



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE
CIENCIAS MARINAS
BIBLIOTECA
I.P. N.
DONATIVO



ESTUDIO COMPARATIVO DE LA REPRODUCCION DE
Isostichopus fuscus (LUDWIG, 1875) Y *Neothyone gibbosa*
DEICHMANN, 194 1 (ECHINODERMATA: HOLOTHUROIDEA),
EN LA BAHIA DE LA PAZ, BAJA CALIFORNIA SUR, MEXICO.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS MARINAS
presenta

Biol. Ma. Dinorah Herrero Pérezrul

INDICE

	Página
Glosario	i
Indice de Figuras	iv
Indice de tablas	vi
Resumen	vii
Abstract	viii
1. Introducción	1
2. Antecedentes	5
3. Justificación	10
4. Objetivos	12
5. Materiales y Métodos	13
6. Resultados	18
6.1. Relaciones morfométricas	18
6.2. Ciclo reproductivo y morfología de las gónadas	24
6.2. Proporción sexual	29
6.3. Indices gonadosomáticos	34
6.5. Caracterización histológica de las gónadas	39
6.5.1. <i>Isostichopus fuscus</i>	39
6.5.2. Gametogénesis	39
6.5.3. Espermatogénesis	40
6.5.4. Madurez	40
6.5.5. Desove	41
6.5.6. Postdesove	41
6.5.7. Reposo	42

6.5.8. Hermafroditas	42
6.6. <i>Neothyone gibbosa</i>	43
6.6.1. Gametogénesis	43
6.6.2. Madurez	44
6.6.3. Desove	44
6.6.4. Postdesove	45
6.6.5. Reposo	45
6.7. Caracterización de los ovocitos	52
6.8. Peso de primera madurez	53
7. Análisis	56
7.1. Biometría	56
7.2. Proporción sexual	59
7.3. Ciclo reproductivo	59
7.4. Morfología de las gónadas	61
7.5. Índices gonadosomáticos	62
7.6. Histología de las gónadas	67
7.7. Caracterización de los ovocitos	70
7.8. Peso de primera madurez	72
8. Conclusiones	74
9. Recomendaciones y sugerencias para trabajos futuros	76
10. Literatura citada	78

GLOSARIO

ASPIDOCHIROTIDA. Orden perteneciente a la clase Holothuroidea, que posee tentáculos peltados y carece de **túbulos** de Cuvier y de músculos retractores de los tentáculos. La mayoría de especies comerciales pertenecen a este Orden (Caso, 1961).

ATRESIA. Se refiere a los gametos, ya sea inviables o que no fueron liberados y que son degradados por grupos de fagocitos. En el presente trabajo, éste término se usa indistintamente para ambos sexos, puesto que el proceso es el mismo. Algunos autores lo aplican solamente a las hembras (Smiley, 1988).

AURICULARIA. Larva típica de los holoturoideos que se caracteriza por poseer una forma elongada y una banda ciliada que ocupa la parte más oblicua del cuerpo (Mortensen, 1921).

BASOFILOS. Se refiere al material celular de **carácter ácido**, como el núcleo, que reacciona con los colorantes básicos, como la **hematoxilina**.

BECHE DE MER. Nombre de origen francés que reciben los holoturoideos preparados para su consumo y que se **ha** generalizado para nominar el producto de la pesquería a nivel mundial.

BIOMEDICINA. Investigaciones aplicadas a la medicina clínica en relación a la bioquímica y fisiología del cuerpo.

CELULAS FOLICULARES. Células que se adhieren a la periferia de los ovocitos, formando el folículo y nutriéndolo (Smiley, 1988).

CELULAS ESFERULARES. Agrupación de fagocitos (equivalentes a las atresias) dentro de la gónada en actividad fagocítica (Smiley, 1988).

CICLO GONADICO. Se refiere a los diferentes **estadios** de desarrollo por los que pasa la gónada periódicamente (Booolotian, 1966).

DENDROCHIROTIDA. Orden de holoturoideos que se caracteriza por poseer tentáculos dendríticos, músculos retractores de los tentáculos y túbulos de Cuvier (Deichmann, 1941).

EOSINOFILO. Se refiere al material celular de carácter básico, como el citoplasma, que reacciona con los colorantes ácidos, como la eosina.

ESPICULAS. Unidad fundamental del microesqueleto calcáreo de algunos invertebrados, entre ellos, los holoturoideos. Las formas de éstas son muy diversas y son de carácter específico (Hyman, 1955).

GONOCORISMO. Forma de reproducción que implica la producción de gametos en individuos de diferente sexo.

HOLOTURINAS. Substancias de carácter específico de origen esteroide, que producen los holoturoideos como mecanismo de defensa.

INDICE GONADOSOMATICO. Es el valor numérico proporcional que expresa el peso de la gónada en relación al peso del organismo (Giese y Pearse, 1974).

ITEROPARIDAD. Se refiere al traslape de generaciones en las poblaciones de organismos.

LARVA LECITOTROFICA. Larva que posee suficiente vitelo para alimentarse y desarrollarse hasta la metamorfosis.

LARVA PLANCTOTROFICA. Se refiere a las larvas que se alimentan de plancton durante su permanencia en la columna de agua y que requieren de alimentación externa para completar la metamorfosis.

OSCICULOS. Se utiliza como sinónimo de espículas.

PAPULAS. Proyecciones cutáneas en los holoturoideos, cuya función es sensorial (Hyman, 1955).

PESO DRENADO. Se refiere al peso del organismo al cual se le ha drenado todo el líquido de la cavidad celómica.

PESO DE PRIMERA MADUREZ (MINIMA MADUREZ). Es el peso en el cual el 50% de los organismos de la población se encuentran en gametogénesis (**I**) madurez (11) o desove (**III**) (Conand, 1990).

RETE MIRABILIS. El sistema hemal de los holoturoideos se ramifica formando una red.

SAPONINAS. Es la unión de una sapogenina (esteroide hidrolizado) y un azúcar.

TREPANG. Nombre malayo para el **Bêche** de mer.

TRIVIUM. Es la zona que incluye los radios A, B y E en el plan pentarradiado en los holoturoideos y que generalmente se encuentra cubierto con los pies ambulacrales (Hyman, 1955).

TUBULOS DE CUVIER. Organo filamentoso pegajoso que expulsan los holoturoideos como medio de defensa. La presencia o ausencia de dichos órganos son de importancia taxonómica.

TUBULOS GONADALES. La gónada de los holoturoideos está formada por numerosos filamentos, cada uno de ellos es denominado **túbulo**.

VESICULA DE POLI. Organo en forma de saco, cuya función es la de mantener el equilibrio hidrostático en los equinodermos. El número de las vesículas es un caracter de clasificación.

No.	INDICE DE FIGURAS	Pag.
1	Area de estudio	15
2	Gráfica de la regresión de los valores longitud-peso de <i>Isostichopus fuscus</i> obtenidos durante el periodo de muestreo	20
3	Longitud promedio mensual de <i>I. fuscus</i> durante el periodo de muestreo	21
4	Peso drenado promedio mensual de <i>I. fuscus</i> durante el periodo de muestreo	21
5	Gráfica de la regresión de los valores longitud-peso de <i>Neothyone gibbosa</i> durante el periodo de muestreo	22
0	Longitud promedio mensual de <i>N. gibbosa</i> durante el periodo de muestreo	22
7	Peso drenado promedio mensual de <i>N. gibbosa</i> durante el periodo de muestreo	23
8	Distribución de sexos por intervalo de peso en <i>I. fuscus</i> durante el periodo de muestreo	23
9	Distribución de sexos por intervalo de peso en <i>N. gibbosa</i> durante el periodo de muestreo	24
10	Ejemplar de <i>Isostichopus fuscus</i> (Ludwig, 1875)	28
11	Ejemplar de <i>Neothyone gibbosa</i> Deichmann, 1941	28
12	Detalle de la gónada de <i>I. fuscus</i> , fijada en formol	28
13	Gónada de <i>N. gibbosa</i> fijada en formol	28
14	Proporción sexual de organismos sexados obtenida para <i>I. fuscus</i> durante el periodo de muestreo	30
15	Proporción mensual de estadios gonádicos en las hembras de <i>I. fuscus</i> durante el período de muestreo	31
16	Proporción sexual mensual de estadios en los machos de <i>I. fuscus</i>	31
17	Proporción mensual de organismos sexados obtenida para <i>N. gibbosa</i> durante el periodo de muestreo	33

18	Pt-oporción mensual de estadios gonádicos en las hembras de <i>Neothyone gibbosa</i> durante el período de muestreo	33
19	Proporción mensual de estadios gonádicos en Imachos de <i>Neothyone gibbosa</i> durante el período de muestreo	34
20	Evolución mensual de los IG de <i>I. fuscus</i> durante el período de muestreo	37
21	Evolución mensual de los IG de <i>Neothyone gibbosa</i> durante el período de estudio	37
22	Gráfica de la regresión de <i>I. fuscus</i> para los valores de IG y temperatura	38
23	Gráfica de In regresión do <i>Neothyone gibbosa</i> pnra los valores de IG y temperatura	38
24	Estadio de ovogénesis en <i>I. fuscus</i> durante el periodo de muestreo	46
25	Estadio de espermatogénesis en <i>I. fuscus</i> durante el periodo de muestreo	46
26	Estadio de madurez en las hembras de <i>I. fuscus</i> durante el periodo de muestreo	46
27	Estadio de madurez en los testículos de <i>I. fuscus</i> durante el periodo de muestreo	46
28	Estadio de desove en los ovarios de <i>I. fuscus</i> durante el periodo de muestreo	46
29	Estadio de eyaculación en los machos de <i>I. fuscus</i> durante el periodo de muestreo	46
30	Estadio de postdesove en las hembras de <i>I. fuscus</i> durante el periodo de muestreo	46
31	Estadio de posteyaculación en los testículos de <i>I. fuscus</i> durante el periodo de muestreo	46
32	Estadio de reposo en las gónadas de <i>I. fuscus</i> durante el periodo de muestreo	48
33	Corte histológico de la gónada de los organismos hermafroditas de <i>I. fuscus</i>	48
34	Estadio de ovogénesis en <i>N. gibbosa</i> durante el periodo de muestreo	48
35	Estadio de espermatogénesis en <i>N. gibbosa</i> durante el periodo de muestreo	48

36	Estadio de madurez en los ovarios de <i>N. gihhosa</i> durante el periodo de muestreo	48
37	Estadio de madurez en los testículos de <i>N. gihhosa</i> durante el periodo de muestreo	48
38	Estadio de desove en las hembras de <i>N. gihhosa</i> durante el periodo de muestreo	48
39	Estadio de eyaculación en los machos de <i>N. gihhosa</i> durante el periodo de muestreo	50
40	Estadio de postdesove en los ovarios de <i>N. gihhosa</i> durante el periodo de muestreo	50
41	Estadio de posteyaculación en los testículos de <i>N. gihhosa</i> durante el periodo de muestreo	50
42	Estadio de reposo en las gónadas de <i>Neothyone gihhosa</i> durante el periodo de muestreo	50
43	Peso de primera madurez de <i>I. fuscus</i>	55
44	Peso de primera madurez de <i>N. gihhosa</i>	55

INDICE DE TABLAS

I	Posición Sistemática de las especies estudiadas	4
II	Longitud y peso promedio, índices gonadosomáticos y número de ejemplares de las especies estudiadas	18
III	Diámetro promedio de los ovocitos durante los estadios gonádicos	53
IV	Parámetros reproductivos registrados de algunas especies de holoturoideos en diversas localidades	66

RESUMEN

Los holoturoideos son un recurso, que aunque no se consume en **México**, se ha explotado sin control en el país desde hace algunos años. Lo poco que se conoce en el país acerca de estos organismos, se basa principalmente en aspectos taxonómicos y de distribución. En este trabajo se describen algunos aspectos de la biología reproductiva de dos especies de holoturoideos, *Isostichopus fuscus* (Ludwig, 1875), especie comestible que se pesca y exporta en el estado de Baja California Sur y *Neothyone gibbosa* Deichmann, 1941, del cual se han obtenido holoturinas, de origen esteroide que son utilizadas en la medicina como agentes bactericidas, antitumorales y ftrngicidas. El objetivo del presente trabajo, es obtener información básica acerca del ciclo reproductivo de ambas especies, en localidades cercanas a la Isla Espíritu Santo; B.C.S., Para este efecto, se colectó un promedio de 20 organismos mensuales entre julio de 1992 y septiembre de 1993. Se obtuvieron 569 individuos, de los cuales 256 pertenecen a *I. fuscus* y 3 13 a *N. gibbosa*. Las gónadas de ambas especies fueron analizadas histológicamente y se determinaron cinco estadios de desarrollo gonádico: gametogénesis, madurez, desove, postdesove y reposo, los cuales fueron similares para ambos sexos. Los índices gonadosomáticos (IG) se encuentran sincronizados con la temperatura de In Bahía, siendo entonces los IG mayores durante el verano, con las temperaturas más altas. *N. gibbosa* obtuvo valores mayores de IG que los de *I. fuscus*. La proporción sexual no difiere significativamente de 1 :1 en ambas especies. Las hembras de *I. fuscus* desovaron julio de 1992 y 1993. Las hembras de *N. gibbosa* desovaron en agosto de 1992 y en julio en 1993. Se determinó que las especies presentan un ciclo reproductivo anual con un desove que ocurre durante el verano. Se encontraron dos organismos hermafroditas de *I. fuscus*, siendo este el primer reporte de su tipo para esta especie. Se obtuvo el peso de primera madurez, que para *I. fuscus* fue de 367 g y para *N. gibbosa* de 90 g. Por lo anterior, se concluye que en la bahía, ambas especies se reproducen anualmente y desovan durante el verano, a partir de los 28 °C. *I. fuscus* es una especie protegida actualmente y solo puede colectarse con fines científicos. *N. gibbosa* es factible de ser utilizada en la medicina.

ABSTRACT

Holothurians are a new economic resource for México, though they are not consumed locally and the legal control of its fishery is new. The main studies on holothurians in Mexico are related to taxonomy and distribution. My thesis refers to some of the principal aspects of the reproduction of two holothurians: *I. fuscus* (Ludwig, 1875) which is captured in Baja California Sur and exported, and *N. gibbosa* Deichmann, 1941 which produces holoturins, substances important for bactericidal, fungicidal and antitumor activity. The present study was made to obtain some basic information of the reproductive cycle of these holoturians. Monthly collections of about 20 individuals of each species were made from July 1992 to September 1993 at Isla Espíritu Santo. 569 organisms were collected, 256 of *I. fuscus* and 313 of *N. gibbosa*. The gonads of both species were histologically analyzed. Five maturity stages for males and females were defined: Gametogenesis, Maturity, Spawning, Postspawning and Recovery. Gonad indices (IG) were synchronized with water temperature. The highest IG was found in summer, corresponding to the highest temperature. IG mean values through the year were higher in *N. gibbosa* than in *I. fuscus*. The sexual proportion was about 1:1. All females of *I. fuscus* spawned in July 1992 and 1993. The females of *N. gibbosa* spawned in August 1992 and in July 1993. An annual reproductive cycle was determined for both species. Two hermaphroditic individuals of *I. fuscus* were found. The calculated weight at first sexual maturity was 367 g for *I. fuscus* and 90 g for *N. gibbosa*. In Bahía de La Paz, *I. fuscus* and *N. gibbosa* spawn during the summer at 28 °C. *I. fuscus* is a protected species. *N. gibbosa* could be a potential resource in medicine.

A BSTRACT

Holothurians are a new economic resource for México, though they are not consumed locally and the legal control of its fishery is new. The main studies on holothurians in Mexico are related to taxonomy and distribution. My thesis refers to some of the principal aspects of the reproduction of two holothurians: *I. fuscus* (Ludwig, 1875) which is captured in Baja California Sur and exported, and *N. gibbosa* Deichmann, 1941 which produces holoturins, substances important for bactericidal, fungicidal and antitumor activity. The present study was made to obtain some basic information of the reproductive cycle of these holoturians. Monthly collections of about 20 individuals of each species were made from July 1992 to September 1993 at Isla Espiritu Santo. 569 organisms were collected, 256 of *I. fuscus* and 313 of *N. gibbosa*. The gonads of both species were histologically analyzed. Five maturity stages for males and females were defined: Gametogenesis, Maturity, Spawning, Postspawning and Recovery. Gonad indices (IG) were synchronized with water temperature. The highest IG was found in summer, corresponding to the highest temperature. IG mean values through the year were higher in *N. gibbosa* than in *I. fuscus*. The sexual proportion was about 1:1. All females of *I. fuscus* spawned in July 1992 and 1993. The females of *N. gibbosa* spawned in August 1992 and in July 1993. An annual reproductive cycle was determined for both species. Two hermaphroditic individuals of *I. fuscus* were found. The calculated weight at first sexual maturity was 367 g for *I. fuscus* and 90 g for *N. gibbosa*. In Bahía de La Paz, *I. fuscus* and *N. gibbosa* spawn during the summer at 28 °C. *I. fuscus* is a protected species. *N. gibbosa* could be a potential resource in medicine.

En México hay pocos datos disponibles acerca de las especies de holoturoideos de importancia comercial que se explotan, pero se sabe que la producción total es exportada (J. Singh, Centro Regional de Investigación Pesquera, La Paz, B.C.S., comunicación personal, 1993). Las especies utilizadas son: *Parastichopus pawimensis*, *Isostichopus fuscus* y *Parastichopus californicus* (J. Singh, Centro Regional de Investigación Pesquera, La Paz, B.C.S., comunicación personal, 1993; Salgado, 1993; 1994). En las estadísticas pesqueras del Estado de Baja California Sur, se registra únicamente el volumen de captura por grupo, (no por especies). Este fue de 403, 937 kg para 1990. En 1991 (cuando se alcanzó la mayor producción), se registraron 623, 941 kg de captura y para 1992 se obtuvo hasta el mes de mayo, un total de 97, 370 kg (Avisos de arribo de la Delegación Estatal de Pesca en La Paz, B.C.S., 1992). Valdez (1994) menciona que las capturas de holoturoideos en el Golfo de California han disminuído drásticamente a partir de 1993 y que el recurso está desapareciendo debido a la sobreexplotación. En respuesta a la disminución de las poblaciones, en el Diario Oficial de la Federación (1994) se dictaminó que *I. fuscus* es una especie en peligro de extinción, por lo que ya no es factible de pescarse. Sin embargo, podrá ser utilizada con fines científicos.

Los holoturoideos representan una fuente substancial de proteínas como alimento, asimilable casi en un 80 % (Caso, 1971). Por otra parte, cuatro de los seis órdenes de holoturoideos descritos, producen saponinas o **glicósidos** esteroides (holoturinas) como medio de defensa. Cada especie de holoturoideo presenta compuestos específicos y es común el encontrar uno o más tipos de ellos en un mismo organismo. Los niveles de toxicidad de **tales** sustancias, varían de especie a especie y entre los órganos, siendo normalmente más altos en los **túbulos** de Crrvier, en la piel y en los intestinos (Nigrelli *et al.*, 1955). La toxicidad también

varía estacional y latitudinamente (Yasumoto *et al.*, 1966); las holoturinas de holoturoideos tropicales son las más tóxicas; su mayor concentración se presenta durante la época reproductiva (Matsuno e Ishida, *in* Bakus, 1973). La acción de las holoturinas bloquea la actividad muscular, así como la red nerviosa en algunos vertebrados (Yamanouchi, 1955). Kitagawa *et al.* (1978) mencionan que la actividad tóxica de las holoturinas (Holotoxinas A y B) consiste en inhibir el crecimiento y desarrollo de bacterias y levaduras (*Candida* spp). Por otra parte, Nigrelli (1952), Sullivan y Nigrelli (1956) y Nigrelli y Jakowska (1960) descubrieron sustancias antitumorales y neurotrópicas. Algunas de las especies consideradas tóxicas se encuentran en el mercado, sin embargo, su consumo es **poco** frecuente (Bakus, 1973).

Se han hecho intentos para utilizar holoturoideos como alimento para aves y ganado. Una de las especies comerciales (*Holothuria scabra*) fue utilizada como producto deshidratado para alimento en una granja avícola, pero los resultados fueron negativos (Springhall y Dingle, 1967, *in* Bakus, 1973).

La clase Holothuroidea consta de seis órdenes, con un total de *ca* 1,200 **especies**. Las especies analizadas en el presente trabajo, son: *Isostichopus fuscus* (Ludwig, 1875) y *Neothyone gibbosa* Deichmann, 1941 (Tabla 1).

Booolotian (1966) resalta que el estudio de la biología reproductiva de los holoturoideos, redundará en el mejor conocimiento de los organismos y Conand (1990) **señala** su importancia al establecer las bases para el manejo de las especies de interés comercial. En el presente trabajo, se pretende determinar algunos aspectos de la reproducción de *Isostichopus fuscus* y de *Neothyone gibbosa* en la Bahía de La Paz, **Baja** California Sur, México.

Tabla I. **Posición sistemática** de las especies estudiadas.

PHYLUM ECHINODERMATA Brugière, 1791

CLASE HOLOTHUROIDEA Blainville, 1834

ORDEN DENDROCHIROTIDA Brandt, 1835

FAMILIA Sclerodactylidae

GENERO *Neothyone*

ESPECIE *Neothyone gibbosa* **Deichmann, 1941**

ORDEN ASPIDOCHIROTIDA Brandt, 1835

FAMILIA Stichopodidae

GENERO *Isostichopus*

ESPECIE *Isostichopus fuscus* **(Ludwig, 1875)**

2. ANTECEDENTES

El Trepang o Bêche de mer, que es el nombre con el que se denomina a los holoturoideos después de procesados para su consumo, es objeto de una importante pesquería en los países orientales y del Indo Pacífico. Esta pesquería es antigua y los primeros impresos publicados al respecto se remontan a finales del siglo XIX (Semper, 1868). Trabajos posteriores (Hornell, 1917; Sella y Sella, 1940; Parrish, 1978; Harriot, 1985; Robertson *et al.*, 1987) hacen mención a la industria del Trepang y presentan una relación de las estadísticas sobre los mercados principales. Uno de los problemas que se abordaron, fue la pérdida de peso corporal debida al procesamiento de secado y ahumado, porque el peso neto del cuerpo se reduce hasta en un 90 % (Parrish, 1978), por lo cual se hacen necesarios volúmenes mayores de captura. Este autor resaltó la importancia de la pesquería en Australia y propone algunos métodos para el manejo del producto en los mercados orientales.

En relación a los estudios de crecimiento y mortalidad de las poblaciones de holoturoideos, Rutherford (1973) mencionó que la tasa de crecimiento de *Cucumaria pseudocurata* es mayor durante el primer año que durante los posteriores. Conand (1982, 1988b) obtuvo la tasa de crecimiento y determinó el peso de primera madurez de *Actinopyga echinites*, *Thelenota ananas*, *Stichopus chloronotus* y *Holothuria fuscogilva* y Shelley (1985) trabajó con modelos de crecimiento para *Actinopyga echinites* y *Holothuria scabra*.

La Comisión de Noumea del Pacífico del Sur (Anónimo, 1979), publicó un manual para la pesquería artesanal de Bêche de mer en los países del Pacífico Sur, en el cual presenta un glosario de términos técnicos y hace mención de las especies

más importantes, su nombre común y científico, así como una descripción de las características morfológicas de los organismos.

Investigaciones sobre la distribución, abundancia y la pesquería de holoturoideos de Nueva Caledonia han sido realizadas por Conand (1981, 1982, 1986, 1988a, 1988b, 1989, 1990, 1993a, 1993b). En ellas refirió la historia de las pesquerías del Trepanng y realizó un análisis estadístico sobre la misma a nivel mundial y local. En Canadá y Estados Unidos la pesquería se encuentra poco desarrollada y está orientada principalmente hacia especies del Atlántico. No existe mercado interno y la producción es exportada a países del oriente. La información publicada incluye datos sobre el secado, ahumado y ciclo reproductivo de algunos holoturoideos (Robertson *et al.*, 1987).

La mayoría de los estudios sobre holoturoideos que se han realizado en diversas partes del mundo, son básicamente sobre aspectos taxonómicos y biogeográficos (Deichmann, 1941, 1958; Hyman, 1955). Acerca de estudios sobre el metabolismo, Coulon *et al.* (1992) registraron la información sobre la fisiología respiratoria de *Holothuria tubulosa* en el Mediterráneo, mencionando que el consumo de oxígeno se incrementó con el crecimiento corporal y el aumento de la temperatura.

Mortensen (1921) describió el desarrollo y metamorfosis de las formas larvales de varias especies de holoturoideos y comentó que los ovocitos de éstos se comportan de manera renuente a la fertilización artificial. Smiley (1986) estudió el desarrollo y metamorfosis de las larvas de *Stichopus californicus*, resaltando algunos aspectos importantes sobre sus implicaciones filogenéticas. Otros trabajos relacionados, son los realizados por Cameron y Fankboner (1989), quienes

trabajaron con la ecología del desarrollo y reclutamiento de las larvas de *Parastichopus californicus*, una de las especies de importancia comercial a nivel mundial.

Estudios bioquímicos sobre las saponinas producidas por holoturoideos han sido realizados por Yamanouchi (1955), Green y Bakus (1975), Bhatnagar *et al.* (1985) y Encarnación *et al.* (1989). En ellos se describió la estructura química de esas sustancias y se concluyó que su composición es característica de cada especie de holoturoideos. La utilización de **estas** sustancias en biomedicina ha sido mencionada por Borslow (1977) y Kitagawa *et al.* (1978) quienes les atribuyen propiedades fungicidas, bactericidas y también actúan como agentes anticancerígenos (Sullivan y Nigrelli, 1956).

Los estudios reproductivos sobre este grupo se han incrementado proporcionahnente a la impórtancia económica (Conand, 1989). La autora describió el ciclo reproductivo y gonádico de varias poblaciones de holoturoideos de mayor valor comercial, como *Holofhuria scabra*, *Stichopus chloronotus*, *Actinopyga echinites*. Además propone una técnica para estimar el peso de primera madurez de estos organismos (Conand, 1982). Tyler y Gage(1983), Tyler y Billet (1987), Tyler *et al.* (1992) y Sewell y Bergquist (1990) realizaron estudios sobre la biología reproductiva de holoturoideos que habitan en zonas profundas (mayores de 2,000 m). Mencionan principalmente especies pertenecientes a los Ordenes Molpadiida, Apoda, Elaspodida y Dendrochirotida. En el caso de *Molpadia blakei* y *Cherbonniera utriculus* (Molpadidos), mencionaron que la fecundidad es muy baja y que el diámetro de los ovocitos es uno de los más grandes encontrados para este taxón. Por otra parte, Tyler *et al.* (1982) concluyen que la reproducción de los equinodermos que habitan zonas profundas depende también de factores

ambientales, que son de carácter fisicoquímico. Otra de las especies estudiadas es *Leptosynapta tenuis*, holoturoideo perteneciente al Orden Apoda, que se caracteriza por poseer un patrón reproductivo bianual (Green, 1978).

Dentro del grupo de los holoturoideos, los organismos de mayor tamaño pertenecen al Orden Aspidochirotida, con todas las ventajas que esto representa para la pesquería (al presentar gran tamaño y ser poco móviles, son vulnerables y por ende se utiliza poco esfuerzo de captura) .| De esta manera, encontramos estudios sobre el ciclo reproductivo de especies aspidochirotas, como *Holothuria scabra* (Krishnaswamy y Krishnan, 1967; Ong y Gómez, 1985), *Parastichopus parvimensis* (Kastendiek y Muscat, 1982), *P. californicus* (Cameron y Fankboner, 1986); *Thelenota manas*, *H. fuscogilva*, *H. nobilis* y *Actinopyga echinites* (Conand, 1993b). En general, las publicaciones analizan con detalle la histología de las gónadas y describen cinco estadios gonádicos de acuerdo a los tipos celulares presentes: gametogénesis (I), que . se caracteriza por presentar células en crecimiento; madurez (II), con los gametos maduros listos para ser liberados; desove (III), cuando las gónadas se observan con espacios intercelulares y postdesove (IV), cuando la gónada se observa vacía de gametos. El reposo o indeterminado (V), en donde solo se observa las gónadas vacías, sin actividad de la capa germinal y células del tejido conjuntivo. Por otra parte, se ha descrito el mismo ciclo para aspidochirotas que no son objeto de pesquería (Tuwo y Conand, 1992; Tyler et al., 1992) y para especies del Orden Dendrochirotida (Costelloe, 1985; Hamel et al., 1993).

También se han realizado estudios sobre el comportamiento reproductivo (Mosher, 1982; McEuen, 1988) y de ultraestructura de las gónadas, (Kessel, 1964; Krishnan y Dale, 1975; Smiley, 1988; Smiley y Cloney, 1985; Eckelbarger y

Young, 1992), en los cuales describen los mecanismos de gametogénesis, el proceso de vitelogénesis y el desarrollo de los **túbulos** de la gónada, por medio de microscopía electrónica. Se mencionan tres capas tisulares en los ovarios: la externa, que es un peritoneo; la interna, conformada por tejido conjuntivo y **hemal** y la capa interna o germinal. En los testículos, se describen dos capas verdaderas, la externa y la germinal, mas una intermedia que no se considera una capa como tal, sino como senos **hemales** (Krishnan y Dale, 1975).

Acerca de *Isostichopus fuscus* existe poca información en el país, refiriéndose principalmente a su importancia pesquera y al ciclo gonádico (Salgado, 1994; Valdéz, 1994). Respecto a *Neothyone gibbosa*, **se** han realizado estudios sobre bioquímica (Encarnación *et al.*, 1989), sin embargo, se desconoce prácticamente todo acerca de su ecología e historia natural.

3. JUSTIFICACION

Los estudios de reproducción son requisitos fundamentales para el manejo de cualquier actividad pesquera o acuacultural. La histología, como complemento básico en estudios reproductivos, aporta información esencial que permite determinar con mayor precisión la actividad reproductiva de los organismos. Sin embargo, en el caso de los equinodermos, virtualmente todos los estudios publicados que tratan sobre especies del litoral del Pacífico mexicano, se refieren principalmente a aspectos de taxonomía y distribución (Maluf, 1988; Solís-Marín *et al.*, 1993). No se conocen datos sobre la biología reproductiva de ninguna especie de holoturoideos del Pacífico de México, lo que crea la necesidad de obtenerlos, ya que son un recurso pesquero potencial. Por ejemplo, en el caso de *N. gibbosa* no existe pesquería, sin embargo se han aislado sustancias triterpenoides (holoturinas) que producen como medio de defensa (Encarnación *et al.*, 1989). Los triterpenoides comienzan a utilizarse como medios bactericidas y fungicidas en biomedicina.

El estudio planteado en el presente trabajo pretende generar conocimientos sobre la biología reproductiva de dos especies de holoturoideos, lo cual tiene especial importancia, considerando que son un recurso que se ha venido explotando en nuestro país, tanto por empresas mexicanas como por extranjeras en la última década, pero corre el riesgo de extinguirse en la actualidad (Valdéz, 1994). Por esta razón, el Gobierno Federal ha emitido un decreto en el que se declara a *Isostichopus fuscus* como especie en peligro de extinción (Diario Oficial de la Federación, 1994). Además, ya se han descrito las holoturinas de *Neothyone gibbosa* (Encarnación *et al.*, 1989), las que por su importancia, pueden comenzar a probarse en la medicina. Se hace necesario continuar los estudios acerca de estos

organismos para tratar de recuperar la abundancia de las poblaciones de su especies.

4. OBJETIVO GENERAL

Conocer, describir y comparar los ciclos reproductivos de *Isostichopus fuscus* (Ludwig, 1875) y *Neothyone gibbosa* Deichmann, 1941 (Echinodermata: Holothuroidea) de la Isla Espíritu Santo, B.C.S., México.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar la relación longitud-peso de *Isostichopus fuscus* y *Neothyone gibbosa* con **el** ciclo reproductivo .
- Determinar la proporción sexual en ambas especies.
- Calcular el **índice** gonadosomático y relacionarlo con la época reproductiva.
- Describir el ciclo gonádico y caracterizar histológicamente las fases de madurez de la gónada masculina y femenina de ambas especies.
- Relacionar la variación de la temperatura con el ciclo reproductivo de las especies estudiadas.

5. MATERIALES Y METODOS

En localidades de la Isla Espíritu Santo, ubicada en la costa suroccidental del Golfo de California entre los 24.1° N, 110. 2° W y los 24.8° N, 110. 8.8° W (Fig.1) se colectó mensualmente (por medio de buceo libre), un promedio de 20 organismos adultos pertenecientes a *Isostichopus fuscus* y *Neothyone gibbosa*, a profundidades de 1-3 m durante el periodo comprendido entre julio de 1992 y septiembre de 1993.

Para el análisis se obtuvo de la zona un total de 569 organismos: 256 de *I. fuscus* y 313 de *N. gibbosa*. Durante noviembre y diciembre de 1992, no se encontraron organismos de *I. fuscus*. En el caso de *N. gibbosa* no se encontraron organismos en noviembre del mismo año.

Los especímenes se sacrificaron en el campo sumergiéndolos en ácido acético diluido al 10 % (para evitar la evisceración) (M.E. Caso, com. pers., ICMYL, U.N.A.M., 1989). Para fijarlos, se les inyectó de 20 a 40 ml de formol al 40 % en la cavidad celómica y fueron colocados individualmente en bolsas de plástico con agua de mar y formol al 10%. La separación en bolsas tuvo como fin el evitar la mezcla o pérdida de las gónadas, en caso de que los organismos eviscerasen.

Una vez en el laboratorio, a cada individuo se le tomaron dos medidas. La longitud, registrada con una cinta métrica de precisión de 1 mm y el peso drenado, obtenido con una balanza de precisión de 0.1 g. Posteriormente se extrajo la gónada de los ejemplares, misma que fue medida, pesada y preservada en formol al 10% hasta el procesamiento histológico de inclusión en parafina. Se obtuvieron cortes de 5 a 7 µm de espesor (en diferentes planos) usando un microtomo rotatorio.

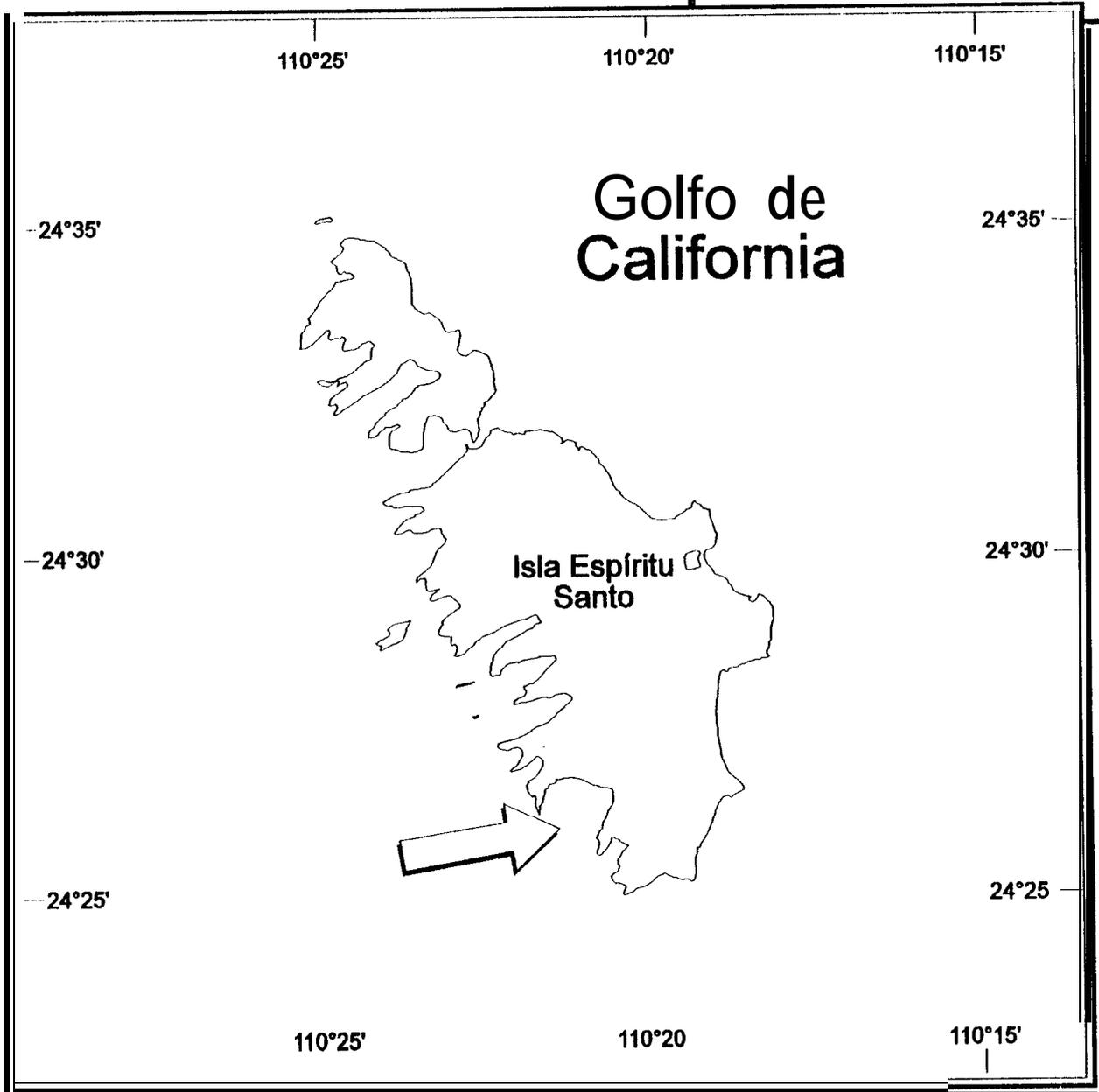
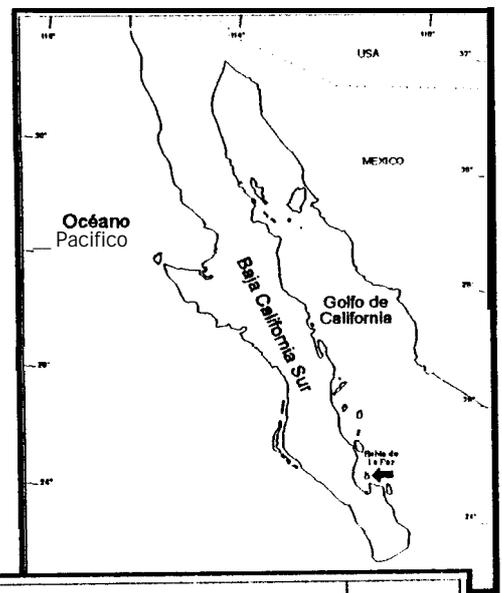
Posteriormente, las laminillas se tiñeron con la técnica Hematoxilina-Eosina (Humason, 1979).

Para los estudios de reproducción, se determinó el sexo de 415 gónadas de organismos de ambas especies por medio de la identificación al microscopio de los gametos presentes. A los organismos restantes no se les encontró gónada.

Para el análisis estadístico de los resultados, se utilizaron análisis de **varianza** de una vía modelo II. Se consideró el límite de significancia con un error alfa de 0.05. En caso de que el valor de F encontrado rebasara este límite, se aplicó a los resultados una prueba de Tukey para especificar el origen de las diferencias (Day y Quinn, 1989). Los análisis de peso drenado, longitud y la distribución de frecuencias por especie, se realizaron incluyendo tanto a los organismos sexados como a los que no tuvieron gónada.

El ciclo reproductivo se determinó por medio de la caracterización histológica de los estadios gonádicos, efectuando la identificación y descripción de los tipos celulares presentes en la gónada (Costelloe, 1985; Cameron y Fankboner, 1986; Tyler et **al.**, 1987; Tuwo y Conand, 1992; Conand, 1993a,1993b). A partir de estos datos, se determinó la frecuencia de los diferentes estadios gonádicos por sexo y por especie.

Figura 1. Area de Estudio



Los índices gonadosomáticos (IG) fueron calculados mensualmente a partir de la fórmula de Giese y Pearse (1974). El índice está basado en la consideración de que el peso de la gónada y otros órganos relacionados con la reproducción, aumenta durante la época reproductiva, que se manifiesta en una relación proporcional **con el peso** del cuerpo, lo cual arroja datos representativos de la condición reproductiva de los organismos.

$$IG = \frac{Pg (g)}{PD (g)} * 100$$

Donde: *Pg* es el peso de la gónada y *PD* el peso drenado del organismo.

Los IG obtenidos de esta manera, que no siguieron una distribución normal; fueron normalizados con la transformación arcoseno (Sokal y Rohlf, 1980). Los valores obtenidos mensualmente fueron comparados con ANOVA de una vía y contrastados con los datos histológicos para darle así una mayor validez a los resultados. Para analizar la influencia de la temperatura sobre los IG, se utilizaron los datos de temperatura promedio mensual en la Bahía, publicados en el *Oceanographic Monthly Magazine* de la NOAA (Anónimo, 1993). Se eligió esta alternativa considerando que el desarrollo de los IG está determinado por la influencia de procesos oceanográficos que ocurren a gran escala de tiempo, mejor ejemplificados por las temperaturas promedio mensuales.

Se aplicaron análisis de regresión lineal modelo 1 a los valores de temperatura e índices gonadosomáticos. Para los valores de peso y longitud se aplicó una regresión lineal modelo II, debido a que en este caso, ambas variables presentan una variabilidad natural no controlada por el investigador (Sokal y Rohlf, 1980). Ahora bien, no se utilizó la ecuación potencial en este último caso, ya que la correlación obtenida en ese procedimiento, fue menor a la obtenida en el ajuste lineal.

Se aplicó una prueba de bondad de ajuste, para verificar que la proporción sexual de las poblaciones de *I. fuscus* y *N. gibbosa* fuera 1:1, por medio de la comparación de valores observados y esperados de frecuencia de ocurrencia mensual de hembras y machos de cada especie. También se obtuvo el porcentaje de estadios por sexo y por mes (incluyendo a los indiferenciados) de cada especie.

Para la determinación del peso de primera madurez (Peso mínimo de primera madurez), se graficaron los porcentajes acumulados de organismos que se encontraron en estadios I, II y III, por intervalos de peso. Se trazó una línea a partir del 50 % hacia la curva y el punto de intersección, es el que se consideró como peso de primera madurez (Conand, 1982).

6. RESULTADOS

6.1. Relaciones morfométricas.

Se colectaron un total de 569 organismos (Tabla II), de los cuales, 256 pertenecen a *Isostichopus fuscus* y 313 a *Neothyone gibbosa*.

Tabla II. Longitud y peso promedio, índices gonadosomáticos y número de ejemplares en las especies estudiadas.

	<i>Isostichopus fuscus</i>	<i>Neothyone gibbosa</i>
Longitud (cm)	19.5 ± 0.177	17.9 ± 0.294
Peso (g)	351.5 ± 5.51	96.5 ± 2.08
Peso gónada (g)	5.07 ± 0.521	6.96 ± 0.59
IG (%)	1.44 ± 0.143	6.61 ± 0.488
N	259	313
n (*)	173	243
II (**)	86	70
n (***)	29	24

* Organismos con gónada

** Organismos sin gónada

*** Organismos indiferenciados

La relación longitud-peso de *Isostichopus fuscus* fue significativa, aunque muy poco precisa ($r^2=0.454$, $n=256$, $P<0.05$). En la gráfica de regresión (Fig.2), observamos que la dispersión de los puntos es grande, por lo que se considera poco confiable su uso para los análisis. La longitud promedio por mes varió significativamente (ANOVA $F_{12,243}=2.282$; $P<0.05$). Al realizar la prueba de

Tukey se detectó una diferencia significativa entre los meses de julio de 1992 y julio de 1993. En el primero encontramos a los organismos menores y en el segundo a los mayores (Fig.3). En cuanto al peso por mes, también hubo diferencia significativa (ANOVA $F_{12,243}=2.052$; $P<0.05$). A pesar de que el ANOVA encontró diferencias significativas, los intervalos de confianza de las medias se traslaparon en todos los meses (Fig. 4), y la prueba de Tukey no pudo determinar el origen de la diferencia.

En el caso de *Neothyone gibbosa*, la relación longitud-peso también fue significativa ($r^2= 0.529$, $n=313$; $P<0.05$) (Fig.5). En relación a la longitud promedio por mes, se observó una diferencia significativa (ANOVA $F_{13,299}=2.282$; $P<0.05$). La prueba de Tukey detectó que los organismos más pequeños se encontraron del mes de marzo al mes de septiembre de 1993, mientras que los mayores se encontraron en agosto y septiembre de 1992 (Fig. 6). El análisis de peso promedio por mes de *N. gibbosa* aportó una diferencia significativa (ANOVA $F_{13,299}=7.366$; $P<0.05$). La prueba de Tukey detectó dos grupos. En el primero, encontramos a los organismos de mayor peso, durante los meses de julio y septiembre de 1993. En el segundo, los organismos de menor peso, encontrados durante los meses de junio a septiembre de 1993. En este grupo, la diferencia es mínima entre los organismos encontrados y no sigue un patrón temporal definido (Fig. 7).

Respecto a la distribución de frecuencias por intervalo de peso y por sexo (Fig.8), se observa que las hembras de *I. fuscus* son relativamente más abundantes entre los 200 y 350 g. En el caso de *Neothyone gibbosa*, observamos que los machos son relativamente más abundantes entre los 45 y 100 g (Fig.9).

Se encontraron dos organismos hermafroditas de *Isostichopus fuscus* que fueron colectados, el primero en el mes de septiembre de 1992 y el segundo en el mes de agosto de 1993, los pesos fueron de 205.6 y 480.3 g, y sus longitudes de 16 y 21 cm, respectivamente.

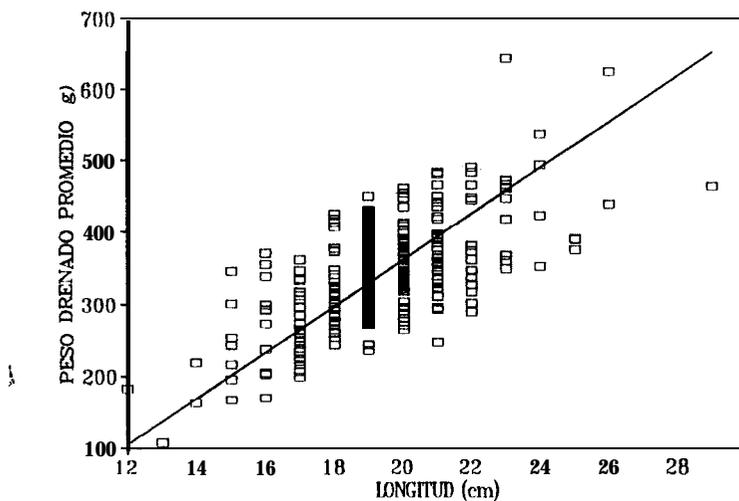


Figura 2. Gráfica de la regresión de los valores de longitud-peso de *I. fuscus* obtenidos durante el periodo de muestreo. La ecuación de regresión fue la siguiente: $Y = -280.801 + 32.120(X)$.

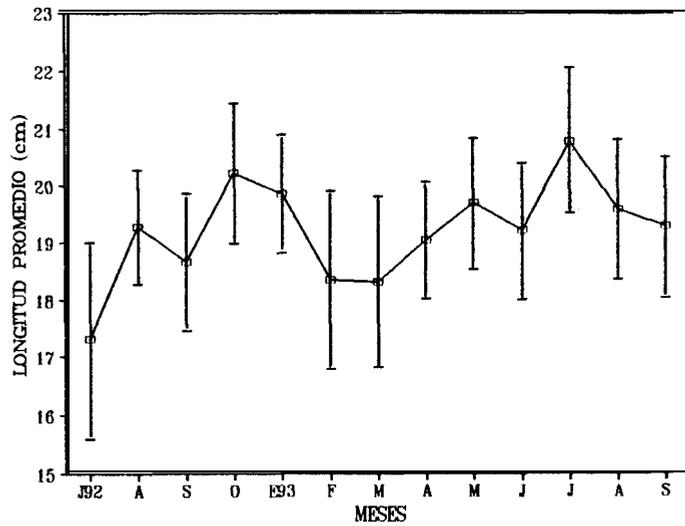


Figura. 3. Longitud promedio mensual de *I. fuscus* durante el periodo de muestreo.

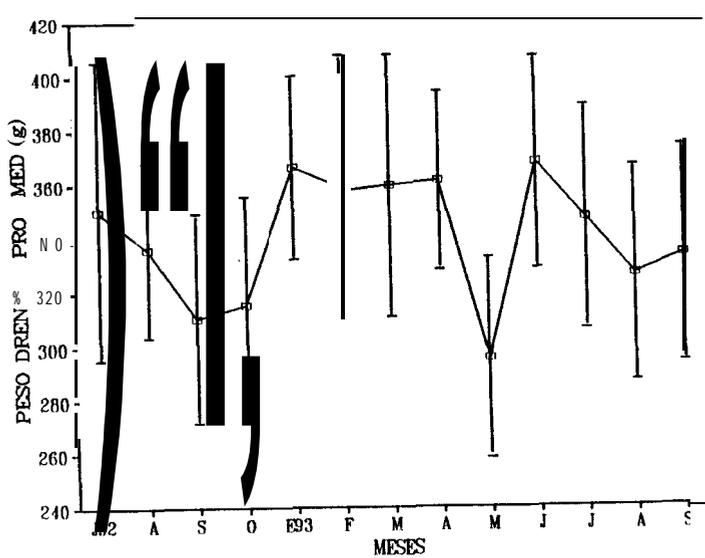


Figura 4. Peso drenado promedio mensual de *Isostichopus fuscus* durante el periodo **de** muestreo.

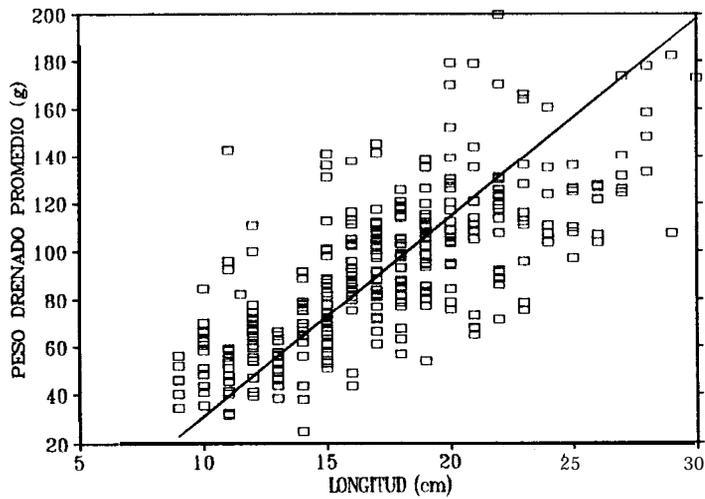


Figura 5. Gráfica de la regresión de los valores longitud-peso de *N. gibbosa* durante el periodo de muestreo. La ecuación de regresión fue la siguiente:

$$Y = -52.1269 + 8.3317(X).$$

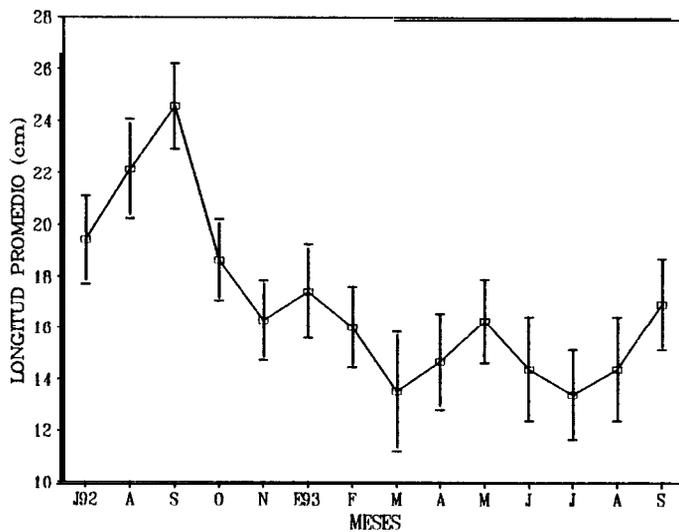


Figura 6. Longitud promedio mensual de *N. gibbosa* durante el periodo de muestreo.

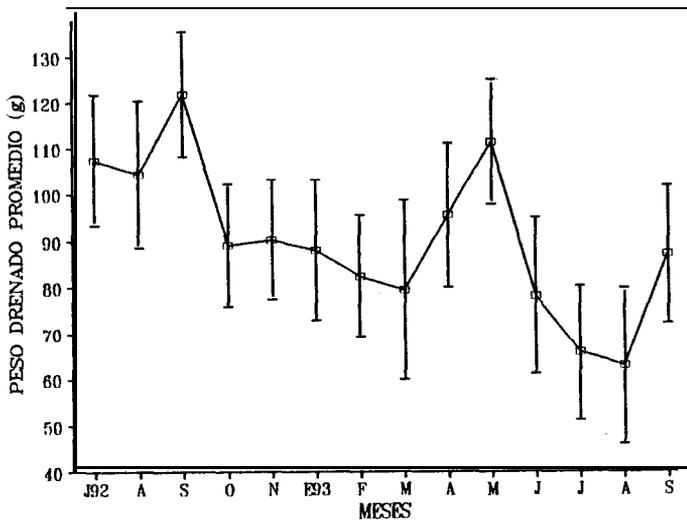


Figura 7. **Peso** drenado promedio mensual de *N. gibbosa* durante el periodo de muestreo.

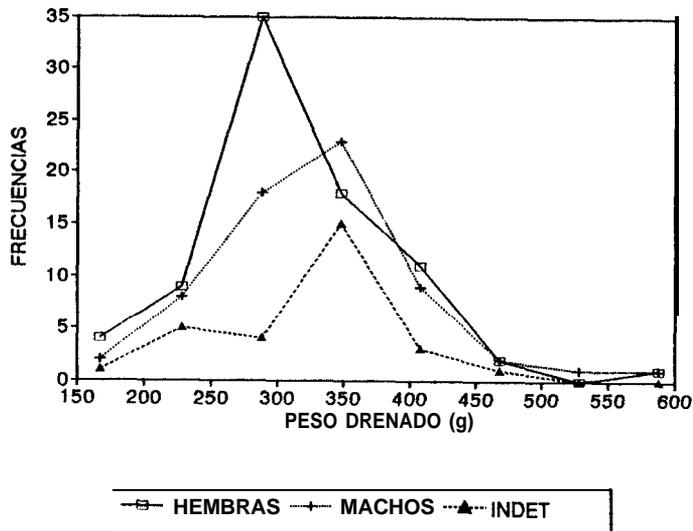


Figura 8. Distribución de sexos por intervalo de peso en *Isostichopus fuscus* durante el periodo de muestreo.

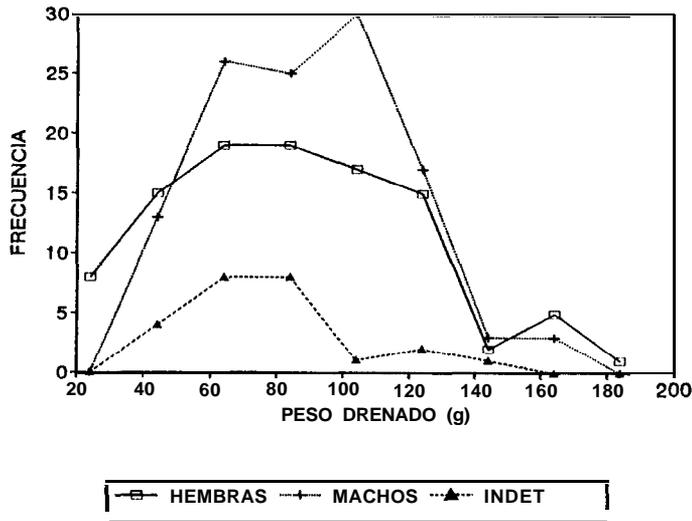


Figura 9. Distribución de sexos por intervalo de peso de *Neothyone gibbosa* obtenida durante el periodo de muestreo.

6.2. Ciclo reproductivo y morfología de las gónadas.

Isostichopus fuscus y *Neothyone gibbosa* presentan un ciclo reproductivo anual, con un desove que ocurre durante los meses de verano (julio-septiembre). *I. fuscus* (Fig.10), posee un *trivium* bien definido, presentando pápulas romas en la parte dorsal. Es una especie de color café oscuro con manchas claras. Posee generalmente una vesícula de Poli. Carece de músculos retractores y los tentáculos, de forma peltada, se encuentran en múltiplos de cinco. Poseen espículas características en forma de "C" (Deichmann, 1958). Se distribuye desde la provincia de San Diego hasta la región Panámica (*sensu* Briggs, 1974), es decir,

desde el norte de California hasta Perú y habita fondos rocosos o coralinos hasta una profundidad de 30 m (Caso, 1962).

Neothyone gibbosa (Fig. 11), presenta músculos retractores de los tentáculos y éstos son de tipo dendrítico, también en múltiplos de cinco. Las **espículas** son barrotos perforados y tablas con espiras de 4 dientes. Posee de dos a tres vesículas de Poli y la rete *mirabilis* se encuentra bien desarrollada. Es un holoturoideo de **color café rojizo, con el trivium** bien definido y **pequeñas** pápulas redondeadas en el dorso (Deichmann, 1941). Se distribuye desde el Golfo de California hasta Perú, a profundidades menores de 15 m y sobre substratos rocosos, coralinos o arenosos.

En *N. gibbosa*, los sexos siempre se encontraron separados, mientras que en *I. fuscus* se encontró un 1.2% de ejemplares hermafroditas. Ambas **especies presentan** un ciclo reproductivo anual, con un solo desove durante el verano.

No existe dimorfismo sexual externo. El sexo puede ser determinado por medio de las observaciones directas del color y consistencia de las gónadas, cuyas diferencias macroscópicas son marcadas cuando la gónada se encuentra madura y solo por medio de observaciones al microscopio, en otros estadios.

La gónada de los holoturoideos es impar y se localiza en la parte anterior del organismo, colgando libremente en la cavidad celómica. En el caso de *I. fuscus*, ésta tiene numerosos **túbulos** no ramificados que desarrollan **pequeños** sáculos (Fig.12). Los **túbulos** del ovario miden poco más de 2 mm de diámetro cuando se encuentran maduros y presentan una coloración amarillo-cremosa. Los **túbulos** masculinos tienen un diámetro máximo de 1.8 mm y son de color blanco amarillento. En *N. gibbosa* (Fig. 13), los ovarios son de color naranja cuando la

gónada se encuentra madura, los **túbulos** se **ramifican** dicotómicamente y tienen un diámetro de 2 mm. Los testículos son de color amarillo-cremoso y los **túbulos** miden menos de 2 mm de diámetro.

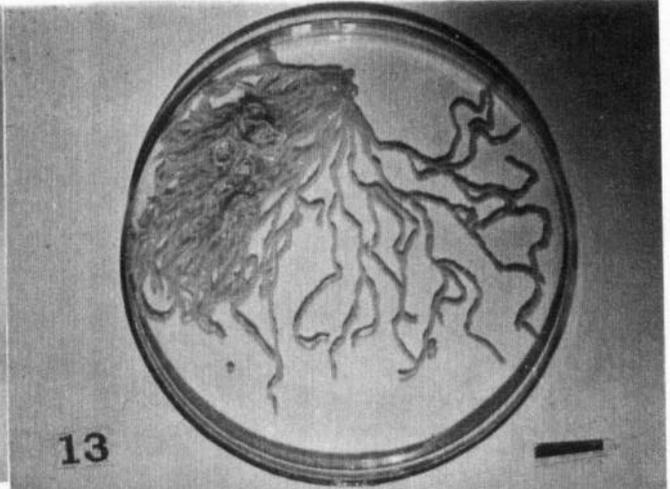
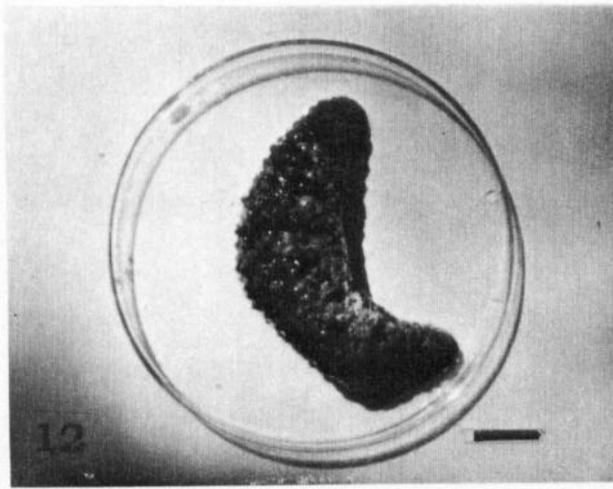
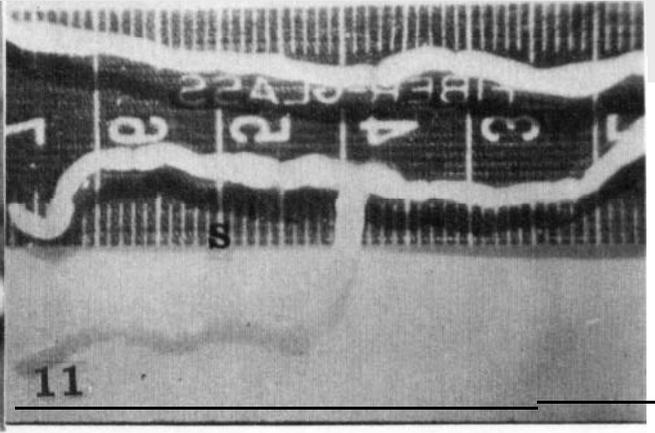
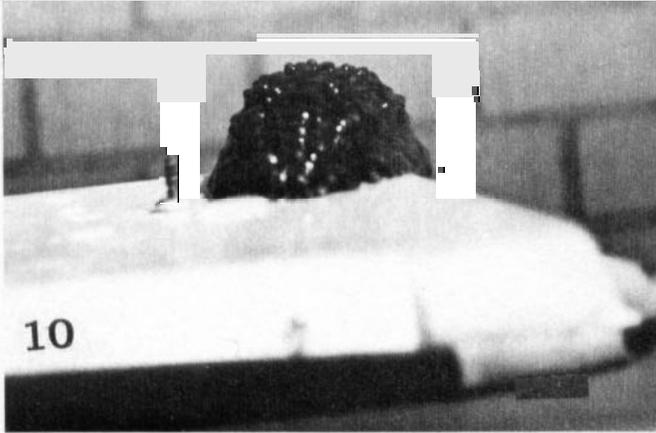
La gónada de las especies estudiadas presenta una gran variabilidad en su tamaño a lo largo del ciclo gonádico. La gónada madura ocupa un alto porcentaje del peso corporal, con valores máximos de IG. Posteriormente, al terminar la actividad reproductiva, la gónada se reabsorbe casi en un 100 %, durante el periodo de reposo, tomando valores realmente bajos de IG.

Figura 10. Ejemplar de *Isostichopus fuscus* (Ludwig, 1875)

Figura 11. Ejemplar de *Neothyone gibbosa* Deichmann, 1941

Figura 12. Detalle de la gónada de *I. fuscus*, fijada en formol. sáculos (SC).

Figura 13. Gónada de *N. gibbosa* fijada en formol. Se observan las ramificaciones dicotómicas. Escala 5 cm.



6.3. PROPORCION SEXUAL

Para el análisis de la proporción de machos y hembras, se consideraron 173 gónadas de *I. fuscus* y 243 de *N. gibbosa*. Para la primera especie, se encontraron durante el periodo de muestreo, 78 hembras (44.5%), 64 machos (37%), 29 indiferenciados (17%) (Fig. 14) y 2 hermafroditas (1.2%).

Al observar la proporción mensual de individuos con gónada (incluyendo a los indiferenciados) de *I. fuscus* (Fig.14), notamos que las hembras son relativamente más abundantes mensualmente durante el periodo de muestreo, a pesar de que la proporción sexual total obtenida durante éste, no difiere significativamente de la esperada ($\chi^2=20.27$; $P>0.05$; g.l. 12). Las gónadas se encuentran en reposo desde el mes de noviembre de 1992. La gametogénesis se dispara cuando la temperatura aumenta. La ovogénesis comienza a partir de febrero de 1993 y se continúa hasta julio del mismo año (Fig. 15). Las hembras comienzan a madurar primero que los machos. Estos inician la gametogénesis a partir del mes de marzo de 1993, continuándose hasta julio del mismo año. Sin embargo, encontramos machos gametogénicos en julio y agosto de 1992 (Fig.16). El porcentaje de madurez en hembras y machos, aumenta partir de julio de 1993 y disminuye gradualmente hasta septiembre, donde ya no se registraron organismos maduros. Durante el año de 1992, los machos eyacularon a partir de el mes de julio, encontrando testículos eyaculados aún en septiembre. Posteriormente, en 1993, también eyacularon en julio y hasta septiembre. Las hembras en 1992, inician el desove en julio y hasta septiembre, de igual manera lo hacen en 1993, prolongándose hasta septiembre. La totalidad de las hembras se encontró en estadio de postdesove, durante el mes de octubre de 1992. En 1993, observamos algunas hembras postdesovadas en el mes

de agosto. La mayor proporción de machos posteyaculados se observó en agosto y septiembre de 1992.

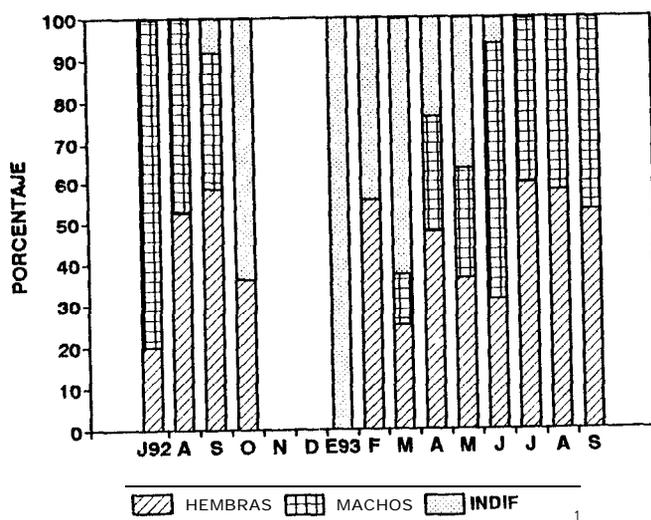


Figura 14. Proporción mensual de organismos sexados, obtenida para *Isostichopus fuscus* durante el periodo de muestreo.

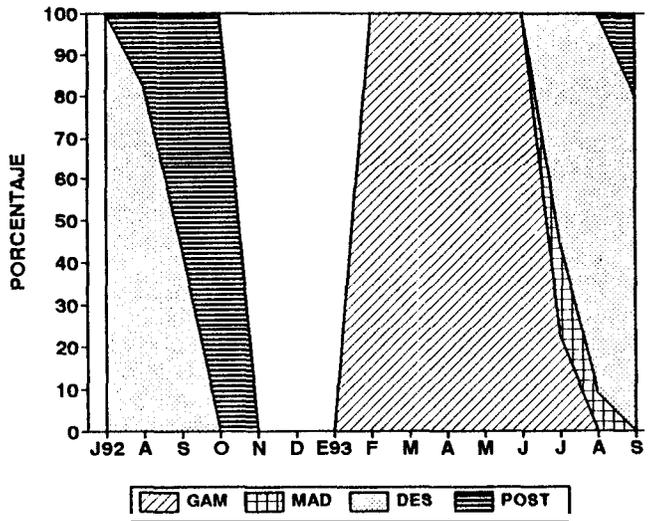


Figura 15. Proporción mensual de estadios gonádicos en las hembras de *I. fuscus* durante el periodo de muestreo.

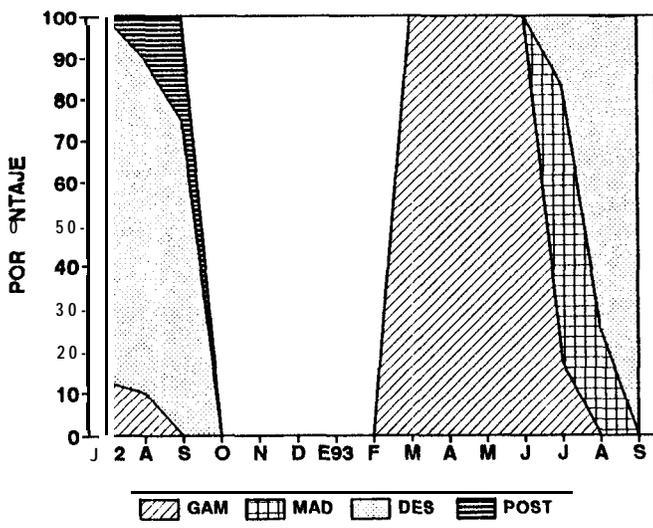


Figura 16. Proporción mensual de estadios gonádicos en los machos de *I. fuscus* durante el periodo de muestreo.

En el caso de *N. gibbosa*, se obtuvo un total de 119 machos (49.2%), 100 hembras (41.3%) y 24 indiferenciados (9.5%). La proporción mensual de organismos sexados (incluyendo a los indiferenciados) (Fig. 17), nos muestra que los machos fueron relativamente más abundantes que las hembras e indiferenciados. Sin embargo, la proporción sexual total obtenida durante el periodo de muestreo, no fue significativamente diferente de la esperada ($\chi^2=3.452$; $P>0.05$; g.l. 13). Las hembras y los machos de esta especie, se encuentran en reposo durante los meses fríos. La ovogénesis se inicia a partir de enero en 1993 y se prolonga hasta julio del mismo año (Fig.18). Los machos también comienzan a desarrollar las gónadas a partir de enero en 1993 y hasta septiembre encontramos algunas gónadas en desarrollo (Fig. 19). Respecto al estadio de madurez, éste tiene un periodo más largo que el de *N. fuscus*. En las hembras, este periodo abarca de los meses de julio a septiembre de 1992 y de mayo a septiembre de 1993; de igual manera, los machos se encuentran maduros de julio a septiembre de 1992 y a partir de abril de 1993, hasta septiembre. En las hembras, el desove en 1992, ocurre a partir de agosto y hasta octubre; mientras que en 1993, las hembras desovaron a partir de julio y hasta septiembre. Los machos eyacularon a partir de julio de 1992 y hasta octubre, y en 1993, en julio y aún en septiembre. El postdesove de las hembras en 1992 se observó desde el mes de octubre y se prolonga hasta febrero de 1993, sin embargo, encontramos hembras postdesovadas inclusive en el mes de marzo del mismo año. En 1992, encontramos a los machos posteyaculados a partir de octubre y hasta enero de 1993.

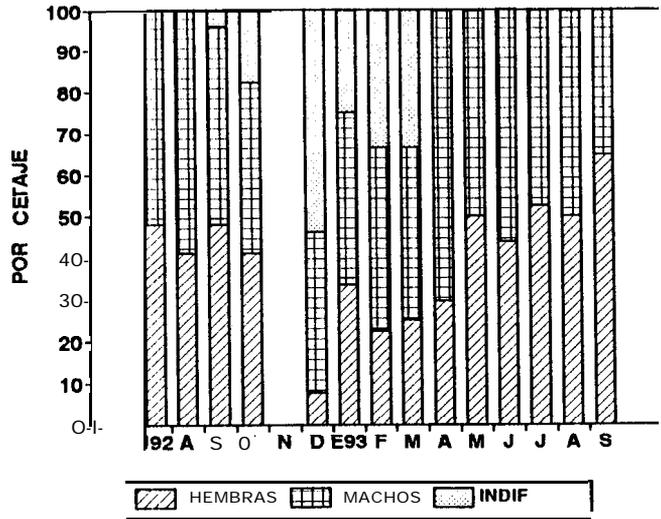


Figura 17. Proporción sexual mensual obtenida para *N. gibbosa* durante el periodo de muestreo.

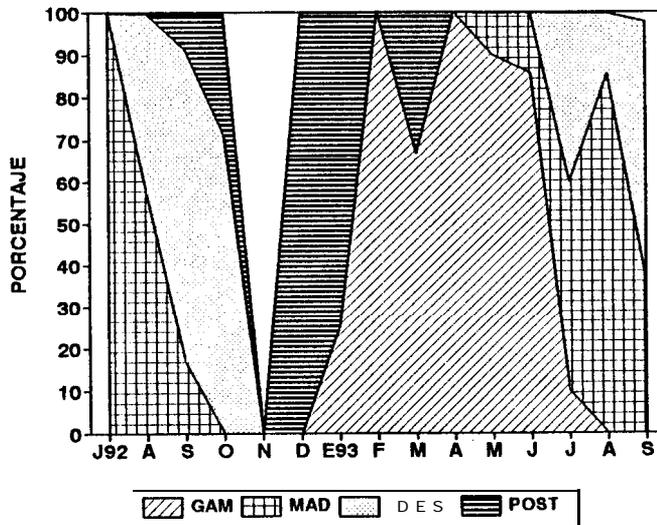


Figura 18. Proporción mensual de estadios gonádicos en las hembras de *N. gibbosa* durante el periodo de muestreo.

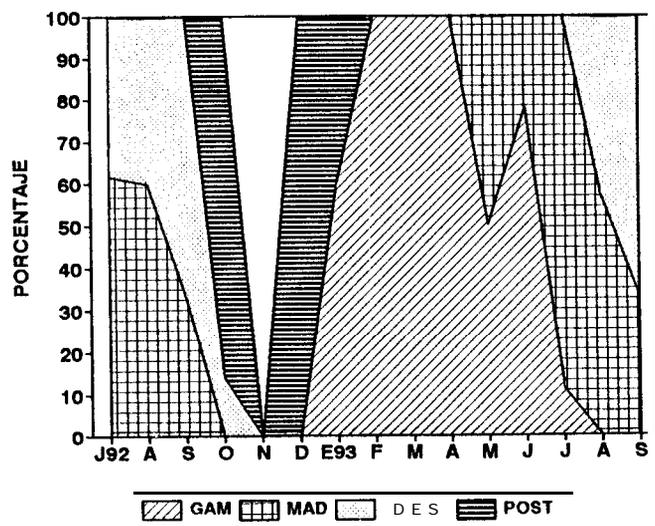


Figura 19. Proporción mensual de estadios gonádicos en los machos de *N. gibbosa* durante el periodo de muestreo.

6.4. INDICES GONADOSOMATICOS

La evolución mensual de los índices gonadosomáticos (IG) sigue un patrón similar en ambas especies (Figs.20 y 21). A partir de marzo de 1993, se observa un ligero cambio en los valores de los IG, que se van incrementando hasta llegar a su valor máximo durante los meses de verano (julio a septiembre). Posteriormente, el IG disminuye de manera notable, debido al desove de los organismos. Comparando, los IG de *N. gibbosa* son mayores que los de *I. fuscus* (ANOVA $F_{2,415}=97.138$; $P<0.05$).

Al analizar el IG por sexos y por mes, no se encontró una diferencia significativa entre machos y hembras de *I. fuscus* (ANOVA $F_{2,141}=0.594$; $P<0.05$); mientras que en el caso de *N. gibbosa* la diferencia entre los IG de machos y hembras fue significativa (ANOVA $F_{2,119}= 9.456$; $P<0.05$), siendo las hembras las que poseen IG ligeramente mayores durante el mes de septiembre de 1993 (Fig.21).

Los valores de los IG de *I. fuscus* muestran una diferencia significativa por mes (ANOVA $F_{12,172}=53.01$; $P<0.05$). A partir de enero en 1993 se observan valores de IG menores al 1%, que se van incrementando conforme avanza la gametogénesis (de marzo a julio del mismo año). Posteriormente, se alcanzaron los valores máximos de IG en los meses de julio en 1992, y julio, agosto y septiembre en 1993, cuando los organismos se encuentran maduros. El desove ocasiona una disminución notoria en los IG, y esto ocurre durante los meses de agosto y septiembre en 1992. Durante el postdesove, los valores de IG fueron del 1 y hasta el 2%. Los IG disminuyen aún mas durante el reposo y es frecuente encontrar IG menores de 1% . Se incluyen los meses de noviembre y diciembre, en los que no se encontraron organismos de esta especie (Fig. 20).

En el caso de *N. gibbosa* se observa también una diferencia significativa por mes (ANOVA $F_{13,242}=47.8$; $P<0.05$). Encontramos los IG más bajos, menores al 1% en los meses de diciembre en 1992; enero y febrero en 1993, cuando encontramos hembras y machos en reposo. Posteriormente, se observa que los valores de IG se incrementaron a partir de diciembre de 1992 en las hembras y de enero en 1993 en los machos, cuando ocurre la gametogénesis, que llega a prolongarse hasta el mes de agosto del mismo año en ambos sexos. Los valores máximos de IG, se alcanzaron durante los meses de julio a octubre en 1992, y de mayo a septiembre en 1993, cuando las gónadas de ambos sexos se encuentran

Al analizar el IG por sexos y por mes, no se encontró una diferencia significativa entre machos y hembras de *I. fuscus* (ANOVA $F_{2,141}=0.594$; $P<0.05$); mientras que en el caso de *N. gibbosa* la diferencia entre los IG de machos y hembras fue significativa (ANOVA $F_{2,119}=9.456$; $P<0.05$), siendo las hembras las que poseen IG ligeramente mayores durante el mes de septiembre de 1993 (Fig.21).

Los valores de los IG de *I. fuscus* muestran una diferencia significativa por mes (ANOVA $F_{12,172}=53.01$; $P<0.05$). A partir de enero en 1993 se observan valores de IG menores al 1%, que se van incrementando conforme avanza la gametogénesis (de marzo a julio del mismo año). Posteriormente, se alcanzaron los valores máximos de IG en los meses de julio en 1992, y julio, agosto y septiembre en 1993, cuando los organismos se encuentran maduros. El desove ocasiona una disminución notoria en los IG, y esto ocurre durante los meses de agosto y septiembre en 1992. Durante el postdesove, los valores de IG fueron del 1 y hasta el 2%. Los IG disminuyen aún mas durante el reposo y es frecuente encontrar IG menores de 1% . Se incluyen los meses de noviembre y diciembre, en los que no se encontraron organismos de esta especie (Fig. 20).

En el caso de *N. gibbosa* se observa también una diferencia significativa por mes (ANOVA $F_{13,242}=47.8$; $P<0.05$). Encontramos los IG más bajos, menores al 1% en los meses de diciembre en 1992; enero y febrero en 1993, cuando encontramos hembras y machos en reposo. Posteriormente, se observa que los valores de IG se incrementaron a partir de diciembre de 1992 en las hembras y de enero en 1993 en los machos, cuando ocurre la gametogénesis, que llega a prolongarse hasta el mes de agosto del mismo año en ambos sexos. Los valores máximos de IG, se alcanzaron durante los meses de julio a octubre en 1992, y de mayo a septiembre en 1993, cuando las gónadas de ambos sexos se encuentran

maduras. Sin embargo, se encontraron organismos maduros de ambos sexos desde mayo de 1993 (Figs.18 y 19). Los IG tanto en hembras como en machos disminuyen notoriamente al ocurrir el desove, a partir de agosto en 1992 y entre julio y septiembre en 1993, Posteriormente, encontramos valores de IG muy pequeños (menores de 1%) durante el **postdesove**, que ocurre en los meses fríos, de noviembre a enero (Fig. 21).

El desarrollo de la gónada y por tanto, el valor de los IG, se encuentra en estrecha relación con las variaciones de la temperatura. La máxima actividad reproductiva (con valores altos de IG) coincide con los meses cálidos, en este caso los del verano (Figs.20 y 21). El desove de ambas especies ocurre casi siempre en la bahía a partir de los 28°C. Así, de manera conspicua, los valores máximos de IG corresponden con las temperaturas más altas. Lo mismo sucede en los meses fríos, los IG disminuyen su valor. Sin embargo, la temperatura y los IG no siguen una relación lineal, como se observa en la Figura 22. La ecuación de regresión en el caso de *I. fuscus* (Fig.22) fue significativa, pero muy imprecisa ($r^2=0.130$; $n=173$; $P<0.05$). En el caso de *N. gibbosa* (Fig.23), la regresión también fue significativa ($r^2=0.265$; $n=243$; $P<0.05$). Probablemente la temperatura sea solamente un factor sincronizador de los eventos reproductivos.

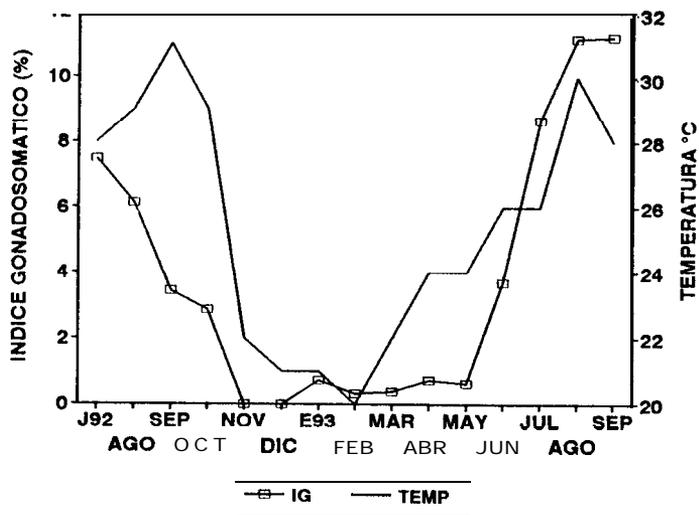


Figura 20. Evolución mensual de los IG de *I. fuscus* durante el periodo de muestreo.

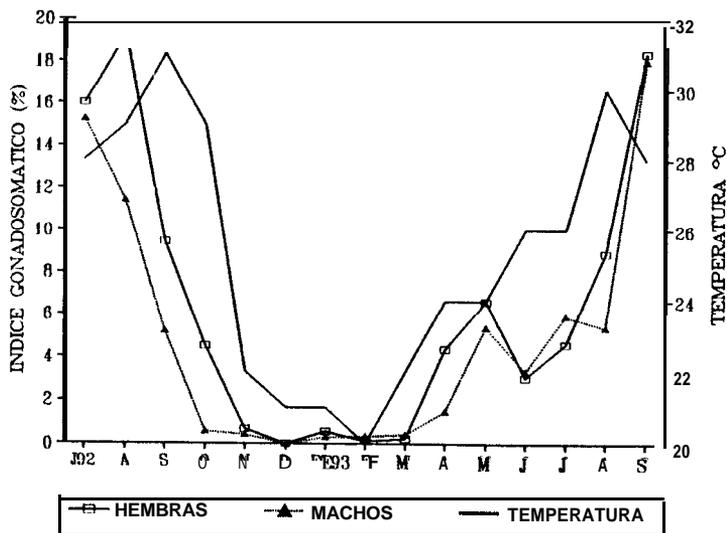


Figura 21. Evolución mensual de los IG de *N. gibbosa* obtenidos durante el periodo de muestreo.

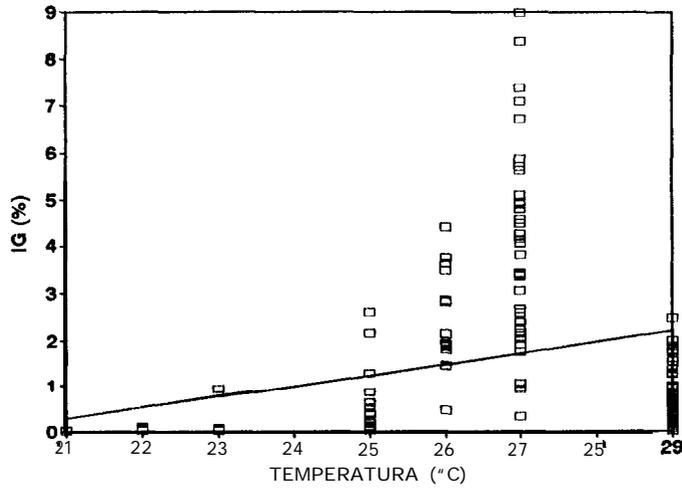


Figura 22. Gráfica de la regresión de *I. fuscus* para los valores de IG y temperatura, cuya ecuación fue: $Y = -4.762 + 0.240(X)$.

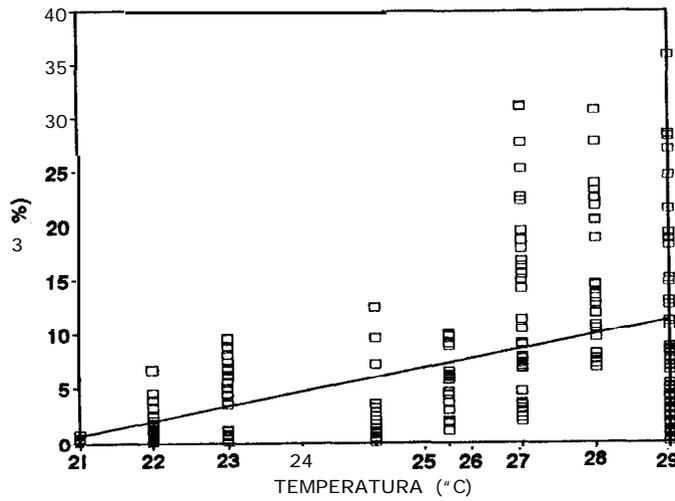


Figura 23. Gráfica de la regresión de *N. gibbosa* para los valores de IG-temperatura, cuya ecuación fue: $Y = -26.961 + 1.316(X)$.

6.5. CARACTERIZACION HISTOLOGICA DE LAS GONADAS

Se determinaron cinco estadios gonádicos para ambas especies: Gametogénesis (I), Madurez (II), Desove (III), Postdesove (IV) y Reposo (V).

6.5.1. *Isostichopus fuscus*

6.5.2. GAMETOGENESIS (I)

La ovogénesis de *I. fuscus* comienza a partir de febrero y se continúa hasta junio (Fig.15). En esta etapa hay una gran proliferación celular debida a la producción de gametos. Las ovogonias, que forman parte del epitelio germinal, se encuentran unidas a éste por medio de un pedúnculo; son células esféricas que se tiñen fuertemente con hematoxilina y el material nuclear puede distinguirse. Los ovocitos primarios carecen de vitelo. En los ovocitos previtelogénicos, que alcanzan hasta 20 μm de diámetro, el núcleo se alarga y las células del epitelio interno se adhieren al citoplasma basófilo formando una membrana folicular alrededor del ovocito. En el núcleo se observa un nucleolo periférico. Las paredes poseen pliegues que se irán reduciendo conforme avance la gametogénesis. Aún se observa gran cantidad de tejido conjuntivo. El crecimiento celular es hacia el lumen. El desarrollo es sincrónico a lo largo de los túbulos (Fig.24).

6.5.3. ESPERMATOGENESIS (1)

La gónada masculina presenta espermatogonias que miden hasta 3 μm de diámetro, las cuales tienen una apariencia esférica y ocupan la parte externa de la pared germinal, formando una capa que se observa fuertemente **teñida**. Los espermatocitos primarios tienden a ser ovoides y presentan un aspecto grumoso, además de teñirse con hematoxilina. Las espermatidas han reducido su tamaño y llegan a observarse dos células unidas por puentes citoplasmáticos. Las paredes de los **túbulos** son gruesas y con tejido conjuntivo. Los pliegues de las paredes del **túbulo**, son conspicuos durante este periodo. La producción de gametos va dirigida hacia el lumen (Fig.25).

6.5.4. MADUREZ (II)

Durante el estadio II en *I. fuscus*, los ovocitos alcanzan su diámetro máximo (hasta 104 μm). Estos presentan una protuberancia característica que corresponde a la vesícula germinal. En el núcleo es frecuente observar más de 3 **nucleolos** periféricos y en el citoplasma se observan algunos gránulos de vitelo. Los **túbulos** se encuentran llenos de ovocitos. No se observa espacio vacío en el lumen, ni entre las células. A pesar de esto, las membranas del **ovocito** se observan separadas del citoplasma debido a la contracción que sufren después de la fijación. En la periferia aún se encuentran ovocitos en estadios primarios, la pared del folículo es delgada y no hay tejido conjuntivo (Fig. 26). En ocasiones se detecta la presencia de atresias de color amarillo en este estadio, aunque no es frecuente encontrarlas.

Cuando los testículos se encuentran maduros, los **túbulos** están repletos de espermatozoides, los cuales son de **caracter** basófilo. Estos presentan una forma esférica y están ligeramente aplanados en sentido dorsoventral; miden poco menos de 2 μm de diámetro. El flagelo se encuentra dirigido hacia el lumen, aunque solo se observa cuando el organismo se encuentra totalmente maduro. Las paredes de los **túbulos** son delgadas y en su pared interna se observan espermátocitos y espermátidas (Fig.27).

6.5.5. DESOVE (III)

En la gónada desovada encontramos el lumen de los **túbulos** con espacios vacíos cada vez mayores. Todos los ovocitos presentes se encuentran maduros y las paredes de los **túbulos comienzan** a engrosarse y a formar pliegues. La cantidad de **tejido** conjuntivo se va incrementando durante este periodo. Los ovocitos que no se liberan durante el desove, van reduciendo su tamaño y perdiendo su forma característica (Fig.28).

En las gónadas eyaculadas, la capa de espermatozoides presentes en el lumen de los **túbulos**, disminuye su grosor, lo cual se observa en el grado de intensidad con que se tiñen las capas de gametos. Las paredes de los **túbulos** aún son delgadas y pueden observarse algunas células en desarrollo a lo largo de su pared interna (Fig.29).

6.5.6. POSTDESOVE (IV)

Las gónadas en estadio IV son fácilmente diferenciables. El lumen de los **túbulos** se encuentra casi vacío y se observan algunos ovocitos amorfos, que han

reducido su tamaño. Las paredes de los **túbulos** son gruesas y presentan una gran cantidad de tejido conjuntivo. Dentro y fuera de los **túbulos** se agrupan fagocitos que reabsorben el material gametogénico, aunque se presentan fagocitos libres (Fig.30). Se pueden observar algunas atresias de diversos tamaños. Los **túbulos** que comienzan a ser reabsorbidos, van reduciendo su tamaño.

En los testículos se observa el lumen casi vacío, con grupos espaciados de espermatozoides que **están** siendo fagocitados (Fig.31); los fagocitos son numerosos y de apariencia granular, su núcleo es excéntrico y son de carácter basófilo. Llegan a observarse atresias conspicuas.

6.5.7. REPOSO (V)

El sexo de las gónadas en este estadio es muy difícil de identificar. La apariencia y tamaño de las células no son buenos indicadores, ya que la gónada puede estar terminando la etapa de postdesove y entrando en la de reposo, o puede estar activándose para comenzar la gametogénesis. Las paredes son gruesas, se observa una gran cantidad de células del tejido conjuntivo. En ocasiones se observan algunos fagocitos. No hay evidencia de células germinales en la pared folicular (Fig.32).

6.5.8. HERMAFRODITAS

El primer organismo hermafrodita se encontró en septiembre de 1992. Los **túbulos** de ambos sexos se encontraron en estadio 1 (Fig.33a). El segundo organismo se colectó en agosto de 1993 y tanto los **túbulos** masculinos como los femeninos también se encontraron en gametogénesis (Fig.33b). Las características

histológicas fueron similares a las descritas anteriormente para los organismos gonocóricos. Los **túbulos** femeninos se encontraron en mayor cantidad que los masculinos. El sexo pudo determinarse solamente al observar la gónada bajo el microscopio.

6.6. *Neothyone gibbosa*

6.6.1 .GAMETOGENESIS (I)

En el caso de *N. gibbosa*, la ovogénesis ocurre de manera similar a la de *N. fuscus*. Las ovogonias son **basófilas**, muy numerosas y están unidas a la pared del folículo. Los ovocitos primarios miden hasta 20 μm . Se observan claramente las células foliculares. Las paredes presentan pliegues y tejido conjuntivo. Los ovocitos previtelogénicos alcanzan hasta 80 μm y son de carácter eosinófilo. En su núcleo se observan uno o más **nucleolos periféricos** (Fig.34).

En el caso de los machos, las espermatogonias de *N. gibbosa* tienen un diámetro aproximado de 3 μm , son esféricas y de carácter basófilo. El tejido conjuntivo es abundante dentro y fuera de los **túbulos**. Los espermatocitos y espermátidas tienen un diámetro menor de 3 μm y son basófilos, además presentan un aspecto grumoso (Fig.35). La espermatogénesis ocurre a partir de marzo y se prolonga hasta julio (Fig.19). Cuando la gametogénesis se encuentra avanzada, se observan ya espermatozoides maduros en el lumen.

6.6.2. MADUREZ (II)

La longitud máxima de los ovocitos es de 95 μm . Estos presentan un núcleo bien definido con uno o más **nucleolos** periféricos, la pared de los **túbulos** se ha adelgazado y éstas se observan turgentes. Hay poco tejido conjuntivo. Los ovocitos maduros, los cuales son de **carácter** eosinófilo, se encuentran agrupados muy juntos, con poco espacio intercelular. Aún hay células en estadios primarios (Fig.36).

Los testículos maduros se caracterizan por presentar una enorme cantidad de espermatozoides que ocupan en su totalidad el lumen del **túbulo**. Están teñidos fuertemente con hematoxilina y se distinguen varias capas de espermatozoides con diferentes intensidades de tinción. Estos presentan una forma esférica y miden poco menos de 2 μm . Las paredes de los **túbulos** gonadales son delgadas y en su pared interna aún se observan espermatoцитos y espermátidas (Fig.37).

6.6.3. DESOVE (111)

En las gónadas desovadas se observa un aumento en la cantidad de tejido conjuntivo y encontramos ovocitos maduros dispersos en el lumen (Fig.38). No se observan ovocitos en estadio de desarrollo. Los espacios en el lumen son cada vez mayores. Las paredes foliculares pierden su turgencia y se engrosan. Comienzan a aparecer pliegues y los ovocitos van perdiendo su forma característica.

En los **túbulos** masculinos, la cantidad de espermatozoides se reduce dentro de la gónada al ocurrir el desove, lo cual se puede deducir debido a que el grosor y la intensidad de tinción de las capas de espermatozoides disminuyen conforme se

desarrolla este periodo. Encontramos algunos fagocitos dentro de la gónada. Los túbulos espermáticos se engrosan; no se observan células en desarrollo y se incrementa la cantidad de tejido conjuntivo. Comienzan a aparecer pliegues (Fig.39).

6.6.4. POSTDESOVE

Durante el postdesove, los túbulos de la gónada femenina van perdiendo su turgencia. Se forman pliegues en las paredes gonadales y el túbulo se reduce de tamaño. Los ovocitos restantes se encuentran rodeados de fagocitos. La mayoría de los túbulos se encuentran vacíos, aunque es frecuente observar agrupaciones de fagocitos formando atresias. La presencia de tejido conjuntivo es notoria (Fig.40).

Los túbulos masculinos en postdesove se han reducido de tamaño, las paredes se engrosan y se observa tejido conjuntivo en abundancia (Fig.41). El lumen se encuentra casi vacío, con grupos espaciados de espermatozoides que están siendo fagocitados; los fagocitos son numerosos y forman atresias conspicuas, son de apariencia granular con un núcleo excéntrico y se tiñen fuertemente con hematoxilina.

6.6.5. REPOSO (V)

Como ya se mencionó anteriormente, es difícil determinar el sexo de las gónadas en este estadio. Las gónadas en reposo de *Neothyone gibbosa* presentan paredes de los túbulos gruesas. El tejido conjuntivo es abundante y pueden distinguirse claramente sus células. El lumen de los túbulos se encuentra vacío y no hay evidencia de células germinales en la pared folicular (Fig.42).

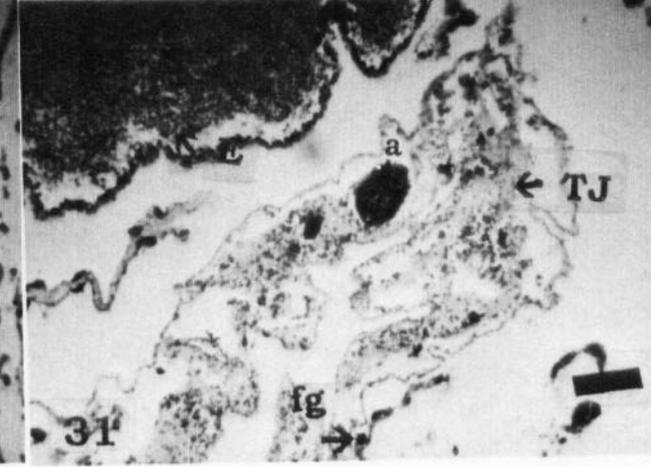
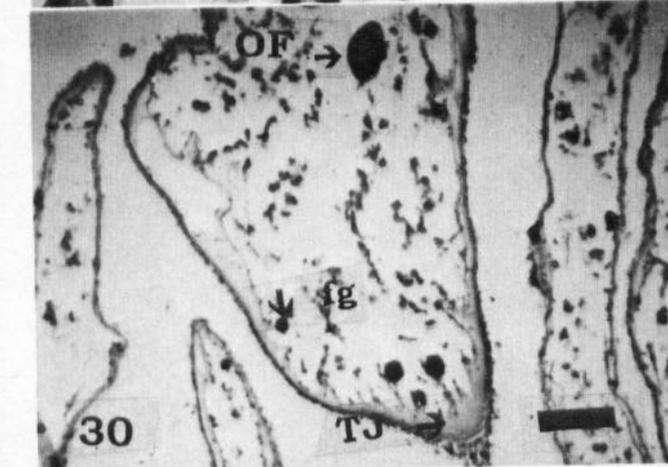
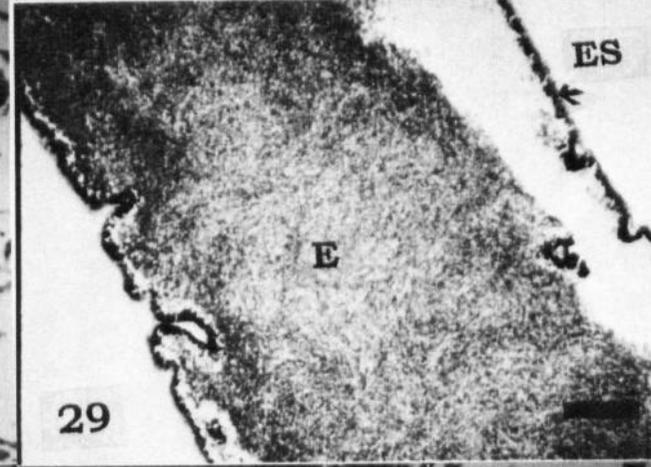
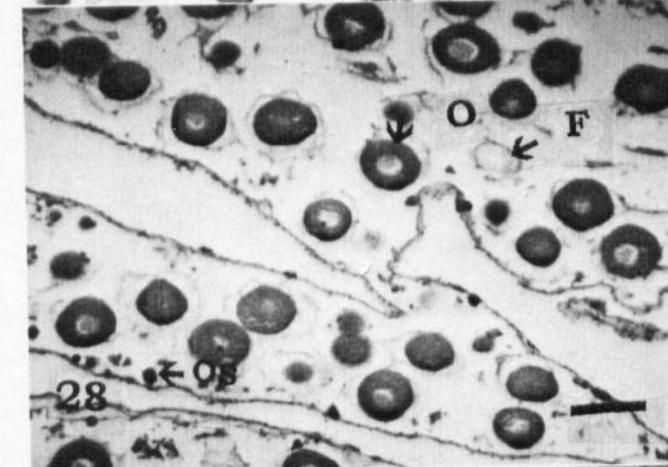
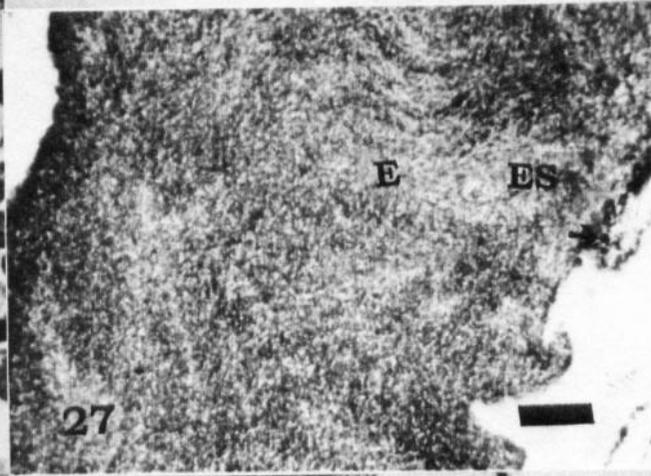
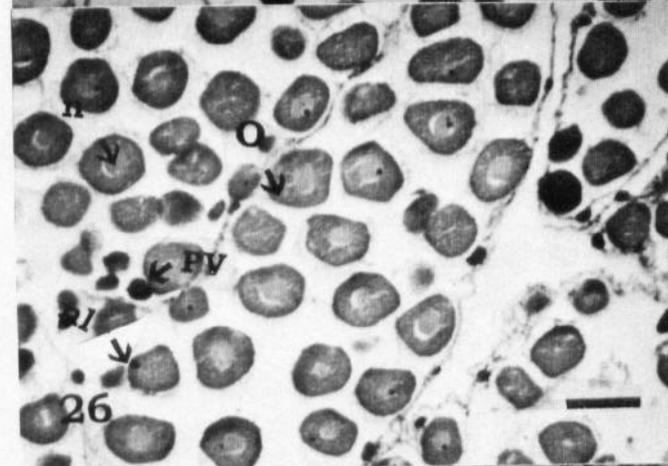
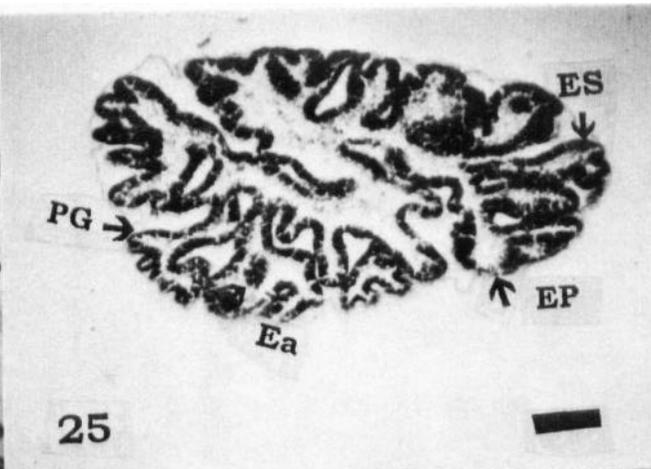
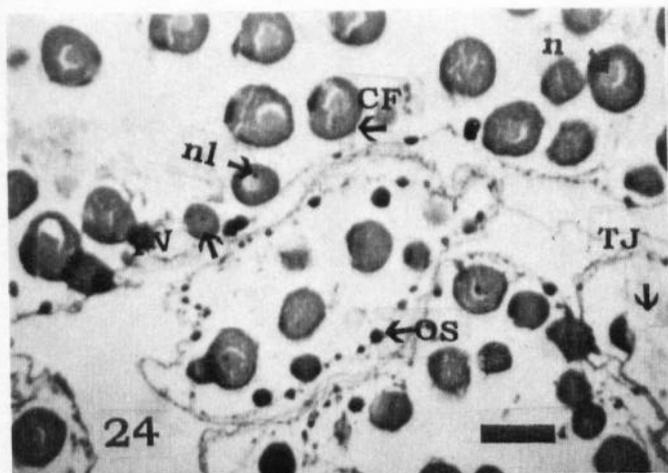


Figura 24. Estadio de ovogénesis en *I. fuscus* durante el periodo de muestreo. Ovocitos secundarios (OS), ovocitos previtelogénicos (PV), núcleo (n), nucleolos (nl), células foliculares (CF), tejido conjuntivo (TJ). Escala 10 μm .

Figura 25. Estadio de espermatogénesis en *I. fuscus* durante el periodo de muestreo. Espermátidas (Ea), espermaticitos primarios (EP), espermaticitos secundarios (ES), pliegues de la pared gonadal (PG). Escala 10 μm .

Figura 26. Estadio de madurez en las hembras de *I. fuscus* durante el periodo de muestreo. Abundancia de ovocitos maduros (O), ovocitos previtelogénicos (PV), núcleo (n), nucleolos (nl). Escala 100 μm .

Figura 27. Estadio de madurez en los testículos de *I. fuscus* durante el periodo de muestreo. Predominancia de espermatozoides maduros (E), espermaticitos secundarios (ES). Escala 10 μm .

Figura 28. Estadio de desove en los ovarios de *I. fuscus* durante el periodo de muestreo. Ovocitos maduros (O), ovocitos secundarios (OS), folículos vacíos (F). Escala 100 μ .

Figura 29. Eyaculación en los machos de *I. fuscus* durante el periodo de muestreo. Espermatozoides (E), espermaticitos secundarios (ES). Escala 10 μm .

Figura 30. Estadio de postdesove en las hembras de *I. fuscus* durante el periodo de muestreo. Ovocitos amorfos (Of), fagocitos (fg), abundancia de tejido conjuntivo (TJ). Escala 100 μm .

Figura 31. Estadio de posteyaculación en los testículos de *I. fuscus* durante el periodo de muestreo. (a) atresia, espermatozoides (E), fagocitos (fg), tejido conjuntivo (TJ). Escala 10 μm .

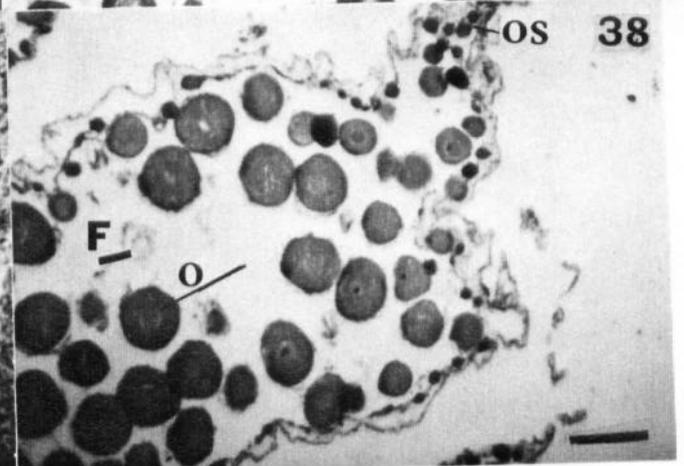
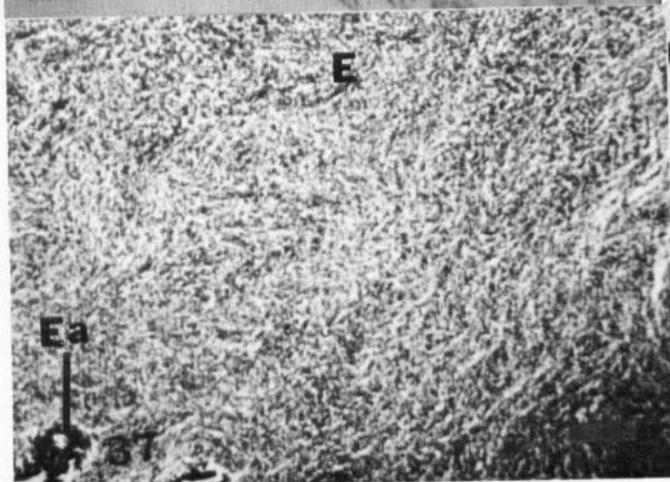
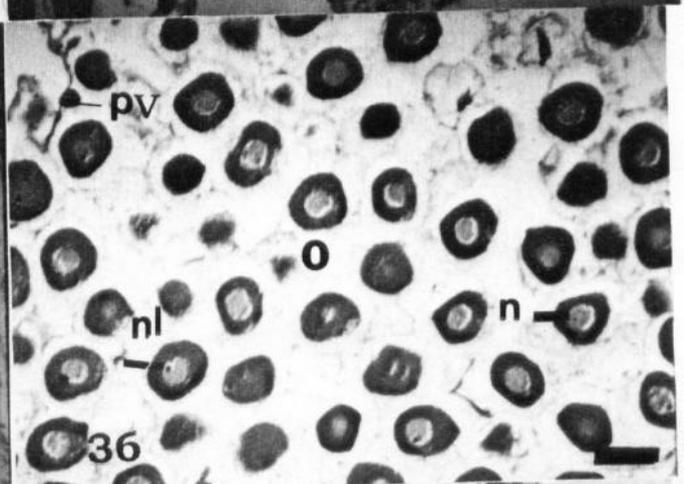
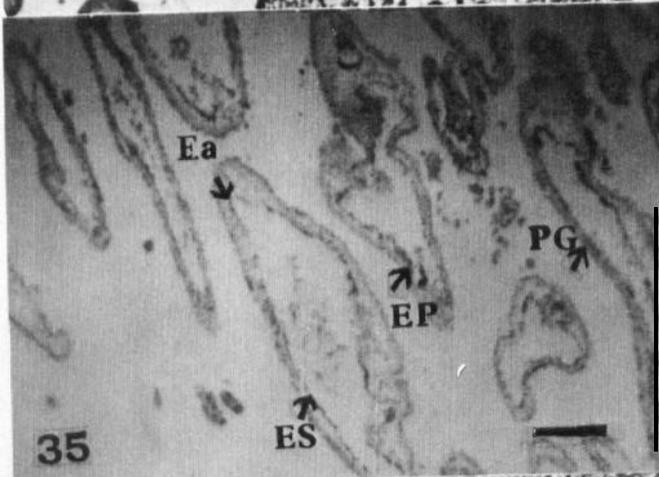
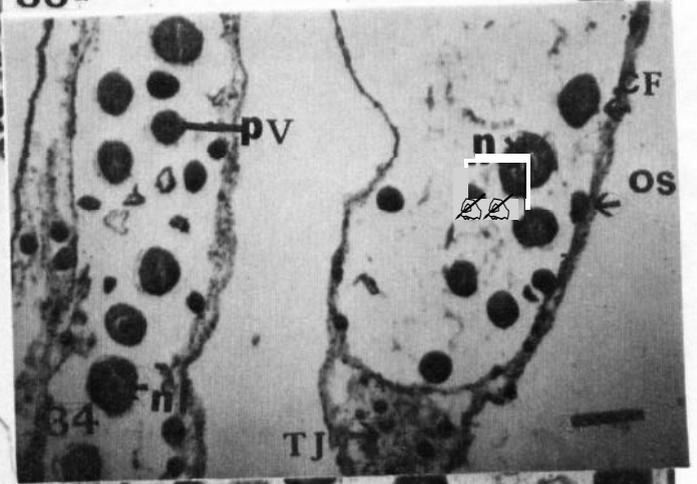
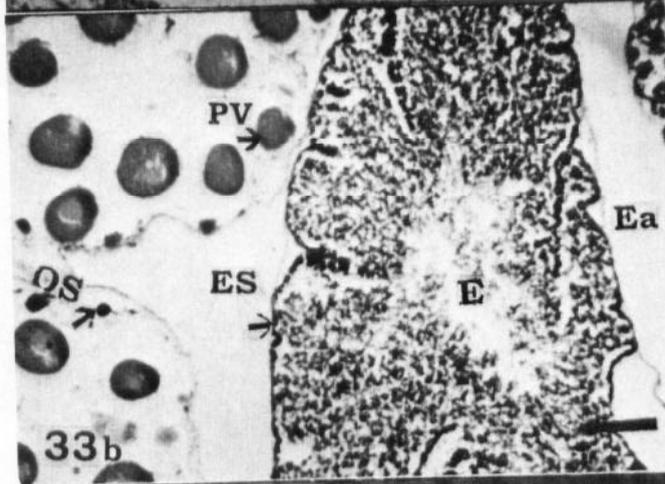
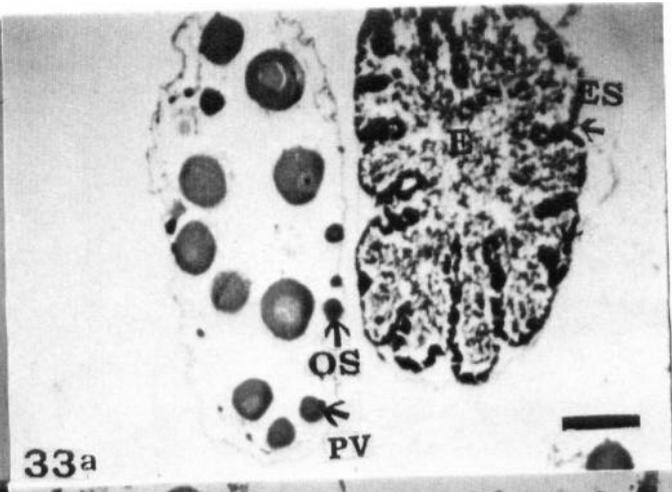
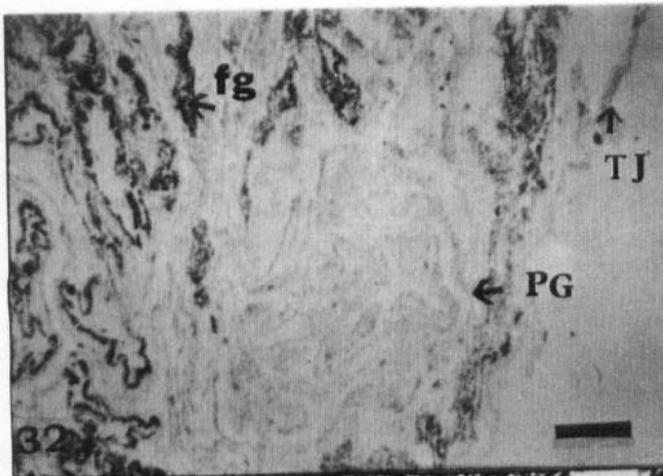


Figura 32. Estadio de reposo en las gónadas de *I. fuscus* obtenido durante el periodo de muestreo. Tejido conjuntivo (TJ), Pared gonadal (PG), fagocitos (fg), Escala 10µm.

Figura 33. Corte histológico de la gónada de los organismos hermafroditas de *I. fuscus*. **a)** Organismo encontrado en el mes de septiembre de 1992. **b)** Organismo colectado en agosto de 1993. Los **túbulos** de ambos sexos y de ambos organismos, se encontraron en gametogénesis. Espermatidas (Ea), espermátocitos secundarios (ES), **espermatozoides** (E), ovocitos secundarios (OS), ovocitos previtelogénicos (PV). Escala 10µm.

Figura 34. Estadio de ovogénesis en *N. gibbosa* durante el periodo de muestreo. Ovocitos secundarios (OS), ovocitos previtelogénicos (PV), núcleo (n), nucleolos (nl), células foliculares (CF), tejido conjuntivo (TJ). Escala 10 µm.

Figura 35. Estadio de espermatogénesis en *N. gibbosa* durante el periodo de muestreo. Espermatidas (Ea), espermátocitos primarios (EP), espermátocitos secundarios (ES), Pliegues de la pared gonadal (PG). Escala 10 µm.

Figura 36. Estadio de madurez en los ovarios de *N. gibbosa* durante el periodo de muestreo. Abundancia de ovocitos maduros (O), ovocitos previtelogénicos (PV), núcleo (n), nucleolos (nl). Escala 100 µm.

Figura 37. Estadio de madurez en los testículos de *N. gibbosa* durante el periodo de muestreo. Predominancia de espermatozoides maduros (E), espermátidas (Ea). Escala 10µm.

Figura 38. Estadio de desove en las hembras de *N. gibbosa* durante el periodo de muestreo. Ovocitos maduros (O), ovocitos secundarios (OS), folículos vacíos (F). Escala 100µm.

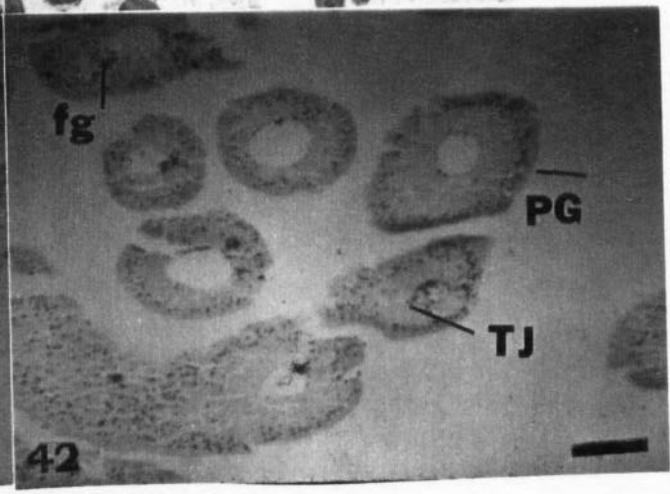
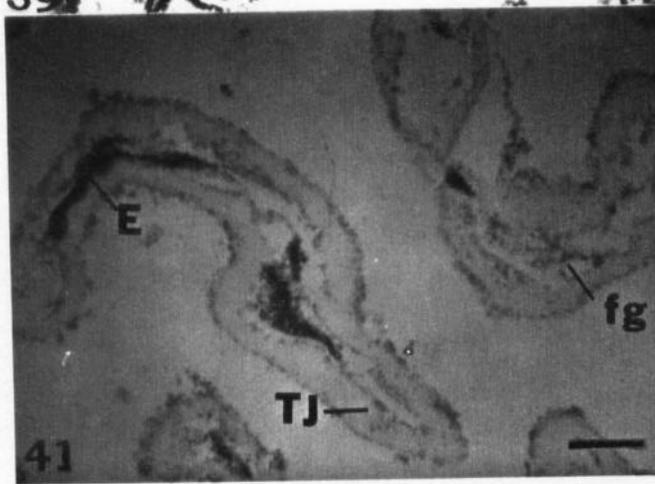
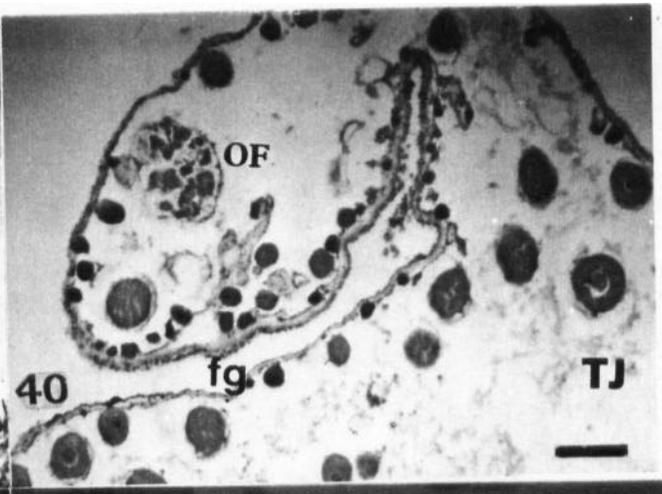
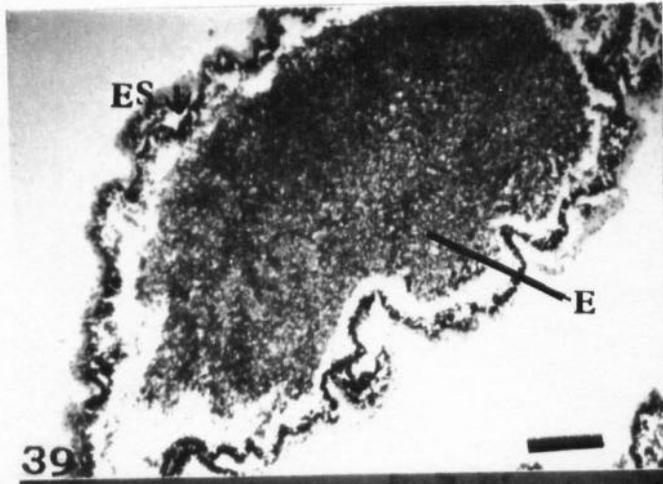


Figura 39. Eyacuación en los machos de *N. gibbosa* durante el periodo de muestreo. Espermatozoides (E), espermocitos secundarios (ES). Escala 10µm.

Figura 40. Estadio de postdesove en los ovarios de *N. gibbosa* durante el periodo de muestreo. Ovocitos amorfos (Of), fagocitos (fg), abundancia de tejido conjuntivo (TJ). Escala 100µm.

Figura 41. Estadio de posteyacuación en los testículos de *N. gibbosa* durante el periodo de muestreo. Espermatozoides (E), fagocitos (fg), tejido conjuntivo (TJ). Escala 10µm.

Figura 42. Estadio de reposo en la gónada de *N. gibbosa* obtenido durante el periodo de muestreo. Tejido conjuntivo (TJ), pared gonadal (PC), fagocitos (fg). Escala 10µm.

6.7. CARACTERIZACION DE LOS OVOCITOS

Los ovocitos de ambas especies presentan un patrón de desarrollo que sigue la pauta de los IG al igual que la gónada. Los ovocitos de pocas micras de diámetro se presentan al inicio (gametogénesis) y al final del ciclo reproductivo (postdesove y reposo), correspondiendo a valores bajos de IG. Los ovocitos que alcanzan su diámetro máximo, se encuentran durante el periodo de madurez, cuando observamos los valores más altos de IG.

Durante la gametogénesis de *I. fuscus* encontramos ovocitos primarios, secundarios y previtelogénicos, que fueron los más abundantes durante la gametogénesis, presentaron un promedio de 20 μm . También podemos observar con menor frecuencia ovocitos vitelogénicos de 80 μm en promedio e inclusive algunos maduros. Posteriormente, en el estadio II (madurez) encontramos a los ovocitos de diámetro mayor en abundancia (100 μm), que serán liberados de este tamaño. Sin embargo, aún se observan células en desarrollo de menor tamaño, que son menos abundantes. Al terminar el desove y durante el postdesove, se observa una ligera reducción en el diámetro de los ovocitos que no llega a sobrepasar el 10% del tamaño alcanzado en su madurez. El número de ovocitos en este estadio es muy pequeño (Tabla III).

En el caso de *N. gibbosa*, durante la gametogénesis, encontramos a los ovocitos de menor diámetro, esto es, menores a 10 μm (primarios y secundarios). Así mismo, observamos ovocitos previtelogénicos, que fueron los más abundantes durante la gametogénesis, y alcanzaron un diámetro promedio de 20 μm . Estos van incrementando su tamaño hasta llegar al estadio de madurez, cuando presentan un diámetro promedio de 90 μm . Estos ovocitos son muy abundantes y serán liberados

posteriormente. También podemos encontrar ovocitos tempranos. Conforme se desarrolla el ciclo, los ovocitos presentes durante el postdesove, disminuyen su número y tamaño (Tabla III).

Tabla III. Diámetro promedio de los ovocitos durante los estadios gonádicos.

Estadios	<i>Isostichopus fuscus</i>	<i>Neothyone gibbosa</i>
I	20µm (20.1)	20 µm (15.9)
II	100 µm (4.5)	90 µm (4.2)
III	100 µm (7.9)	90 µm (4.9)
IV	93 µm (12.45)	86 µm (11.9)

(error estandar)

6.8. PESO DE PRIMERA MADUREZ

El peso (mínimo) de primera madurez (cuando el 50% de la población se encuentran en actividad reproductiva), pudo determinarse tomando en cuenta a los organismos sexados, y solamente fueron considerados aquellos que se encontraron en estadios I, II y III, esto es gametogénesis, madurez y desove (Conand, 1990).

En *I. fuscus* se observa la presencia de individuos con actividad reproductiva a partir de los 167 g de peso drenado. Sin embargo, la clase de peso en la cual el 50% de la población se encuentran maduros, es a partir de los 367 g (Fig.43).

En el caso de *N. gibbosa*, encontramos organismos en actividad reproductiva desde los 24 g. El peso de primera madurez se alcanza a partir de los 90 g (Fig.44).

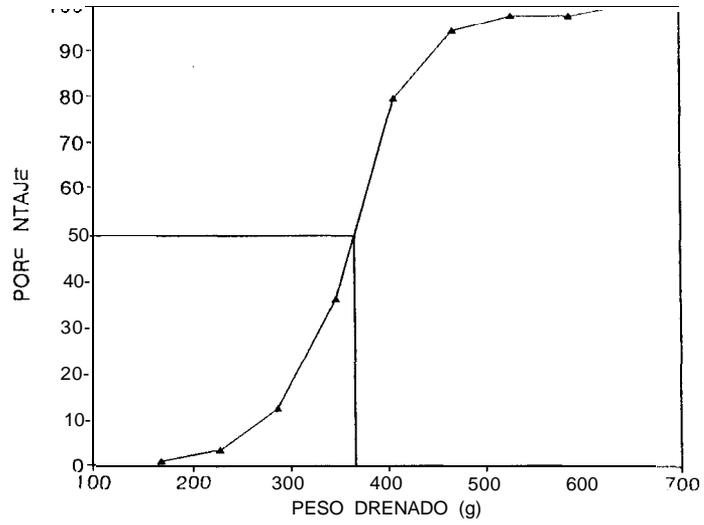


Figura 43. Peso de primera madurez de *Isostichopus fuscus*.

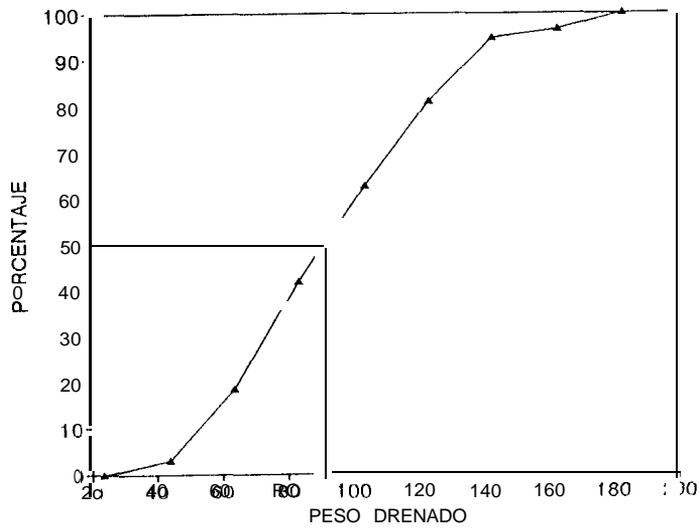


Figura 44. Peso de primera madurez de *Neothyon gibbosa*

7. ANALISIS

7.1. Biometría.

Los datos de longitud y peso de las especies estudiadas en la Isla Espíritu Santo, muestran que *I. fuscus* es una especie de holoturoideo que presenta un peso promedio de 351.5 ± 5.5 g y longitud de 19.5 ± 0.177 cm, medidas que en comparación con otras especies del orden Aspidochirotida, se consideran pequeñas. Conand (1990) menciona que los aspidoquirotas de más alto valor comercial en el mercado mundial (*Holothuria scabra*, *H. nobilis* y *H. fuscogilva*) tienen pesos promedio mayores de 900 g y longitudes superiores a los 28 cm. Este aspecto es importante en la pesquería, ya que durante el procesado de los holoturoideos para su comercialización, se pierde hasta el 90% del peso corporal debido a la deshidratación (Parrish, 1978). A pesar de su tamaño en la bahía, *I. fuscus* es una especie bien aceptada en el mercado mundial (J. Singh, Centro Regional de Investigación Pesquera, La Paz, com. pers., 1993). Por otro lado, se ha demostrado que en la zona de las grandes islas en el Golfo de California, *I. fuscus* alcanza una longitud promedio de 1000 g en ciertas épocas del año (Tapia, 1994).

En el caso de los organismos pertenecientes al Orden Dendrochirotida, *Neothyone gibbosa* es una especie que tiene una longitud promedio de 17.9 ± 0.29 cm y un peso promedio de 96.5 ± 2.08 g, mayores que los de otras especies del mismo Orden. Rutherford (1973) mencionó para *Cucumaria pseudocurata* un peso promedio de 24 g. Engstrom (1982) obtuvo una longitud máxima de 4.5 cm para *C. lubrica*. Tyler y Gage (1983), quienes trabajaron con *Ypsilothuria talismani*, obtuvieron una longitud máxima de 15 mm y Hamel *et al.* (1993) determinaron para *Psolus fabricii* una longitud que oscila entre los 5 y los 7 cm. Estas notables

diferencias pueden deberse a que las citadas especies habitan aguas cuya profundidad es mayor de 100 m. *N. gibbosa* habita a profundidades menores que otras especies estudiadas de Orden Dendrochirotida.

No se observa relación entre el sexo y la longitud o peso drenado de las especies estudiadas, sin embargo, las hembras de *I. fuscus* parecen ser relativamente más abundantes en los pesos pequeños, menores al peso promedio (351.5 ± 5.51 g); los machos y los indiferenciados son relativamente más abundantes alrededor del peso promedio. En el caso de *N. gibbosa*, abundan las hembras de pesos pequeños, menores al peso promedio (96.5 ± 2.08), al igual que los indiferenciados, mientras que los machos son relativamente más abundantes alrededor del peso drenado promedio. Este comportamiento es similar al observado por Colwin (1948) y Costelloe (1985) para organismos dendroquirotas y por Tuwo y Conand (1992) en el caso de aspidoquirotas. Los individuos de ambas especies fueron adultos (siempre y cuando la longitud y el peso sean representativos de la edad), considerando que los organismos más pequeños encontrados, que tuvieron un peso drenado de 164 g en el caso de *I. fuscus* y 24 g en el caso de *N. gibbosa* y presentaron gónadas que se encontraron en estadios de madurez y postdesove respectivamente.

Respecto a los datos biométricos, se encontraron diferencias significativas entre la longitud y peso por mes durante el periodo de muestreo en ambas especies (Figs.5, 6, 8 y 9) y no se detectó un patrón definido. Esto difiere de lo que Bakus (1973) y Conand (1981) denominaron “una clase de edad por localidad”, que explica que en las poblaciones de holoturoideos, todos los individuos pertenecen a la misma cohorte y por tanto son de la misma edad. Considerando las diferencias de longitud y peso, el ciclo de vida superior a un año y a su iteroparidad, podemos

deducir que las poblaciones de *I. fuscus* y *N. gibbosa* no presentan el fenómeno **antes** descrito. Es necesario que se realicen más estudios para comprobar la existencia de este fenómeno, ya que no existen a la fecha técnicas precisas para la determinación de la edad de los holoturoideos (Conand, 1982; Shelley, 1985) y la longitud es una variable con alto grado de variabilidad, como se observa en el presente trabajo.

El bajo valor del coeficiente de correlación de los datos de longitud-peso, se debe, desde el punto de vista estadístico, a que el error estándar de la pendiente con respecto al valor de "b", representa el 9.05% para *I. fuscus*, y el 6.36% para *N. gibbosa*. Conand (1990), utilizó principalmente los datos de pesos (drenado, eviscerado y húmedo), para calcular los IG y las regresiones. Además hizo mención acerca de que las longitudes de los holoturoideos son variables y poco confiables para utilizarse en los análisis estadísticos, debido a que la variación en la longitud se debe a las características morfológicas propias del grupo. Estos organismos poseen cinco bandas musculares longitudinales, lo que armado a su microesqueleto formado por oscículos calcáreos, les otorga una gran contractibilidad (Hyman, 1955; Boolotian, 1966). Esto se observa claramente en los resultados obtenidos en la regresión (Figs. 4 y 7). De acuerdo a esto, podemos encontrar organismos con un peso *n* que presenten longitudes muy diferentes.

No se encontraron en la zona de muestreo organismos juveniles de ninguna de las dos especies. Poco se sabe acerca de la distribución y abundancia de holoturoideos juveniles debido al habitat que ocupan. En laboratorio, Mortensen (1921) y Cameron y Fankboner (1989), obtuvieron larvas de *Stichopus californicus*, *S. kefersteinii* y *Parastichopus californicus*, logrando seguir su desarrollo, desde 48 horas hasta 3 semanas. Estos autores han trabajado con larvas y juveniles de las

mismas especies en condiciones naturales, mencionando que éstos **SC** encuentran generalmente bajo **las** rocas y/o entre **los** corales, **lo cual** hace difícil su descubrimiento. En **los** **muestreos** que **se** realizaron en el presente trabajo, **solamente** **se** colectaron **los** organismos encontrados sobre **el** sustrato.

7.2. Proporción sexual.

Los organismos gonocóricos presentan una proporción sexual característica de 1:1 (Lawrence, 1987). Los **resultados sobre la proporción** sexual obtenidos en el **presente** trabajo (Figs. 14 y 17), coinciden con **los** encontrados **por**- Cameron y Fankboner (1986), Conand (1982), Engstrom (1982), Conand (1993a); Hamel *et al.* (1993), quienes han **ti-abajado** con organismos aspidóquiros y obtuvieron una proporción de 1:1. Respecto a **los** dendroquíros, Costelloe (1985) y Eckelbarger y Young (1992) concluyeron que **la** proporción **sexual** de **los** organismos no **difiere** significativamente de 1:1. Según **modelos** teóricos de biología reproductiva, una **proporción sexual de 1:1** maximiza **el éxito reproductivo de los individuos** (Lawrence, 1987), **condición** aplicable a **las especies** aquí estudiadas.

7.3. Ciclo reproductivo.

El patrón reproductivo de *I. fuscus* y *N. gibbosa* presenta un **ciclo** anual, con un **desove** que ocurre durante el verano. El **ciclo** reproductivo, **así** como **el desove** único son característicos de muchos invertebrados (Booolotian, 1966; Giese y Pearse, 1974), **y** ambos **se** encuentran sincronizados con **la** temperatura. Conand (1993a), menciona que **el ciclo** anual de reproducción de **los** holoturoideos presenta

desoves de corta duración a mayores latitudes (Nueva Caledonia, 20° S). Sin embargo, en los datos obtenidos en el presente trabajo y por otros autores (Costelloe, 1985, 1988; Ong y Gómez, 1985; Cameron y Fankboner, 1986), en el hemisferio norte (20° a 40° N) se puede observar que en todos los casos la reproducción ocurre durante todo el verano (aproximadamente tres meses) y se encuentra sincronizada con las variaciones de temperatura (Figs. 20 y 21). Por otro lado, existen especies tropicales que presentan ciclos reproductivos bianuales, como *Leptosynapta tenuis* (Green, 1978) y son frecuentes las especies que desovan a lo largo del año, e.g. *Chiridota rotifera* (Hyman, 1955) y *Synapta hidriformis* (Choe, 1962). Esto demuestra que los desoves de corta duración (menos de un mes) observados por Conand (1993a) no son una generalidad en los organismos tropicales. En el caso de los holoturoideos tropicales del Pacífico oriental, que incluye a las especies aquí estudiadas, parece ser que el desove se encuentra sincronizado con la mayor productividad de la columna de agua, la cual se presenta generalmente con las temperaturas más altas (Strathmann, 1985; Lessios, 1990). En las costas del noroeste de América y en el Golfo de California, se presentan eventos de surgencias durante la época de verano.

La incidencia del hermafroditismo en especies gonocóricas de equinodermos se considera rara (Lawrence, 1987). En el caso de los equinoideos, Shapiro (1935), encontró para *Arbacia punctulata*, un solo caso de hermafroditismo en 2350 organismos colectados. Moore (1932), encontró para *Echinocardium cordatum* un organismo hermafrodita de un total de 358 individuos. En el caso de los asteroideos, Cognetti y Delavault (1960), presentan para *Echinaster sepositus* 5 casos de hermafroditismo en 144 individuos. En la Clase Holothuroidea, el hermafroditismo está restringido particularmente al Orden Apodida (Hyman, 1955; Caso, 1961). Por estas razones, el hallazgo de 2 organismos hermafroditas de *I.*

fuscus en la Isla Espíritu Santo SC considera de especial importancia, debido que es **el** primer caso encontrado para esta especie. En el Orden Aspidochirotida (que incluye a **la** Familia Stichopodidae), **aparece** una especie totalmente hermafrodita: *Mesothuria intestinalis* (Hyman, 1955). Probablemente **el** hermafroditismo **de** *I. fuscus* **es poco** común, aunque el hecho de haber encontrado **dos** individuos hermafroditas en una muestra relativamente pequeña (256 organismos) sugiere que **la** característica no es tan rara en **la** población. Sin embargo, son necesarios mas estudios para aclarar el punto.

7.4. Morfología de las gónadas.

No se observó dimorfismo sexual externo en *I. fuscus* y en *N. gibbosa* y el sexo solamente pudo ser distinguido mediante **la** observación macroscópica **de las gónadas en** desarrollo, situación similar al que encontraron Engstrom (1980), Cameron y Fankboner (1986) y Conand (1993b). Los holoturoideos con gónadas en actividad gametogénica pueden sexarse de forma mas **precisa** por medio de observaciones al microscopio (Costelloe, 1985). En relación a la morfología de la gónada, Conand (1993b) **estudió a nueve especies de** aspidochirotas y describió su gónada, la cual está formada por un grupo de filamentos en el caso de la Familia Holothuridae **y por dos** grupos de filamentos en la Familia Stichopodidae. La gónada de *I. fuscus* (Familia Stichopodidae) está formada por un solo grupo de filamentos, con sáculos en las partes terminales de cada túbulo (Fig.12). Tyler y Gage (1983) describieron **la** gónada de un dendroquirotas, *Ypsilothuria talismani*, la cual está formada por numerosos filamentos no ramificados. Los túbulos de *N. gibbosa* se ramifican dicotómicamente (Fig.13). Así, de acuerdo a los datos presentados, observamos que la forma de las gónadas varía inclusive entre Familias pertenecientes **al** mismo Orden, por lo que las generalidades descritas por Conand

(1993b), no son tales. Smiley y Cloney (1985), Smiley (1988); Tuwo y Conand (1992) encontraron para los aspidoquirotas *Stichopus californicus* y *Holothuria forskali*, respectivamente y Hamel *et al.* (1993) para *Psolus fabricii* en el caso de los dendroquirotas, la presencia de diferentes túbulos en una misma gónada madura. Estos autores distinguen diferentes tipos celulares en cada túbulo, siendo entonces que los túbulos T₁ corresponden a túbulos inmaduros que son delgados. Los T₂ son gametogénicos y presentan células germinales pequeñas; los T₃ son túbulos fecundos o maduros y con un diámetro mayor y alojan a los ovocitos maduros. Los T₄ y T₅ corresponden a túbulos desovados y en postdesove. Sin embargo, no en todos los holoturoideos ocurre lo mismo. El crecimiento de los túbulos de *I. fuscus* y de *N. gibbosa* se dispara durante la época reproductiva y el desarrollo de los túbulos se lleva a cabo de manera homogénea. La producción de gametos es sincrónica en todos los túbulos. Este comportamiento pudiera considerarse como una cuestión adaptativa, con el fin de facilitar la fecundación de los gametos (Smiley, 1986).

7.5. Índices gonadosomáticos.

El periodo reproductivo de *I. fuscus* y *N. gibbosa* fue determinado por los datos histológicos observados y respaldado por el uso de los IG (Giese y Pearse, 1974). Estos se consideran únicamente como indicadores de la actividad reproductiva. De otra manera, los IG nos aportan por si solos, resultados fútiles. Grant y Tyler (1983) discutieron sobre la confiabilidad de los IG, ya que las características biométricas de la gónada no son constantes a lo largo del año, aunado a que el valor del IG es similar para diferentes estadios. Por otro lado, el tamaño de la gónada respecto al cuerpo varía de manera notable de especie a

especie. Sin embargo, con el conocimiento previo del ciclo gonádico y su relación con los IG, pueden ser indicadores al menos de la época de madurez. Con base en las dificultades de su uso y considerando que la variabilidad es mínima, no se deben utilizar por sí solos como herramienta confiable para establecer tácticas de explotación de especies susceptibles de pesca o cultivo.

En las especies estudiadas en Bahía de La Paz, se observa un aumento notable en los valores de los IG en primavera (Figs. 20 y 21). Esto ocurre debido a que la gónada comienza a incrementar su volumen, y por lo tanto su peso, debido a la gametogénesis. Cameron y Fankboner (1986) han observado un patrón similar para *Parastichopus californicus* y Conand (1993a) para *Stichopus variegatus*, ambos organismos aspidoceroles. Posteriormente, los IG disminuyen su valor debido a la expulsión de los gametos y a la reabsorción del material gonádico (Costelloe, 1985). Respecto a los dendroceroles, los IG de *Aslia lefroyrei* comenzaron a acrecentarse durante el verano (Costelloe 1985) y los de *Psolus fabricii* durante la primavera (Hamelet al., 1993).

Los valores de IG obtenidos en el presente trabajo, fueron cotejados con los datos histológicos para darle una mayor validez a los resultados. En Bahía de La Paz, los valores más altos de los IG de *I. fuscus*, se encontraron en julio de 1992 y en septiembre de 1993 (Fig. 20). En el primer caso, la mayoría de los organismos ya habían desovado, pero probablemente no habían liberado la totalidad de gametos, ya que los valores de IG aún eran altos y aún se observaban células sexuales en la gónada. En el siguiente periodo (1993), la mayoría de los individuos se encontraban maduros. Los IG van disminuyendo su valor conforme avanza el desove, y en general, para esta especie alcanzan valores mayores al 8%. Los valores más bajos de IG, se encontraron durante los meses de enero a mayo de 1993, con

temperaturas promedio mensuales que oscilaron entre los 21 y 23 °C (Anónimo, 1992-1993) y corresponden a los estadios de reposo y gametogénesis. No encontramos organismos de *I. fuscus* durante los meses de noviembre y diciembre de 1992 (Figs.15, 16 y 20). Al observar el patrón de los IG y del ciclo gonádico podríamos deducir que en esos meses, los organismos se encuentran en reposo.

En cuanto a *N. gibbosa*, los valores máximos de IG en las hembras fueron observados en agosto de 1992 y en septiembre de 1993. En el primer caso, la mayoría de las hembras se encontraban maduras y algunas desovadas. Para el año de 1993, solamente algunas de ellas habían desovado. Los machos obtuvieron valores máximos de IG (Fig. 21) en el mes de julio de 1992, a pesar de que muchos ya habían liberado los gametos, y en septiembre de 1993, con casi todos los individuos se encontraban maduros. Al igual que *I. fuscus*, los IG más bajos se encontraban en los meses fríos y coinciden con los periodos de reposo y gametogénesis. Tampoco se colectaron organismos de esta especie durante el mes de noviembre de 1992, y dadas las características anteriores, los individuos en esta época podrían encontrarse en estadio de reposo.

Todos estos datos nos permiten observar que existe una sincronización del ciclo reproductivo (representado por los IG y los datos histológicos) y la temperatura. Esto coincide con encontrado por Conand (1981, 1993a, 1993b); Hamel *et al.* (1993), que observaron una relación entre los valores de IG y la temperatura. De acuerdo a esto, podemos concluir que en la Bahía, la reproducción de *I. fuscus* y *N. gibbosa* ocurre cuando se alcanzan las temperaturas más altas, y el desove se inicia a partir de los 28 °C, durante el verano.

El IG de *I. fuscus* es bajo comparado con el de otros miembros de la misma familia, en la cual se han encontrado valores más altos (Tabla IV). En el caso de *N. gibbosa*, los IG fueron mayores que los de *I. fuscus*, a pesar de ser el primero un holoturoideo de menor tamaño. Los IG de ambas especies se encontraron dentro del intervalo calculado para la Clase Holothuroidea.

En cuanto a la comparación de los IG por sexo, se observó que la gónada femenina de *N. gibbosa* presentó IG significativamente mayores que los de la gónada masculina (Fig.21). Algunos autores encontraron que los ovarios de otras especies, presentan IG más altos que los de los testículos (Costelloe, 1985; Conand, 1990). En los holoturoideos, los ovarios son de mayor tamaño que los testículos, debido al volumen que alcanzan por el tamaño de los ovocitos y no tanto por la cantidad de éstos (Booolotian, 1966). entonces, los testículos, a pesar de tener una mayor cantidad de células, son de menor peso que los ovarios, puesto que las células son más pequeñas. Por otro lado, Cameron y Fankboner (1986), Conand (1993a), Hamel *et al.* (1993) observaron que los testículos de *Parastichopus californicus*, *Stichopus variegatus* y *Psolus fabricii* presentaron IG más altos que los de los ovarios, debido a la gran cantidad de túbulos presentes, y no al diámetro o longitud de los mismos. Respecto a *I. fuscus* no hubo diferencia significativa entre los IG de ambos sexos. Los ovocitos fueron muy pequeños, pero los espermatozoides no difieren significativamente de los encontrados por Krishnan y Dale (1975) para *Cucumaria frondosa* (2 µm) y Ong y Gómez (1985), para *Holothuria scabra* (2µm). No es común el encontrar que las gónadas masculinas y femeninas presenten IG similares. En *I. fuscus* posiblemente se deba a la pequeñez de los ovocitos (Fig.43) y a la gran cantidad de espermatozoides (Fig.27).

Tabla IV. Parámetros reproductivos registrados de algunas especies de holoturoideos en diversas localidades.

AUTOR	SITIO	ESPECIE	IG MAX	EPOCA REPROD	TEMP °C	PROP SEX	OVOCTOS DIAM MAX.
1 (A)	Nueva Caledonia	<i>Actinopyga echinites</i>	7.8%	nov-ene	24-26	1:1	175 µm
2 (A)	Oeste de Irlanda	<i>Islia lefevrei</i>	18%	mar-may	7- 12	1:1	235 µm
3 (A)	Columbia Británica	<i>Parastichopus californicus</i>	32%	jul-ago	16-18	1:1	-----
4 (A)	Italia	<i>Holothuria tubulosa</i>	15%	nov-ene	10-21	1:1	—
5 (A)	Italia	<i>Stichopus variegatus</i>	5%	nov-ene	24-26	1:1	180 µm
6 (A)	Bahía de La Paz	<i>Isostichopus fuscus</i>	12%	jul-sep	29-31	1:1	104 µm
(D)	Bahía de La Paz	<i>Neothyone gibbosa</i>	25%	jul-sep	29-31	1:1	01 µm

1. Conand (1982).

2. Costelloe (1985).

3. Cameron y Fankboner (1986)

4. Bulteel *et al.* (1992).

5. Conand (1993a).

6. Presente trabajo.

A = Orden Aspidochirotida

D = Orden Dendrochirotida

Barnes (1975) concluye que **el desove de los invertebrados está ligado** a factores fisiológicos y que es necesaria **la influencia de** mecanismos externos para inducirlo, como **la** temperatura, salinidad y cantidad de nutrientes. Tyler *et al.* (1982) hicieron mención a **los** parámetros fisicoquímicos que varían en **sitios** de aguas profundas y que influyen directamente en **la** actividad reproductiva de **los**

holoturoideos que habitan en ZONAS abisales. 1711 todos los casos, la temperatura se considera como uno de los factores reguladores de la reproducción más importantes, sin embargo, en el presente trabajo es evidente que solo actúa como factor sincronizador de los eventos reproductivos de *I. fuscus* y *N. gibbosa*, podemos observar la similitud en las curvas de distribución de los valores de IG y de temperatura. El desarrollo de la gónada se inicia cuando la temperatura comienza a elevarse y ambas continúan hasta alcanzar la madurez y las temperaturas más altas. El desove ocurrió a partir de los 28 °C. Un cambio brusco determina el inicio del desove. Si la temperatura actuase como disparador, se esperaría encontrar a todos los organismos desovados a partir de una temperatura dada. La temperatura en la bahía, descendió casi 9 grados de octubre a noviembre en 1992 y la mayoría de los organismos ya habían desovado al menos dos meses antes, cuando la temperatura aún no descendía (Figs. 20 y 21). Engstrom (1982), Costelloe (1985), Cameron y Fankboner (1986), Bulteel *et al.* (1992) y Hamel *et al.* (1993), obtuvieron el mismo patrón respecto a la influencia de la temperatura como factor sincronizador de la reproducción. La época reproductiva, y por tanto los IG, responden a fluctuaciones de temperatura interanuales, como las que se pueden presentar en años de Oscilación Sureña de "El Niño". Por esta razón, se recomienda que el establecimiento de épocas de veda sea determinado preferentemente por la temperatura del agua y no por el mes del año.

7.6. Histología de las gónadas.

El ciclo reproductivo se divide en 5 estadios básicos: gametogénesis, madurez, desove, **post** desove y reposo o indeterminado (Booolotian, 1966; Costelloe, 1985; Harriot, 1985; Hammel *et al.*, 1985; Cameron y Fankboner, 1986;

Comand, 1990). Dichos estadios describen las características histológicas de los tejidos reproductivos y de los tipos celulares presentes. ¿ información obtenida de esta manera, suele ser subjetiva (Giese y Pearse, 1974) puesto que cada autor utiliza criterios diferentes de acuerdo al organismo estudiado. Esta clasificación fue utilizada decididamente por Giese (1952) que se observó que los cinco estadios caracterizan adecuadamente las fases de desarrollo de la gónada.

En *I. fuscus* y *N. gibbosa*, la gametogénesis se inicia a partir de enero, aunque los datos muestran que en marzo se observa la mayor frecuencia de individuos en actividad gametogénica. Esta se inicia con la producción de células precursoras que se van desarrollando en ovogonias y espermatogonias y que ocupan la parte externa de la capa germinal. Khirshnan y Dale (1975) y Smiley (1988), describieron un proceso gametogénico similar para especies aspidóqurotas.

Las hembras de *I. fuscus* son las primeras que empiezan a desarrollarse (Fig. 5), y lo hacen a partir de enero en 1993. A principios del verano (junio) los ovocitos de *I. fuscus* y *N. gibbosa*, han alcanzado su mayor diámetro (Figs. 43 y 44) y presentan una protuberancia característica (ver arriba origen al polo animal) en el corte podemos distinguir la membrana del ovocito, que Smiley y Cloney (1985) describen como gelatinosa, y cuya función es la de darle protección. Esta membrana se contrae durante el proceso histológico y hace que los ovocitos se separen entre sí (Eingstrom, 1980). Khirshnan y Dale (1975) describen la configuración típica de 9+2 en los flagelos de los espermatozoides (característica similar en todos, por lo que podemos deducir que esto ocurre en las especies estudiadas) y éstos se encuentran dirigidos hacia el lumen. La presencia ocasional de atresias o células esfértiles en las gónadas maduras de dichas especies, se debe a que algunos de los ovocitos previtelogénicos no se desarrollan y comienzan a ser

reabsorbidos por fagocitos (Costelloe, 1985; Tyler y Billet, 1987; I lamel *et al.*, 1993). Los autores también sugieren que este material fagocitado se utiliza como material nutritivo para los ovocitos que continúan su desarrollo.

El desove de las hembras y machos de *I. fuscus* comenzó a partir de julio en 1992 y en 1993. En el caso de *N. gibbosa*, las hembras comienzan a desovar a finales de julio en 1992, al igual que en julio de 1993. Posteriormente, las gónadas van reduciendo su tamaño debido a la liberación de gametos y a la reabsorción de tejido. En los ovarios, se observaron menos ovocitos libres en el lumen (Figs. 28 y 38). Inaba (1930), Kume y Dan (1968) y Engstrom (1980) concluyeron que los ovocitos terminan su desarrollo durante el desove y la fertilización. Es frecuente observar túbulos masculinos de las dos especies, eyaculados totalmente, mientras que otros aún no liberan los gametos en el mismo organismo. Esto sugiere que la liberación de espermatozoides no es total, sino a intervalos, lo que coincide con lo observado para *Halodeima floridana* (Engstrom, 1980). Después del desove, las gónadas de *I. fuscus* y *N. gibbosa*, van perdiendo peso y volumen. Microscópicamente, el lumen se observa vacío, con ocasionales ovocitos amorfos o grupos pequeños de espermatozoides. Existe una gran actividad fagocítica en la cual se va reabsorbiendo todo el material gamético restante. Engstrom (1982) describió un mecanismo de reabsorción por fagocitosis. Hyman (1955) y Boolotian (1966) sugirieron la existencia de un transporte de material a nivel de membranas, mismo que posteriormente es llevado por hemocitos presentes en una de las capas de la gónada (el tejido hemal), hacia otros túbulos de la gónada (Smiley y Cloney, 1985).

En la Isla Espíritu Santo, durante los meses fríos (diciembre-febrero) encontramos las gónadas de las especies estudiadas en estadio de reposo. La mayor

cantidad de organismos indiferenciados y sin gónada se encontraron durante este periodo. Es difícil determinar si la gónada se está recuperando o si se está activando para la gametogénesis (Conand, 1982, 1983). La gónada es pequeña y las paredes foliculares son gruesas. Se distinguen claramente las células del tejido conjuntivo (Fig.42). Cuando la gónada se encuentra indiferenciada, es tan pequeña que puede pasar desapercibida (Tuwo y Conand, 1992). Es frecuente encontrar organismos sin gónada en los holoturoideos (Conand, 1981; Cameron y Fankboner, 1986). En el presente trabajo, se encontró un total de 83 organismos pertenecientes a *I. fuscus* y 70 de *N. gibbosa* sin gónada, equivalentes al 30% de la muestra. Estos organismos presentaron longitudes y pesos semejantes a las de los organismos con gónada, lo cual nos indica que son adultos y que posiblemente se encontraran en reposo. Hyman (1955) y Bakus (1973) mencionaron que la ausencia de gónadas pudiera deberse a eventos de evisceración, aunque no se encontró evidencia de ello en nuestras muestras. Es importante hacer notar que la inversión energética que requieren los holoturoideos es grande, ya que los IG aumentan su valor en cantidades equivalentes aproximadamente al 20% del peso corporal, como ocurre en *N. gibbosa* (Fig.21). El periodo de gametogénesis es largo en ambas especies, casi 6 meses del año (Figs.15, 16, 8 y 19). Posteriormente, casi toda la gónada es reabsorbida, posiblemente para obtener nutrientes, ya que no poseen órganos de reserva (Hyman, 1955).

7.7. Caracterización de los ovocitos.

El diámetro máximo de los ovocitos de *I. fuscus* y *N. gibbosa* fue de 104 μm y 95 μm respectivamente, aunque su diámetro promedio fue un poco más bajo en ambos casos (Tabla III). Al comparar estos ovocitos con los de otras especies,

observamos que son más pequeños (Tabla IV). El tamaño de los ovocitos varía inclusive a nivel de Género, ya que cada grupo responde de distinta manera a las presiones selectivas. (Lessios, 1990). Strathmann (1985) concluyó que existe una relación directa entre el tamaño del ovocito y el tipo de desarrollo que éste presenta, es decir, los huevos grandes dan origen a larvas lecitotróficas, que se alimentan de vitelo, y su desarrollo larval es prolongado. Los huevos de menor tamaño dan origen a larvas planctotróficas, que se alimentan de plancton en la columna de agua durante pocos días. Los ovocitos grandes tienen una mejor oportunidad de ser fertilizados debido a su tamaño, entonces las especies que producen ovocitos pequeños, deben hacerlo en gran cantidad para asegurar la fertilización (Levitan, 1993).

Wray y Raff (1991) mencionaron que en algunos equinoideos, los huevos que miden menos de 400 μm dan origen a larvas planctotróficas, mientras que de huevos que miden entre 500 y 800 μm , eclosionan larvas lecitotróficas. Por otra parte, los huevos que miden más de 1500 μm dan origen a pequeños embriones lecitotróficos. Las larvas lecitotróficas poseen vitelo suficiente para alimentarse durante el periodo de desarrollo. Podemos deducir que *I. fuscus* y *N. gibbosa* producen larvas planctotróficas. Por otro lado, en un desove de *I. fuscus* obtenido en laboratorio, las larvas eclosionaron después de 3 días y se observaron larvas auricularias bien desarrolladas durante 10 días (A. Herrero, CICIMAR, La Paz, B.C.S., com. pers., 1993), lo que coincide con Reese (1966), quien sostuvo que las larvas de holoturoideos del Pacífico subtropical eclosionan a los tres días. Este comportamiento puede explicarse si consideramos que en el Pacífico, existe una alta productividad primaria. Las especies de éste océano, producen en general huevos más pequeños y en mayor cantidad que sus contrapartes del Atlántico (Marra *et al.*, 1987; Lessios, 1990). La producción de larvas planctotróficas y el

rápido establecimiento de éstas, permiten suponer que *I. fuscus* y *N. gibbosa* pueden ser susceptibles de cultivo con técnicas tradicionales similares a las utilizadas en el cultivo de moluscos.

7.8. Peso de primera madurez.

El peso de primera madurez se define como aquel en el cual el 50 % de los organismos de una población se encuentran maduros (Conand, 1990). La longitud, no se considera una variable de confiabilidad en los análisis estadísticos utilizados para determinar aspectos poblacionales, pesqueros y reproductivos, debido a la gran variabilidad que presenta. En este estudio, fue utilizado el peso drenado para el calcular la edad o peso de primera madurez. Sin embargo, esta variable también se encuentra sujeta a error, debido a la cantidad de agua que queda en los tejidos. Sería más apropiado utilizar el peso seco o el peso constante como variable en dichos análisis.

En la Bahía de La Paz, *I. fuscus* es una especie que se reproduce a pesos relativamente pequeños es decir, organismos cuyo peso es menor al del promedio muestral (Tabla II), comportamiento similar al calculado por Choe (1963) para *Isostichopus japonicus*. El peso de primera madurez de *I. fuscus* fue de 367 g, en contraste con otros aspidoquirotas, que lo alcanzan hasta los 1000 g (Conand, 1981, 1982, 1990). Los individuos de *I. fuscus* alcanzan una longitud promedio de 1000 g al norte del Golfo de California (Tapia, 1994) y posiblemente su peso de primera madurez sea más alto. Desde este punto de vista, podemos considerar que esta especie puede utilizarse en cultivos debido a su potencialmente rápida madurez reproductiva.

En la literatura no se conocen datos sobre la edad o peso de primera madurez en otras especies del Orden Dendrochirotida. Los resultados del presente estudio, muestran que *N. gibbosa*, alcanzó el peso de primera madurez después de los 90 g, siendo ésta la primera información de su tipo. Considerando esto, podemos suponer que debido a la alta cantidad de individuos reproductivos (67% de la población de *I. fuscus* y 77% de la población de *N. gibbosa*) que las poblaciones de estas especies son capaces de repoblarse por si mismas.

Resumiendo, el ciclo reproductivo de *I. fuscus* y *N. gibbosa* presenta un patrón anual y el desove ocurre durante los meses de verano (julio-septiembre). Los valores de IG y los datos histológicos de las gónadas de ambas especies, se encuentran sincronizados con las variaciones de temperatura en la bahía. No existe una relación entre la longitud y el peso con el sexo. La proporción sexual obtenida durante el periodo de muestreo, no difiere significativamente de la esperada 1:1. El peso de primera madurez de *I. fuscus* se alcanzó a los 367 g y el de *N. gibbosa* a los 90 g. La información obtenida en el presente trabajo aporta una de las bases principales en el manejo de actividades pesqueras o acuaculturales.

8. CONCLUSIONES

- Los individuos de la población de *Isostichopus fuscus* de la Bahía de La Paz, miden 19.5 ± 0.17 cm y pesan 351.5 ± 5.5 lg. Los individuos de la población de *Neothyone gibbosa* de la Bahía de La Paz, miden 17.9 ± 0.29 cm y pesan $96.5 \pm$ g en promedio.
- No** existe diferencia significativa respecto a la longitud, el peso y el sexo de ambas especies.
- Existe diferencia significativa entre las longitudes y peso por mes, encontrando para *I. fuscus* los organismos más grandes en julio de 1993 y los más pesados en junio de 1993. En el caso de *N. gibbosa* los más grandes y los más pesados, ocurren coincidentemente en el mes de septiembre de 1992.
- No existe relación entre la longitud, el peso y el sexo.
- La proporción sexual de ambas especies no difiere significativamente de 1:1.
- Los IG de ambas especies se encontraron relacionados significativamente con los estadios gonádicos y con las variaciones de temperatura en la bahía, actuando ésta como sincronizador de la reproducción. Los valores máximos de IG se encontraron durante los meses del verano en ambas especies.
- No se** encontró diferencia significativa entre los IG de machos y hembras de *I. fuscus*. Por el contrario, los IG de *N. gibbosa* entre machos y hembras, difieren significativamente, siendo mayores los de las hembras.
- En Isla Espíritu Santo, presentan un ciclo reproductivo anual con un solo desove que ocurre durante los meses de verano (julio-septiembre).
- Los organismos de ambas especies inician el desove en la Bahía durante el verano, a partir de los 28°C.
- Se describieron 5 fases de madurez que caracterizan el ciclo reproductivo de ambas especies:
 - (I) Gametogénesis. Se inicia la actividad gametogénica.
 - (II) Madurez. Los ovocitos, que alcanzan su diámetro máximo., se agrupan sin dejar espacios entre ellos.
 - (III) Desove. El lumen muestra espacios vacíos y no se observan células en desarrollo.
 - (IV) Postdesove. Se observan algunos ovocitos amorfos y fagocitos.
 - (V) Reposo. Se observan fagocitos ocasionales y ninguna célula sexual.

- El diámetro máximo de los ovocitos de *I. fuscus* fue de 104 μm y el de *N. gibbosa* de 95 μm .
- El peso de primera madurez de *Isostichopus fuscus* **se** alcanzó a los 367 g mientras que el de *Neothyone gibbosa* a los 96 g.

9. RECOMENDACIONES

Considerando el estudio realizado, es necesario que se continúen las investigaciones sobre los holoturoideos, no solamente el aspecto biológico de las especies comerciales, ya que aún faltan por conocer las especies de holoturoideos que tenemos en el país. Respecto a la pesquería, considerando que *Isostichopus fuscus* está bajo protección legal, se recomienda enfocar los estudios en condiciones controladas, con miras a la producción de su cultivo.

En el caso de *N. gibbosa*, no existe pesquería, sin embargo, deben proseguirse los estudios para ampliar el conocimiento de la especie y en caso de que se implementase la pesquería, establecer un control racional y capturar organismos que pesen más de 90 g.

SUGERENCIAS PARA TRABAJOS FUTUROS

Estudios de fecundidad, edad y crecimiento en las poblaciones de holoturoideos de importancia comercial, así mismo, estudios relativos a los factores que ayudan al mantenimiento de organismos en cautiverio para el establecimiento de cultivos, como son factores fisicoquímicos, alimentación, condiciones óptimas para la reproducción, inducción al desove, obtención y desarrollo de larvas en laboratorio. El conocimiento de la biología de las larvas, permitirán la obtención de juveniles en condiciones controladas para lograr un repoblamiento futuro en el campo. Así como estudios sobre este periodo de su ciclo de vida.

En el caso de *N. gibbosa*, se sugiere ampliar los estudios bioquímicos y de antibiosis con el fin de promover la utilización de la especie y su aplicación en la medicina.

Estudios ecológicos, principalmente sobre aspectos de distribución y abundancia.

Estudios taxonómicos sobre las especies de holoturoideos, ya que aún desconocemos las especies que tenemos en el país.

10. LITERATURA CITADA

- Anónimo. 1979. Bêche de mer of the tropical Pacific. **South Commission**, Noumea, New Caledonia, 18: 2-29.
- Anónimo. Julio de 1992 a julio de 1993. **Oceanographic monthly magazine**. NOAA. Reporte mensual de temperaturas del mundo.
- AviSOS de arribo de la Delegación Estatal de Pesca.1992.**Dirección general de Informática y Registros pesqueros**. Secretaría de pesca. Sin paginación.
- Bakus, J. G. 1973. The Biology and Ecology of Tropical Holothurians. *in*: O.A. Jones y R. Endean eds. **Biology and Geology of Coral Reefs**. Academic Press, New York.2: 325-367.
- Barnes, H. 1975. Reproductive rhythms in some marine invertebrates: an introduction. **Publ. Stn. Zool.** Napoli, 39 (suppl): 8-25.
- Bhatnagar, S., B.Dudouet., A. Ahond., C. Poupat., O. Thoison.,A. Clastres., D. Laurent., y P. Potier.1985. Invertébrés marins du Lagon Néocalédonien. IV. Saponines et Sapogénines d'une Holothurie *Actinopyga flammea*. **Bull. Soc. Chim. Fr.** 2: 124-130.
- Booolotian, R. A. 1966. Reproductive physiology. *in*: **Physiology of Echinodermata**. R. A. Booolotian, (ed.) John Wiley & Sons. Interscience, New York. pp. 561-614.
- Borslow, M. H. 1977. Holothurians and toxins. *in*: J. Knerger (ed.). **Marine Pharmacology**. Pub. Co. Huntington, New York.: 184-189..
- Briggs, J.C. 1974. **Marine Zoogeography**. Mc. Graw Hill. p. 475.
- Brusca, R.C., y G.J., Brusca. 1990. **Invertebrates**. Sinauer. Massachussets. 992 p.

- Bulteel, P., M. Jangoux y P. Couloun. 1992. Biometry, bathymetric distribution and reproductive cycle of the holothuroid *Holothuria tubulosa* (Echinodermata) from Mediterranean seagrass beds. **Mar. Ecol.** 13:53-62.
- Caso, M.E. 1961. Los equinodermos de México. Tesis doctoral. Fac. Cienc. Univ. Nal. Autón. Méx. 388 p.
- Caso, M.E. 1971. El estado actual del estudio de los equinodermos en México. **An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. Méx. 2 : 1-56.**
- Caso, M.E. 1978. Ciencia y técnica de los equinodermos en relación con el hombre. Primera parte. Aspectos científicos. **An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. Méx. 3: 255-286.**
- Cameron, J.L. y P.V. Fankboner. 1986. Reproductive biology of the sea cucumber *Parastichopus californicus* (Stimpson) (Echinodermata: Holothuroidea). 1. Reproductive periodicity and spawning behavior. **Can. J. Zool.** 64: 168-175.
- Cameron, J.L. y P.V. Fankboner. 1989. Reproductive biology of the sea cucumber *Parastichopus californicus* (Stimpson) (Echinodermata: Holothuroidea). II. Observations on the ecology of development, recruitment and the juvenile life stage. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.**, 127: 43-67.
- Cognetti, G. y R. Delavault. 1960. Recherches sur la sexualité d'*Echinaster sepositus* (Echinoderme: Astéride) Etude des glandes génitales chez les animaux des côtes de Livourne. **Cah. Biol. Mar.**, 1: 421-432.
- Colwin, L. H. 1948. Note on the spawning of the holothurian *Thyone briareus* (Lesseur). **Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole**, 95: 296-306.
- Conand, C. 1981. Sexual Cycle of three commercially important holothurian species (Echinodermata) from the lagoon of New Caledonia. **Bull. Mar. Sci.**, 31: 523-543.
- 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. *in*: J.M. Lawrence. **Proceedings of the International Echinoderms Conference** Tampa Bay. Rotterdam, Balkema. 1: 437-442.
- Conand, C. 1986. Les Ressources halieutiques des pays insulaires de Pacifique. Deuxieme partie: Les Holothuries. **FAO Doc. Tech. Monography**. 272 p.
- Conand, C. 1988a. Comparison between estimations of growth and mortality of two stichopodid Holothurians: *Telenota ananas* and *Stichopus chloronotus* (Echinodermata: Holothuroidea). **Proceedings of the sixth International Coral Reef Symposium on Echinodermata**, Townsville, Australia. 2: 66 1-665.
- Conand, C. 1988b. Growth and mortality of some holothurians from the lagoon of New Caledonia. **Proceedings of the sixth International Symposium on Echinodermata**. Echinoderms: living and fossils Townsville, Australia. 1:160-176.
- Conand, C. 1989. Aspidochirote Holothurians of the New Caledonian lagoon: Biology, Ecology and exploitation. *Etud. Theses Inst. Fr. Rech. Sci. Dev. Coop.* 393 p.
- Conand, C. 1990. The Fishery resources of Pacific Island countries. **FAO Fisheries technical paper**. Part 2. Holothurians. **FAO**, Roma. 143 pp.
- Conand, C. 1992. Evolution recente des exploitations mondiales d'holothuries. *in*: L. Scalera-Liaci y C. Canicati (eds). **Echinoderm Research**. Rotterdam, Balkema. 1:171-172.
- Conand, C. 1993a. Ecology and the reproductive biology of *Stichopus variegatus*, an Indopacific coral reef sea cucumber (Echinodermata: Holothuroidea). **Bull. Mar. Sci.**, (52) 3: 970-981.
- Conand, C. 1993b. Reproductive biology of the holothurians from the major communities of the New Caledonian Lagoon. **Mar. Biol.** 116: 439-450.

- Conand, C. y N.A. Sloan. 1989. World Fisheries for Echinoderms. *in*: John F. Caddy (ed.). **Marine Invertebrates Fisheries: Their assessment and management.** John Wiley & sons. New York. 1:647-663.
- Costelloe, J. 1985. The annual reproductive cycle of the holothurian *Aslia lefevrei* (Dendrochirota: Echinodermata). **Mar. Biol.** 88: 155-165.
- Costelloe, J. 1988. Reproductive cycle, development and recruitment of two geographically separated populations of the dendrochirote holothurian *Aslia lefevrei*. **Mar. Biol.** 99: 535-545.
- Coulon, P., M. Jangoux., y P. Bulteel. 1992. Respiratory rate and assesment of secondary production in the holothuroid *Holothuria tubulosa* (Echinodermata) from Mediterranean seagrass beds. **Mar. Ecol.** 13: 33-68.
- Choe, S. 1963. Biology of the japanese sea cucumber *Stichopus japonicus*, Selenka. Pusan, Pusan, Nat. University. 226 p.
- Day, R. W. y G.P. Quinn. 1989. Comparisons of treatments af ter an analysis of variance in Ecology. **Ecol. Monogr.** 59: 433-463.
- Deichmann, E. 1941. The Holothuroidea collected by the Veiero III during the years 1932 to 1938. Part 1. Dendrochirota. **Allan Hancock Pacific Expeditions.** 8: 61-194.
- Deichmann, E. 1958. The Holothuroidea collected by the Velero III & IV during the years 1932 to 1954. Part II. Aspidochirota. **Allan Hancock Pacific Expeditions.** 11: 253-358.
- Diario Oficial de la Federación, 1994. NOM-059-ECOL-1994, que determina que las especies y subespecies de flora y fauna silvestre terrestres y acuáticas en peligro de extinción, amenazadas, raras y las sujetas a protección especial, y que establece especificaciones para su protección. Mayo, 16. México. 2-59.

- Eckelbarger, J. K., y C. M. Young. 1992. Ovarian ultrastructure and vitellogenesis in ten species of shallow-water and bathyal **sea cucumbers** (Echinodermata: Holothuroidea). **J. Mar. Biol. Ass. U. K.** **72: 759-781**.
- Encarnación, R., G. Carrasco, y M. Espinoza. 1989. Neothyoside, A, proposed structure of a triterpenoid tetraglycoside from the Pacific sea cucumber *Neothyone gibbosa*. **J. Nat. Products.** **52: 258-251**.
- Engstrom, A. N. 1980. Reproductive cycles of *Halodeima floridana*, *Holothuria mexicana* and their hybrids (Echinodermata: Holothuroidea) iii southern Florida, U.S.A., **Intel. J. Invert. Reprod.** **2: 237-244**.
- Engstrom, A. N. 1982. Brooding behavior and reproductive Biology of a subtidal Puget Sound sea cucumber *Cucumaria lubrica* (Clark, 1901) (Echinodermata: Holothuroidea). *in*: J. M. Lawrence (ed). **Proceedings of the International Echinoderms Conference**. Rotterdam, Balkema. 1: 447-450.
- Giese, C.A., y J.S. Pearse. 1974. Reproduction of Marine Invertebrates.** Academic Press. New York. Vol. I. 344 pp.
- Grant, A. y R. A. Tyler. 1983. The analysis of data in studies of invertebrate reproduction. 1. Introduction and statistical analysis of gonad indices and maturity Indices. **Inter. J. Invert. Rep.** **6: 259-269**.
- Green, J.D. 1978. The annual reproductive cycle of an apodous holothurian, *Leptosynapta tenuis*: a bimodal breeding season. **Biol. Bull.** **154: 68-78**.
- Green, G. y J. G. Bakus. 1975. Toxicidad en esponjas y holoturias. **An. Cent. Cienc. Mar y Limnol. Univ. Nal. Auton. Mex.** **2: 61-66**.
- Hamel, J. F., J. H. Himmelman y L. Dufresne. 1993. Gametogenesis and spawning of the sea cucumber *Psolus fabricii* (Duben and Koren). **Biol. Bull.** **184: 125-143**.
- Harriot, V. J., 1985. The potential for Bêche de mer fishery. **Aust. Fish.**, **6: 18-21**.

- Hornell, J. 1917. The Indian Bêche de mer Industry, its history and recent revival. **Madras Fish. Bull.**, 11: 119-150.
- Humason, G.L. 1979. **Animal tissue techniques**. 4a. Ed. Freeman and Co. San Francisco. 661 p.
- Hyman, L. H. 1955. **The Invertebrates: Echinodermata, the coelomate bilateria**. Mc Graw Hill, New York. 763 pp.
- Inaba, D. 1930. Notes on the development of an holothurian *Caudina chilensis* (J. Mueller). Sci. Rep. Tohoku Univ. Ser. 4. **Biol. 5: 215-248**.
- Kastendiek, J. y A. Muscat. 1982. Aspects of the biology of the sea cucumber *Parastichopus parvimensis*: A developing commercial fishery. U.S.C. Sea Grant Institutional Program. Annual Report. 1:63-66.
- Kessel, R. G. 1964. Electron microscope studies on oocytes of an echinoderm, *Hydomya briareus*, with special reference to the origin and structure of the annulate lamellae. **J. Ultrastr. Res.** 10: 498-514.
- Kitagawa, I., H. Yamamoto., M. Kobayashi., T. Nishino., I. Yosioka. y T. Sugawara. 1978. Saponin and sapogenol XXVII. Revised structure of Holotoxin A y Holotoxin B. Two antifungal Oligoglycosides from the sea cucumber *Stichopus japonicus* Selenka. **Chem. Pharm. Bull.** 26: 3722-3731.
- Krishnan, S. y T. Dale. 1975. Ultrastructural studies on the testis of *Cucumaria frondosa* (Holothuroidea: Echinodermata). **Norw. J. Zool.** 23: 1-15.
- Krishnaswamy, S. y S. Krishnan. 1967. A report on the reproductive cycle of the holothurian *Holothuria scabra* Jaeger. **Curr. Sci.** 6: 155-156.
- Kume, M. y K. Dan. 1968. **Invertebrate Embryology**. Nolit. Publishing. Belgrade. 615 p.
- Lawrence, J. 1987. **A Functional biology of Echinoderms**. Croom Helm. London. 340 pp.

- Lessios, H. A. 1990. Adaptation and phylogeny as determinants of egg size in echinoderms from the two sides of the Isthmus of Panama. **Am. Nat.** **135**: 1-73.
- Levitan, R.D. 1993. The importance of sperm limitation to the evolution of egg size in marine invertebrates. **Am. Nat.** **141**: 517-536.
- Ludwig, H. 1875. Beiträge zur kenntniss der Holothurien und Nachtrag., **Zool. Zoot. Inst. Wiirzburg.** **2**: 77-118.
- Maluf, L.I. 1988. Composition and distribution of the central eastern Pacific echinoderms. **Technical reports 2.** Nat. Hist. Mus. of L.A. County. 242 p.
- Marra, J., P.H. **Wiebe**, J.K. Bishop y J.C. Stepien. 1987. Primary production and grazing in the plancton of the Panama Bight. **Bull. Mar. Sci.** **40**: 255-270.
- McEuen, F.S. 1988. Spawning behaviors of Northeast Pacific sea cucumbers (Holothuroidea: Echinodermata). **Mar. Biol.** **98**: 565-583.
- Moore, H.B. **1932**. A hermaphroditic sea urchin. **Nature**, **130**: 59.
- Mortensen, Th. 1921. Studies of the development and larval forms of echinoderms. **G.E.C. Gad.** Copenhagen, 261 p.
- Mosher, C. **1982**. Spawning behavior of the aspidochirote holothurian *Holothuria mexicana* Ludwig. En: **Proceedings of the Internacional Echinoderms Conference.** J. M. Lawrence (ed). 467-468. Rotterdam, Balkema.
- Nigrelli, R. F. 1952. The effects of Holothurin on fish and mice with sarcoma 180. **Zoologica.** **37**: 89-90.
- Nigrelli, R. F. y S. Jakowska. 1960. Effects of Holothurin, a steroid saponin from the Bahamian sea cucumber (Echinodermata: Holothuroidea). **Zoologica.** **40**: 47-48.

- Nigrelli, R. F., J. D. Chanley, S.K.Kohn y II. Sobotka. 1955. The Chemical nature of Holothurin, a toxic principle from the **s e a** cucumber (Echinodermata: Holothuroidea). **Zoologica**. 40:55-58
- Ong. Ch.R.G.; y E.D. Gómez. 1985. Reproductive periodicity of *Holothuria scabra* Jaeger at Catalan, **Batangas**, Phillipines. **Assian Mar. Biol.** 2: 2 1-30.
- Parrish, 1975. Processing guidelines for Bêche de mer. **Aust. Fish.** 2: 26-27.
- Reese, S.C. 1966. The complex behavior of echinoderms. **En: Physiology of Echinodermata**. R. Boolotian (ed). John Wiley & sons. New York. 822 p.
- Robertson, G.W., C. Hotton., y J. H. Merrit. 1987. Drying Atlantic sea cucumber. **Infish Mark.** 3: 36-38.
- Rutherford, J. C. 1973. Reproduction, growth and mortality of the holothurian *Cucumaria pseudocurata*. **Mar. Biol.** 22: 167-176.
- Salgado, C.L.R. 1993. The fishery of the sea cucumber *Parastichopus parvimensis* in Baja California, México. **Abstracts. 8th Int. Echinoderms Conf., Dijon, France**. Sin paginación.
- Salgado, C.L.R. 1994. Opciones de manejo del recurso *Isostichopus fuscus* del Mar de Cortés, B.C.S., México. **Memorias del V Congreso de la Asociación de Investigadores del Mar de Cortés, A.C., U.A.B.C.S., La Paz, México**. Sin paginación.
- Sella, A. y M. Sella. 1940. L'Industrie del Trepang. **Thalassia.** 4: 1-16.
- Semper, C. 1868. Reisen im Archipel der Philippinen. Holothurien. Leipzig, **Wissenschaftliche Resultate.** 1:172-174.
- Sewell, M. y P. Bergquist. 1990. Variability in the reproductive cycle of *Stichopus mollis* (Echinodermata: Holothuroidea). **Invertebr. Rep. Devel.**(17)1: 1-7.

- Shapiro, H. 1935. A case of functional hermaphroditism in the sea urchin *Arbacia punctulata* and an estimate of the sex ratio. **Amer. Nat.**, **69**: 286-288.
- Shelley, C. 1985. Growth of *Actinopyga echinites* and *Holothuria scabra* (Holothuroidea: Echinodermata) and their fisheries potential (as bêche de mer) in Papua New Guinea. **Proceedings of the fifth International coral reef congress**, Tahití. 5: 297-302.
- Smiley, S. 1986. Metamorphosis of *Stichopus californicus* (Echinodermata: Holothuroidea) and its phylogenetic implications. **Biol. Bull.** **171**: 611-631.
- Smiley, S. 1988. The dynamics of oogenesis and the annual ovarian cycle of *Stichopus californicus* (Echinodermata; Holothuroidea). **Biol. Bull.** **175**: 79-93.
- Smiley, S. y R.A. Cloney. 1985. Ovulation and a fine structure of the *Stichopus californicus* (Echinodermata: Holothuroidea) fecund ovarian tubules. **Biol. Bull.** **169**: 342-364.
- Solís-Marín, F.A., M.D. Herrero-Pérezruiz, A. Laguarda y J. Torres. 1993. Asteroideos y equinoideos de México (Echinodermata). pp. 91-105. **En: Biodiversidad Marina y Costera de México**. S.I. Salazar-Vallejo y N.E. González (eds). Com. Nal. Biodiversidad y CIQRO. México. 865 p.
- Sokal, R. y J.H. Rohlf. 1980. **Biometry**. John Wiley and Sons. New York. 468 p.
- Strathmann, R.R. 1985. Feeding and nonfeeding larval development and life-history evolution in marine invertebrates. **Ann. Rev. Ecol. Syst.** **16**: 339-361.
- Sullivan, T.D. y R.F. Nigrelli. 1956. Antitumor action of biologicals of marine origin. I. Survival of Swiss mice inoculated with Krebs 2, ascites tumor and treated with Holothurin, a steroid saponin from the sea cucumber *Actinopyga agassizi*. **Proc. Am. Assoc. Cancer Res.** **2**: 151-155.
- Tapia, V. O. y J.J. ti. Castro. 1994. Análisis microscópico y determinación de la madurez gonádica del pepino de mar *Isostichopus fuscus* y *Parastichopus*

parvimensis. Cuaderno de resúmenes del X Simposium Internacional de Biología Marina. U.A.B.C., Ensenada. p. 108.

Tuwo, A. y C. Conand. 1992. Reproductive Biology of the holothurian *Holothuria forskali* (Echinodermata). **J. Mar. Biol. Ass. U. K. 72: 745-758.**

Tyler, P.A. and D.S.M. Billet. 1987. The reproductive ecology of elasipodid holothurians from the N.E. Atlantic. **Biol. Oceanogr. (5) 4: 273-96.**

Tyler, P.A., D.S.M. Billet, y J.D. Gage. 1987. The Ecology and reproductive biology of *Cherbonniera utriculus* and *molpadia blakei* from the N.E. Atlantic. **J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 67: 385-397.**

Tyler, P.A., y J.D. Gage. 1983. The reproductive biology of *Ypsilothuria talismani* (Holothuroidea: Dendrochirota) from the N.E. Atlantic. **J. Mar. Biol. Ass. U.K. 63: 609-616.**

Tyler, P.A., J.D. Gage y D.S.M. Billet. 1985. Life-history of *Peniagone azorica* and *P. diaphana* (Echinodermata: Holothuroidea) from the N.E. Atlantic Ocean. **Mar. Biol. 89: 71-81.**

Tyler, P.A., A. Grant., S.C. Pain., J.D. Gage, 1982. Is annual reproduction in deep-sea echinoderms a response to variability in their environment? **Nature (300): 747-750.**

Tyler, P.A., C.M. Young., D.S.M. Billet., L.A. Gilles. 1992. Pairing behavior, reproduction and diet in the deep-sea holothurian genus *Paroriza* (Holothuroidea: Synallactidae). **J. Mar. Biol. Ass. U.K. 72: 447-462.**

Valdéz, N.M.A. 1994. Pepino de mar, recurso potencial en decadencia. **Memorias del V Congreso de La Asociación de Investigadores del Mar de Cortés, A.C., U.A.B.C.S., La Paz, México. Sin paginación.**

Wray, AG. y R.A. Raff. 1991. The evolution of developmental strategy in marine invertebrates. **TREE (6) 2: 45-50.**

Yamanouchi, T. 1955. On the poisonous-substances contained in holothurians.
Publ. Seto Mar. Biol. Lab. 4: 24-45.

Yasumoto, T., M. Tanaka, y Y. Hashimoto. 1966. Distribution of Saponine in
Echinoderms. **Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.**, 32: 124-130.