, western tropical Pacific*. Paper presented at the International Echinoderm Conference, Belkema, Rotterdam.
- Conand, C. (1990). *The Fishery Resources of Pacific Island Countries: Part 2 Holothurians*: Food & Agriculture Org.
- Conand, C. (1993a). Ecology and reproductive biology of *Stichopus variegatus* an Indo-Pacific coral reef sea cucumber (Echinodermata: Holothuroidea). *Bulletin of marine science*, 52(3), 970-981.
- Conand, C. (1993b). Reproductive biology of the holothurians from the major communities of the New Caledonian Lagoon. [journal article]. *Marine Biology*, 116(3), 439-450. doi: 10.1007/bf00350061
- Conand, C. y Bryne, M. (1993). A review of recent developments in the world sea cucumber fisheries. *Marine Fisheries Review*, 55(4), 1-13.
- Conde, J. E., Sambrano, A. y Díaz, H. (1995). *Sedimentivorous activity, density and spatial distribution of the deposit-feeding holothurians Holothuria mexicana Ludwig and Isostichopus badionotus Selenka*. Manuscrito, Caracas, Distrito Federal, Venezuela. .
- Costelloe, J. (1985). The annual reproductive cycle of the holothurian *Aslia lefevrei* (Dendrochirota: Echinodermata). *Marine Biology*, 88(2), 155-165.
- De la Fuente-Betancourt, M., de Jesús-Navarrete, A., Sosa-Cordero, E. y Herrero-Pérezrul, M. D. (2001). Assessment of the sea cucumber (Echinodermata: Holothuroidea) as potential fishery resource in Banco Chinchorro, Quintana Roo, Mexico. *Bulletin of marine science*, 68(1), 59-67.
- Deichmann, E. (1958). *The Holothuroidea collected by the Velero III during the years 1932 to 1938*: University of Southern California Press.

- Diario Oficial de la Federación. (2002). *Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001, Protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestres-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-lista de especies en riesgo.*
- Drumm, D. J. y Loneragan, N. R. (2005). Reproductive biology of *Holothuria leucospilota* in the Cook Islands and the implications of traditional fishing of gonads on the population. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 39(1), 141-156.
- Engstrom, N. A. (1980). Reproductive cycles of *Holothuria* (*Halodeima*) *floridana*, *H. (H.) mexicana* and their hybrids (Echinodermata: Holothuroidea) in southern Florida, USA. *International Journal of Invertebrate Reproduction*, 2(4), 237-244.
- Epherra, L., Gil, D. G., Rubilar, T., Perez-Gallo, S., Reartes, M. B. y Tolosano, J. A. (2015). Temporal and spatial differences in the reproductive biology of the sea urchin *Arbacia dufresnii*. *Marine and Freshwater Research*, 66(4), 329-342.
- Fajardo-León, M., Michel-Guerrero, E., Singh-Cabanillas, J., Vélez-Barajas, J. A. y Massó-Rojas, J. A. (1995). Estructura poblacional y ciclo reproductor del pepino de mar *Isostichopus fuscus* en Santa Rosalía, BCS, México. *Ciencia Pesquera*, 11, 45-53.
- Fajardo-León, M., Suárez-Higuera, M., del Valle-Manríquez, A. y Hernández-López, A. (2008). Reproductive biology of the sea cucumber *Parastichopus parvimensis* (Echinodermata: Holothuroidea) at Isla Natividad and Bahía Tortugas, Baja California Sur, México. *Ciencias Marinas*, 34(2), 165-177.
- . © FAO 2006-2016. Fisheries and aquaculture software. FISAT II - FAO-ICLARM Stock Assessment Tool. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]. Rome. Updated 28 November 2013. <http://www.fao.org/fishery/topic/16072/en>.
- Fernández-Rivera Melo, F. J., Hernández-Velasco, A., Luna, A., Lejbowicz, A. y Sáenz-Arroyo, A. (2012). *Protocolo de Monitoreo para reservas marinas del Golfo de California*.: Comunidad y Biodiversidad A.C. Programa Península de Baja California. La Paz, BCS, México.
- Galley, E., Tyler, P., Smith, C. y Clarke, A. (2008). Reproductive biology of two species of holothurian from the deep-sea order Elaspoda, on the Antarctic continental shelf. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 55(22), 2515-2526.
- Garrido, M., Haroun, R. y Lessios, H. (2000). Annual reproductive periodicity of the sea urchin *Diadema antillarum* Philippi in the Canary Islands. *Bulletin of Marine Science*, 67(3), 989-996.
- Gayanilo, F., Sparre, P. y Pauly, P. (1997). *FISAT: FAO-ICLARM stock assessment tools. User's manual*: FAO.
- Ghiselin, M. T. (1969). The evolution of hermaphroditism among animals. *Quarterly Review of Biology*, 189-208.
- Ghobadyan, F., Morovvati, H., Ghazvineh, L. y Tavassolpour, E. (2012). An investigation of the macroscopic and microscopic characteristics of gonadal tubules in the sea cucumber *Holothuria leucospilota* (Persian Gulf, Iran). *SPC Beche-de-mer Information Bulletin*(32), 6-14.

- González-Navarro, P. (2012). *Biología y ecología de las holoturias [Echinodermata: Holothuroidea] de la isla de Gran Canaria (Atlántico Centro-Oriental)*. Doctorado en Ciencias del Mar, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, España.
- González-Navarro, P., García-Sanz, S. y Tuya, F. (2012). Reproductive biology of the sea cucumber *Holothuria sanctori* (Echinodermata: Holothuroidea).
- González, R. M., Moguel, C. Z., Bolio, M. C. y Canul, R. P. (2004). Concentración de Cd, Cr, Cu y Pb en sedimentos y en tres especies de pepino de mar (clase holothuroidea) de las costas del Estado de Yucatán, México. *Ingeniería*, 8(2), 7-19.
- Gooday, A. J. (2002). Biological responses to seasonally varying fluxes of organic matter to the ocean floor: a review. *Journal of Oceanography*, 58(2), 305-332.
- Gutiérrez-Galindo, E. A., Villaescusa-Celaya, J. A. y Arreola-Chimal, A. (1999). Bioacumulación de metales en Mejillones de cuatro sitios selectos de la región costera de Baja California. *Ciencias Marinas*, 25(4), 557-578.
- Gutiérrez-Méndez, I. S. (2011). *Biología reproductiva de Holothuria (Stauropora) fuscocinerea Jaeger, 1833 (Echinodermata: Holothuroidea) en Bahía La Entrega, Oaxaca, México*. Tesis de Licenciatura, Universidad del Mar, Puert Ángel, Oaxaca, México.
- Guzmán, H., Guevara, C. y Hernández, I. (2003). Reproductive cycle of two commercial species of sea cucumber (Echinodermata: Holothuroidea) from Caribbean Panama. *Marine Biology*, 142(2), 271-279.
- Hamel, J.-F., Himmelman, J. H. y Dufresne, L. (1993). Gametogenesis and spawning of the sea cucumber *Psolus fabricii* (Duben and Koren). *The Biological Bulletin*, 184(2), 125-143.
- Hamel, J.-F. y Mercier, A. (1995). Spawning of the sea cucumber *Cucumaria frondosa* in the St. Lawrence Estuary, eastern Canada. *Lawrence Estuary, eastern Canada. SPC Beche-de-mer Information Bulletin*, 7, 12-18.
- Hamel, J.-F. y Mercier, A. (1996a). Evidence of chemical communication during the gametogenesis of holothuroids. *Ecology*, 77(5), 1600-1616.
- Hamel, J.-F. y Mercier, A. (1996b). Gonad morphology and gametogenesis of the sea cucumber *Cucumaria frondosa*. *SPC Beche-de-Mer Information Bulletin*, 8, 22-33.
- Hammond, L. (1983). Nutrition of deposit-feeding holothuroids and echinoids (Echinodermata) from a shallow reef lagoon, Discovery Bay, Jamaica. *Marine Ecology Progress Series*, 10, 297-305.
- Herrero-Pérezrul, M. D. (1994). *Estudio comparativo de la reproducción de Isostichopus fuscus (Ludwig, 1875) y Neothyone gibbosa Deichmann, 1941 (Echinodermata: Holothuroidea), en la Bahía de La Paz, Baja California Sur, México*. Maestro en Ciencias, Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, México.
- Herrero-Pérezrul, M. D. y Chávez, E. A. (2005). Optimum fishing strategies for *Isostichopus fuscus* (Echinodermata: Holothuroidea) in the Gulf of California, Mexico. *Revista de biología tropical*, 53, 357.

- Herrero-Pérezrul, M. D. y Reyes-Bonilla, H. (2008). Weight-Length relationship and relative condition of the holothurian *Isostichopus fuscus* at Espíritu Santo Island, Gulf of California, México. *Rev. Biol. Trop*, 56(3), 273-280.
- Herrero-Pérezrul, M. D., Reyes-Bonilla, H. y García-Domínguez, F. (1998). Casual hermaphroditism in gonochoric *Isostichopus fuscus* (Ludwig, 1875)(Echinodermata: Holothuroidea) of the southern Gulf of California, Mexico. *Bulletin of marine science*, 63(3), 611-615.
- Herrero-Pérezrul, M. D., Reyes-Bonilla, H., García-Domínguez, F. y Cintra-Buenrostro, C. (1999). Reproduction and growth of *Isostichopus fuscus* (Echinodermata: Holothuroidea) in the southern Gulf of California, Mexico. *Marine Biology*, 135(3), 521-532.
- Himmelman, J. (1981). Synchronization of spawning in marine invertebrates by phytoplankton. *Advances in invertebrate reproduction*. Elsevier, Amsterdam, 3-19.
- Himmelman, J. H. (1975). Phytoplankton as a stimulus for spawning in three marine invertebrates. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 20(2), 199-214.
- Hmida, L., Ayache, N., Haouas, Z. y Romdhane, M. S. (2010). Oocyte cohort analysis: criteria for an evaluation of the reproductive cycle in *Solen marginatus* (Pennant, 1777),(Bivalvia: Solenacea) in southern Tunisia. *Journal of Shellfish Research*, 29(1), 129-134.
- Humason, G. L. (1962). *Animal Tissue Techniques*. United States of America: W. H. Freeman and Company.
- Kerr, A. M. (2000, 01 December 2000). Holothuroidea. Sea cucumbers, from <http://tolweb.org/Holothuroidea/19240/2000.12.01>
- Kerr, A. M. y Kim, J. (2001). Phylogeny of Holothuroidea (Echinodermata) inferred from morphology. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 133(1), 63-81.
- Keshavarz, M., Mohammadikia, D., Dabbagh, A.-R. y kamrani, E. (2012). Reproductive Biology of the Sea Cucumbers for Successful Breeding: a Review. *Journal of Animal Production Advances*, 2(5), 208-213.
- Krishnaswamy, S. y Krishnan, S. (1967). A report on the reproductive cycle of the holothurian *Holothuria scabra* Jaeger. *Current Science*, 36, 155-156.
- Lavín, M., Beier, E. y Badan, A. (1997). Estructura hidrográfica y circulación del Golfo de California: Escalas estacional e interanual. *Contribuciones a la Oceanografía Física en México*, 41-171.
- Lavín, M. y Marinone, S. (2003). An overview of the physical oceanography of the Gulf of California *Nonlinear processes in geophysical fluid dynamics* (pp. 173-204): Springer.
- Lavín, M. y Organista, S. (1988). Surface heat flux in the northern Gulf of California. *Journal of Geophysical Research: Oceans (1978–2012)*, 93(C11), 14033-14038.
- Lawrence, J. M. (1987). *A functional biology of echinoderms*: Johns Hopkins University Press.
- Lodeiros, C. J. y Himmelman, J. H. (1999). Reproductive cycle of the bivalve *Lima scabra* (Pterioidea: Limidae) and its association with environmental conditions. *Revista de Biología Tropical*, 47(3), 411-418.

- López, J., Rodríguez, C. y Carrasco, J. (2005). Comparación del ciclo reproductor de *Solen marginatus* (Pulteney, 1799)(Mollusca: Bivalvia) en las rías del Eo y Villaviciosa (Asturias, noroeste de España): relación con las variables ambientales. *Boletín. Instituto Español de Oceanografía*, 21(1-4), 317-327.
- Lovatelli, A. y Conand, C. (2004). *Advances in sea cucumber aquaculture and management*: Food & Agriculture Org.
- Marinone, S. y Lavín, M. (2003). Residual flow and mixing in the large islands region of the central Gulf of California *Nonlinear Processes in Geophysical Fluid Dynamics* (pp. 213-236): Springer.
- Mercier, A. y Hamel, J. (2013). 14 - Sea cucumber aquaculture: hatchery production, juvenile growth and industry challenges. In Allan, G. y Burnell, G. (Eds.), *Advances in Aquaculture Hatchery Technology* (pp. 431-454): Woodhead Publishing.
- Mercier, A., Ycaza-Hidalgo, R. y Hamel, J.-F. (2007). Long-term study of gamete release in a broadcast-spawning holothurian: predictable lunar and diel periodicities. *Marine ecology progress series*, 329, 179-189.
- Morgan, A. y Neal, L. (2012). Aspects of reproductive ecology and benthic–pelagic coupling in the sub-antarctic sea cucumber *Pseudostichopus mollis* (Theel). *Continental Shelf Research*, 43, 36-42.
- Morgan, A. D. (2000). Aspects of the reproductive cycle of the sea cucumber *Holothuria scabra* (Echinodermata: Holothuroidea). *Bulletin of Marine Science*, 66(1), 47-57.
- Moriarty, D. (1982). Feeding of *Holothuria atra* and *Stichopus chloronotus* on bacteria, organic carbon and organic nitrogen in sediments of the Great Barrier Reef. *Marine and Freshwater Research*, 33(2), 255-263.
- Muthiga, N. (2006). The reproductive biology of a new species of sea cucumber, *Holothuria* (Mertensiothuria) *arenacava* in a Kenyan marine protected area: the possible role of light and temperature on gametogenesis and spawning. *Marine Biology*, 149(3), 585-593.
- Muthiga, N., Kawaka, J. y Ndirangu, S. (2009). The timing and reproductive output of the commercial sea cucumber *Holothuria scabra* on the Kenyan coast. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 84(3), 353-360.
- Navarro, P. G., García-Sanz, S. y Tuya, F. (2013). Patrones de abundancia y talla de *Holothuria sanctori*, *Holothuria mammata* y *Holothuria arguinensis* (Echinodermata: Holothuroidea) en la isla de Gran Canaria, Atlántico oriental. *Revista de biología marina y oceanografía*, 48(2), 273-284.
- Nuño-Hermosillo, A. (2003). *Ecología poblacional, ciclo reproductivo e historia de la pesquería del pepino de mar Isostichopus fuscus* (Ludwig, 1875)(Echinodermata: Holothuroidea) en Bahía Chamela, Jalisco, México. Maestro en Ciencias, Universidad de Guadalajara, México.
- Omar, H., Abdel Razek, F., Abdel Rahman, S. y El Shimy, N. (2013). Reproductive periodicity of sea cucumber *Bohadschia vitiensis* (Echinodermata: Holothuroidea) in Hurghada area, Red Sea, Egypt. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 39, 115–123.

- Ortiz-Gómez, E. P. (2011). *Biología reproductiva del pepino de mar Holothuria (Selenkothuria) glaberrima Selenka, 1867 en Santa Marta, Colombia*. Maestro en Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Colombia.
- Paden, C. A., Winant, C. D. y Abbott, M. R. (1993). Tidal and atmospheric forcing of the upper ocean in the Gulf of California: 2. Surface heat flux. *Journal of Geophysical Research: Oceans (1978–2012)*, 98(C11), 20091-20103.
- Pelegrín-Morales, E., Siam-Lahera, C., Arencibia-Carballo, G. y Alvarez-Capote, J. S. (2009). Valoración de la Bahía de Cabañas para el cultivo de pepino de mar *Isostichopus badionotus* en Cuba. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 10(10), 1-9.
- Pennington, J. T. (1985). The ecology of fertilization of echinoid eggs: the consequences of sperm dilution, adult aggregation, and synchronous spawning. *The Biological Bulletin*, 169(2), 417-430.
- Purcell, S. W., Lovatelli, A., Vasconcellos, M. y Ye, Y. (2010). *Managing sea cucumber fisheries with an ecosystem approach*: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Purcell, S. W., Mercier, A., Conand, C., Hamel, J.-F., Toral-Granda, M. V., Lovatelli, A. y Uthicke, S. (2013). Sea cucumber fisheries: global analysis of stocks, management measures and drivers of overfishing. *Fish and Fisheries*, 14(1), 34-59. doi: 10.1111/j.1467-2979.2011.00443.x
- Ramofafia, C., Battaglione, S., Bell, J. y Byrne, M. (2000). Reproductive biology of the commercial sea cucumber *Holothuria fuscogilva* in the Solomon Islands. *Marine Biology*, 136(6), 1045-1056.
- Ramofafia, C., Byrne, M. y Battaglione, C. (2003). Reproduction of the commercial sea cucumber *Holothuria scabra* (Erchinodermata: Holothuroidea) in the Solomon Islands. *Marine Biology*, 142(2), 281-288.
- Ramofafia, C., Byrne, M. y Battaglione, S. (2001). Reproductive biology of the intertidal sea cucumber *Actinopyga mauritiana* in the Solomon Islands. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 81(03), 523-531.
- Robles, J. M. y Marinone, S. (1987). Seasonal and interannual thermohaline variability in the Guaymas Basin of the Gulf of California. *Continental Shelf Research*, 7(7), 715-733.
- Roden, G. I. (1958). Oceanographic and meteorological aspects of the Gulf of California. *Pac. Sci.*, 12, 21-45.
- Roden, G. I. (1964). Oceanographic aspects of Gulf of California. In Van Andel, T. H. y Jr., S. G. G. (Eds.), *Marine geology of the Gulf of California* (pp. 30-58). Tulsa, Oklahoma: American Association of Petroleum Geologists.
- Ruiz, C., Abad, M., Sedano, F., Garcia-Martin, L. y Lopez, J. S. (1992). Influence of seasonal environmental changes on the gamete production and biochemical composition of *Crassostrea gigas* (Thunberg) in suspended culture in El Grove, Galicia, Spain. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 155(2), 249-262.
- Safran, P. (1992). Theoretical analysis of the weight-length relationship in fish juveniles. *Marine Biology*, 112(4), 545-551.

- Santos, R., Dias, S., Pinteus, S., Silva, J., Alves, C., Tecelão, C., Pedrosa, R. y Pombo, A. (2015). Sea cucumber *Holothuria forskali*, a new resource for aquaculture? Reproductive biology and nutraceutical approach. *Aquaculture Research*, 1-17.
- Saout, C., Quéré, C., Donval, A., Paulet, Y.-M. y Samain, J.-F. (1999). An experimental study of the combined effects of temperature and photoperiod on reproductive physiology of *Pecten maximus* from the Bay of Brest (France). *Aquaculture*, 172(3), 301-314.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2002). Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001, protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestres-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-lista de especies en riesgo *Diario Oficial*, 6 de marzo del (Vol. 2002, pp. 1-56).
- Servicio-Geológico-Mexicano. (1999). Carta Geológico-Minera San Felipe, H11-3 Baja California y Sonora, Esc. 1: 250,000, from [http://portal.sgm.gob.mx/cartas\\_impresas/productos/cartas/cartas250/geologia/metadatos/san\\_felipe.html](http://portal.sgm.gob.mx/cartas_impresas/productos/cartas/cartas250/geologia/metadatos/san_felipe.html)
- Servicio-Geológico-Mexicano. (2003). Carta Geológico-Minera Ensenada, H11-2 Baja California, Esc. 1: 250,000, from [http://portal.sgm.gob.mx/cartas\\_impresas/productos/cartas/cartas250/geologia/metadatos/ensenada.html](http://portal.sgm.gob.mx/cartas_impresas/productos/cartas/cartas250/geologia/metadatos/ensenada.html)
- Sewell, M. A. y Bergquist, P. R. (1990). Variability in the reproductive cycle of *Stichopus mollis* (Echinodermata: Holothuroidea). *Invertebrate Reproduction & Development*, 17(1), 1-7.
- Shiell, G. R. y Uthicke, S. (2006). Reproduction of the commercial sea cucumber *Holothuria whitmaei* [Holothuroidea: Aspidochirotida] in the Indian and Pacific Ocean regions of Australia. *Marine Biology*, 148(5), 973-986.
- Smiley S., McEuen, F. S., Chaffee, C. y Krishan, S. (1991). Echinodermata: Holothuroidea. In Gise, A. C., Pears, J. S. y Pears, V. B. (Eds.), *Reproduction of marine invertebrates, echinodermata and lophophorates*. (Vol. VI). Boxwood Press, Pacific Grove: California, USA.
- Smirnov, A., Gebruk, A., Galkin, S. y Shank, T. (2000). New species of holothurian (Echinodermata: Holothuroidea) from hydrothermal vent habitats. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 80(02), 321-328.
- Solís-Marín, F., Arriaga-Ochoa, J., Laguarda-Figueras, A., Frontana-Urbe, S. y Durán-González, A. (2009). *Holoturoideos (Echinodermata: Holothuroidea) del Golfo de California*. México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad e Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM, México, DF.
- Soto-Mardones, L., Marinone, S. y Parés-Sierra, A. (1999). Variabilidad espariotemporal de la temperatura superficial del mar en el Golfo de California. *Ciencias Marinas*, 25(1), 1-30.
- Tagliafico, A., Rangel, M. S. y Rago, N. (2011). Distribución y densidad de dos especies de holoturoideos en la isla de Cubagua, Venezuela. *Revista de Biología Tropical*, 59, 843-852.

- Tapia Vázquez, O. M., Castro González, J. J. y Valles Ríos, H. (1996). Madurez gonádica del pepino de mar *Parastichopus parvimensis* en la costa occidental de Baja California, México, en 1994. *Ciencia Pesquera*(12).
- Tershy, B. R., Bréese, D. y Alvarez-Borrego, S. (1991). Increase in cetacean and seabird numbers in the Canal de Ballenas during an El Niño-Southern Oscillation event. *Marine ecology progress series. Oldendorf*, 69(3), 299-302.
- Therkildsen, N. O. y Petersen, C. W. (2006). A review of the emerging fishery for the sea cucumber *Cucumaria frondosa*: Biology, policy, and future prospects. *SPC Beche-de-mer Information Bulletin*, 23, 16-25.
- Toral-Granda, M., Martínez, P., Hearn, A. y Vega, S. (2003). Estado poblacional del pepino de mar (*Isostichopus fuscus*) en la Reserva Marina de Galápagos: Análisis comparativo de los años 1999–2002. *Fundación Charles Darwin/Servicio Parque Nacional Galápagos*, 38.
- Toral-Granda, M. V. y Martínez, P. C. (2007). Reproductive biology and population structure of the sea cucumber *Isostichopus fuscus* (Ludwig, 1875)(Holothuroidea) in Caamaño, Galápagos Islands, Ecuador. *Marine Biology*, 151(6), 2091-2098.
- Toral-Granda, V. (2008). Population status, fisheries and trade of sea cucumbers in Latin America and the Caribbean. *Sea cucumbers. A global review of fisheries and trade. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper*, 516, 213-229.
- Toral-Granda, V., Lovatelli, A. y Vasconcellos, M. (2008). *Sea cucumbers: a global review of fisheries and trade*: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Turrubiates-Morales, J. (2009). Registro geográfico del pepino de mar *Isostichopus fuscus* en Baja California Sur, México. *Ciencia Pesquera*, 17(1), 81-82.
- Tuwo, A. (1999). Reproductive cycle of the holothurian *Holothuria scabra* in Saugi Island, Spermonde archipelago, southwest Sulawesi, Indonesia. *INFOFISH International*, 6(97), 23-29.
- Tuwo, A. y Conand, C. (1992). Reproductive biology of the holothurian *Holothuria forskali* (Echinodermata). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 72(04), 745-758.
- Uthicke, S. (2001). Interactions between sediment-feeders and microalgae on coral reefs: grazing losses versus production enhancement. *Marine Ecology Progress Series*, 210, 125-138.
- Walker, B. W. (1960). The Distribution and Affinities of the Marine Fish Fauna of the Gulf of California. *Systematic Zoology*, 9(3/4), 123-133.
- Wigham, B., Tyler, P. y Billett, D. (2003). Reproductive biology of the abyssal holothurian *Amperima rosea*: an opportunistic response to variable flux of surface derived organic matter? *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 83(01), 175-188.
- Wolff, M., Schuhbauer, A. y Castrejón, M. (2012). A revised strategy for the monitoring and management of the Galapagos sea cucumber *Isostichopus fuscus* (Aspidochirotida: Stichopodidae). *Revista de Biología Tropical*, 60(2), 539-551.

## Anexos

**Tabla 11.-** Sitios visitados de octubre 2014 a octubre 2015 en la costa oriental de Baja California.

Zona	Localidad	Sitio	Punto	Nombre	Latitud ('N)	Longitud ('W)
1	San Felipe	San Luis Gonzaga	34	Choyudo	30.01659	-114.47334
1	San Felipe	San Luis Gonzaga	55	Gonzaga XIII	29.82324	-114.38438
1	San Felipe	San Luis Gonzaga	43	Gonzaga	29.82205	-114.38171
1	San Felipe	San Luis Gonzaga	44	Gonzaga II	29.81424	-114.37836
1	San Felipe	San Luis Gonzaga	45	Gonzaga III	29.80979	-114.38525
1	San Felipe	San Luis Gonzaga	46	Gonzaga IV	29.8082	-114.3893
1	San Felipe	San Luis Gonzaga	47	Gonzaga V	29.8082	-114.3893
1	San Felipe	San Luis Gonzaga	48	Gonzaga VI	29.80542	-114.3723
1	San Felipe	San Luis Gonzaga	49	Gonzaga VII	29.80541	-114.37229
1	San Felipe	San Luis Gonzaga	50	Gonzaga VIII	29.80502	-114.37206
1	San Felipe	San Luis Gonzaga	51	Gonzaga IX	29.77292	-114.3603
1	San Felipe	San Luis Gonzaga	52	Gonzaga X	29.76929	-114.28327
1	San Felipe	San Luis Gonzaga	16	Calamajué	29.769174	-114.2648
1	San Felipe	San Luis Gonzaga	26	Calamajué XI	29.76917	-114.2648
1	San Felipe	San Luis Gonzaga	53	Gonzaga XI	29.76771	-114.29079
1	San Felipe	San Luis Gonzaga	57	Gonzaga Hotel	29.76535	-114.34916
1	San Felipe	San Luis Gonzaga	56	Gonzaga XIV	29.76535	-114.34916
1	San Felipe	Calamajué	17	Calamajué II	29.76364	-114.24381
1	San Felipe	Calamajué	18	Calamajué III	29.74641	-114.21696

**Tabla 11.-** Sitios visitados de octubre 2014 a octubre 2015 en la costa oriental de Baja California (continuación).

Zona	Localidad	Sitio	Punto	Nombre	Latitud ('N)	Longitud ('W)
1	San Felipe	Calamajué	54	Gonzaga XII	29.74575	-114.30444
1	San Felipe	Calamajué	19	Calamajué IV	29.74499	-114.20729
1	San Felipe	Calamajué	20	Calamajué V	29.73476	-114.20097
1	San Felipe	Calamajué	21	Calamajué VI	29.72372	-114.19492
1	San Felipe	Calamajué	22	Calamajué VII	29.71199	-114.18283
1	San Felipe	Calamajué	25	Calamajué X	29.69392	-114.15261
1	San Felipe	Calamajué	23	Calamajué VIII	29.6797	-114.13541
1	San Felipe	Calamajué	24	Calamajué IX	29.65121	-114.10519
2	Bahía de los Ángeles	Punta Refugio - Norte Isla Ángel de la Guarda	80	Punta Refugio-NIAG	29.55383	-113.55936
2	Bahía de los Ángeles	Islote Norte Isla Ángel de la Guarda	59	Islote-NIAG	29.51307	-113.51359
2	Bahía de los Ángeles	Islote Norte Isla Ángel de la Guarda	68	Nido-NIAG	29.46143	-113.5864
2	Bahía de los Ángeles	Ballenitas Sur	7	Ballenitas Sur	29.37582	-113.5531
2	Bahía de los Ángeles	Chivero	32	Chivero	29.30278	-113.66092
2	Bahía de los Ángeles	Lobera	81	Punta Remedio	29.28569	-113.64108
2	Bahía de los Ángeles	Lobera	63	Lobera Sur	29.28183	-113.49023
2	Bahía de los Ángeles	Los Machos	64	Los Machos	29.24253333	-113.43025
2	Bahía de los Ángeles	Los Machos	65	Mancha Blanca	29.2036	-113.3961333
2	Bahía de los Ángeles	Los Machos	58	Guadalupe	29.19435	-113.63914
2	Bahía de los Ángeles	Los Machos	74	Prieto	29.19238333	-113.53945
2	Bahía de los Ángeles	Los Machos	116	Ventanilla	29.17218333	-113.355
2	Bahía de los Ángeles	Norte Bahía de los Ángeles	108	Statón	29.1567	-113.32343

**Tabla 11.-** Sitios visitados de octubre 2014 a octubre 2015 en la costa oriental de Baja California (continuación).

Zona	Localidad	Sitio	Punto	Nombre	Latitud ('N)	Longitud ('W)
2	Bahía de los Ángeles	Norte Bahía de los Ángeles	2	Alcatraz	29.15219	-113.60631
2	Bahía de los Ángeles	Norte Bahía de los Ángeles	67	Nido-NBLA	29.1521	-113.60645
2	Bahía de los Ángeles	Ballenitas Sur	7	Ballenitas Sur	29.37582	-113.5531
2	Bahía de los Ángeles	Chivero	32	Chivero	29.30278	-113.66092
2	Bahía de los Ángeles	Lobera	81	Punta Remedio	29.28569	-113.64108
2	Bahía de los Ángeles	Los Machos	64	Los Machos	29.24253333	-113.43025
2	Bahía de los Ángeles	Los Machos	116	Ventanilla	29.17218333	-113.355
2	Bahía de los Ángeles	Norte Bahía de los Ángeles	108	Statón	29.1567	-113.32343
2	Bahía de los Ángeles	Norte Bahía de los Ángeles	2	Alcatraz	29.15219	-113.60631
2	Bahía de los Ángeles	Norte Bahía de los Ángeles	67	Nido-NBLA	29.1521	-113.60645
2	Bahía de los Ángeles	Coronadito	28	Cantiles Norte	29.11842	-113.27734
2	Bahía de los Ángeles	Coronadito	29	Cantiles Sur	29.1183	-113.27754
2	Bahía de los Ángeles	Coronadito	82	Punta Víctor	29.11206	-113.27456
2	Bahía de los Ángeles	Coronadito	30	Cardón Norte	29.10682	-113.56641
2	Bahía de los Ángeles	Coronadito	31	Cardón Sur	29.10244	-113.56598
2	Bahía de los Ángeles	Coronadito	35	Coronadito Norte	29.09623	-113.5299
2	Bahía de los Ángeles	Coronadito	72	Polilla Norte	29.08983	-113.52647
2	Bahía de los Ángeles	Coronadito	72	Polilla Norte	29.08983	-113.52647
2	Bahía de los Ángeles	Coronadito	36	Coronaditos Sur	29.0777	-113.52125
2	Bahía de los Ángeles	Coronadito	71	Polilla Medio	29.07707	-113.5206
2	Bahía de los Ángeles	Coronadito	73	Polilla Sur	29.07643	-113.52039

**Tabla11.-** Sitios visitados de octubre 2014 a octubre 2015 en la costa oriental de Baja California (continuación).

<b>Zona</b>	<b>Localidad</b>	<b>Sitio</b>	<b>Punto</b>	<b>Nombre</b>	<b>Latitud ('N)</b>	<b>Longitud ('W)</b>
2	Bahía de los Ángeles	Coronadito	69	Paredes	29.07351	-113.55116
2	Bahía de los Ángeles	Ramita	66	Mitlán	29.06558	-113.51867
2	Bahía de los Ángeles	Ramita	77	Punta El Chino	29.06422	-113.23858
2	Bahía de los Ángeles	Ramita	117	Víbora Norte	29.06289	-113.09728
2	Bahía de los Ángeles	Ramita	118	Víbora Sur	29.06158	-113.0885
2	Bahía de los Ángeles	Ramita	60	La Gringa	29.06131667	-113.53945
2	Bahía de los Ángeles	Ramita	85	Ramita Norte	29.06098	-113.51264
2	Bahía de los Ángeles	Ramita	86	Ramita Sur	29.06098	-113.51264
2	Bahía de los Ángeles	Ramita	112	Tortuga	29.05177	-113.51384
2	Bahía de los Ángeles	Tijereta	110	Tijeretas Norte	29.03934	-113.49133
2	Bahía de los Ángeles	Tijereta	5	Animas Sur	29.03734	-113.49133
2	Bahía de los Ángeles	Tijereta	111	Tijeretas Sur	29.03727	-113.49003
2	Bahía de los Ángeles	Tijereta	27	Calavera	29.0274	-113.49908
2	Bahía de los Ángeles	Bahía de los Ángeles	11	Bota Norte	29.01648	-113.51512
2	Bahía de los Ángeles	Bahía de los Ángeles	87	Razito Norte	29.01522	-113.5058
2	Bahía de los Ángeles	Bahía de los Ángeles	88	Razito Sur	29.01467	-113.50617
2	Bahía de los Ángeles	Bahía de los Ángeles	12	Bota Sur	29.01021	-113.51296
2	Bahía de los Ángeles	Bahía de los Ángeles	79	Punta La Loba	29.00792	-113.15103
2	Bahía de los Ángeles	Bahía de los Ángeles	10	Borrego	29.00384	-113.52195
2	Bahía de los Ángeles	Bahía de los Ángeles	62	Llave	28.99941	-113.5198

**Tabla11.-** Sitios visitados de octubre 2014 a octubre 2015 en la costa oriental de Baja California (continuación).

Zona	Localidad	Sitio	Punto	Nombre	Latitud ('N)	Longitud ('W)
2	Bahía de los Ángeles	Bahía de los Ángeles	109	Sur Isla Ángel de la Guarda	28.99347	-113.12897
2	Bahía de los Ángeles	Bahía de los Ángeles	114	Ventana Norte	28.99262	-113.50784
2	Bahía de los Ángeles	Bahía de los Ángeles	14	Cabeza de Caballo Norte	28.96835	-113.475
2	Bahía de los Ángeles	Bahía de los Ángeles	15	Cabeza de Caballo Sur	28.96739	-113.48176
2	Bahía de los Ángeles	Bahía de los Ángeles	13	Cabeza de Caballo Medio	28.96655	-113.47687
2	Bahía de los Ángeles	Bahía de los Ángeles	41	Gemelos II Norte	28.95719	-113.42533
2	Bahía de los Ángeles	Bahía de los Ángeles	75	Puerto Don Juan	28.95672	-113.43903
2	Bahía de los Ángeles	Bahía de los Ángeles	39	Gemelos I Norte	28.95568	-113.4828
2	Bahía de los Ángeles	Bahía de los Ángeles	42	Gemelos II Sur	28.95553	-113.47539
2	Bahía de los Ángeles	Bahía de los Ángeles	3	Animas Norte	28.950528	-113.560167
2	Bahía de los Ángeles	Bahía de los Ángeles	78	Punta Herradura	28.94627	-113.47877
2	Bahía de los Ángeles	Bahía de los Ángeles	40	Gemelos I Sur	28.94615	-113.42908
2	Bahía de los Ángeles	Bahía de los Ángeles	83	Quemado Norte	28.94545	-113.42451
2	Bahía de los Ángeles	Bahía de los Ángeles	70	Pescador	28.94048333	-113.3880333
2	Bahía de los Ángeles	Bahía de los Ángeles	84	Quemado Sur	28.93361667	-113.42315
2	Bahía de los Ángeles	Bahía de los Ángeles	1	Alacrán	28.90668333	-113.3716333
2	Bahía de los Ángeles	Vaquilla	113	Vaquilla	28.87315	-113.35728
2	Bahía de los Ángeles	Vaquilla	106	Soldado Norte	28.87201	-113.3601
2	Bahía de los Ángeles	Coyote	76	Punta Choros	28.83937	-113.24856
2	Bahía de los Ángeles	Coyote	33	Choros Sur	28.83576	-113.23632
2	Bahía de los Ángeles	Coyote	37	Coyote	28.83142	-113.27383

**Tabla11.-** Sitios visitados de octubre 2014 a octubre 2015 en la costa oriental de Baja California (continuación).

Zona	Localidad	Sitio	Punto	Nombre	Latitud ('N)	Longitud ('W)
2	Bahía de los Ángeles	Coyote	4	Animas Norte II	28.82567	-113.35779
2	Bahía de los Ángeles	Coyote	115	Ventana Sur	28.8192	-113.21543
2	Bahía de los Ángeles	Coyote	38	Garanón	28.81589	-113.29562
2	Bahía de los Ángeles	Coyote	107	Soldado Sur	28.814917	-113.349417
2	Bahía de los Ángeles	San Lorenzo	89	San Bernabé	28.79929	-113.2025
3	El Barril	San Lorenzo	100	San Lorenzo	28.67385	-112.8898
3	El Barril	San Lorenzo	101	San Lorenzo II	28.64523	-112.86768
3	El Barril	San Lorenzo	102	San Lorenzo III	28.6439	-112.86176
3	El Barril	San Lorenzo	103	San Lorenzo IV	28.62342	-112.82265
3	El Barril	San Lorenzo	104	San Lorenzo V	28.61218	-112.80464
3	El Barril	San Lorenzo	105	San Lorenzo VI	28.5944	-112.79105
3	El Barril	San Lorenzo	90	San Francisquito	28.4605	-112.88514
3	El Barril	San Francisquito	91	San Francisquito II	28.44674	-112.87415
3	El Barril	San Francisquito	92	San Francisquito III	28.44024	-112.84451
3	El Barril	San Francisquito	93	San Francisquito IV	28.43884	-112.86009
3	El Barril	San Francisquito	94	San Francisquito V	28.43877	-112.86018
3	El Barril	San Francisquito	95	San Francisquito VI	28.43316	-112.86488
3	El Barril	San Francisquito	96	San Francisquito VII	28.43219	-112.87119
3	El Barril	San Francisquito	99	San Francisquito M2	28.4293	-112.8672
3	El Barril	San Francisquito	98	San Francisquito M1	28.42916	-112.8641
3	El Barril	San Francisquito	97	San Francisquito VIII	28.42174	-112.84384

**Tabla11.-** Sitios visitados de octubre 2014 a octubre 2015 en la costa oriental de Baja California (continuación).

Zona	Localidad	Sitio	Punto	Nombre	Latitud ('N)	Longitud ('W)
3	El Barril	San Francisquito	8	Barril	28.36875	-112.85321
3	El Barril	San Francisquito	61	La Mancha	28.32143	-112.87096
3	El Barril	San Francisquito	9	Barril II	28.29811	-112.86514

**Tabla 12.-** Compendio de registros de holoturoideos con especímenes hermafroditas. Modificada de (Herrero-Pérezrul, *et al.*, 1998)

Especie	Prof. (m)	Coordenadas	Hábitat	Distribución.	Talla máx. (cm)	Época de reproducción	Incidencia de hermafroditismo	Autor
<i>H. atra</i>	-	23° 27' S, 151° 55' E	Béntico	Indo pacífico	18	Mayo a junio; diciembre a enero	2 de 155 organismos	Harriot, 1982
<i>Peniagone azorica</i>	2,264	57° 08' N, 10° 22' W	Béntico	Cosmopolita	5.8	No definido	1 de 113 organismos	Tyler <i>et al.</i> , 1985
<i>P. diaphana</i>	4,000	49° 46' N, 14° 01' W	Bentopelágico	Cosmopolita	-	No definido	1 de 30 organismos	Tyler <i>et al.</i> , 1985
<i>Cherbonniera utriculus</i>	2,800- 4,050	54° 40' N, 12° 16' W	Béntico	Atlántico Norte	0.7	No definido	1 de 429 organismos	Tyler <i>et al.</i> , 1987
<i>I. fuscus</i>	1-3	24° 30' N, 110° 25' W	Béntico	Pacífico oriental	29	Junio a septiembre	2 de 173 organismos	Herrero-Pérezrul <i>et al.</i> , 1997
<i>I. fuscus</i>	16-17	19° 37' N, 105° 04' W	Béntico	Pacífico oriental	23	Junio a septiembre	1 de 165 organismos	Nuño-Hermosillo, 2003
<i>I. fuscus</i>	5-10	29° 80' N, 111° 29' W	Béntico	Pacífico oriental	41	Agosto a octubre	9 de 264 organismos	Pañola-Madrigal, 2016.