



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus* (Echinodermata: Holothuroidea) en la península de Yucatán, México.

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA:

JESSICA LUCIA ARTEAGA MUÑOZ

TUTOR PRINCIPAL

DR. JORGE ALBERTO LÓPEZ ROCHA - UNAM

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

DR. CARLOS ROSAS VELÁZQUEZ- UNAM

DRA. CRISTINA PASCUAL JIMÉNEZ- UNAM

DR. MARCIAL ARELLANO MARTÍNEZ- CICIMAR

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

DRA. BERTHA PATRICIA CEBALLOS VÁZQUEZ- CICIMAR

CIUDAD DE MÉXICO, ENERO 2019.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus* (Echinodermata: Holothuroidea) en la península de Yucatán, México.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA:

JESSICA LUCIA ARTEAGA MUÑOZ

(BIOLOGÍA MARINA)

TUTOR PRINCIPAL:

DR. JORGE ALBERTO LÓPEZ ROCHA

FACULTAD DE CIENCIAS

COMITÉ TUTOR:

DR. CARLOS ROSAS VELÁZQUEZ

FACULTAD DE CIENCIAS

DRA. CRISTINA PASCUAL JIMÉNEZ

FACULTAD DE CIENCIAS

DR. MARCIAL ARELLANO MARTÍNEZ

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

DRA. BERTHA PATRICIA CEBALLOS VÁZQUEZ

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

MÉXICO, CD. MX., ENERO, 2019

Agradecimientos

Al proyecto UNAM-DGAPA-PAPIIT con clave: IN210915 “Diseño de estrategias de explotación y manejo sustentable del pepino de mar *Isostichopus badionotus* (Echinodermata: Holothuroidea) en la península de Yucatán, México.

Al proyecto de Desarrollo Científico para Atender Problemas Nacionales CONACyT con clave: 247018 “Investigación integral para la planeación de nuevas medidas de manejo pesquero que permitan la pesca sustentable de pepino de mar en la costa de Yucatán”.

A los participantes M. en C. Imre Páramo Romero, Biol. Marco Antonio Ponce Márquez, M. en C. Salvador Romero Gallardo, Biol. Walter Printzen Cruz, que colaboraron en el trabajo de campo para la obtención de muestras de las especies de pepino de mar *I. badionotus* y *A. multifidus* en la costa de Sisal, Yucatán. A la M. en C. Maribel Badillo quién apoyó en el trabajo de laboratorio en el procesamiento de muestras histológicas, así como asesoramiento en la metodología para la realización de esta tesis. A la M. en C. Isis Hernández Herrera quien apoyó en el trabajo de laboratorio, en la disección, separación y observación de muestras. A la Biol. Alejandra Garnica Cabrera, quien apoyó en el procesamiento de muestras para la obtención de cortes histológicos. A la tripulación de la embarcación “Kaak Naab” Fernando Mex y Antonio Cob Reyes.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico otorgado económico brindado durante mis estudios de posgrado.

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por permitirme continuar con mi formación profesional en el mundo científico.

A mi tutor, el Dr. Jorge Alberto López Rocha, por apoyarme desde el primer momento, por los conocimientos compartidos, sin el este trabajo no hubiera sido posible.

A mi comité tutorial integrado por el Dr. Carlos Rosas Velázquez, el Dr. Marcial Arellano Martínez, la Dra. Patricia Ceballos Vázquez y la Dra. Cristina Pascual

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

Jiménez, por el apoyo incondicional y el intercambio de conocimientos en el proceso de este trabajo.

A Isis Hernández Herrera, por iniciarme en el maravilloso mundo de los pepinos de mar, por todas las horas invertidas en las disecciones y tener respuestas a mis dudas, por siempre tener ganas de ayudarme y seguir descifrando a estos animalitos tan complejos.

A mi amiga incondicional, quien me enseñó que la familia no solo es de sangre, Luisa, gracias por todas las aventuras vividas, por compartir buenos y malos momentos, por enseñarme cosas de tu cultura.

A todos mis amigos y compañeros de posgrado, quienes hacen más llevadero este proceso.

Dedicatorias

A mi familia, por el apoyo incondicional a distancia, por haber seguido mis pasos por estos casi tres años, olvidando la distancia que nos separaba, no saben cuanto agradecí sentir tanto apoyo y cariño estando tan lejos de casa. Gracias mamá, gracias papá, por apoyarme en una decisión que yo se fue difícil para ustedes, gracias a eso he crecido más como persona. Los quiero.

A mis hermanitos, que aunque al principio fue duro aprender a comunicarnos con la distancia, lo logramos!! Y estamos más unidos que nunca.

A mi tía Carito, gracias por apoyarme en todo momento de todas las maneras posibles. Te quiero brujita.

A mi tía Carmelita, gracias por esas visitas, las pláticas, consejos y todo el apoyo incondicional que me haz brindado.

Este trabajo en especial va dedicado a ti, David, quien me acompañó en esta gran aventura, gracias por hacer mis sueños realidad, por todas las aventuras vividas, así como tu apoyo incondicional en todo momento. Te amo.

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

“Imposible” es solo una palabra que usan los hombres débiles para vivir fácilmente en el mundo, sin atreverse a explorar el poder que se le dio para cambiarlo.

“Imposible” no es una declaración, es un reto.

“Imposible” es potencial,

“Imposible” es temporal,

“Imposible” no es nada.

-Muhammad Ali

RESUMEN

Desde el 2010 se ha desarrollado una intensa explotación pesquera de pepinos de mar en Yucatán. Las especies de mayor abundancia son *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, de las cuales en la primera se ha centrado el 95% de la explotación pesquera ya que para la otra el interés comercial a sido mínimo. Debido a su importancia, es imprescindible generar conocimiento científico en el cual se puedan basar medidas de conservación y de manejo para un aprovechamiento sustentable. El objetivo del trabajo fue conocer y describir diferentes aspectos de la biología reproductiva en hembras de *I. badionotus* y *A. multifidus* en la península de Yucatán, México durante un ciclo anual y relacionarlos con factores ambientales. De agosto de 2016 a agosto de 2017 se realizaron muestreos mensuales de las dos especies frente a la costa de Sisal, Yucatán. Para describir el ciclo reproductor se examinaron las gónadas mediante la técnica histológica de rutina, para estimar la temporada reproductora se calculó el índice gonadosomático (IGS) y se contrastó con las fases de madurez; además se determinó la proporción sexual, el peso de primera madurez y la fecundidad parcial, finalmente se hicieron correlaciones entre el índice gonadosomático con la temperatura, la profundidad, la salinidad y el fotoperiodo. La proporción sexual de ambas especies fue de 1:1 H:M. Se identificaron cinco fases de madurez gonadal: I, reposo; II, desarrollo; III, madurez; IV, desove y V, postdesove. De acuerdo las evidencias histológicas y al índice gonadosomático la temporada de mayor actividad reproductora para *I. badionotus* fue de agosto a septiembre, con un segundo periodo reproductor en mayo, mientras que para *A. multifidus* fue de abril a mayo. Se observó que ambas especies presentaron desarrollo asincrónico de sus gónadas con gametos en diferentes estadios de desarrollo, lo que sugiere que ambas especies presentan múltiples desoves a lo largo de una temporada reproductora. La fecundidad parcial de *A. multifidus* solo se pudo determinar en una hembra y fue de 4,605,207, mientras que en promedio en *I. badionotus* fue de 6,052,427 ovocitos; el peso de primera madurez en *I. badionotus* fue de 397.31 g, mientras que para *A. multifidus* fue de 680.01. Los resultados mostraron que no existió relación entre las variables ambientales y el IGS.

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

Palabras clave: Ciclo reproductor, índice gonadosomático, asincronía, fecundidad parcial, proporción sexual, peso de primera madurez (W_{50}).

ÍNDICE

RESUMEN.....	6
GLOSARIO.....	14
INTRODUCCIÓN.....	16
ANTECEDENTES	18
Diagnosis.....	18
<i>Isostichopus badionotus</i>	18
<i>Astichopus multifidus</i>	19
Reproducción	20
Antecedentes de estudios de <i>A. multifidus</i> en América Latina.....	26
Pesquería del pepino de mar.....	26
JUSTIFICACIÓN	28
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	28
HIPÓTESIS.....	29
OBJETIVOS	30
METODOLOGÍA.....	31
Área de estudio.....	31
Obtención y procesamiento de muestras.....	33
Caracterización de las fases de desarrollo gonádico.....	34
Proporción sexual.....	35
Ciclo reproductivo y época de reproducción	35
Índice Gonadosomático (IGS).....	35
Estimación del peso de primera madurez (W_{50}).....	36
Fecundidad Parcial (FP)	36
Relación entre variables ambientales y el ciclo reproductivo	37
RESULTADOS	38
<i>Isostichopus badionotus</i>	38
Proporción sexual.....	40
Morfología gonadal	40
Descripción macroscópica de las fases de desarrollo gonádico en las hembras de <i>I. badionotus</i>	41
Descripción microscópica de las fases de desarrollo gonádico en hembras de <i>I. badionotus</i>	44

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

Ciclo reproductivo.....	48
Índice Gonadosomático (IGS).....	49
Fecundidad.....	51
Relación entre variables ambientales y el índice gonadosomático	53
<i>Astichopus multifidus</i>	54
Proporción sexual.....	56
Morfología gonadal.....	57
Descripción macroscópica de las fases de desarrollo gonádico de las hembras de <i>A. multifidus</i>	57
Descripción microscópica de las fases de desarrollo gonádico de las hembras de <i>A. multifidus</i>	60
Ciclo reproductivo.....	64
Índice gonadosomático (IGS).....	65
Peso de primera madurez (W_{50}).....	67
Fecundidad.....	68
Relación entre variables ambientales y el índice gonadosomático.....	69
Comparación de características macro y microscópicas de <i>I. badionotus</i> y <i>A. multifidus</i>	70
DISCUSIÓN.....	73
Fases de desarrollo	74
Proporción sexual.....	76
Ciclo reproductivo.....	76
Peso de primera madurez (W_{50}).....	77
Fecundidad.....	78
Variables ambientales	79
CONCLUSIONES.....	80
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estadios larvarios de <i>I. badionotus</i> (Tomado de Zacarías-Soto et al., 2013).....	19
Figura 2. Mapa de la ubicación de la zona de estudio con los sitios de muestreo frente a Sisal, Yucatán.	31
Figura 3. Número de organismos del pepino de mar <i>I. badionotus</i> recolectados por mes en la zona marina frente a Sisal, Yucatán.	38
Figura 4 Distribuciones de frecuencias de pesos del pepino de mar <i>I. badionotus</i> en la zona marina frente a Sisal, Yucatán. a) Peso total y b) Peso eviscerado.	39
Figura 5. Túbulos del ovario del pepino de mar <i>I. badionotus</i> en las diferentes fases de desarrollo. a) reposo, b) desarrollo, c) madurez, d) desove y e) postdesove. Campo oscuro.	43
Figura 6. Microfotografías de los estadios gonadales de <i>I. badionotus</i> . a) reposo, b) desarrollo, c) madurez, d) desove, e) postdesove (L lumen, tc tejido conjuntivo, o ovogonias, pg pared gonadal, op ovocitos previtelogénicos, ov ovocitos vitelogénicos, om ovocitos maduros) Preparación hematoxilina-eosina.....	45
Figura 8. Frecuencia de las fases de desarrollo gonádico de hembras de pepino de mar de <i>I. badionotus</i> durante el periodo de estudio en la zona marina frente a Sisal, Yucatán.	48
Figura 7. Variación mensusal del índice gonadosomático y frecuencia de organismos en fase de madurez y desove de hembras de <i>I. badionotus</i> en la zona marina frente a Sisal, Yucatán.....	49
Figura 9. Peso de primera madurez de hembras de pepino de mar de <i>I. badionotus</i> en la zona marina frente a Sisal, Yucatán.	50
Figura 10. Fecundidad parcial de hembras del pepino de mar <i>I. badionotus</i> en la zona marina frente a Sisal, Yucatán.....	52
Figura 11. Relación entre el IGS de las hembras del pepino de mar <i>I. badionotus</i> y la temperatura de fondo medida en la plataforma continental adyacente al puerto de Sisal, Yucatán.....	53
Figura 12. Número de organismos del pepino de mar <i>A. multifidus</i> recolectados por mes de septiembre 2016 a agosto 2017 en la zona marina frente a Sisal, Yucatán.....	54
Figura 13. Distribuciones de frecuencias de pesos del pepino de mar <i>A. multifidus</i> en la zona marina frente a Sisal, Yucatán. a) Peso total y b) Peso eviscerado.	55

Figura 14. Túbulos del ovario del pepino de mar *A. multifidus* en las diferentes fases de desarrollo. **a)** reposo, **b)** desarrollo, **c)** madurez, **d)** desove y **e)** postdesove. Campo oscuro.59

Figura 15. Microfotografías de los estadios gonadales del pepino de mar *A. multifidus*. **a)** reposo, **b)** desarrollo, **c)** madurez, **d)** desove, **e)** postdesove (L lumen, tc tejido conjuntivo, o ovogonias, pg pared gonadal, op ovocitos previtelogénicos, mf membrana folicular, ov ovocitos vitelogénicos, om ovocitos maduros) Preparaciones en hematoxilina-eosina.61

Figura 16. Frecuencia de las fases de desarrollo gonádico de hembras del pepino de mar *A. multifidus* en la zona marina frente a Sisal, Yucatán.64

Figura 17. Índice gonadosomático mensual y porcentaje de organismos en fases de madurez y desove de las hembras del pepino de mar *A. multifidus* en la zona marina frente a Sisal, Yucatán.65

Figura 18. Talla de primera madurez de hembras del pepino de mar *A. multifidus* en la zona marina frente a Sisal, Yucatán.....67

Figura 19. Relación entre el IGS de las hembras del pepino de mar *A. multifidus* y la temperatura de fondo medida en la plataforma continental adyacente al Puerto de Sisal, Yucatán.....69

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Proporción sexual por mes de <i>I. badionotus</i> en la zona marina frente a Sisal, Yucatán.....	40
Tabla 2. Descripción microscópica de los ovocitos del pepino de mar <i>Isostichopus badionotus</i>	46
Tabla 3. Cálculo de la fecundidad parcial en hembras maduras de <i>Isostichopus badionotus</i>	51
Tabla 4. Proporción sexual por mes de <i>A. multifidus</i> en la zona marina frente a Sisal, Yucatán.....	56
Tabla 5. Descripción microscópica de los ovocitos del pepino de mar <i>A. multifidus</i>	62
Tabla 6. Valores mensuales del IGS, desviación y error estándar del pepino de mar <i>A. multifidus</i> de la zona marina frente a Sisal.	66
Tabla 7. Muestra mínima estimada para <i>A. multifidus</i>	68
Tabla 8. Comparación de aspectos macroscópicos de los ovarios del pepino de mar <i>I. badionotus</i> y <i>A. multifidus</i>	71
Tabla 9. Comparación microscópica (histología) de los ovarios en el pepino de mar <i>I. badionotus</i> y <i>A. multifidus</i>	72

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.

Atresia. Se refiere a los gametos, ya sea inviábiles 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.

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.

Beche-de-mer. Significa “pala del mar”, este término se refiere al pepino de mar seco luego de las etapas de evisceración y ebullición, y en algunos casos luego de salar y ahumar.

Bentónico. Relacionado o en asociación al fondo marino.

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

Ciclo gonádico. Se refiere a los diferentes estadios de desarrollo por los que pasa la gónada periódicamente.

Ciclo reproductivo: Frecuencia de aparición de las diferentes fases de desarrollo gonádico a través del año.

Dióico. Organismos que tienen los sexos separados en distintos individuos, es decir machos y hembras.

Doliolaria. Larva presente en crinoideos y holotúridos en forma de barril, posterior a la larva auricularia.

Estrategia reproductiva: Conjunto de tácticas reproductivas que presenta una especie para obtener un éxito reproductivo.

Fecundidad parcial. Número de ovocitos evacuados en una puesta, aunque también puede ser el recuento de ovocitos hidratados previos al desove, es decir el conteo de ovocitos hidratados en túbulos que no presentaron folículos postovulatorios.

Folículos postovulatorios. Remanentes de las membranas que rodean al ovocito y que quedan en el ovario luego del desove.

Fotoperiodo. Se define como el número de horas luz (ciclos luminosos) que reciben los organismos durante un día.

Gónada. Órgano reproductivo masculino o femenino que produce esperma u ovocitos.

Índice gonadosomático. Es el valor numérico proporcional que expresa el peso de la gónada en relación al peso del organismo.

Lumen. Es el espacio interior de una estructura tubular.

Ovogonias. Las células primordiales (oogonias) que dan origen a los ovocitos se encuentran adheridos a la pared del túbulo.

Peso de primera madurez (W_{50}). Es el peso en el cual el 50% de los organismos de la población se encuentran sexualmente maduros (son adultos).

Peso eviscerado. Se refiere al peso del organismo al cual se le ha drenado todo el líquido y órganos de la cavidad celómica.

Vitelogénesis. Formación y acumulación del vitelo en el citoplasma de las células sexuales femeninas.

INTRODUCCIÓN

México alberga una gran diversidad de equinodermos. Hasta el momento se han reportado casi 600 especies que habitan en nuestro mar territorial, es decir, aproximadamente el 10% de las especies de equinodermos del planeta (Solís-Marín *et al.*, 2014).

Uno de los grupos que ha adquirido reciente importancia es el de los holotúridos ya que algunas especies además de tener importancia ecológica, poseen un alto valor económico debido a la gran demanda de este recurso en los mercados asiáticos, donde se consumen alrededor de 28 especies de pepinos de mar (Chen, 2004); esto comenzó a partir de 1950 y en Yucatán, la pesca de pepino de mar inició de manera oficial en el 2008, con la captura de tres especies *Isostichopus badionotus*, *Astichopus multifidus* y *Holoturia floridana* (Espinoza *et al.*, 2012).

La existencia de mercado de este recurso en el extranjero y las facilidades actuales de transportación rápida, ha provocado la pesca furtiva en los litorales de Yucatán y Campeche. La pesca furtiva se ha convertido en uno de los mayores problemas que enfrenta la pesquería de pepino de mar en las costas de estos estados, ya que esta práctica pone en riesgo a las poblaciones, debido a que no se respeta ningún tipo de medida regulatoria (Quintal-López *et al.*, 2013).

A pesar de que en Yucatán ha crecido el interés por estudiar a las especies de pepino de mar de la península, son escasos los estudios con los cuáles se pueda evaluar si la pesquería de este recurso es una opción viable ya que tanto *I. badionotus* como *A. multifidus* son organismos que presentan un ciclo de vida largo, y alcanzan la madurez sexual entre los tres y cuatro años de edad, lo cual puede representar una limitante para que la población se recupere de la temporada de pesca (SAGARPA, 2012).

Aspectos de la reproducción como la fecundidad, la talla de primera madurez, los estados de condición y la temporalidad de la reproducción, son determinantes en las fluctuaciones de la abundancia de las poblaciones de interés pesquero, dado que representan un factor importante en los procesos de reclutamiento y el potencial reproductor de los stocks (Saborido y Junquera, 2003), razón por la cual la

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

explotación y manejo de las pesquerías están fuertemente basados en estudios de la reproducción. Por este motivo el objetivo de este trabajo fue conocer y describir algunos aspectos de la biología reproductiva de *I. badionotus* y de *A. multifidus* tales como ciclo reproductivo, peso de madurez sexual y la fecundidad, así como la influencia de factores ambientales en su reproducción. Lo anterior con la finalidad de contribuir con nuevo conocimiento científico con el que puedan basarse las medidas de manejo y conservación de la pesquería de estas especies en la península de Yucatán.

ANTECEDENTES

El pepino de mar es un invertebrado bentónico exclusivamente marino. Se le conoce comúnmente como holoturia, cohombro o pepino de mar (Hendler *et al.*, 1995). Junto con las clases Echinoidea, Crinoidea, Ophiuroidea y Asteroidea (erizos y galletas, lirios, ofiuros y estrellas de mar, respectivamente), forman parte del phylum Echinodermata. Pertenecen a la clase Holothuroidea, la cual se divide en seis órdenes: Dendrochirotida, Dactylochirotida, Apodida, Molpadida, Elasipodida y Aspidochirotida (Morgan, 2000). Son importantes ecológicamente al consumir partículas en suspensión y detritus. (Abdel Razek *et al.*, 2013). Como consumidores de depósitos, cambian el tamaño de las partículas ingeridas y las devuelven al sedimento por bioturbación, alterando la estratificación y la estabilidad del sedimento, lo que mejora la oxigenación y la disolución de la materia orgánica en el agua intersticial (Bakus, 1973; Massin, 1982).

Diagnosis

Dentro de la clase Holoturoidea se encuentra el Orden Aspidochirota presente en la fauna mexicana por las familias: Holothuriidae, Stichopodiidae y Synallactidae. Para las costas de Yucatán se han reportado dos especies de la familia Stichopodiidae: *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus* (Zetina-Moguel *et al.*, 2003).

Isostichopus badionotus

Es una especie larga que crece hasta 45 cm. Se distingue por la presencia de verrugas oscuras en la superficie dorsal y la papila cónica muy gruesa que sale del margen ventro-lateral. El celoma es muy grueso y rígido, exuda moco muy viscoso cuando se extrae al organismo del agua. Presenta una coloración variable que va desde naranja, amarillo, rojo, café e inclusive púrpura. (Caso, 1961; Pawson *et al.*, 2010). Son organismos bentónicos, que viajan cerca de 0.5 m por día, y rellenan completamente el estómago de tres a cuatro veces por día. La actividad de alimentación empieza en la mañana y tiene picos en la medianoche (Zacarías-Soto *et al.*, 2013). Habita en aguas profundas en zonas de pastos marinos (*Thalassia* y *Syringodium*), o en fondos arenosos con algas. (Hammond, 1982). Su distribución abarca Bermudas, Carolina del Sur, Florida, Texas, México, Panamá, Colombia, Venezuela e Islas Caribeñas. También se puede encontrar en el Atlántico medio

(Miller y Pawson, 1984; Alvarado *et al.*, 2010; Purcell *et al.*, 2012). Estos organismos tienen la capacidad de lanzar tiras de celoma y pueden auto-eviscerar si se le maneja rudamente o si se estresan por confinamiento en aguas estancadas. *Isostichopus badionotus*, es una especie dioica con desarrollo indirecto, el cual consiste en la presencia de tres estadios larvarios: larva auricularia, con tres subestadios, seguido de doliolaria, una etapa de transición y larva pentáctula, misma que después de asentarse, da lugar a un juvenil bentónico (Zacarías-Soto *et al.*, 2013) Fig. 1.

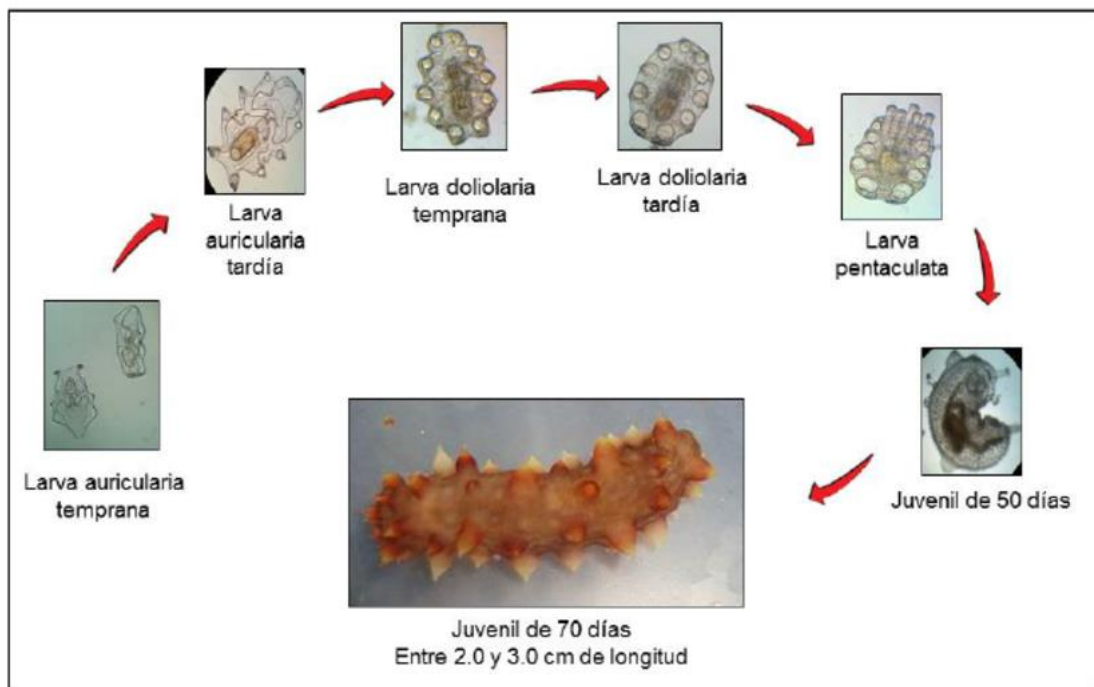


Figura 1. Estadios larvarios de *I. badionotus* (Tomado de Zacarías-Soto *et al.*, 2013).

Astichopus multifidus

Presenta una coloración blanca con manchas café y papilas blancas traslucidas, alcanza tallas mayores a 50 cm de longitud. Algunos organismos son completamente blancos, excepto por los anillos café oscuro que rodean la base de la papila (De Kluijver *et al.*, 2014), sin embargo Glynn (1965) reportó que dos organismos capturados en Puerto Rico presentaron la parte ventral color café. Es posible encontrarlos en fondos lodosos cerca del Banco de Campeche en el Golfo

de México, pero esta especie vive en substratos arenosos en la parte trasera de los arrecifes, o en los pastos marinos de algas del género *Thalassia*, *Syringodium* o *Halophila* (Miller y Pawson, 1984, Toral-Granda, 2005). Es la especie más común en aguas de más de diez metros de profundidad, normalmente se le encuentra en fondos arenosos, de conchuela o rocosos, pero siempre cerca de fondos rocosos. La mayor parte de la costa yucateca tiene costas como las descritas, de manera que esta especie se puede encontrar a lo largo de toda la costa (Zetina-Moguel *et al.*, 2003). Se distribuye en Las Islas Bahamas, Florida, Las Tortugas Secas, México, Cuba, Jamaica, Puerto Rico, Colombia, Venezuela (Miller y Pawson, 1984). *Astichopus multifidus* presenta un movimiento acelerado (2 m min^{-1}), y además no se sujeta firmemente en el substrato marino. Los contenidos estomacales que se han examinado consisten principalmente en sedimento calcáreo que incluye bivalvos, gasterópodos, foraminíferos, briozoarios y restos de otros organismos calcificados. Esta especie rápidamente eviscera vía el ano cuando se mantiene en agua estancada (poco oxígeno), principalmente cuando se transporta al laboratorio (Colin, 1978).

Reproducción

La mayor parte de las investigaciones sobre reproducción en pepino de mar, se han centrado en las especies con valor comercial. Entre los primeros estudios de reproducción se encuentran los de Choe (1962) sobre *Apostichopus japonicus*, cuyo trabajo reporta que esta especie tiene una proporción de sexos (hembras:machos) de 1:1.09, un período de desove de mayo a junio y presenta una gran reducción de las gónadas al incrementar la temperatura del agua.

Conand (1981) estudió la biología reproductiva de tres especies de pepino de mar con valor comercial en Nueva Caledonia, *Thelenota ananas*, *Holothuria nobilis* y *H. fuscogilva*. Cherbonnier (1980) definió una escala de cinco etapas de madurez: crecimiento, maduración, desove, post-desove y reposo. Posteriormente, este mismo autor describió el ciclo reproductivo de otras siete especies de Nueva Caledonia: *H. fuscopunctata*, *Stichopus variegatus*, *H. scabra*, *H. lessoni* (Anteriormente conocida como *H. scabra* var. *versicolor*), *Actinopyga mauritiana*, *Actinopyga echinites* y *H. atra* (Conand, 1993; Conand, 1981).

Hamel y Mercier (1996) estudiaron la morfología de la gónada y la gametogénesis de *Cucumaria frondosa* (Gunnerus, 1767) en la costa oriental de Canadá y encontraron que la gametogénesis coincidió con una transferencia de energía de la pared corporal a la gónada. Más tarde, estos mismos autores ampliaron el conocimiento sobre varios aspectos de la gametogénesis y el desove en pepino de mar (Mercier y Hamel, 2009).

Galley *et al.* (2008) estudiaron la reproducción de dos especies de pepino de mar (*Peniagone vignoni* y *Protelpidia murrayi*) reportadas a profundidades de 550 a 600 m en la plataforma continental de la Antártida, encontrando una gametogénesis sincronizada y estacional. Morgan y Neal (2012) también estudiaron la reproducción de *Pseudostichopus mollis* que habita a profundidades de 300 m en las Islas Auckland de Nueva Zelanda y a diferencia de Galley *et al.* (2008), estos autores no encontraron sincronía entre sexos, pero descubrieron una respuesta de la gametogénesis y el desove con el ingreso de materia orgánica en la columna de agua.

Leite-Castro *et al.* (2016) realizaron un estudio a gran escala sobre la biología reproductiva del pepino de mar *H. grisea* durante 13 meses en la costa noreste de Brasil para evaluar los factores ambientales involucrados en este proceso; reportan que la madurez gametogénica alcanzó su punto máximo en diciembre-febrero, los individuos maduros desaparecieron en junio-julio en ambos sexos. El desove ocurrió durante la estación lluviosa cuando las concentraciones de clorofila *a* fueron máximas. A una escala más fina, el desove ocurrió cuando los niveles altos de agua coincidieron con la puesta del sol o la noche, proporcionando condiciones favorables para el desove libre y la fertilización externa.

En México Pañola-Madrigal *et al.* (2017) describieron la biología reproductiva del pepino de mar *I. fuscus* a lo largo de la costa este de Baja California. Midieron un total de 2 808 organismos de los cuales, 224 fueron hembras, 162 machos, 157 indiferenciados y 10 hermafroditas, Identificaron cinco fases de desarrollo: 28% indiferenciadas, 9% gametogénesis, 15% madurez, 19% desove y 29% postdesove. Estimaron el diámetro teórico de ovocitos (OTD) midiendo el área de 10 291

ovocitos, encontrando 2 307 individuos en 3 630 en la madurez 3 756 en el desove y 868 en postdesove Encontraron que los ovocitos aumentan un 23% en tamaño desde la ovogénesis hasta la madurez y disminuyen un 9% en tamaño desde la madurez hasta el desove y, en promedio, los ovocitos son un 72% más pequeños después del desove que durante el desove.

Ramos-Miranda *et al.* (2017) analizaron el ciclo reproductivo en *H. floridana* en la Bahía de Campeche, observaron que las etapas de madurez temprana, madurez y postdesove se presentan durante todo el año, lo que sugiere que esta especie muestra una reproducción continua con dos picos de eventos de desove, uno en marzo-abril y el segundo en septiembre, sugieren un desarrollo asincrónico de las gónadas de la especie así como una proporción sexual variable durante el año, sugieren que esto se debe a la pesca selectiva no intencionada y reportan una talla de primera madurez de 13.4 cm y un peso de 87 gr.

Diversos estudios de la biología reproductiva del grupo han señalado que los eventos de maduración, crecimiento gonadal y desove siguen un modelo sincrónico al interior del individuo y entre la mayoría de los individuos de la población local. Toda la gónada madura al mismo tiempo, presenta un patrón de reproducción cíclica, con periodicidad anual, estacional o mensual. Esta periodicidad se da presumiblemente como respuesta a la interacción de factores ambientales, químicos y hormonales, que modulan la reproducción de la población (Conand, 1993; Mercier *et al.*, 2000; Ramofafia, *et al.*, 2000; Mercier y Hamel, 2009).

Adicionalmente, algunos trabajos registran, para algunas especies tropicales y templadas, un desarrollo asincrónico de la gónada, es decir túbulos en diferente estadio de maduración presentes en la misma gónada (Engstrom, 1980; Smiley, 1988; Tuwo y Conand, 1992; Hamel y Mercier, 1996; Foglietta *et al.*, 2004; Toral-Granda y Martínez, 2007), implicando que un individuo puede desovar varias veces dentro de un mismo período. La temporalidad de la gametogénesis en ambos patrones se ha asociado a la distribución geográfica y a cambios en las condiciones ambientales. La literatura menciona que la temperatura es uno de los principales factores que inducen el desarrollo gonádico en invertebrados marinos (Tuwo y

Conand, 1992; Hamel y Mercier 1996; Kubota y Tomari, 1998; Muthiga, 2006; Asha y Muthiah, 2008; Abdel Razek *et al.*, 2013).

Se ha reportado que los patrones reproductivos de holoturias son variables y diversos factores controlan la gametogénesis y el desove (Smiley, 1988). Por ejemplo, factores ambientales controlan la gametogénesis (Drumm y Loneragan 2005); Morgan, 2000; Ramofafia *et al.*, 2003), mientras que se ha sugerido que el desove es desencadenado por cambios en la turbidez del agua (Engstrom, 1980), intensidad y duración del fotoperiodo (Cameron y Fankboner 1986), disponibilidad de alimentos (Cameron y Fankboner 1986; Hamel *et al.*, 1993) y temperatura (Ramofafia, *et al.*, 2000; Battaglione *et al.*, 2002).

Durante la época de reproducción, cada hembra dependiendo de su talla, puede expulsar hasta un millón de huevos en una sola puesta; los huevos son fertilizados por los machos al expulsar sus gametos de manera sincronizada. Se ha observado que bajo condiciones de cultivo es posible que una hembra realice al menos tres puestas por temporada (en menos de cuatro meses) para entrar posteriormente a una etapa de reposo durante la época invernal (Olvera, *com. pers.*). La fecundación de los ovocitos de ambas especies es externa y una vez que los huevos fertilizados se transforman en larvas planctónicas de nado libre en la columna de agua, pueden transcurrir de 20 a 25 días antes de transformarse en larva pentáctula para asentarse en sitios en donde existan condiciones propicias en términos de sustrato, alimento y condiciones ambientales (SAGARPA, 2012).

Algunos organismos presentan ausencia estacional de vísceras, este es un fenómeno común en los Aspidochirotas (Byrne, 1985), en algunos estudios se ha observado entre agosto y octubre. En otras especies del género *Parastichopus* también se ha reportado este fenómeno fisiológico. Algunos investigadores sugieren que la ausencia de vísceras es el resultado de la autoevisceración (Yingst 1976, 1982; Dimock, 1977; Muscat, 1982), mientras que otros opinan que se debe a la reabsorción de los órganos internos (Fankboner y Cameron, 1985, Pérez-Plascencia, 1995; Espinoza-Montes, 2000). Sin embargo, no se ha evaluado la verdadera causa de este fenómeno (Fajardo-León *et al.*, 2008).

Antecedentes de estudios de reproducción de *I. badionotus* en América Latina.

Palazón (2001) encontró que en la costa de Venezuela la reproducción de *I. badionotus* es continua, con un pico de desove de septiembre a noviembre. Por otro lado Guzmán *et al.* (2003) describen que el máximo período de actividad reproductiva de esta especie se observa durante julio a noviembre en la costa de Panamá. En la costa de Venezuela Foglietta *et al.* (2004) reportaron que el desarrollo gonádico de los túbulos no es sincrónico y el máximo periodo de actividad reproductiva ocurre durante los meses de julio y agosto.

En estudios realizados en Cuba se ha reportado el mayor porcentaje de individuos maduros de *I. badionotus* durante los meses de julio y septiembre (Aleaga, 2003). En los primeros estudios realizados bajo condiciones controladas Zacarías-Soto *et al.* (2013) encontraron que individuos de *I. badionotus* provenientes de la costa de Yucatán, México, desovan de julio a noviembre y que las hembras presentan una fecundidad promedio de 200,000 huevos por desove, con un máximo y mínimo de 1'066,000 y 13,500 huevos, respectivamente, encontrando los valores máximos durante los meses de julio a septiembre.

Poot-Salazar *et al.*, (2014), presentaron los indicadores biológico-pesqueros, indicadores pesqueros y la evaluación del recurso, independientemente de la pesquería del pepino de mar ocurrida durante el año 2011 frente a las costas de Celestún, Yucatán, en el cuál reporta la talla media de los organismos capturados fue de 27 cm y el peso eviscerado promedio fue de 462 g. El peso eviscerado promedio en el mes de abril fue 513,8 g y en el mes de mayo fue 412 g. El índice gonadosomático (IGS) fue mayor en mayo que en abril, y mayor en hembras que en machos. Posteriormente Poot-Salazar *et al.* (2015) realizaron un estudio sobre el crecimiento, reproducción y hábitos alimenticios de *I. badionotus* en el poniente del estado de Yucatán, en el que explica que el crecimiento de *I. badionotus* tuvo una tendencia alométrica negativa con períodos de crecimiento cero o lento durante octubre y noviembre, cuando las condiciones ambientales son adversas. La proporción de sexos durante su estudio fue 1:0.99 (hembras: machos). Describió cinco etapas de desarrollo gonadal: indiferenciado, crecimiento, maduración, desove

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

y recuperación; determinó que el ciclo reproductivo es anual, con el inicio de la gametogénesis en abril, un pico decrecimiento gonadal en junio-julio y desoves en agosto-diciembre. La talla de primera madurez sexual fue 23 cm. En cuanto a la alimentación, encontró que la especie consume detritus, moluscos, foraminíferos y algas calcáreas.

Antecedentes de estudios de *A. multifidus* en América Latina.

Al ser *A. multifidus* una especie de poco interés comercial, no se cuentan con estudios que abarquen su biología reproductiva, por lo que los antecedentes comienzan en la península de Yucatán a finales del siglo XX. Hernández (1999) reportó el primer estudio taxonómico que determinó la presencia de *I. badionotus*, *A. multifidus* y *H. floridana* frente a las costas de la península.

Posteriormente, en una evaluación más específica Zetina Moguel *et al.* (2003) presentaron estimaciones de densidad para cada una de las tres especies en la región oriente de la costa del estado de Yucatán; siendo de: 5.08 org ha⁻¹ para *I. badionotus*, 5.92 org ha⁻¹ para *A. multifidus* y 8.52 org ha⁻¹ para *H. floridana*. En una segunda evaluación, presentaron estimaciones notablemente mayores para *I. badionotus* y *A. multifidus* (27 org ha⁻¹ y 12 org ha⁻¹ respectivamente).

Por su parte, el Instituto Nacional de Pesca a través de su Centro Regional de Investigación Pesquera de Yucalpetén (CRIP-Yucalpetén), obtuvo información sobre las especies de pepino de mar en el área de Celestún en los años 2001 y 2002, estimando densidades para 2001 de: 37.5 org ha⁻¹ para *H. floridana*, 7.8 org ha⁻¹ para *A. multifidus* y 4.24 org ha⁻¹ *I. badionotus*. En 2002 los valores estimados fueron: 25.4 org ha⁻¹ de *H. floridana*, 2.4 org ha⁻¹ de *A. multifidus* y 0.6 org ha⁻¹ de *I. badionotus*. (Espinoza-Méndez, *et al.* 2004)

Pesquería del pepino de mar

La explotación del pepino de mar en la península de Yucatán surgió como un nuevo recurso pesquero. Debido a su valor comercial las comunidades pesqueras de la región han centrado su interés en el pepino de mar, principalmente en *I. badionotus*, pues su pesca y comercialización significa una fuente de ingresos, incluso más importante que los recursos con alto valor económico como la langosta, el pulpo y el mero. Es así como el reciente aprovechamiento de *I. badionotus* ha generado graves problemas en el ámbito ecológico – biológico, ya que se ha observado una disminución notable de sus abundancias por efecto de la excesiva presión de pesca (López-Rocha *et al.*, 2013).

El inicio del aprovechamiento de *I. badionotus* en Yucatán inicia bajo el amparo de permisos de pesca de fomento, inicialmente en el 2001. Rodríguez-Gil *et al.* (2007) mencionan que no se pudieron llevar a cabo los estudios necesarios para autorizar los permisos, todo esto debido a un importante evento de marea roja que se registró en el 2001 y otra en el 2003, esto afectó las poblaciones de pepino de mar. También se menciona que ha existido la pesca ilegal por varios años. En 2007 se realizaron prospecciones de pepino de mar frente a la costa de Yucatán entre los puertos de Progreso y Sisal, en donde se reportó que poco más del 97% de los pepinos capturados fueron de la especie *I. badionotus* y el restante 3% de *A. multifidus* (Rodríguez-Gil *et al.*, 2007). En 2010 y 2011 se otorgaron permisos de pesca de fomento de pepino de mar en Yucatán en respuesta a la gran demanda de este recurso en los mercados asiáticos y a solicitud expresa de los pescadores de la región. En los últimos años ha existido una gran presión social ante la disminución de los stocks tradicionales de pesca, especialmente de escama, para abrir nuevas pesquerías que resulten en una alternativa de ingresos para una gran parte de las comunidades costeras. Algunas pesquerías de pepino de mar han conducido a la sobreexplotación de las poblaciones a nivel mundial, generando efectos muy negativos en las abundancias del recurso y en la actividad pesquera vinculada al mismo. (López-Rocha, 2012).

JUSTIFICACIÓN

Teniendo en cuenta que existen pocos estudios acerca de la reproducción del pepino de mar en la península de Yucatán, y a la creciente explotación de estos, se ha considerado importante realizar estudios que permitan tener un conocimiento más amplio de la biología reproductiva de *I. badionotus* y *A. multifidus*, señaladas como las más abundantes. Esta información es fundamental para desarrollar medidas de manejo pesquero, ya que el conocimiento de la talla de madurez es básico para establecer la talla mínima de captura, y con ésta proteger al stock reproductivo. Al conocer la talla mínima y la duración de la temporada reproductora es entonces posible establecer las temporadas de veda y pesca.

En el caso de *I. badionotus*, especie intensamente explotada en la península de Yucatán y en otras zonas del Atlántico Oriental y Mar Caribe, se han desarrollado algunos estudios sobre su reproducción. Sin embargo, dada su importancia como recurso pesquero, es necesario llevar a cabo evaluaciones periódicas de esta información para detectar posibles cambios temporales o espaciales en el patrón reproductivo. Esos cambios, además de asociarse con la explotación pesquera permiten establecer, si es que existe, una relación con las condiciones y cambios ambientales en la zona. En el caso de *A. multifidus*, el cual tiene al momento poco interés comercial en México, no existen estudios relacionados con la biología reproductiva, por lo que este trabajo además generará información que hará avanzar el conocimiento de *A. multifidus* en cuanto a su reproducción.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿ Son los procesos biológico-reproductivos modulados por los cambios ambientales asociados al ciclo anual en hembras de *I. badionotus* y *A. multifidus* que habitan en la zona costera adyacente al Estado de Yucatán?

HIPÓTESIS

Dado que *I. badionotus* y *A. multifidus* presentan un desarrollo gonadal asincrónico, es decir, con túbulos en diferentes estadios de maduración en una misma gónada, se espera que estas especies sean desovadores parciales, cuya estrategia reproductora incluya que cada individuo pueda desovar varias veces dentro de una misma temporada reproductora la cual se puede extender por varios meses. Asimismo, debido a que los requerimientos ambientales para cada especie son diferentes, se espera que la temporalidad y la duración de la época de reproducción sean diferentes entre ambas especies.

La fecundidad es una condición que además de los factores ambientales también está fuertemente ligada a la talla/peso y edad de la hembra, dado que *A. multifidus* es una especie que registra tallas y pesos dos veces mayores, se espera que tenga una fecundidad mayor que la de *I. badionotus*.

OBJETIVOS

Objetivo General

Conocer y describir diferentes aspectos de la biología reproductiva en hembras de *I. badionotus* y *A. multifidus* que habitan en la zona costera adyacente al Estado de Yucatán, México durante un ciclo anual y analizarlos en relación con factores ambientales.

Objetivos Específicos.

Caracterizar y determinar para las hembras de *I. badionotus* y *A. multifidus*:

- a. Las fases de desarrollo gonádico
- b. El ciclo reproductivo.
- c. Estimar el peso mínimo de madurez sexual (W_{50}).
- d. Determinar la fecundidad parcial y su relación con la talla.
- e. Determinar los factores ambientales que tienen mayor influencia en la actividad reproductiva (temperatura, salinidad, profundidad y fotoperíodo).

METODOLOGÍA

Área de estudio

El área de estudio se encuentra en los 21° 09' 55" N – 90° 01' 50" O en la zona marina frente al puerto de Sisal, Yucatán (Fig. 2), la cual es parte de la extensa plataforma continental del norte de la península de Yucatán conocida como Banco de Campeche. Esta zona se caracteriza por presentar una pendiente poco pronunciada (Piñeiro, 2001).

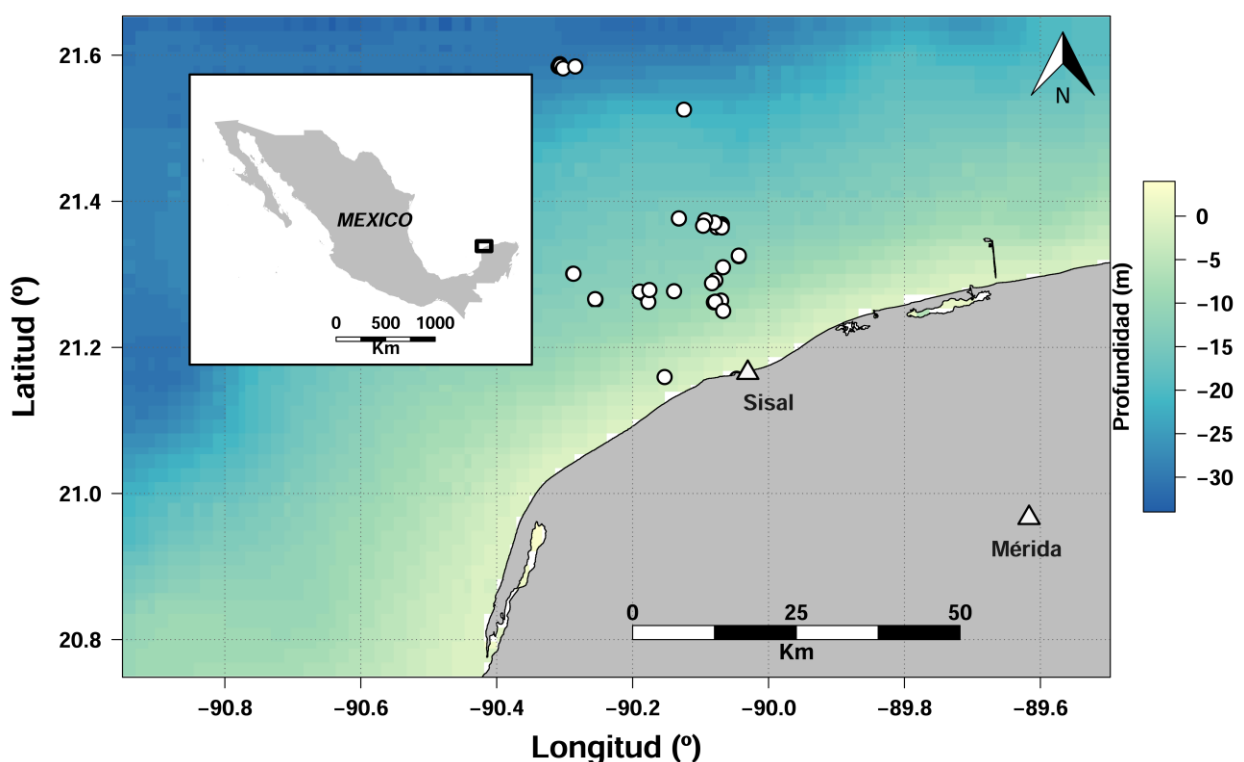


Figura 2. Mapa de la ubicación de la zona de estudio con los sitios de muestreo frente a Sisal, Yucatán.

El Banco de Campeche tiene un área de 129,499 km² aproximadamente, delimitada por la isóbata de 200 metros y la línea de costa. El sustrato está caracterizado por sedimentos constituidos por proporciones variables de calizas, fango, arena y conchas, además de existir algunas irregularidades formadas por cayos y arrecifes coralinos (García, 1980). Un elemento de marcada influencia en esta región es el afloramiento que se produce en la porción oriental del talud de la plataforma frente al estado de Yucatán, que favorece la producción primaria (Piñeiro, 2001).

Por su situación geográfica, la plataforma de Yucatán se encuentra en la región Neotropical. La temperatura superficial del mar en la plataforma de Yucatán va de los 23 a los 29 °C. Bogdanov (1965) sugiere que dentro de las condiciones oceanográficas de importancia, el proceso que domina el ambiente costero en la Península de Yucatán es la Corriente de Yucatán, que fluye con fuerte intensidad por el Caribe y penetra en el Golfo de México a través del estrecho de Yucatán. Dicha corriente es uno de los ramales que se divide de la Corriente del Atlántico Norte y que viene desde el Mar de las Antillas, y bordea los litorales del Golfo de México hasta llegar a la Península de Florida (Tamayo, 1974). La región se encuentra en la zona de influencia de los vientos alisios, los cuales traen aire tropical desde el este, donde el periodo de secas es de noviembre a mayo y el de lluvias de junio a octubre.

La corriente de Yucatán y su interacción con la batimetría de la zona genera la surgencia de Yucatán que es el afloramiento de aguas profundas frías y ricas en nutrientes hacia zonas menos profundas. (Merino, 1997). Dicha corriente provoca que existan periodos de bajas temperaturas superficiales del mar (~23-26 °C) principalmente de mayo a septiembre. Se sugiere que la presencia de estas bajas temperaturas cercanas a la costa inician en cabo Catoche a partir de marzo cuando la surgencia de Yucatán se intensifica, esta agua fría se extiende hasta frente a las costas de Dzilam de Bravo en abril y de mayo a septiembre hasta la parte occidental de la península (Díaz-Aguilar, 2017).

En la zona marina a una distancia de 58 km del puerto de Sisal, se alcanza una profundidad de 25 m y se caracteriza por la presencia de arrecifes coralinos conocidos como Bajo de Sisal, Serpiente, y Madagascar (Zarco-Perelló *et al.*, 2013).

Obtención y procesamiento de muestras.

Se realizaron muestreos mensuales de agosto de 2016 a julio de 2017 para *I. badionotus* y de septiembre 2016 a agosto 2017 para *A. multifidus*, capturando entre 10 y 18 organismos por muestreo. Estos muestreos se realizaron frente al puerto de Sisal, a una profundidad de entre 10 y 30 metros. Los organismos colectados se guardaron en bolsas herméticas individuales con agua de mar, se colocaron en neveras y se transportaron al Laboratorio de Ecología de la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación (UMDI-Sisal). Durante los muestreos se tomaron datos de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto del agua del fondo con una sonda multiparamétrica. La disección de los organismos se realizó el mismo día de la colecta. Para facilitar la disección, los organismos se relajaron agregando dos gotas de aceite de clavo al agua en donde fueron transportados (500-1000 ml aprox.). Para *A. multifidus* el tiempo de relajación fue de aproximadamente 10 min, mientras que para *I. badionotus* fue de 30 min. El criterio de los períodos de exposición al aceite de clavo se definió considerando los tiempos empleados para realizar el manejo y las mediciones, ya que se requería que los organismos estuvieran completamente estirados (relajados) para que la toma de las medidas morfométricas fuera la mas exacta.

En el laboratorio, uno a uno los individuos se colocaron sobre una bandeja para el registro fotográfico y biometría. Usando una balanza portátil se registró el peso total y el peso eviscerado sin órganos internos (PCV) y drenado.

La disección se realizó ubicando el individuo sobre su parte lateral, de manera que se observara la división dorso-ventral, con los tentáculos hacia el investigador. Se hizo un corte en dirección boca-ano siguiendo la línea imaginaria de la división dorso-ventral. La gónada se observó del lado izquierdo unida al tejido intestinal. Después de registrar el peso de las gónadas, estas se fijaron en formol grado histológico al 10% durante 24 - 48 horas; posteriormente se cambiaron a alcohol al 70 % para su preservación y procesamiento.

Caracterización de las fases de desarrollo gonádico

Para la caracterización morfológica de la gónada, se determinó el sexo y se describieron las fases de desarrollo gonádico de forma macroscópica. Así mismo, los túbulos se observaron al microscopio estereoscópico con el fin de observar a detalle las células sexuales a un objetivo de 20x.

Para el análisis histológico se seleccionó un túbulo de la gónada y en el caso de *A. multifidus* se seleccionaron túbulos de diferente estadio. Después de haber obtenido la muestra, las gónadas fueron lavadas con agua corriente para eliminar los residuos del fijador. Posterior a esto, las muestras de tejido se deshidrataron en una serie de alcohol etílico en concentraciones crecientes: 70 %, 90 %, 96 %, 100 %. Luego se aclararon con Xilol y se incluyeron en parafina. Con un micrótopo de rotación se hicieron cortes de tejidos de 4 µm de grosor. Una vez obtenidos los cortes se desparafinaron con Xilol y se tiñeron con la técnica de Hematoxilina-Eosina (Humason, 1979) con una modificación en el tiempo de tinción de la Eosina, ya que este tejido requirió de un tiempo de 25-30 minutos en dicho colorante.. Finalmente, las preparaciones obtenidas se montaron con cubreobjetos utilizando resina.

Una vez obtenidas las preparaciones histológicas se determinaron las fases de desarrollo gonádico a través de observaciones microscópicas. Los estadios gonadales de holoturoideos han sido descritos por distintos autores (Cameron y Fankboner, 1986; Conand, 1982; Hamel *et al.*, 1993; Conand, 1993a; Fajardo-León *et al.*, 1995; Hamel y Mercier, 1996b; Herrero-Pérezrul, *et al.*, 1999; Tuwo, 1999; Morgan, 2000; Ramofafia *et al.*, 2000; Ramofafia *et al.*, 2001; Nuño-Hermosillo, 2003; Ramofafia *et al.*, 2003; Toral-Granda y Martínez, 2007; Fajardo-León *et al.*, 2008; Ghobadyan *et al.*, 2012; Morgan y Neal, 2012; Santos *et al.*, 2015) la mayoría de los cuales ha descrito de cuatro a cinco estadios, siendo mayormente utilizados: Indiferenciado (I), Gametogénesis (II), Madurez (III), Desove (IV) y Post-desove (V), los cuales fueron modificados a reposo, desarrollo, madurez, desove y postdesove. También se realizó la descripción de los diferentes tipos de ovocitos.

Proporción sexual

Aunque no se procesaron las gónadas de machos, si se obtuvo la proporción sexual mensual, dividiendo el número total de hembras entre el número total de machos.

Para determinar si la proporción sexual es 1:1 se aplicó una prueba de Chi cuadrada con corrección de continuidad de Yates (χ^2), la cual se utiliza cuando solo hay dos categorías.

$$\chi^2 = \sum \frac{((\text{observada} - \text{teórica}) - 0.5)^2}{\text{teórica}}$$

Ciclo reproductivo y época de reproducción

Una vez establecidas las fases de desarrollo gonádico se obtuvo la frecuencia relativa mensual de las diferentes fases de desarrollo gonádico presentes en todas las hembras colectadas. Una vez hecho lo anterior, se estableció como periodo reproductivo los meses donde se presentaron organismos en madurez y desove.

Índice Gonadosomático (IGS)

El índice gonadosomático (IGS) es una relación entre el peso de la gónada y el peso corporal:

$$\text{IGS} = \frac{\text{Peso gónada}}{\text{Peso eviscerado}} \times 100$$

Con este índice se asume que los valores más altos representan el periodo de mayor llenado de gametos maduros en la gónada, por tanto, se puede asumir que los organismos se encuentran en un estadio de madurez y su posterior disminución indica desove. Los valores más bajos representan el periodo en el que la gónada no tiene actividad reproductiva y por lo tanto, indica que la mayor frecuencia de organismos se encuentra en postdesove y/o reposo. Para probar que el IGS es un

indicador del periodo reproductivo, se realizó un análisis de correlación de Spearman entre el IGS y el porcentaje de organismos maduros y en desove.

Estimación del peso de primera madurez (W_{50})

En biología pesquera, se utiliza el término talla o peso de madurez sexual (L_{50} o W_{50}) definida como la talla/peso a la cual el 50% de los individuos de un stock (estadio de vida adulto) están reclutados eficientemente a la reproducción (Stearns, 1992). En este estudio W_{50} se obtuvo a partir del peso del total de hembras sexualmente maduras, de las cuales se calculó la frecuencia relativa y la frecuencia relativa acumulada por intervalos de peso para establecer el intervalo de talla de primera madurez como aquel en el que el 50% de las hembras se han integrado al stock reproductivo (Arellano-Martinez *et al.*, 2004).

Fecundidad Parcial (FP)

Para estimar la FP es necesario un análisis histológico a partir del cual se seleccionaron ovarios maduros, sin que presenten folículos postovulatorios, pues la presencia de estos indica que el desove se ha iniciado y el número de ovocitos intraováricos estimados es menor con lo que se corre el riesgo de subestimar la fecundidad.

Antes de estimar la FP de todos los individuos maduros se procedió a estimar el tamaño de muestra mínima. Este cálculo se realizó considerando que el número de ovocitos depende del peso en cada submuestra (entre más peso más ovocitos). Por lo tanto, para obtener una estimación adecuada de fecundidad con el menor esfuerzo posible, se busca el menor peso con el que se obtenga una estimación de fecundidad que tenga una variación mínima (menor coeficiente de variación) con respecto a muestras de menor peso y que sea similar al de muestras de mayor peso.

Para el cálculo de la muestra mínima se utilizó la gónada madura de mayor peso de las seleccionadas histológicamente para la fecundidad (considerando que se requieren varias submuestras). Se pesaron por triplicado submuestras con una diferencia de peso de 0.05 g entre ellas y comenzando de 0.05 g hasta los 0.4 g (o más si el coeficiente de variación de las submuestras sigue siendo alto). Cada

submuestra se colocó en un portaobjetos, se le añadió una gota de glicerina y se extendió para facilitar su conteo. En las tres submuestras de cada peso, se contó el número de ovocitos y se extrapoló al peso total de la gónada mediante una proporción simple (regla de tres) para obtener la fecundidad parcial. Con esos datos, se calculó la media, la varianza y el coeficiente de variación (varianza/media) obtenidos de los tres datos de cada peso de submuestra. Finalmente, se graficó el coeficiente de variación contra el peso de la muestra.

De la parte interna-central de cada uno de los ovarios maduros restantes se tomaron tres submuestras de 0.2 g (peso calculado como muestra mínima) y se procedió a contar el número de ovocitos. El resultado de cada submuestra contabilizado se extrapoló al peso total del ovario mediante una proporción simple y se calculó el promedio determinándose así la fecundidad parcial para cada hembra.

Relación entre variables ambientales y el ciclo reproductivo

Para determinar posibles relaciones entre el ciclo reproductivo de *I. badionotus* y *A. multifidus* con las variables ambientales, se realizó una correlación de Spearman en el que se relacionó el promedio mensual del IGS con los valores de la temperatura de fondo, la profundidad, salinidad y fotoperiodo. Los datos de la temperatura superficial del mar fueron obtenidos del sistema UNIATMOS (Centro de Ciencias de la Atmósfera, 2014), los datos de la temperatura de fondo se obtuvieron con la sonda multiparamétrica y fueron promediados con los datos obtenidos en estudios anteriores, para obtener una temperatura promedio. Los datos de fotoperiodo fueron consultados en la página de la Comisión Nacional del Agua (<http://smn.cna.gob.mx/es/informacion-climatologica-ver-estado?estado=yuc>).

RESULTADOS

Isostichopus badionotus

En total se recolectaron 68 ejemplares (machos y hembras) de *I. badionotus*. El número de organismos por mes varió desde uno, hasta 18.

De diciembre a febrero no se pudieron recolectar organismos debido a las malas condiciones meteorológicas de la temporada (nortes). Cuando se pudo hacer las colectas, estas fueron a una profundidad de entre 25 y 30 metros (Fig. 3).

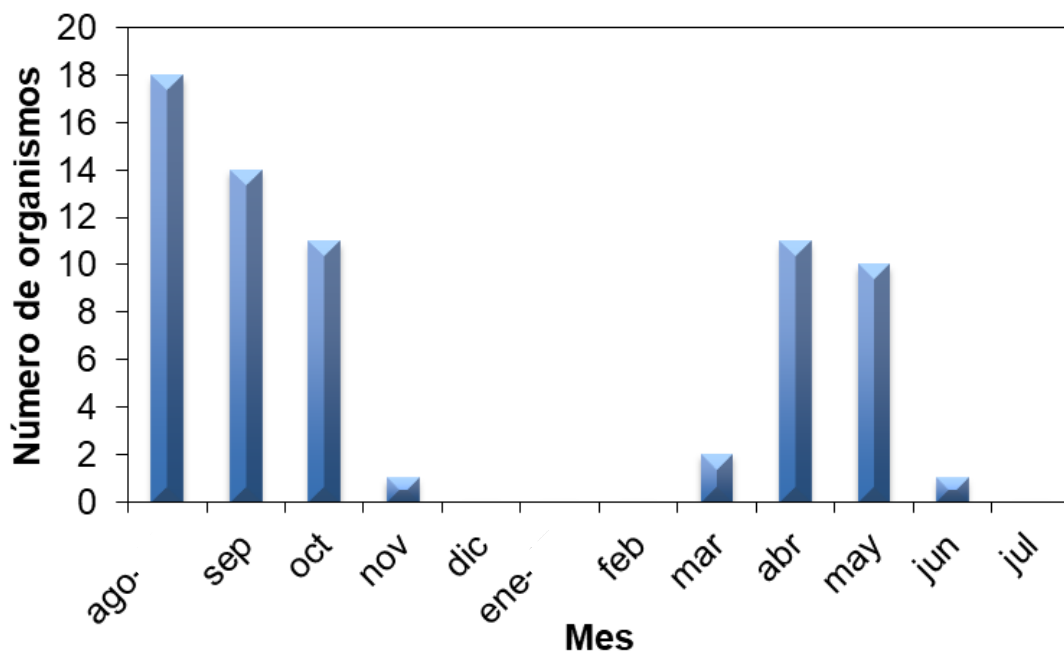


Figura 3. Número de organismos del pepino de mar *I. badionotus* recolectados por mes en la zona marina frente a Sisal, Yucatán.

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

La distribución de pesos totales varió de 94.0 g a 2,100.0 g con un promedio de 586.2 g (\pm 479.9 de desviación estándar). En lo que se refiere al peso eviscerado, este varió de 67.4 g a 1,285.4 g con un promedio de 413.5 g (\pm 334.1). Las distribuciones de frecuencias de pesos se presentan en la figura 4.

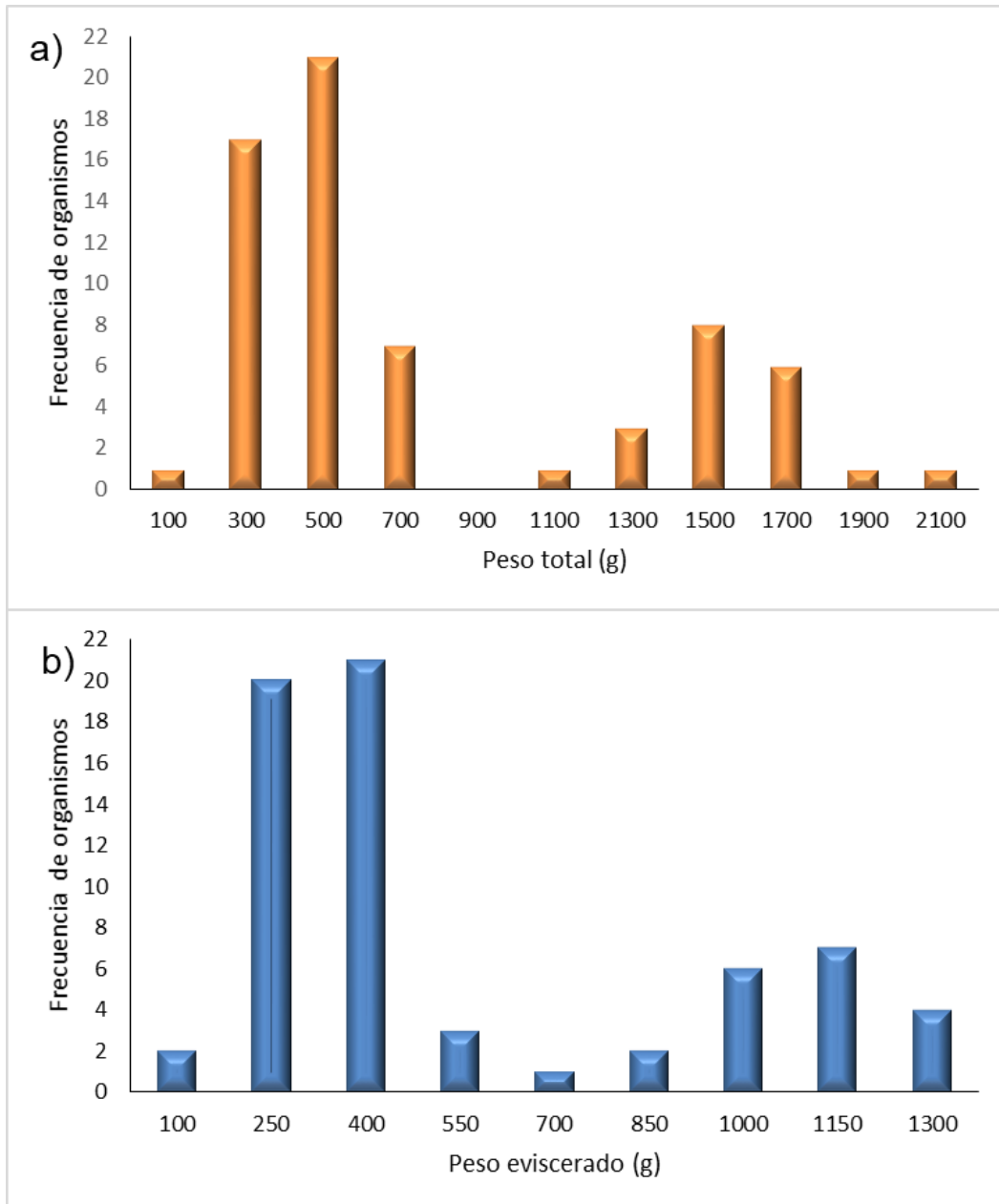


Figura 4 Distribuciones de frecuencias de pesos del pepino de mar *I. badionotus* en la zona marina frente a Sisal, Yucatán. a) Peso total y b) Peso eviscerado.

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

Proporción sexual

En lo que respecta a la proporción de sexos, de los 68 organismos analizados, se observaron 25 hembras, 35 machos y dos indiferenciados, además de que seis organismos no presentaron gónada.

Se analizó la proporción sexual por mes, solo en el mes de octubre se encontraron diferencias significativas, sin embargo para los demás meses y para el total no se encontraron diferencias, por lo tanto, se asume que la proporción sexual de *I. badionotus* es 1:1 ($P = 0.05$) (Tabla 1).

Tabla 1. Proporción sexual por mes de *I. badionotus* en la zona marina frente a Sisal, Yucatán.

	Mes	Total	Hembras	Machos	χ^2	Prob
2016	Agosto	18	5	13	3.61	0.06
	Septiembre	14	9	5	1.21	0.29
	Octubre	7	4	3	0.29	0.71
2017	Abril	11	4	7	0.91	0.37
	Mayo	9	3	6	1.11	0.32
	Junio	1		1		
	Total	60	25	35	1.68	0.20

En los siguientes apartados se hablará solo de las hembras de pepino de mar *I. badionotus* ya que constituyeron el objetivo de este trabajo.

Morfología gonadal

La gónada de *I. badionotus* está ubicada en el extremo anterior del celoma, constituida por túbulos bifurcados que difieren entre sí en color, diámetro y longitud.

Durante el desarrollo gonadal los túbulos crecen entre los otros órganos y se extienden a lo largo de la cavidad ocupándola casi en su totalidad cuando están maduros. Los túbulos de las gónadas se clasificaron en dos: primarios y secundarios, los primarios son los que vienen de la base del túbulo y los secundarios son los ramificados; se observaron cinco fases: I) Reposo, II) Desarrollo, III) Madurez, IV) Desove y V) Postdesove (Fig 5). La descripción de las fases en los cortes histológicos, así como la descripción de los ovocitos del pepino de mar *I. badionotus* se muestran en las Fig. 6 y Tabla 2, respectivamente.

Descripción macroscópica de las fases de desarrollo gonádico en las hembras de *I. badionotus*.

I) Reposo

Esta fase se refiere a organismos que están en proceso de reabsorción y reproductivamente inactivas. Presentan ovarios con túbulos de dos tipos, los que inician de la base (primarios) y los ramificados (secundarios), frecuentemente de color translúcido con pocos ovocitos pequeños distribuidos a lo largo de los túbulos (Fig. 5a).

II) Desarrollo

Fase en la que los organismos han iniciado el desarrollo pero que aún no están listos para desovar. Se observan ovarios con túbulos de dos tipos, los que inician en la base con una longitud media de 9.17 mm, un máximo 16.52 mm y un mínimo de 3.75 mm, una media de 0.79 mm de ancho y los ramificados más cortos con una longitud media de 3.74 mm, un máximo 8.77 mm y un mínimo de 0.79 mm, una media de 0.66 mm de ancho, frecuentemente de color amarillo pálido (609 C en escala Pantone), con pequeños y prominentes ovocitos distribuidos a lo largo de los túbulos (Fig. 5b).

III) Madurez

Los organismos en esta fase presentan gónadas completamente desarrolladas y son fisiológicamente capaces para desovar en el actual ciclo reproductor. Ovarios con túbulos largos y firmes provenientes de la base con una longitud media de 10.38 mm, un máximo 22.78 mm y un mínimo de 2.74 mm, una media de 0.87 mm de ancho y los poco ramificados con una longitud media de 5.14 mm, un máximo 17.43 mm y un mínimo de 0.97 mm, una media de 0.77 mm de ancho, frecuentemente de color beige (609 C en escala Pantone), con muchos ovocitos distribuidos a lo largo de los túbulos (Fig. 5c).

IV) Desove

Organismos que presentan gónadas con una parte madura y otra que está siendo desovada. Se observan ovarios con túbulos largos, algunos translúcidos flácidos (desovados) y los demás color beige (maduros) (600 U en escala Pantone) con presencia de ovocitos maduros. Tienen una longitud media de 10.19 mm, un máximo 17.42 mm y un mínimo de 3.97 mm, una media de 0.71 mm de ancho y los poco ramificados con una longitud media de 4.31 mm, un máximo 7.92 mm y un mínimo de 1.26 mm, una media de 0.65 mm de ancho (Fig. 5d).

V) Postdesove

Son organismos con gónadas mayormente desovadas. Ovarios con túbulos frecuentemente de color beige (600 CP en escala Pantone) con pequeños ovocitos distribuidos a lo largo de los túbulos y observables únicamente a través del microscopio estereoscópico (Fig. 5e).

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

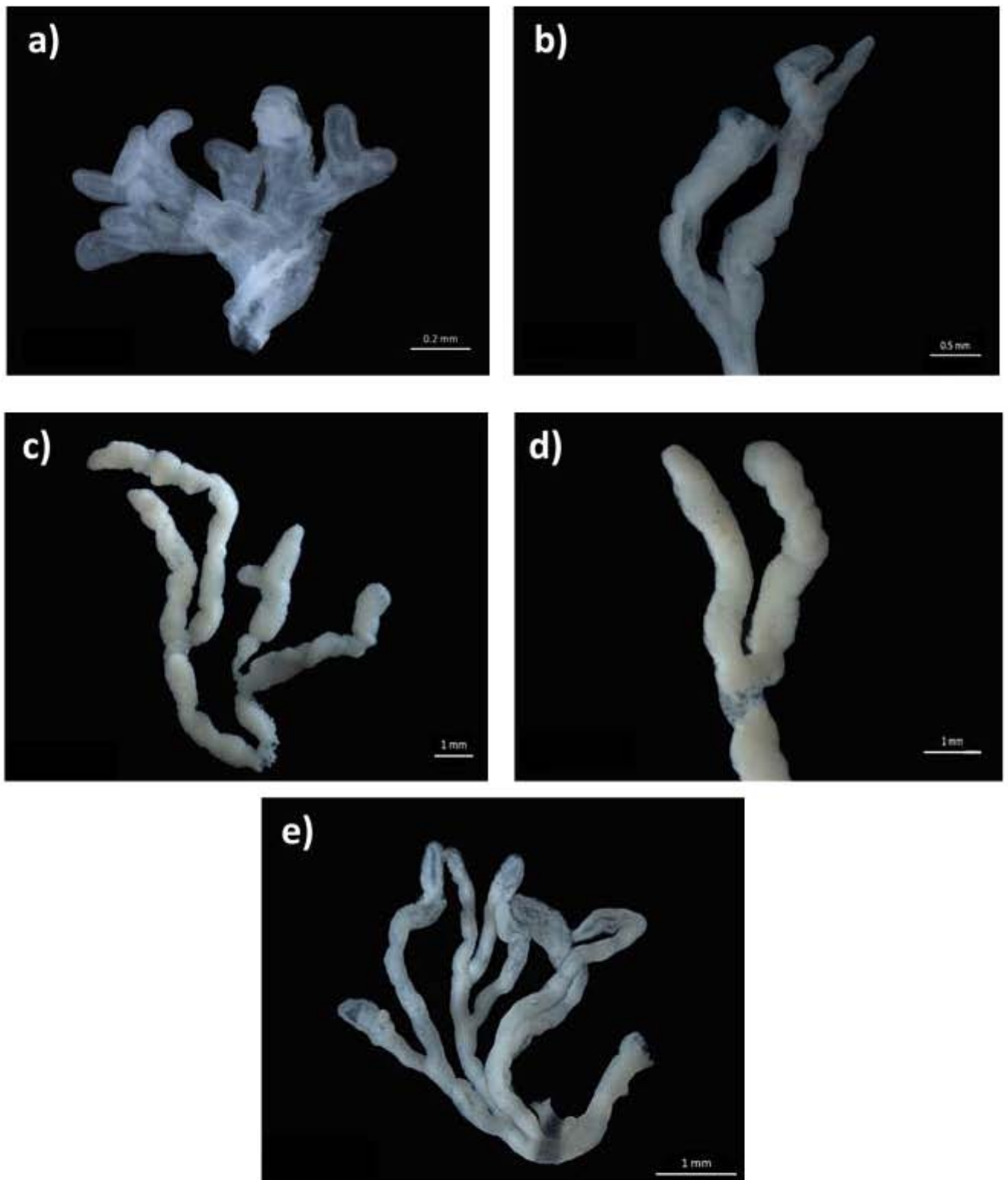


Figura 5. Túbulos del ovario del pepino de mar *I. badionotus* en las diferentes fases de desarrollo. **a)** reposo, **b)** desarrollo, **c)** madurez, **d)** desove y **e)** postdesove. Campo oscuro.

Descripción microscópica de las fases de desarrollo gonádico en hembras de *I. badionotus*.

I) Reposo: El lumen se observa casi vacío con las paredes gonadales gruesas, presentan ovogonias y muy pocos ovocitos previtelogénicos adheridos a la pared del túbulo (Fig. 6a).

II) Desarrollo: Paredes gonadales gruesas y ligeramente onduladas, el lumen se encuentra lleno de ovocitos predominando ovocitos previtelogénicos, aunque se observan ovocitos en tres fases de desarrollo. Ovogonias que van de 12.59 – 21.79 μm , ovocitos previtelogénicos de 25.96 – 82.46 μm y vitelogénicos con una media de 49.76 μm , lumen lleno de ovocitos (Fig. 6b).

III) Madurez: La pared de la gónada es muy delgada y el lumen está lleno de ovocitos principalmente maduros, aunque se encuentran en tres de las cuatro fases de desarrollo: previtelogénicos que van de las 50.19 – 98.95 μm , vitelogénicos de 77.62 – 145.43 μm y maduros de 95.21 – 172.13 μm (Fig. 6c).

IV) Desove: El túbulo se observa con una menor cantidad de ovocitos que en la fase de madurez. En ocasiones se observan folículos postovulatorios y células en cuatro fases de desarrollo: ovogonias de 9.66 – 31.12 μm , ovocitos previtelogénicos de 21.87 – 87.02 μm , ovocitos vitelogénicos de 57.94 – 111.27 μm y ovocitos maduros de 94.54 – 139.91 μm (Fig. 6d).

V) Postdesove: Túbulos con ovocitos residuales y en reabsorción, generalmente vacíos (Fig. 6d).

En la mayoría de los túbulos se observó más de un tipo de ovocitos, lo que confirma que son organismos con un desarrollo gonádico asincrónico.

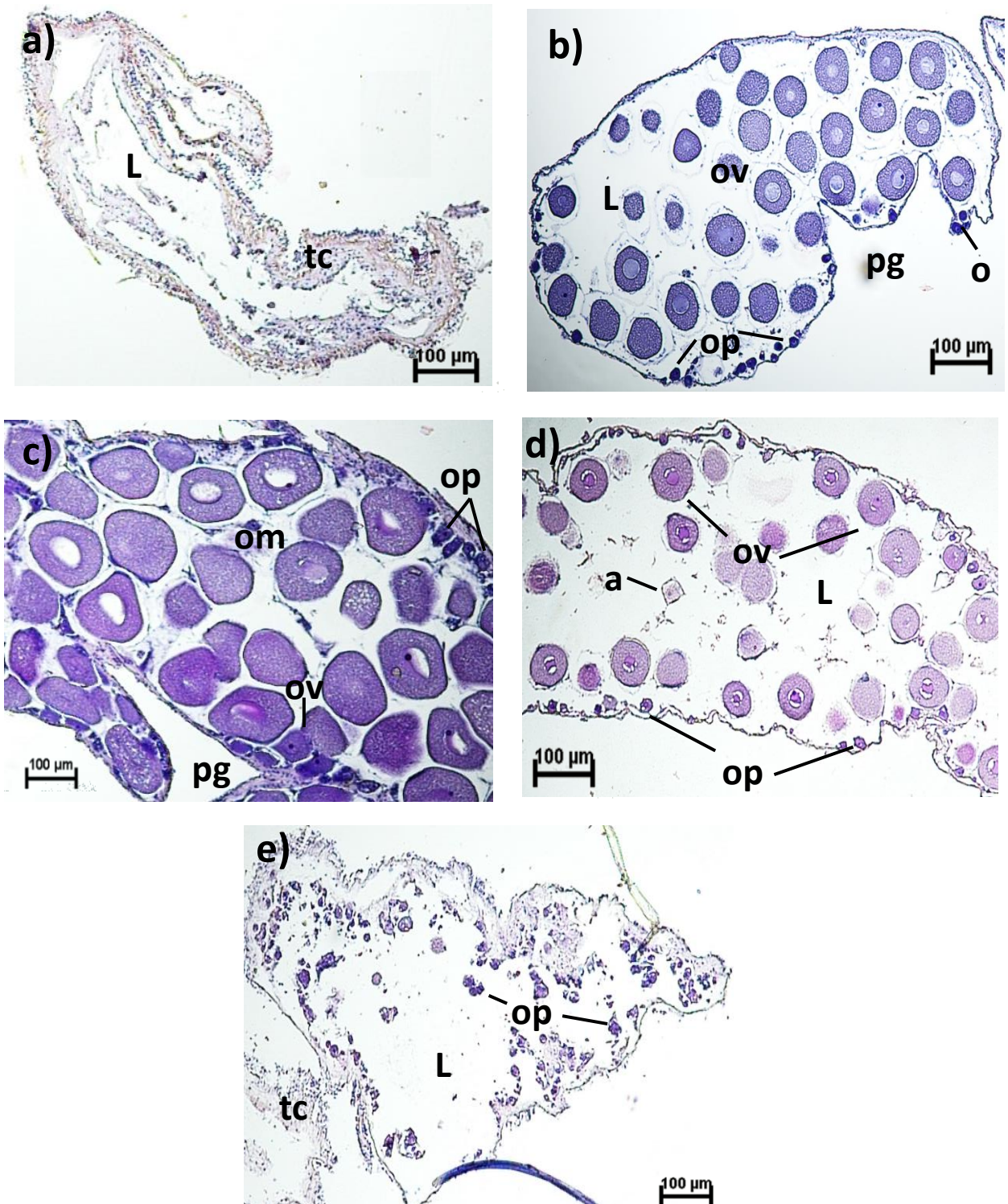
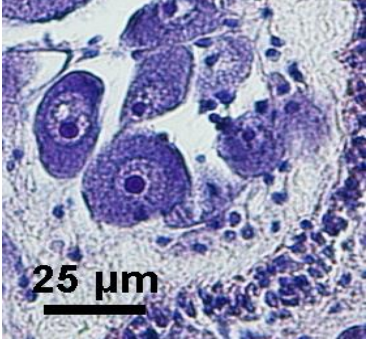

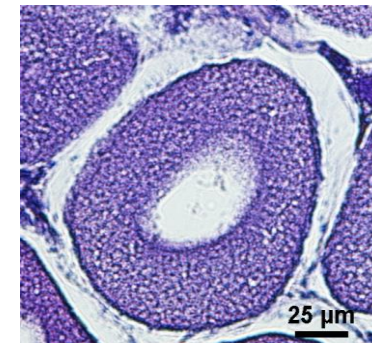
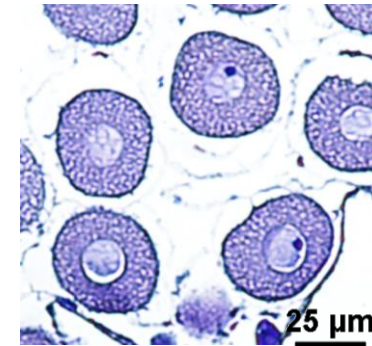


Figura 6. Microfotografías de los estadios gonadales de *I. badionotus*. a) reposo, b) desarrollo, c) madurez, d) desove, e) postdesove (L lumen, tc tejido conjuntivo, o ovogonias, pg pared gonadal, op ovocitos previtelogénicos, ov ovocitos vitelogénicos, om ovocitos maduros) Preparación hematoxilina-eosina.

Tabla 2. Descripción microscópica de los ovocitos del pepino de mar *Isostichopus badionotus*.

FASE DE DESARROLLO	CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS	ASPECTO VISUAL MICROSCÓPICO
a) Ovogonias secundarias	Se encuentran adheridas a la pared del túbulo y se encuentran entre el tejido conjuntivo. Se observa el núcleo y nucléolo. Con un diámetro promedio de 11.1–26.4 μm .	 <p>25 μm</p>
b) Ovocitos previtelogénicos	Comienzan a salir del tejido conjuntivo, sin embargo aún se encuentran adheridos a la pared del túbulo. Con un diámetro promedio de 32.6–89.4 μm .	 <p>25 μm</p>

<p>c) Ovocitos vitelogénicos</p>	<p>Se encuentran en el centro del túbulo. Núcleo grande y se observa el nucléolo. Presentan citoplasma granuloso y se empieza a formar la membrana folicular rodeando el ovocito. Con un diámetro promedio de 61.7– 124.4 μm.</p>
<p>d) Ovocitos maduros</p>	<p>En el centro del túbulo, el tamaño de los ovocitos se ha incrementado considerablemente debido a que se encuentra totalmente lleno de gránulos de vitelo, en algunos casos se puede observar el núcleo hacia el polo animal. Membrana folicular rodeando el ovocito. Con un diámetro promedio de 94.8 – 156 μm.</p>



Ciclo reproductivo

El periodo reproductivo de *I. badionotus* no se pudo establecer claramente ya que no se pudieron obtener organismos en todos los meses debido a las malas condiciones ambientales. Sin embargo, en todos los meses colectados se presentaron hembras en madurez y desove.

De los 11 organismos colectados en octubre, tres no presentaron gónada, ni los dos colectados en marzo.

De las fases del ciclo reproductor de las hembras de *I. badionotus*, se observó que en el mes de agosto 2016 los organismos se encontraron en madurez y desove y en el mes de mayo 2017 el 100% de los organismos se encontraron en madurez esto se relaciona muy bien con el IGS obtenido, ya que un IGS con valores altos corresponde a fases de madurez y este va disminuyendo conforme avanza el ciclo. En los meses de noviembre a febrero, junio y julio no se pudo colectar, en marzo los organismos no presentaron gónada (Fig. 8).

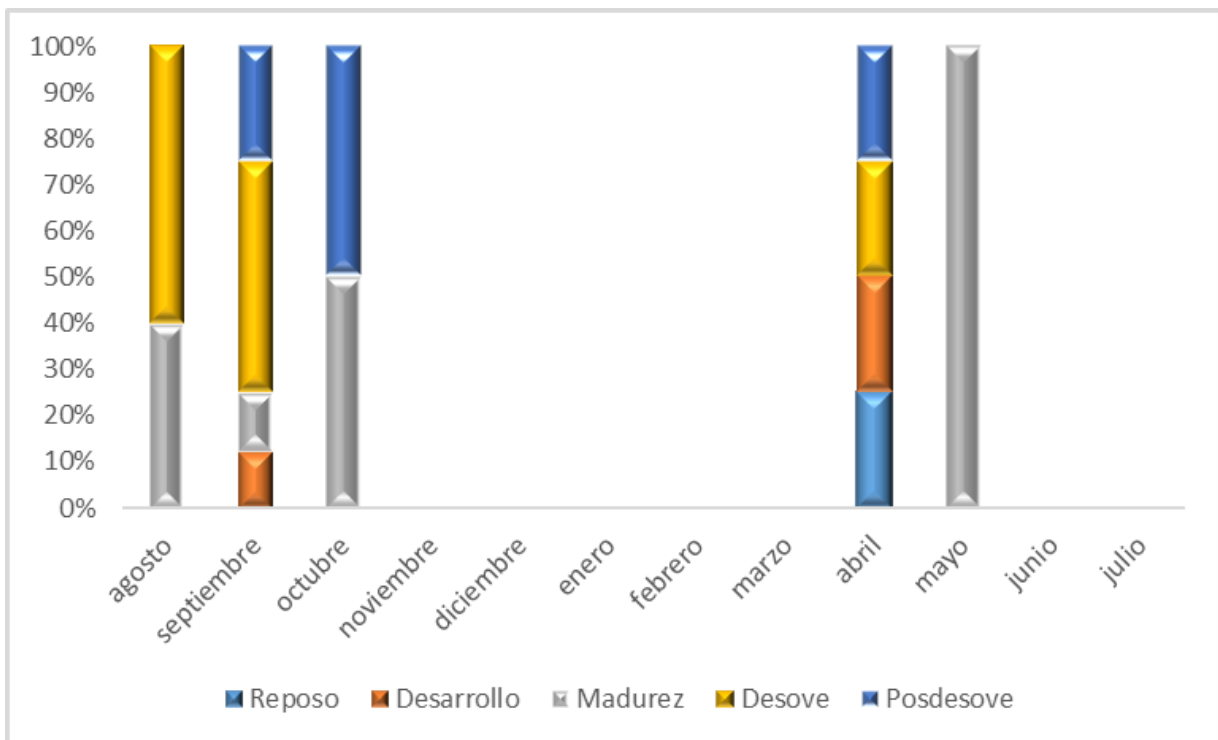


Figura 7. Frecuencia de las fases de desarrollo gonádico de hembras de pepino de mar de *I. badionotus* durante el periodo de estudio en la zona marina frente a Sisal, Yucatán.

Índice Gonadosomático (IGS).

En lo que respecta al Índice Gonadosomático (IGS), se obtuvieron estimaciones para cinco meses. Se puede observar que los mayores valores se encontraron en agosto y mayo, lo cual coincide con un mayor porcentaje de organismos en fases de madurez y desove. El valor más bajo se encontró en abril, donde hay un menor porcentaje de organismos en fase de madurez, esto se debe a que valores bajos de IGS, corresponden a estadios de postdesove o reposo, en el mes de junio solo se colectó un organismo (Fig. 7). Con los resultados obtenidos de la correlación de Sперman, se obtuvo que el índice gonadosomático fue significativamente correlacionado con la proporción de organismos en madurez y desove ($R=1$, $P<0.001$).

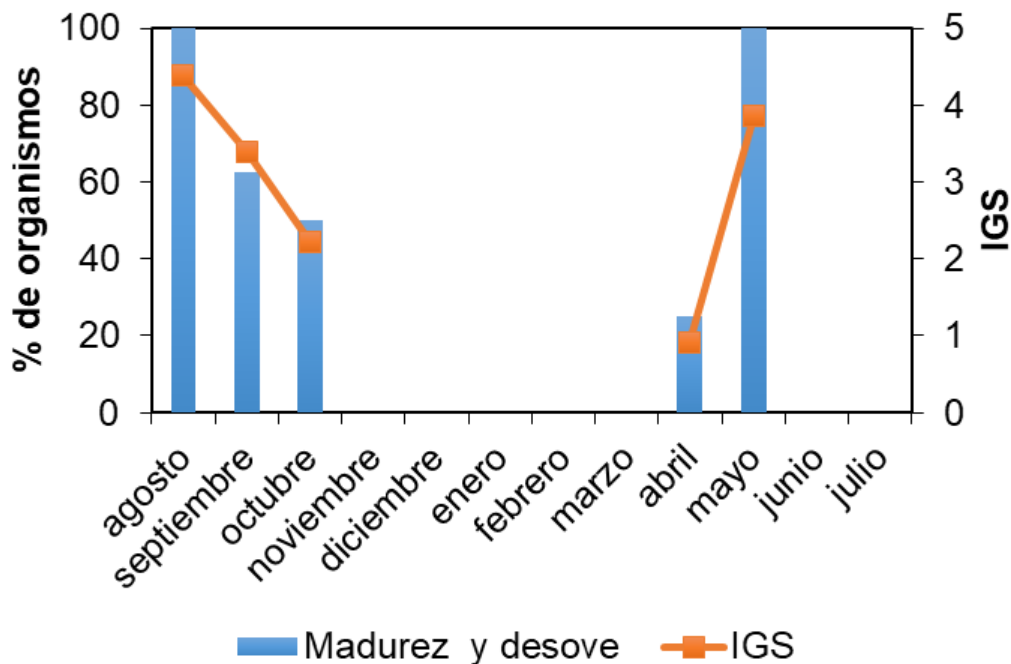


Figura 8. Variación mensual del índice gonadosomático y frecuencia de organismos en fase de madurez y desove de hembras de *I. badionotus* en la zona marina frente a Sisal, Yucatán.

Peso de primera madurez (W_{50})

Las hembras sexualmente maduras (en fases de madurez, desove y postdesove) de *I. badionotus* con la aplicación del modelo logístico mostraron una W_{50} de 397.31 g, peso a partir del cual el 50% de los organismos de *I. badionotus* alcanza la madurez sexual (Fig. 9).

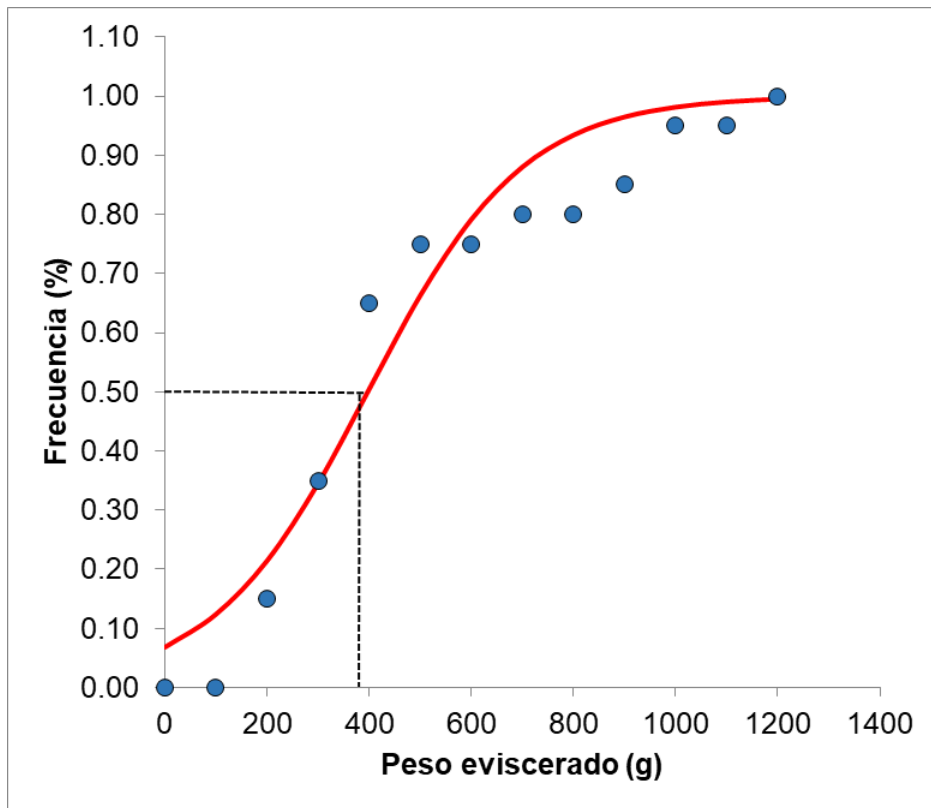


Figura 9. Peso de primera madurez de hembras de pepino de mar de *I. badionotus* en la zona marina frente a Sisal, Yucatán.

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

Fecundidad

En la parte de fecundidad, se encontraron cinco hembras maduras sin indicios de desove (sin folículos postovulatorios); se calculó la muestra mínima con la que se obtuvo un peso de 0.002 g. La fecundidad parcial se calculó extrapolando el peso de la submuestra al peso total de cada gónada obteniendo un promedio de 6,052,427 ovocitos ($\pm 5,945,674$ de desviación estándar) (Tabla 3). Posteriormente se ajustó un modelo exponencial de la frecuencia de los pesos eviscerados con el número de ovocitos, en el que se observa que a mayor peso del organismo mayor número de ovocitos (Fig. 10)

Tabla 3. Cálculo de la fecundidad parcial en hembras maduras de *Isostichopus badionotus*.

Mes	Peso mínimo	Número de ovocitos	Promedio	Peso total (g)	Peso eviscerado (g)	LTdorsal (cm)	Peso gónada (g)	Estimación ovocitos
Agosto	0.002	415	416	287.3	204.6	23	12.4	2,581,266
Agosto	0.002	418						
Agosto	0.002	416						
Septiembre	0.002	423	441	361.3	205.7	31	7.04	1,554,666
Septiembre	0.0022	469						
Septiembre	0.002	433						
Octubre	0.002	435	462	269	186.3	23.5	7.2	1,663,200
Octubre	0.0023	497						
Octubre	0.002	454						
Mayo	0.002	401	466	1426.9	1176	49	63.6	14,829,400
Mayo	0.0024	484						
Mayo	0.0024	514						
Mayo	0.002	435	446	1359.9	964.3	45	43.2	9,633,600
Mayo	0.0023	487						
Mayo	0.002	416						
							Media	6,052,426
							Desv. Est	5,945,674
							Coef. Var.	98%

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

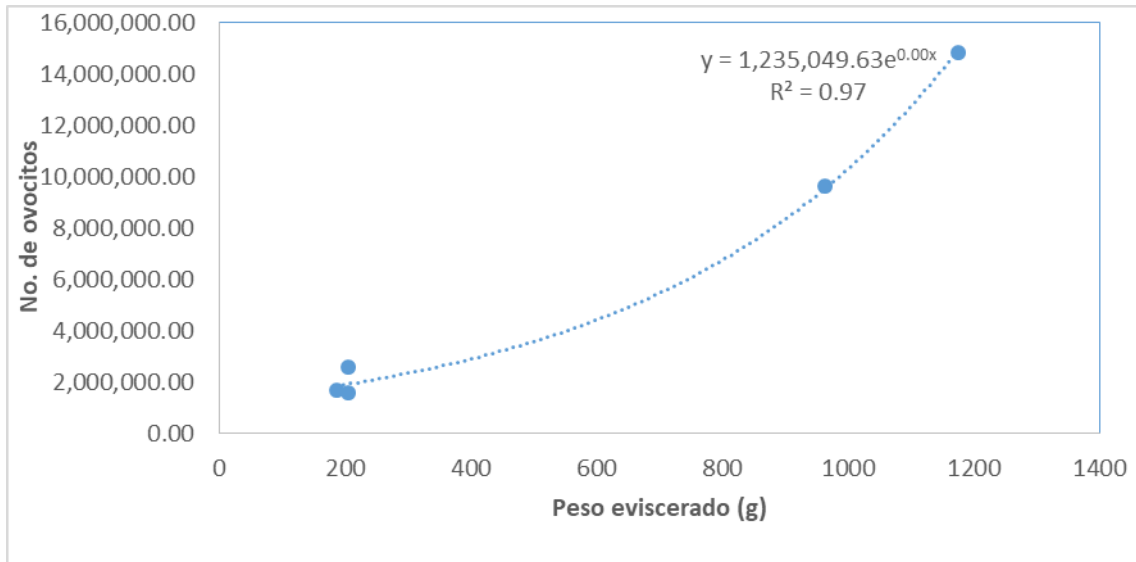


Figura 10. Fecundidad parcial de hembras del pepino de mar *I. badionotus* en la zona marina frente a Sisal, Yucatán.

Relación entre variables ambientales y el índice gonadosomático

Se observó que la temperatura de fondo en la plataforma continental adyacente al puerto de Sisal fue en promedio de 27 °C, con un intervalo de 28 a 29 °C en los meses de mayo a octubre.

Al realizar el análisis de correlación de Spearman, no se encontraron relaciones significativas entre el IGS y la temperatura ($R=0.15$, $P>0.05$) (Fig. 11), salinidad ($R=-0.10$, $P>0.05$), fotoperiodo ($R=0.30$, $P>0.05$) y profundidad ($R=-0.10$, $P>0.05$).

Aunque no hubo una correlación significativa, se puede observar que los valores más altos del IGS se presentaron con las mayores temperaturas.

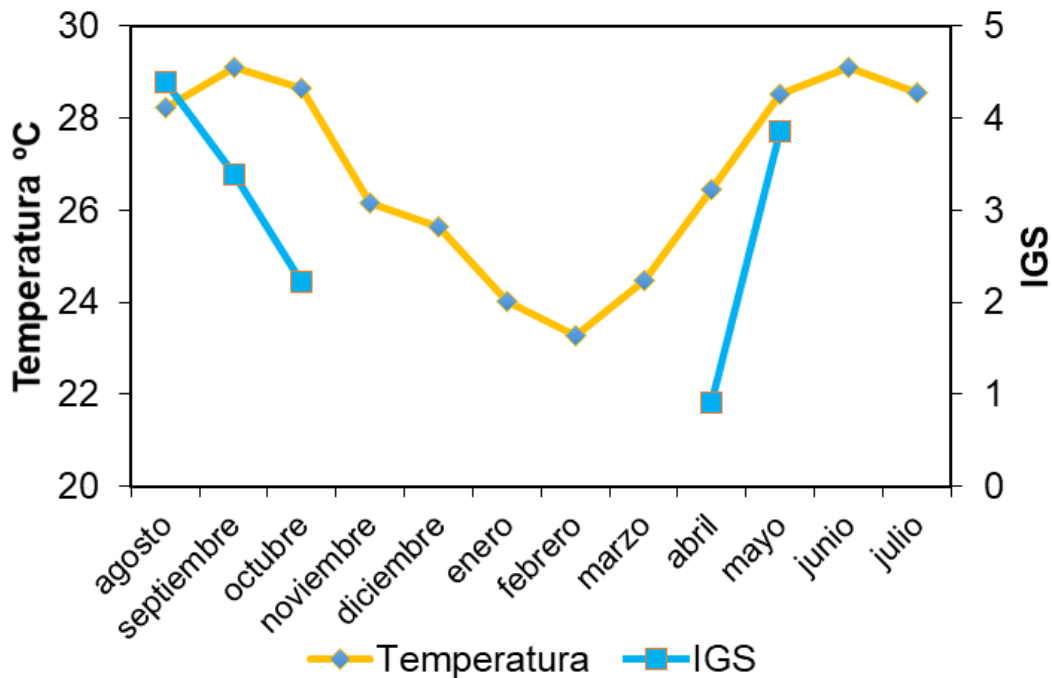


Figura 11. Relación entre el IGS de las hembras del pepino de mar *I. badionotus* y la temperatura de fondo medida en la plataforma continental adyacente al puerto de Sisal, Yucatán.

Astichopus multifidus

Se recolectaron un total de 167 ejemplares (machos y hembras) de *A. multifidus*. Esta especie es más abundante en Sisal, encontrándose a menor distancia y profundidad, por lo tanto, en temporada de nortes no se dificultó en demasía su colecta, sin embargo en algunos meses no se pudieron recolectar organismos por las condiciones ambientales. El número de organismos por mes varió desde 8 hasta 41 organismos. A continuación se muestran los datos del número de organismos de ambos sexos colectados por mes (Fig. 12).

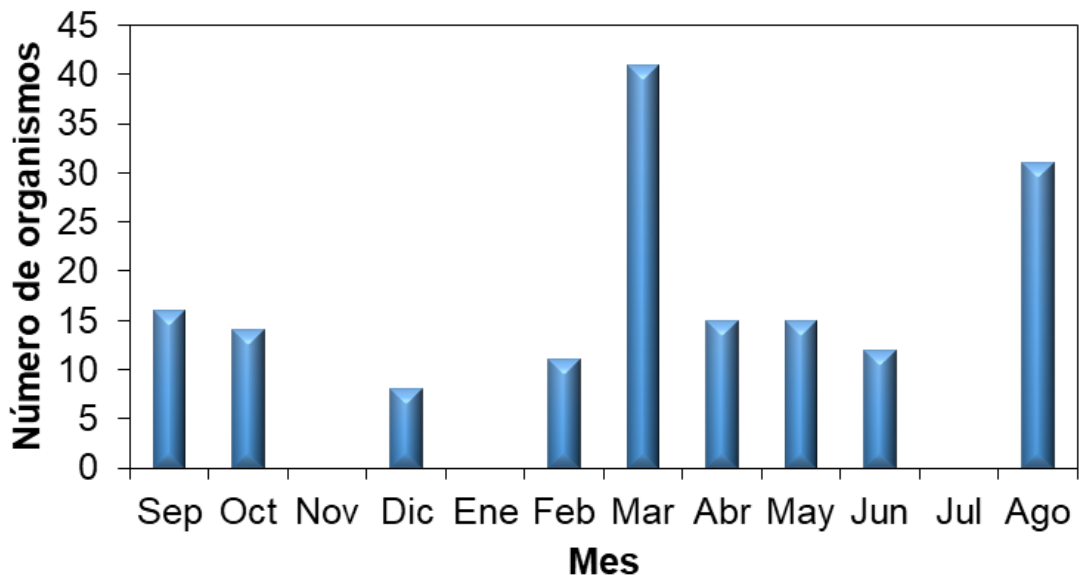


Figura 12. Número de organismos del pepino de mar *A. multifidus* recolectados por mes de septiembre 2016 a agosto 2017 en la zona marina frente a Sisal, Yucatán.

La distribución de pesos totales de ambos sexos varió de 170.3 g a 3,214.6 g con un promedio de 1,301.2 g (\pm 615.4). En lo que se refiere al peso eviscerado este varió de 95.6 g a 1,576.7 g con un promedio de 717.3 g (\pm 263.9). Las distribuciones de frecuencias de pesos se presentan en la Fig. 13.

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

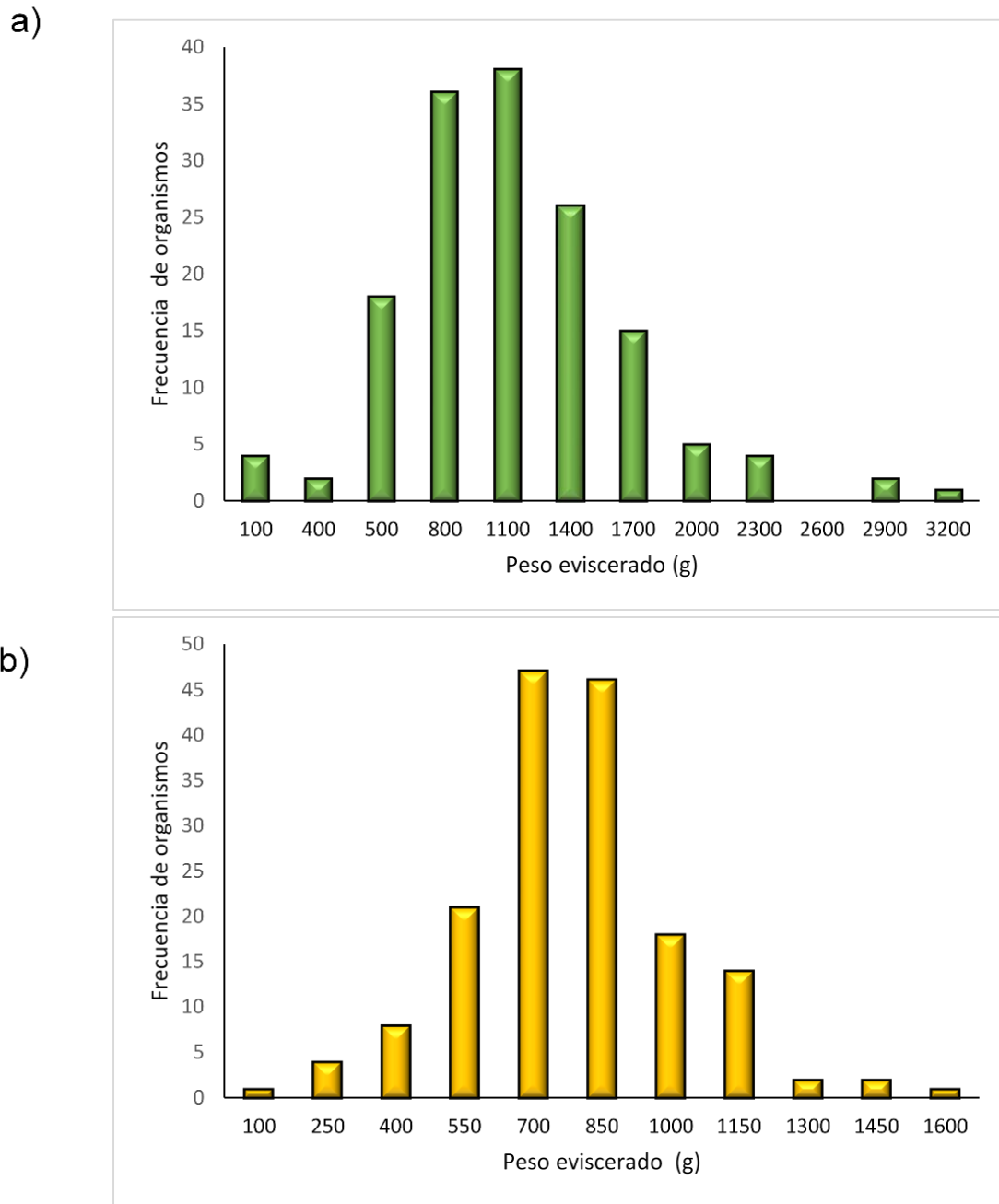


Figura 13. Distribuciones de frecuencias de pesos del pepino de mar *A. multifidus* en la zona marina frente a Sisal, Yucatán. a) Peso total y b) Peso eviscerado.

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

Proporción sexual

En lo que respecta a la proporción de sexos, de los 167 organismos analizados, se observaron 81 hembras, 63 machos y uno indiferenciado. Se encontraron 15 organismos sin gónada pertenecientes a los meses de septiembre a diciembre. Se descartó la gónada de siete organismos por errores en el muestreo.

Se analizó la proporción sexual por mes y solo en el mes de octubre se observaron diferencias significativas. Por lo que respecta a los demás meses, la proporción entre hembras y machos fue de 1:1 ($P = 0.05$) (Tabla 4).

Tabla 4. Proporción sexual por mes de *A. multifidus* en la zona marina frente a Sisal, Yucatán.

Mes	Total	Hembras	Machos	χ^2	Prob
Septiembre	13	9	4	2.00	0.17
Octubre	9	8	1	5.56	0.02
Noviembre					
Diciembre	5	2	3	0.40	0.65
Enero					
Febrero	10	3	7	1.70	0.21
Marzo	38	17	21	0.45	0.52
Abril	15	8	7	0.13	0.80
Mayo	15	8	7	0.13	0.80
Junio	12	9	3	3.08	0.08
Julio					
Agosto	27	17	10	1.85	0.18
Total	144	81	63	2.26	0.13

En los siguientes apartados se hablará solo de las hembras de pepino de mar *A. multifidus* ya que constituyeron el objetivo de este trabajo.

Morfología gonadal

La gónada de *A. multifidus* está ubicada en el extremo anterior del celoma, constituida por túbulos bifurcados que difieren entre sí en color, diámetro y longitud. Durante el desarrollo gonadal los túbulos crecen entre los otros órganos y se extienden a lo largo de la cavidad ocupándola casi en su totalidad cuando están maduros. Los túbulos de las gónadas se clasificaron en dos tipos de acuerdo a su tamaño; los primarios y los secundarios que se ramifican de los primarios. Se observaron cinco fases: I) Reposo, II) Desarrollo, III) Madurez, IV) Desove y V) Postdesove (Fig. 14). Posteriormente se realizó la descripción de las fases en los cortes histológicos (Fig. 15), así como la descripción de los ovocitos del pepino de mar *A. multifidus*. (Tabla 5).

Descripción macroscópica de las fases de desarrollo gonádico de las hembras de *A. multifidus*.

I) Reposo

Esta fase se refiere a organismos que están proceso de reabsorción de los ovocitos que no fueron expulsados y reproductivamente inactivas. Presentan ovarios con túbulos cortos, frecuentemente traslúcidos y se observan pocos ovocitos pequeños distribuidos a lo largo de los túbulos (Fig. 14a).

II) Desarrollo

Fase en la que los organismos han iniciado el desarrollo pero que aún no están listos para desovar. Se observan ovarios con túbulos que van de 5.18 – 17.12 mm de largo y 0.47 – 1.85 mm de ancho, las ramificaciones de 1 – 7.83 mm de largo, 0.31 – 1.19 mm de ancho, frecuentemente de color amarillo pálido (9121 U en escala Pantone). Se observan pequeños y prominentes ovocitos distribuidos a lo largo de los túbulos (Fig. 14b).

III) Madurez

Los organismos en esta fase presentan gónadas completamente desarrolladas y son fisiológicamente capaces de desovar en esta fase del ciclo reproductor. Ovarios de con túbulos cortos y firmes de 8.1 – 19.95 mm de largo y 0.96 – 2.13 mm de ancho,

túbulos poco ramificados con 1.46 – 9.24 mm de largo y 1.11 – 2.25 mm de ancho, frecuentemente de color naranja pálido (2001 UP en escala Pantone) y muchos ovocitos distribuidos a lo largo de los túbulos (Fig. 14c).

IV) Desove

Organismos que presentan gónadas con una parte madura y otra que está siendo desovada. Se observan ovarios con túbulos largos de 5.89 – 15.36 mm, ancho de 1.01 – 1.78 mm. Las ramificaciones tienen una longitud de 1.68 – 8.15 mm y una anchura de 0.67 – 1.41 mm, algunos translúcidos flácidos (desovados) y los demás color naranja pálido (maduros) (2001 UP en escala Pantone), con presencia de ovocitos maduros observables a simple vista (Fig. 14d).

V) Postdesove

Son organismos con gónadas mayormente desovadas. Ovarios con túbulos, frecuentemente de color amarillo (9121U en escala Pantone), muchos ovocitos pequeños distribuidos a lo largo del lumen (Fig. 14e).

En la mayoría de las gónadas se observó la presencia de diferentes tipos de túbulos al mismo tiempo y en desarrollo consecutivo, generando una considerable superposición de fases.

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

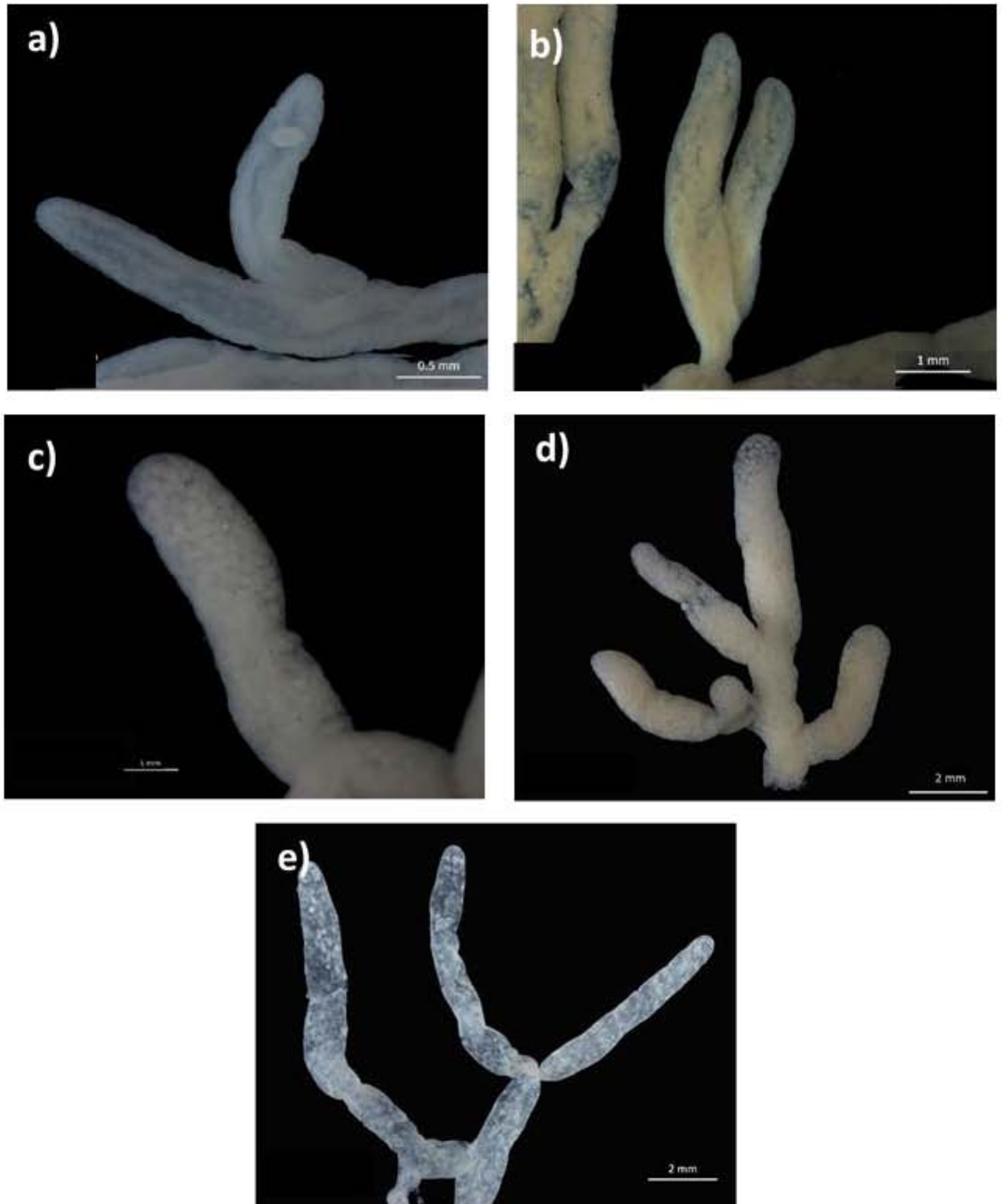


Figura 14. Túbulos del ovario del pepino de mar *A. multifidus* en las diferentes fases de desarrollo. **a)** reposo, **b)** desarrollo, **c)** madurez, **d)** desove y **e)** postdesove. Campo oscuro.

Descripción microscópica de las fases de desarrollo gonádico de las hembras de *A. multifidus*.

I) Reposo: El lumen se observa vacío con las paredes gonadales gruesas, presentan ovogonias y muy pocos ovocitos previtelogénicos pegados a la pared del túbulo (Fig. 15a).

II) Desarrollo: Paredes gonadales gruesas y ligeramente onduladas. El lumen se encuentra lleno de ovocitos predominando ovocitos previtelogénicos, aunque se observan ovocitos en todas las fases de desarrollo. El diámetro de las ovogonias va de 6.83 – 34.78 μm , los ovocitos previtelogénicos de 16.31 – 91.62 μm , vitelogénicos con una medida de 68.85 – 144.8 μm y maduros de 100.38 – 201.1 μm (Fig. 15b).

III) Madurez: La pared de la gónada es muy delgada y el lumen está lleno de ovocitos principalmente maduros, aunque se encuentran en las cuatro fases de desarrollo: ovogonias de 8.28 – 28.81 μm , previtelogénicos que van de las 20.43 – 88.79 μm , vitelogénicos de 81.79 – 166.97 μm y maduros de 101.88 – 225.31 μm (Fig. 15c).

IV) Desove: Presentan túbulos con menor cantidad de ovocitos que en la madurez. En ocasiones se observan folículos postovulatorios y células en cuatro fases de desarrollo: ovogonias de 11.5 – 37.95 μm , ovocitos previtelogénicos de 29.82 – 89.78 μm , ovocitos vitelogénicos de 72.89 – 156.85 μm y ovocitos maduros de 116.28 – 263.71 μm (Fig. 15d).

V) Postdesove: Túbulos con ovocitos residuales y en reabsorción, generalmente vacíos (Fig. 15e).

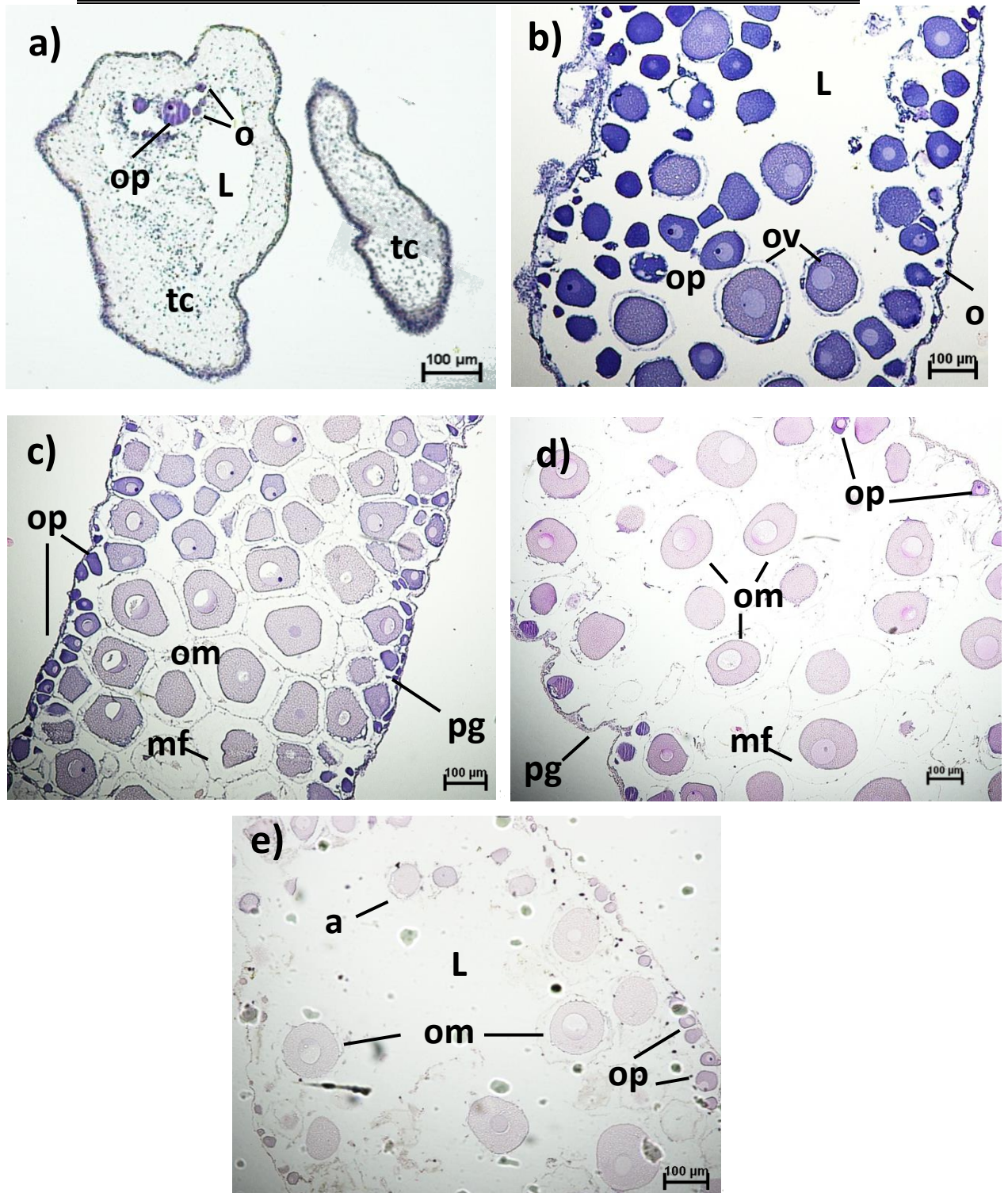




Figura 15. Microfotografías de los estadios gonadales del pepino de mar *A. multifidus*. **a)** reposo, **b)** desarrollo, **c)** madurez, **d)** desove, **e)** postdesove (L lumen, tc tejido conjuntivo, o ovogonias, pg pared gonadal, op ovocitos previtelogénicos, mf membrana folicular, ov ovocitos vitelogénicos, om ovocitos maduros) Preparaciones en hematoxilina-eosina.

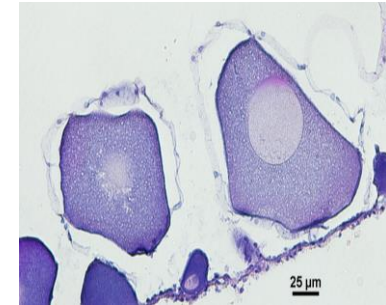
Tabla 5. Descripción microscópica de los ovocitos del pepino de mar *A. multifidus*

FASE DE DESARROLLO	CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS	ASPECTO VISUAL MICROSCÓPICO
a) Ovogonias	Se encuentran pegadas a la pared del túbulo inmersas en el tejido conjuntivo Se observa el núcleo y el nucléolo. Con un diámetro promedio de 8.8 – 33.8 μm .	 <p>25 μm</p>
b) Ovocitos previtelogénicos	Comienzan a salir del tejido conjuntivo, sin embargo aún se encuentran algunos pegados a la pared. Con un diámetro promedio de 22.1 – 90 μm .	 <p>25 μm</p>

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badiotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

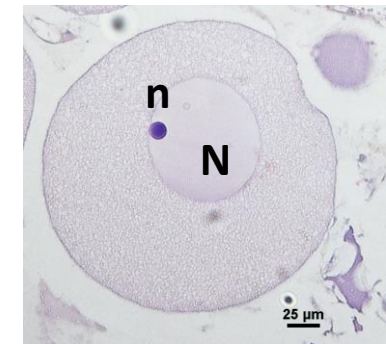
c) **Ovocitos vitelogénicos**

Se encuentran en el centro del túbulo aunque también se pueden observar cerca de la pared. Tienen núcleo grande y se observa el nucléolo. Presentan citoplasma granuloso, se empieza a formar la membrana folicular y en fases más avanzadas esta membrana sobresale del ovocito. Con un diámetro promedio de 74.5–156.2 μm .



d) **Ovocitos maduros**

Presentes en el centro del túbulo, ovocito totalmente lleno de gránulos de vitelo, su tamaño se ha incrementado considerablemente, en algunos casos el núcleo migrado al polo animal. Membrana folicular más delgada rodeando al ovocito. Con un diámetro promedio de 106.1 – 230 μm .



Ciclo reproductivo

El periodo reproductivo de *A. multifidus* abarca los meses de abril a mayo que es donde se encuentra el mayor porcentaje de organismos en fase de madurez y desove. De las fases del ciclo reproductor de las hembras de *A. multifidus*, se observó que en el mes de abril-mayo 2017 los organismos se encontraron en madurez al 100% en el mes de abril, mientras que en el mes de mayo predominó la fase de desove. Los organismos se encontraron en madurez esto se relaciona muy bien con el IGS obtenido, ya que un IGS con valores altos corresponde a fases de madurez y este va disminuyendo conforme avanza el ciclo. En los meses de noviembre, enero y julio no se pudo colectar (Fig. 16).

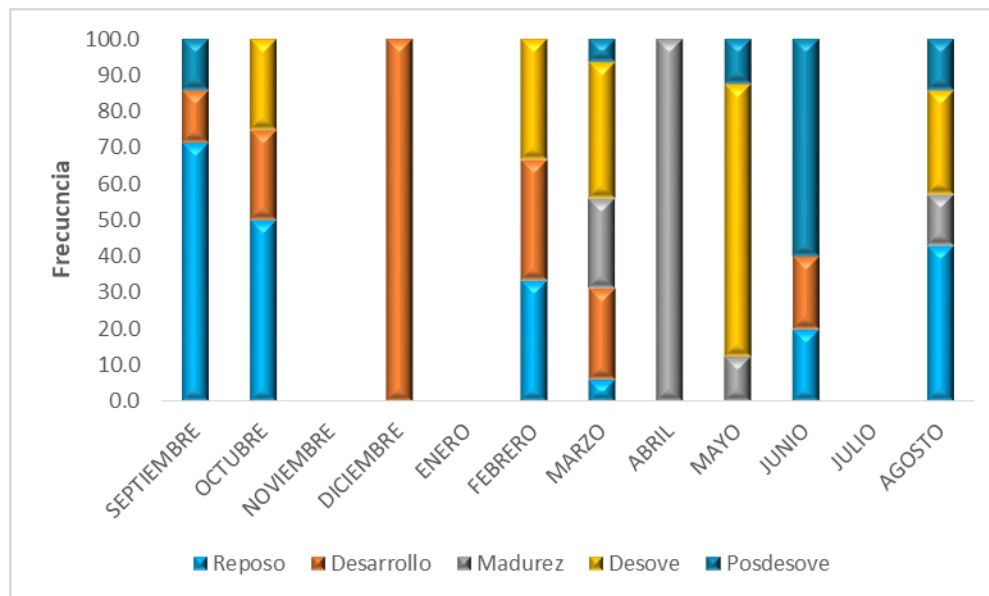


Figura 16. Frecuencia de las fases de desarrollo gonádico de hembras del pepino de mar *A. multifidus* en la zona marina frente a Sisal, Yucatán.

Índice gonadosomático (IGS).

Se obtuvieron estimaciones del IGS de nueve meses. Se puede observar que los mayores valores se encontraron en abril seguido de mayo. El valor más bajo se encontró en septiembre. Se realizó una correlación de Spearman entre el IGS y el porcentaje de organismos en fase de madurez y desove, teniendo una correlación significativa ($R=0.81$, $P<0.05$) (Fig. 17).

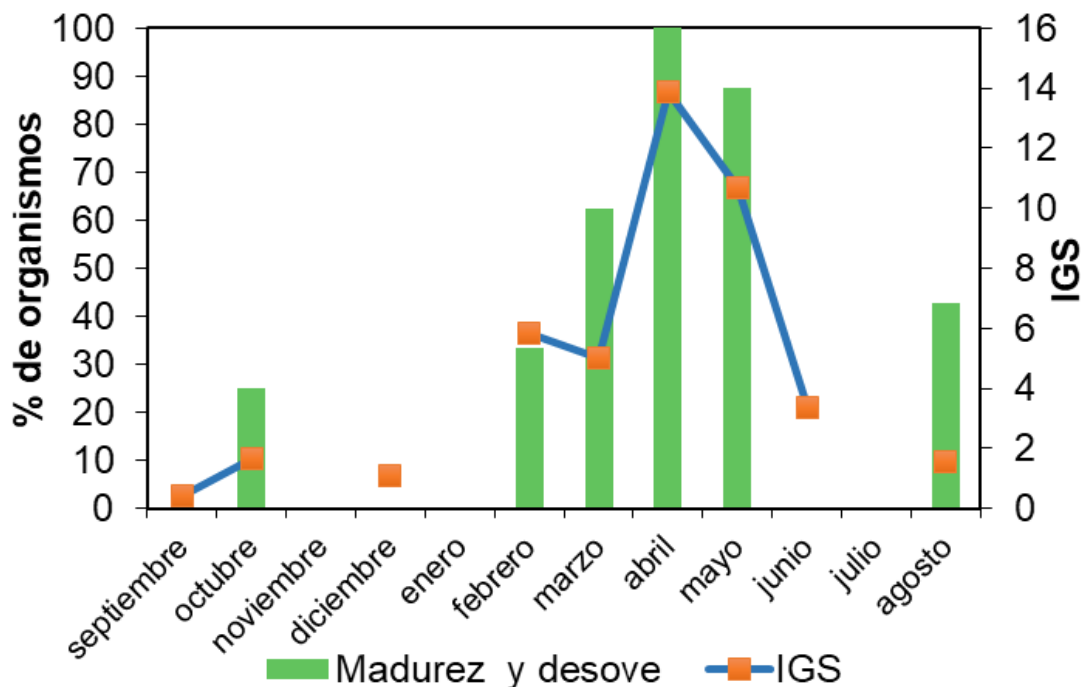


Figura 17. Índice gonadosomático mensual y porcentaje de organismos en fases de madurez y desove de las hembras del pepino de mar *A. multifidus* en la zona marina frente a Sisal, Yucatán.

En *A. multifidus* solo se observa un pico reproductivo con valores altos del IGS en los meses de abril (13.89 y con un 100% de gónadas en fase de madurez) y mayo con un IGS de 10.09 (con un 25 % de madurez y 75% de desove); en los demás meses se observan la mayoría de las fases por mes (asincronía) y los valores del IGS van disminuyendo conforme avanza el ciclo (Tabla 6).

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

Tabla 6. Valores mensuales del IGS, desviación y error estándar del pepino de mar *A. multifidus* de la zona marina frente a Sisal.

Mes	n	Promedio IGS	D. E. IGS	E. E.
Sep	17	0.37	0.35	0.08
Oct	14	1.58	1.75	0.47
Nov				
Dic	6	0.43	0.57	0.23
Ene				
Feb	11	4.94	3.41	1.03
Mar	39	5.14	5.81	0.93
Abr	15	12.61	3.32	0.86
May	15	8.65	3.31	0.86
Jun	12	2.13	2.93	0.85
Jul				
Ago	31	1.15	1.43	0.26

Peso de primera madurez (W_{50}).

Los resultados de la frecuencia de las hembras sexualmente maduras (en fases de madurez, desove y postdesove) de *A. multifidus* se muestran con la aplicación del modelo logístico en donde se obtuvo una W_{50} es de 680.01 g, en este peso el 50% de los organismos de *A. multifidus* alcanza la madurez sexual (Fig. 18).

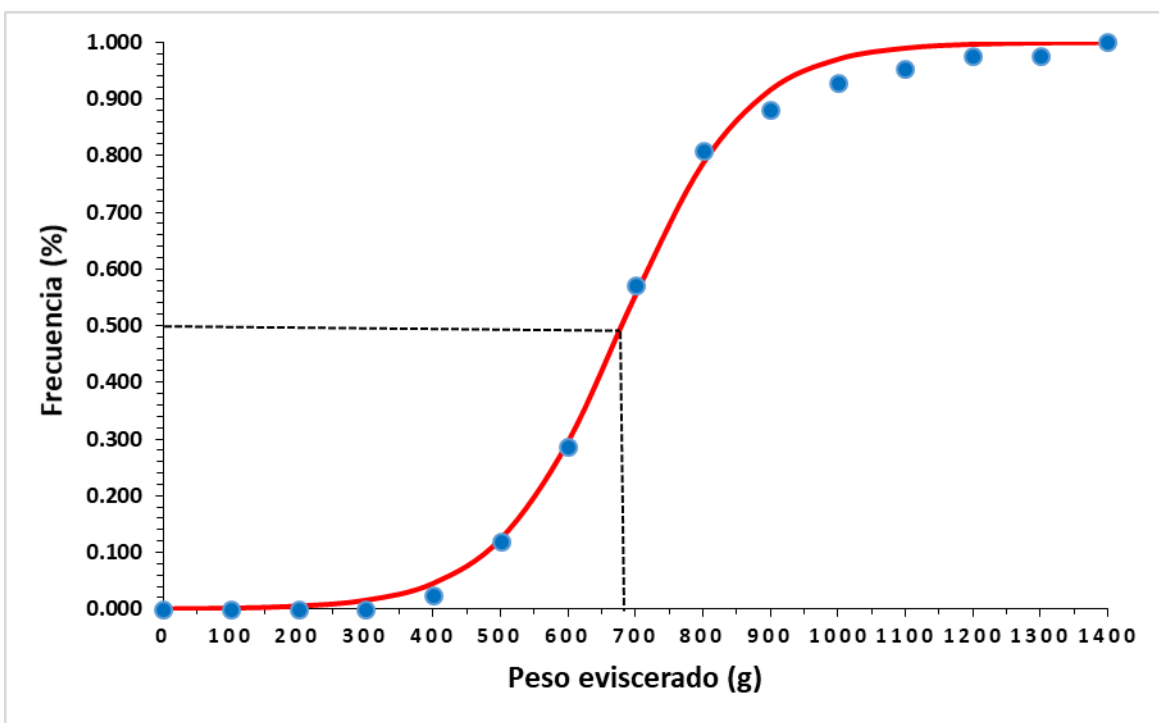


Figura 18. Talla de primera madurez de hembras del pepino de mar *A. multifidus* en la zona marina frente a Sisal, Yucatán.

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

Fecundidad

Con respecto a la fecundidad de *A. multifidus*, solo se encontró una hembra madura con la que se estimó la fecundidad con el método de la muestra mínima en el que el peso mínimo es de 0.025 g para poder continuar con el cálculo de la fecundidad parcial. (Tabla 7).

Tabla 7. Muestra mínima estimada para *A. multifidus*.

Peso Submuestra	Peso gónada	No. Ovocitos	Fecundidad	Media	Varianza	Coefficiente de Variación	Peso estándar
0.025	161.6	702	4,537,728.0	4,605,206.6	566690908	1230.5439	0.025
			0	9	7	2	
0.0252	161.6	716	4,591,492.0				
			6				
0.025	161.6	725	4,686,400.0				
			0				

Relación entre variables ambientales y el índice gonadosomático.

En cuanto a las condiciones ambientales se observó que la temperatura de fondo promedio del agua de mar en Sisal es de 27 °C, en los meses de mayo a octubre se mantuvo entre los 28 – 29 °C.

Al realizar el análisis de correlación de Spearman, no se encontraron relaciones significativas entre el IGS y la temperatura ($R=0.35$, $P>0.05$) (Fig. 19), salinidad ($R=-0.16$, $P>0.05$), fotoperiodo ($R=0.39$, $P>0.05$) y profundidad ($R=-0.20$, $P>0.05$).

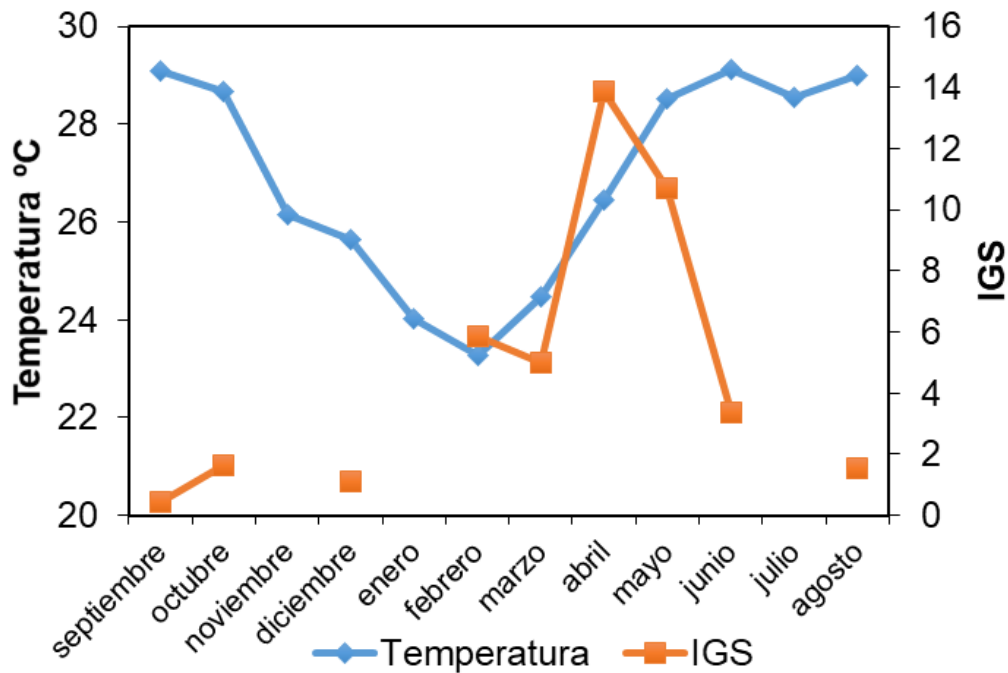


Figura 19. Relación entre el IGS de las hembras del pepino de mar *A. multifidus* y la temperatura de fondo medida en la plataforma continental adyacente al Puerto de Sisal, Yucatán.

Comparación de características macro y microscópicas de *I. badionotus* y *A. multifidus*.

Se realizaron tablas comparativas de las características principales de los túbulos así como de los cortes histológicos de cada fase para cada especie (Tablas 8 y 9).

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

Tabla 8. Comparación de aspectos macroscópicos de los ovarios del pepino de mar *I. badionotus* y *A. multifidus*.

FASE DE MADUREZ		<i>Isostichopus badionotus.</i>	<i>Astichopus multifidus.</i>
I)	Reposo	Ovarios con túbulos de dos tipos, los que inician de la base y los ramificados, frecuentemente de color translúcido con pequeños y pocos ovocitos distribuidos a lo largo de los túbulos.	Ovarios con túbulos cortos, frecuentemente traslucidos, se observan pequeños y pocos ovocitos distribuidos a lo largo de los túbulos.
II)	Desarrollo	Túbulos: ramificados Longitud media del túbulo primario: 9.17 mm Ancho: 0.79 mm Longitud media del túbulo secundario: 3.74 mm Coloración: amarillo pálido (609 C en escala Pantone)	Túbulos: ramificados Longitud media del túbulo primario: 8.85 mm Ancho: 0.89 mm Longitud media del túbulo secundario: 2.79 mm Coloración: amarillo pálido (9121 U en escala Pantone).
III)	Madurez	Túbulos: ramificados Longitud media del túbulo primario: 10.38 mm Ancho: 0.87 mm Longitud media del túbulo secundario: 5.14 mm Coloración: beige (609 C en escala Pantone)	Túbulos: ramificados Longitud media del túbulo primario: 13.37 mm Ancho: 1.57 mm Longitud media del túbulo secundario: 4.74 mm Coloración: naranja pálido (2001 UP en escala Pantone).
IV)	Desove	Túbulos: ramificados Longitud media del túbulo primario: 10.19 mm Ancho: 0.71 mm Longitud media del túbulo secundario: 4.31 mm Coloración: beige (maduros) (600 U en escala Pantone).	Túbulos: ramificados Longitud media del túbulo primario: 10.32 mm Ancho: 1.32 mm Longitud media del túbulo secundario: 4.86 mm Coloración: translúcidos flácidos (desovados) y los demás color naranja pálido (maduros) (2001 UP en escala Pantone).
V)	Postdesove	Ovarios con túbulos frecuentemente de color beige (600 CP en escala Pantone) y únicamente son observables a través del microscopio estereoscópico pequeños ovocitos distribuidos a lo largo de los túbulos.	Ovarios con túbulos, frecuentemente de color amarillo (9121U en escala Pantone), y muchos ovocitos pequeños distribuidos a lo largo de los túbulos.

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

I) Reposo	Túbulos casi vacíos (mucho espacio del lumen), con ovogonias y muy pocos ovocitos previtelogénicos adheridos a la pared del túbulo.	Túbulos casi vacíos (mucho espacio del lumen), con ovogonias y muy pocos ovocitos previtelogénicos pegados a la pared del túbulo.
II) Desarrollo	Ovogonias: 12.59-21.79 μm Ovocitos previtelogénicos: 25.96-82.46 μm Vitelogénicos: 49.76-116.6 μm	Ovogonias: 6.83-34.78 μm Ovocitos previtelogénicos: 16.31-91.62 μm Vitelogénicos: 68.85-144.8 μm Maduros: 100.38-201.1
III) Madurez	Previtelogénicos: 50.19-98.95 μm Vitelogénicos: 77.62-145.43 μm Maduros: 95.21-172.13 μm .	Ovogonias: 8.28-28.81 μm , Ovocitos previtelogénicos: 20.43-88.79 μm Vitelogénicos: 81.79-166.97 μm Maduros: 101.88-225.31 μm .
IV) Desove	Ovogonias: 9.66-31.12 μm Ovocitos previtelogénicos: 21.87-87.02 μm Vitelogénicos: 57.94-111.27 μm Maduros: 94.54-139.91 μm	Ovogonias: 11.5-37.95 μm Ovocitos previtelogénicos: 29.82-89.78 μm Vitelogénicos: 72.89-156.85 μm Maduros: 116.28-263.71 μm
V) Postdesove	Túbulos con ovocitos residuales y en reabsorción, generalmente vacíos.	Túbulos con ovocitos residuales y en reabsorción, generalmente vacíos.

Tabla 9. Comparación microscópica (histología) de los ovarios en el pepino de mar *I. badionotus* y *A. multifidus*.

DISCUSIÓN

El estudio estuvo enfocado en conocer y describir diferentes aspectos de la biología reproductiva del pepino de mar *I. badionotus* y *A. multifidus* y su relación con los cambios ambientales que se producen a lo largo de un ciclo anual. Ambas especies son dioicas. Los especímenes no presentan dimorfismo sexual externo, en algunos casos, se puede determinar el sexo al observar las gónadas maduras. Las gónadas de las hembras cuando están maduras presentan una coloración amarillo pálido, mientras que las gónadas de los machos son color crema. La proporción de sexos de la población (hembras-machos) fue de 1:1, como es el caso de la mayoría de los aspidochirotas (Cameron y Fankboner, 1986; Conand, 1993; Foster y Hodgson, 1995). El análisis histológico de las gónadas de ambas especies presentaron cinco fases de madurez: I) reposo, II) desarrollo, III) madurez, IV) desove y V) postdesove. Las características de las diferentes fases son muy similares a las de otras especies de aspidochirotas, así como la sincronía gonadal, reportada también en *I. fuscus* y *P. parvimensis*, también en estas especies se reporta la ausencia de gónada (Smiley, 1988; Tuwo y Conand, 1992; Fajardo-León *et al.*, 2008).

En lo referente a las medidas corporales del pepino de mar, la capacidad de elongación y retracción les permite modificar su tamaño en gran proporción, haciendo que este sea muy variable, mientras que el peso total es una medida más confiable de la biomasa (Conand, 1981; Tuwo y Conand, 1992; Fajardo *et al.*, 2008). Sin embargo para este trabajo se tomó en cuenta el peso eviscerado ya que fue considerado una medida más confiable ya que hubo ocasiones en donde no se logró la relajación por completo de los organismos, descartando la longitud como variable. En cuanto al peso total también se descartó ya que estos organismos en especial *A. multifidus* al estresarse con la manipulación tienden a eviscerar y con esto eliminan toda el agua de la pared corporal. El promedio del peso total de *I. badionotus* fue de 94.0-2126.4 g, el peso eviscerado fue de 67.4-1506.3 g, mientras que para *A. multifidus* el promedio del peso total fue de 170.3-3214.6 gr, y el peso eviscerado fue de 95.60-1576.70, mostrando una

significativa diferencia entre especies. Herrero-Pérezrul *et al.* (1999) reportaron para *I. fuscus* en la Isla Espíritu Santo un peso promedio de 385.9 g, mientras que la misma especie en el centro y norte del Golfo de California presentó pesos de entre 458-562 g (Fajardo-León *et al.*, 2008). Conand (1993) presentó datos de longitud y peso medios para algunas de las holoturias comerciales más importantes del Pacífico Sur. Los pesos eviscerados van de 270 a más de 400 g. Las especies de este estudio muestran pesos más elevados que los reportados en holoturias del mismo género, incluso *I. badionotus* comparado con especies de importancia comercial.

Fases de desarrollo

El ovario de *I. badionotus* como de *A. multifidus*, al igual que la de otros holotúridos Aspidochirotas es un ramillete de túbulos que se extiende a través del celoma a medida que madura (Tuwo y Conand, 1992; Chao *et al.*, 1995; Abdel-Razek *et al.*, 2005; Toral-Granda y Martínez, 2007). Sin embargo, se diferencian de otras especies del orden por presentar simultáneamente en la misma gónada túbulos de diferente grado de desarrollo, mostrando que el proceso de maduración del túbulo no sucede a la misma velocidad en todos, generando una considerable superposición de los estadios. La gónada puede presentar uno, dos o tres tipos de ovocitos consecutivos al mismo tiempo, por lo cual las características de cada túbulo y su predominancia en la gónada fueron utilizadas para adjudicar el estadio de desarrollo gonadal para el individuo. El proceso de desarrollo de la gónada en diferentes clases de túbulos ha sido descrito también en varias especies por varios autores (Engstrom, 1980; Smiley, 1988; Tuwo y Conand, 1992; Hamel y Mercier, 1996). Smiley (1988) describió el modelo de desarrollo tubular "Tubule Recruitment Model" en el cual la gónada funcionaría como una "banda transportadora" que permitiría el desarrollo y la reabsorción de los túbulos año tras año. Así, en el año N, la gónada tiene túbulos maduros y en desarrollo, y para el año N+1, los túbulos maduros serían desovados, los que estaban en desarrollo serían los maduros y se generaría una nueva cohorte de túbulos en crecimiento, por lo cual nunca se presenta reabsorción completa de la gónada y los individuos más viejos,

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

presentarían todas las clases de túbulos. Los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que el modelo propuesto por Smiley no se acopla a la dinámica reproductiva de *I. badionotus* y *A. multifidus* ya que en primera instancia las fases presentes entre individuos no siempre fueron las mismas; además, se presentaron individuos en reposo y sin gónada; y el proceso no parece ser anual ni sincrónico. Estas diferencias con el modelo pueden deberse a la distribución geográfica de la especie y a los factores ambientales que la están regulando, situación que se ha presentado también en *H. floridana* (Engstrom, 1980), *H. forskali* (Tuwo y Conand, 1992), *C. frondosa* y *C. japonica* (Hamel y Mercier, 1996).

Como se mencionó anteriormente, ambas especies presentaron asincronía. *I. badionotus* presentó ovarios en fase de reposo solo en el mes de abril con una incidencia del 25% de los organismos colectados; *A. multifidus*, presentó fase de reposo en cuatro de los nueve meses muestreados,

En *I. fuscus* al igual que en las especies de este estudio en la etapa de reposo, no se observó evidencia de actividad gametogénica. Herrero-Pérezrul (1999) reportó que la gónada era tan pequeña que fue muy difícil de ver al igual que en *I. badionotus* y *A. multifidus*, situación reportada anteriormente en estudios de diferentes holotúridos (Bakus, 1973; Conand, 1981). Herrero-Pérezrul (1999) reportó organismos sin gónada en los meses más fríos (de octubre a enero), un momento en que la población se caracterizó por la presencia de individuos en las etapas gonadales post-desove y reposo, esto coincide con las especies de estudio de este trabajo ya que los organismos sin gónada se presentaron principalmente en *A. multifidus* y en el mes de octubre; en este mes *A. multifidus* presentó gónadas principalmente en fase de reposo, mientras que en diciembre presentó gónadas solo en fase de desarrollo; por su parte, *I. badionotus* en el mes de enero presentó gónadas en postdesove. Después del desove, las gónadas de ambas especies disminuyeron de tamaño. También durante el desarrollo, la capa germinal de las gónadas se hizo más delgada y los pliegues longitudinales se extendieron hasta el lúmen. Este proceso es común en la clase

Holothuroidea y produce un aumento significativo en el área de superficie para el desarrollo de los ovocitos (Cameron y Fankboner, 1986). Fue común observar la presencia de ovocitos en desarrollo y maduros en las gónadas durante el postdesove. Esto puede mostrar que ocurren eventos parciales de desove. Mosher (1982) mostró que algunas holoturias son capaces de desovar más de una vez durante el período reproductivo, como una forma de maximizar el éxito reproductivo. Esta estrategia podría ser muy útil para estas especies ya que en el caso de *I. badionotus* sus ovocitos son pequeños (130 μm) muy parecido al tamaño de los ovocitos de *I. fuscus* (100 μm) reportado por Herrero-Pérezrul *et al.* (1999). Los sucesos repetidos de expulsión de gametos, posiblemente ayudarían a evitar este problema.

Proporción sexual

Al igual que otras especies de la familia Holothuroidea, tanto *I. badionotus* como *A. multifidus* tienen una distribución de sexos 1:1. Esto parece ser un esquema general en holotúridos dioicos (Engstrom, 1980; Conand 1981; Conand 1993). No se observó la presencia de organismos hermafroditas, pero si individuos sin gónada. La presencia de estos individuos en otras especies se ha atribuido al proceso de reabsorción de la gónada (Fajardo-León, 2008). Aunque en este trabajo no se determinó la causa de la ausencia de gónada, se puede asociar, en individuos pequeños, a que aún no hubieran alcanzado la primera madurez sexual y en individuos de mayor peso a un posible proceso de reabsorción que coincidió en el mes de octubre con *Parastichopus parvimensis* en el pacífico mexicano. En *I. fuscus* también se encontró ausencia de la gónada aunque todos los órganos estaban presentes (Herrero-Pérezrul *et al.*, 1999).

Ciclo reproductivo

Para establecer el periodo reproductivo, se utilizaron datos histológicos observados y estos fueron respaldados por los valores obtenidos en el índice gonadosomático ya que ambos son indicadores de actividad reproductiva (Giese y Pearse, 1974). Algunos autores difieren en el uso del IGS como indicador, ya que este utiliza medidas morfométricas para su cálculo como son el peso o longitud total, sin embargo como

ambas medidas son muy variables, para este estudio se realizó con el peso eviscerado. En este estudio el índice gonadosomático (IGS) en *I. badionotus* alcanzó sus mayores valores promedio en agosto 2016 y mayo 2017, lo cual indica que en estos meses la gónada alcanza su máximo desarrollo, presentado mayor porcentaje de gónadas maduras, sin embargo al presentarse la asincronía, también se observan desoves en estos meses. Posterior a la madurez, se observó el desove, en septiembre, lo que coincidió con el decremento del IGS. Esta especie presenta un segundo periodo de desove en el mes de mayo cuando se observó un 100% de gónadas en madurez.

En el trabajo realizado por Poot-Salazar (2015), se menciona que los valores más altos de IGS en hembras de *I. badionotus*, fueron registrados en los meses de junio y julio presentándose también desoves en todo el año.

Fajardo-León *et al.* (2008) obtuvieron valores altos del IGS de *P. parvimensis* en los meses marzo (11.0) y de abril (5.5), y los valores más bajos en junio y julio (IG = 2). De agosto a octubre el promedio de IGS fue cero. En el presente estudio se registraron valores máximos de IGS para *I. badionotus* en mayo (3.86) y agosto (4.38) y el valor más bajo en abril (0.90). Por otro lado, *A. multifidus* presentó los valores más altos en abril (13.09) y mayo (10.09) y los mínimos en los meses de septiembre (0.37) y diciembre (0.43). En este caso no coinciden los valores bajos, aunque los valores altos de *P. parvimensis* y *A. multifidus* coinciden en el mes de abril.

Peso de primera madurez (W_{50}).

Los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que para *I. badionotus* el peso de primera madurez se encuentra alrededor de los 397.31 g, mientras que para *A. multifidus* ese valor se registró en 680.01 g. En el estudio realizado por Poot-Salazar, (2015) se determinó una talla de primera madurez en *I. badionotus* de 23 cm. Al comparar ambos estudios se pudo observar que los organismos con primera madurez observados ahora fueron mayores (aprox. 34 cm) a los reportados por Poot-Salazar (2015). Esto puede deberse a que son organismos que se colectaron a una distancia lejana de la costa, teniendo más disponibilidad de recursos para su crecimiento.

Sin embargo en otras especies como *I. fuscus* en el Golfo sur de Baja California la W_{50} es similar a *I. badionotus* (367 g), mientras que en el Pacífico occidental, otros aspidochirotas comerciales alcanzan su primera madurez sexual en pesos más cercanos a *A. multifidus* (> 500 g de peso eviscerado) (Conand 1981, 1982, 1990). En la costa norte de Baja California *Parastichopus parvimensis* alcanza la madurez con 160 g (Pérez-Plascencia 1995).

Estos datos, aunque todavía son mínimos, proporcionan una línea interesante de investigación con respecto a la gestión de recursos tan importantes como los holotúridos.

Fecundidad

Solo se contó con cinco hembras completamente maduras de *I. badionotus* en las cuales la fecundidad parcial fue de ~6;052,427 ovocitos maduros, con un coeficiente de variación del 98.24%, un alto coeficiente variación puede deberse a los pesos totales de la gónada, ya que estos fueron muy variables, van de 7.04-63.6 g. Zacarías-Soto *et al.* (2013) comprobó que *I. badionotus* bajo condiciones de laboratorio durante la época de reproducción, cada hembra dependiendo de su talla, puede desovar varias veces, con al menos un desove por mes y una fecundidad promedio de 200,000 huevos por desove con un máximo y un mínimo de 1'066,000 y 13,500 huevos, respectivamente, esta diferencia puede deberse a que dicho autor determinó la fecundidad en condiciones de laboratorio, mientras que las especies de este estudio fueron del medio natural.

En *A. multifidus* no se calculó la fecundidad ya que solo se encontró una hembra completamente madura. Las demás hembras muestreadas presentaban folículos postovulatorios, por los que solamente se realizó un cálculo de muestra mínima con el fin de tener un valor aproximado de la fecundidad de esta especie el cual fue de 0.025 g, el número promedio de ovocitos en este peso fue de 714. Se recomienda una temporada de muestreo más larga para poder obtener un mayor número de organismos y así poder estimar la fecundidad de esta especie.

Variables ambientales

El desove de invertebrados está bajo la influencia de factores endógenos y exógenos. La temperatura parece ser una de las variables más importantes que determina el momento de la reproducción (Giese y Pearse, 1974).

Aunque no parece haber un ciclo definido y sincrónico y teniendo en cuenta que el periodo de noviembre a febrero en *I. badionotus* y los meses enero, julio y noviembre en *A. multifidus* no fueron muestreados se pudo observar que la biología reproductiva de ambas especies puede estar influenciada por factores ambientales como lo son la temperatura. Aunque el análisis de correlación de Spearman mostró que no existe relación entre la temporada reproductiva y las variables ambientales, en ambas especies se observó que la reproducción pudiera estar asociada con el incremento de la temperatura, ya que el IGS mostró valores altos conforme aumenta la temperatura, esto como a sido reportado en otras especies, en las que se muestra cierta asociación del proceso de maduración con el incremento de la temperatura. En el Pacífico oriental, la estacionalidad reproductiva de algunos holotúridos (*P. parvimensis*, *P. californicus*, *I. fuscus*) coincide con altas temperaturas y afloramientos de materia orgánica (Lessios, 1990), principalmente en verano cuando la temperatura de la superficie del mar es de 27 a 30 ° C. De acuerdo a la información obtenida en este trabajo la reproducción en *I. badionotus* y *A. multifidus* ocurre en los meses de mayo y octubre, cuando las temperaturas oscilan entre los 28-29 °C, y los desoves se podría deducir en el caso de *I. badionotus* que estarían ocurriendo en el mes de junio y septiembre respectivamente. En *A. multifidus* los desoves se presentaron en mayor cantidad desde el mes de mayo y a lo largo de la época de lluvias (junio-julio), lo que sugiere que para esta especie la temperatura funcione como un factor de activación del periodo de desove, tal y comocomo ocurre en otras holoturias del Pacífico oriental (Cameron y Fankboner, 1986).

CONCLUSIONES

- Las características macroscópicas y microscópicas de la gónada tanto de *I. badionotus* como de *A. multifidus* permitieron establecer cinco fases de desarrollo: 1) reposo, 2) desarrollo, 3) madurez, 4) desove y 5) postdesove., que brindan una guía para futuros estudios de estas y otras especies de holotúridos.
- De acuerdo con el IGS y el cálculo de la temporada de reproducción, *I. badionotus* presenta dos picos reproductivos el primero en el mes de agosto que es en donde se encontró un mayor número de organismos en fase de madurez y desove, y el segundo en mayo con organismos solo en fase de madurez, mientras que el periodo reproductivo de *A. multifidus* se presenta en abril-mayo.
- La proporción sexual para ambas especies es 1:1; El peso al que *I. badionotus* alcanza la madurez sexual es de 397.31 g, mientras que en *A. multifidus* la W_{50} es de 680.01 g.
- *Isostichopus badionotus* tiene una fecundidad parcial promedio de 6, 052,427 ovocitos ($\pm 5, 945,674$ de desviación estándar).
- Aunque este estudio refleja que la los eventos de desove pueden estar asociados a la temperatura, esto no es concluyente, por lo que es necesario hacer investigaciones más a fondo que permitan confirmar esta variable como factor detonante de la reproducción.
- Debido a que ambas especies son asincrónicas, se recomienda realizar una evaluación visual de la gónada para separar los túbulos de las diferentes fases y de acuerdo al peso total de la gónada y al de cada porción de cada fase, asignar una, para de ahí obtener los túbulos para el análisis histológico. Esto es más fácil de realizar en *A. multifidus* debido a que las gónadas son mas grandes.
- De acuerdo a los datos obtenidos en este trabajo, algunos factores ambientales como son la fase lunar y el fotoperiodo, podrían tener influencia en algunas fases

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

del ciclo reproductivo, por ejemplo, la fase lunar en la que ocurrieron la madurez y el desove fue en luna nueva y en el caso del fotoperiodo puede ser que tengan preferencia por meses con mayor cantidad de luz, sin embargo se sugiere realizar más estudios para corroborar esta información.

- Basados en los resultados obtenidos en este estudio se recomienda que ante posibles eventos de extracción, la captura se realice sobre individuos con un peso mayor o igual a 397.31 g en *I. badionotus* (Equivalente a 34 cm) y en *A. multifidus* un peso de 680.01 g (Equivalente a 49 cm).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdel Razek, F.A., H.A. Omar, Abdel Rahman S.H. y ElShimy, N.A.. 2013. "Reproductive Periodicity of Sea Cucumber *Bohadschia vitiensis* (Echinodermata: Holothuroidea) in Hurghada Area, Red Sea, Egypt." *The Egyptian Journal of Aquatic Research* 39(2): 115–23.
- Aleaga, A. L. 2003. "Desarrollo de Las Gónadas de *Isostichopus badionotus* (Echinodermata: Holothuroidea) En La Región Sur-Oriental de Cuba. Tesis Para Obtener El Grado de M. C. En Biología Marina." Facultad de Biología, U. H.
- Alvarado, J. J.; Solís-Marín, F. A.; y Ahearn, C. 2010. "Echinoderms (Echinodermata) Diversity off Central America Pacific." *Marine Biodiversity*: 40, 45–56.
- Arellano-Martinez, M., I.S. Racotta, B.P. Ceballos-Vazquez, and J.F. Elorduy-Garay. 2004. "Biochemical Composition, Reproductive Activity and Food Availability of the Lion's Paw Scallop *Nodipecten subnodosus* in the Laguna Ojo de Liebre, Baja California Sur, Mexico." *Journal of Shellfish Research* 23(1): 15–24.
- Asha, P.S. y Muthiah, P. 2008. "Reproductive Biology of the Comercial Sea Cucumber *Holothuria spinifera* (Echinodermata: Holothuroidea) from Tuticorin, Tamil Nadu, India." *Aquaculture. International*. 16: 231–242.
- Bakus, G. J. T. 1973. "The Biology and Ecology of Tropical Holothurians." *Biology International Academic Press, New York*. 11: 325–67.
- Battaglione, S.; Seymour, J.; Ramofafia, C. y Lane, I. 2002. "Spawning Induction of Three Tropical Sea Cucumbers, *Holothuria scabra*, *H. fuscogilva* and *Actinopyga mauritiana*." *Aquaculture* 207(1): 29–47.
- Bogdanov, D. V. 1965. "Algunos Rasgos de La Oceanografía Del Golfo de México Y Del Mar Caribe." *Invest. Pesq. Soviético-Cubanas VNIRO-CIP, Moscú*: 23–45.
- Byrne, M. "Evisceration Behavior and the Seasonal Incidence of Evisceration in the Holothurians *Eupentacta quinquesemita* (Selenka)." *Ophelia* 24: 75–90.

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

- Cameron, J. L. y Fankboner, P. V. 1986. "Reproductive Biology of the Commercial Sea Cucumber *Parastichopus californicus* (Stimpson)(Echinodermata: Holothuroidea). Reproductive Periodicity and Spawning Behavior." *Canadian Journal of Zoology* 64(1): 168–175.
- Caso, M. E. 1961. "Los Equinodermos de México. Tesis Doctoral." Universidad Nacional Autónoma de México.
- Chen, J. 2004. "Present Status and Prospects of Sea Cucumber Industry in China. In Lovatelli, A., Conand C., Purcell S., Uthicke S., Hamel J.-F. and M. Mercier (Eds). *Advances in Sea Cucumber Aquaculture Anad Management; 2004.*" *FAO Fisheries Technical Paper*. 463: 25–38.
- Choe S. 1962. "Biology of the Japanese Common Sea Cucumber *Stichopus japonicus*, Selenka." *Canadian Traslations of Fisheries and Aquatic Sciences*. 550: 169.
- Colin, Patrick L. 1978. "Marine Invertebrates and Plants of the Living Reef." *T.F.H. Publications*. ISBN 978-0: 431.
- Conand, C. 1981. "Sexual Cycle of Three Commercially Important Holothurian Species (Echinodermata) from the Lagoon of New Caledonia." *Bulletin of Marine Science*. 31(3): 523–43.
- . 1993. "Reproductive Biology of the Holothurians from the Major Communities of the New Caledonian Lagoon." *Marine Biology*. 116: 439–50.
- Díaz-Aguilar, Consuelo. 2017. "Efectos de Eventos Estacionales e Interanuales En La Biomasa Y Producción Fitoplanctónicas Frente a La Península de Yucatán." : 78.
- Drumm, D. J. y Loneragan, N. R. 2005. "Reproductive Biology of *Holothuria leucospilota* in the Cook Islands and the Implications of Traditional Fishing of Gonads on the Population." *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 39(1): 141–156.

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

- Engstrom, N. A. 1980. "Reproductive Cycles of *Holothuria* (*Halodeima*) *floridana*, *H. (H.) mexicana* and their hybrids (Echinodermata: Holothuroidea) in Southern Florida, U.S.A." *International Journal Invertebrate Reproduction*. 2: 237–244.
- Espinoza-Méndez, J. C.; Hernández-Flores, A.; Galindo-Cortes, G. y Poot-Salazar, A. V. 2012. *Evaluación Del Recurso Pepino de Mar En El Golfo de México 2012. Informe INAPESCA CRIP YucaPetén.*
- Espinoza, T. A., Pech, D.J. Ramos. y Peña, A. 2012. "Una Radiografía Antes de Decidir: El Reto Del Aprovechamiento Sustentable Del Pepino de Mar En Campeche." *Investigación ambiental*: 45–50.
- Fajardo-León, M C, M C L Suárez-Higuera, a Del Valle-Manríquez y Hernández-López. 2008. "Reproductive Biology of the Sea Cucumber *Parastichopus parvimensis* (Echinodermata: Holothuroidea) at Isla Natividad and Bahía Tortugas, Baja California Sur, Mexico." *Ciencias Marinas* 34(3): 165–77.
- Foglietta, L. M.; Camejo, M. I.; Gallardo, L.; Herrera, F. C. 2004. "A Maturity Index for Holothurians Exhibiting Asynchronous Development of Gonad Tubules." *Journal Experimental Marine Biology Ecology*. 303: 19– 30.
- Foster, G. G. y Hodgson, A.N. "Annual Reproductive Cycles of (Echinoder-, Three Sympatric Species of Intertidal Holothurians South, Mata) from the Coast of the Eastern Cape Province of Africa." *Invertebrate Reproduction Development*. 27: 49–59.
- Giese, C.A., y Pearse, J.S. 1974. "Reproduction of Marine Invertebrates." *Academic Press. New York*. 1: 1344.
- Glynn, P. W. 1965. "Active Movements and Other Aspects of Biology of *Astichopus* and *Leptosynapia* (Holothuroidea)." *Biology Bulletin Marine Biological Laboratory: Woods Hole*.
- Guzmán, H.; Guevara, C.; Hernández, I. 2003. "Reproductive Cycle of Two Commercial

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

- Species of Sea Cucumber (Echinodermata: Holothuroidea) from Caribbean Panama.” *Marine Biology*. No. 142.
- Hamel, J.F. y Mercier, A. 1996. “Studies on the Reproductive Biology of the Atlantic Sea Cucumber *Cucumaria frondosa*.” *SPC Beche-de-mer Information Bulletin*. 8(22–33).
- Hammond, L. S. 1982. “Patterns of Feeding and Activity in Deposit-Feeding Holothurians and Echinoids (Echinodermata) from a Shallow Black-Reef Lagoon, Discovery Bay, Jamaica.” *Bulletin of Marine Science*. 32: 549–571.
- Hendler, G.; Miller, J.; Pawson, D. y Porter, M. 1995. “Echinoderms of Florida and the Caribbean Sea. Stars, Sea Urchins and Allies. Smithsonian Institution.” *Smithsonian Institution*.: 390.
- Hernández, P.P. 1999. “Pepinos de Mar (Echinodermata: Holothuroidea) Del Estado de Quintana Roo, México, de La Colección Nacional de Equinodermos Del Instituto de Ciencias Del Mar Y Limnología. Tesis Licenciatura.” Universidad Autónoma del Estado de México.
- Herrero-Pérezrul, M. D., H. Reyes Bonilla, F. García-Domínguez, and C. E. Cintra-Buenrostro. 1999. “Reproduction and Growth of *Isostichopus fuscus* (Echinodermata: Holothuroidea) in the Southern Gulf of California, Mexico.” *Marine Biology* 135(3): 521–32.
- Kluijver, M.; Gijswijt, G.; de Leon, R.; da Cunda, I. 2014. “Furry Sea Cucumber (*Astichopus multifidus*)’. Interactive Guide to Caribbean Diving.” *Marine Species Identification Portal*. Retrieved.
- Kubota, T. y Tomari, M. 1998. “Reproduction in the Apodid Sea Cucumber *Polycheira rufescens*: Semilunar Spawning Rhythm and Sex Change.” *Journal of the Marine Biological Association of the U.K.* 78: 249–267.
- Leite-Castro, Liliane Veras et al. 2016. “Reproductive Biology of the Sea Cucumber *Holothuria grisea* in Brazil: Importance of Social and Environmental Factors in

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

- Breeding Coordination." *Marine Biology* 163(3).
- Lessios H A. 1990. "Adaptation and Phylogeny as Determinants Of, Egg Size in Echinoderms from the Two Sides of the Isthmus of Panama." *The American Naturalist* 135: 1–73.
- Levitán, R. D. 1993. "The Importance of Sperm Limitation to the Evolution of Egg Size in Marine Invertebrates." *The American Naturalist* 141: 517–36.
- López-Rocha, J. A. 2011. "Distribución Y Abundancia Del Pepino de Mar *Isostichopus badionotus* Frente a La Costa de Sisal Yucatán Distribution and Abundance of the Sea Cucumber *Isostichopus badionotus* off the Coast of Sisal Yucatan Distribution et Abundance de Concombre de Mer Isos." (July).
- López-Rocha, J. A.; H.; Cisneros, S. y Reye, and F. Arreguín. 2012. "Aspectos Pesqueros Y Sociales de La Nueva Pesquería de Pepino de Mar En La Península de Yucatán." *Proceedings of the 65th Gulf and Caribbean Fisheries Institute*: 427–33.
- Massin C. 1982. "Effect of Feeding on Holothuroidea." In *Echinoderm Nutrition. Balkema, Rotterdam*, , 493–96.
- Mercier, A.; Battaglione, S. C. y Hamel, J. F. 2000. "Periodic Movement, Reclutment and Size-Related Distribution of the Sea Cucumber *Holothuria scabra* in Solomon Islands." *Hydrobiologia* 440: 81–100.
- Mercier, A. y Hamel, J. F. 2009. "Advances in Marine Biology Endogenous and Exogenous Control of Gametogenesis and Spawning in Echinoderms." *Elsevier, London* (297).
- Merino, M. 1997. "Upwelling on the Yucatan Shelf: Hydrographic Evidence." *Journal of Marine Systems* 13(2): 101–21.
- Miller, J. E. y Pawson, D. L. 1984. "Holothurians (Echinodermata: Holothuroidea)." In *Memoirs of the Hourglass Cruises*, , 1–79.

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

- Morgan, A. D. 2000. "Induction of Spawning in the Sea Cucumber *Holothuria Scabra* (Echinodermata: Holothuroidea)." *Journal of the World Aquaculture Society*. 30 (2): 186–94.
- Muthiga, N. A. 2006. "The Reproductive Biology of a New Species of Sea Cucumber, *Holothuria* (Mertensiothuria) *arenacava* in a Kenyan Marine Protected Area: The Possible Role of Light and Temperature on Gametogenesis and Spawning." *Marine Biology*. 149: 585–593.
- Palazón, J. L. 2001. "Reproducción Del Pepino de Mar *Isostichopus badionotus* Selenka (Echinodermata: Holothuroidea)." In *Trabajo Presentado En El IX Congreso Latinoamericano Sobre Ciencias Del Mar.*, Isla de San Andrés, Colombia.
- Pañola-Madrigal, Abigail *et al.* 2017. "Reproductive Cycle of the Sea Cucumber (*Isostichopus fuscus*) and Its Relationship with Oceanographic Variables at Its Northernmost Distribution Site." *Revista de Biología Tropical* 65(1): S180–96.
- Poot-Salazar, A.; Ardisson, L.; Poot-Salazar, E.; Poot-Salazar, D. A.; Caro, M. I. 2014. "La Pesca Del Pepino de Mar En Celestún , Yucatán : Una Búsqueda Hacia El Manejo Sostenible." *Cubana, Revista Pesqueras, De Investigaciones* 31: 1–4.
- Poot-Salazar, A. Virginia. 2015. "Crecimiento, Reproducción y Hábitos Alimenticios de *Isostichopus badionotus* (Selenka, 1867) (Echinodermata: Holothuroidea) En El Poniente Del Estado de Yucatán." (tesis doctoral).
- Purcell, S.W.; Mercier, A.; Conand, C.; Hamel, J.F.; Toral-Granda, M.V.; Lovatelli, A.; Uthicke, S. 2012. "Sea Cucumber Fisheries: Global Analysis of Stocks, Management Measures and Drivers of Overfishing." *Fish Fisheries*. 14(1). 34-59.
- Quintal-López, Rocío, Lucelly Carolina Burgos Suárez, and Julia Lagunés-Vega. 2013. "El Pepino de Mar En Yucatán: Una Pesca Alternativa En Desarrollo." *Bioagrociencias* 6(2): 39–47.
- Ramofafia, C.; Battaglione, S.C.; Bell, J.D.y Byrne, M. 2000. "Reproductive Biology of

- the Commercial Sea Cucumber *Holothuria fuscogilva* in the Solomon Islands.” *Marine. Biology*. 136: 1045–56.
- Ramofafia, C.; Byrne, M. y Battaglene, C. 2003. “Reproduction of the Commercial Sea Cucumbe *Holothuria scabra* (Erchinodermata: Holothuroidea) in the Solomon Islands.” *Marine Biology* 142(2): 281–288.
- Ramos-Miranda, Julia et al. 2017. “Reproductive Cycle of the Sea Cucumber *Holothuria floridana* in the Littorals of Campeche, Mexico.” *Fisheries Science* 83(5): 699–714.
- Rodríguez-Gil, A. L.; R. y Reyes-Sosa, C. F.; Alpizar-Carrillo y Tello-Cetina, J. 2007. “Sea Cucumber Population and Biomass Estimate for New Fishing Limit Assignment in Sisal Fishing Cooperative, through the Yucatan State Coast.” *Proceedings Caribbean Fisheries Institute*. 1(1), 547-553.
- Saborido, F. y Junquera, S. 2003. “Ecología de La Reproducción y Potencial Reproductivo en las Poblaciones de Peces Marinos.” *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*. 33: 33-54.
- SAGARPA. 2012. *Dictamen Técnico “Fundamento Para El Establecimiento De Veda De Las Especies De Pepino De Mar Frente A Las Costas De La Península De Yucatán”, Instituto Nacional de Pesca.*
- Smiley, S. 1988. “The Dynamics of Oogenesis and the Annual Ovarian Cycle of *Stichopus californicus* (Echinodermata: Holothuroidea).” *Biology Bulletin*. 175: 79–93.
- Solís-Marín, Francisco A., Alfredo Laguarda-Figuera y Magali Honey-Escandón. 2014. “Biodiversidad de Equinodermos (Echinodermata) En México.” *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 85: 441-449.
- Stearns, S.C. 1992. *The Evolution of Life Histories*. ed. Oxford. Oxford University Press.
- Toral-Granda, M. V. y Martínez, P. C. 2007. “Reproductive Biology and Population

Biología reproductiva de hembras *Isostichopus badionotus* y *Astichopus multifidus*, en la península de Yucatán, México.

- Structure of the Sea Cucumber *Isostichopus fuscus* (Ludwig, 1875) (Holothuroidea) in Caamaño, Galápagos Islands, Ecuador." *Marine Biology*. 151: 2091–2098.
- Toral-Granda, M.V. 2005. "Requiem for the Galápagos Sea Cucumber Fishery." *SPC Beche-de-Mer Bulletin* 21: 5–8.
- Tuwo, A. y Conand, C. 1992. "Reproductive Biology of the Holothurian *Holothuria forskali* (Echinodermata)." *Journal of the Marine Biological Association of the UK*. 72: 745–758.
- Zacarías-Soto, M., Olvera-Novoa, M. A.; Pensamiento-Villarauz, S. y Sánchez-Tapia, I. 2013a. "Spawning and Larval Development of the Four-Sided Sea Cucumber, *Isostichopus badionotus* (Selenka 1867), under Controlled Conditions." *Journal of the World Aquaculture Society*. 42: 676- 686
- . 2013b. "Spawning and Larval Development of the Four-Sided Sea Cucumber, *Isostichopus badionotus* (Selenka 1867), under Controlled Conditions." *Journal of the World Aquaculture Society* 44(5): 694–705.
<http://doi.wiley.com/10.1111/jwas.12061> (November 28, 2016).
- Zarco-Perelló S.; Mascaró, M.; Garza-Pérez, R. y Simoes, N. 2013. "Topography and Coral Community of the Sisal Reefs Campeche Bank, Yucatán, México." *Hidrobiológica* 23 (1): 28–41.
- Zetina-Moguel, C.; Ríos-Lara, V.; Koyoc, M.; Hernández-Herrera, I.; Cervera-Cervera, K.; De Anda-Fuentes, D.; Arceo-Briseo, P.; Ortí, E. y Guevara-Ortíz, M. 2003. "Estimación de La Biomasa de Pepino de Mar (*Astichopus multifidus*, *Isostichopus badionotus*, y *Holothuria floridana*) En Dos Areas de La Costa de Yucatán Entre Octubre del 2000 y Marzo Del 2001." *Gulf Publishing House and Caribbean Fisheries Institute*. 54:298-306.