



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGIA
BIOLOGIA MARINA

Biología reproductiva del plumero de mar *Bispira brunnea* (Polychaeta: Sabellidae): un acercamiento para su producción en cautiverio

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA:

BIÓL. YASMÍN DÁVILA JIMÉNEZ

TUTOR

Dra. María Ana Tovar Hernández

Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

Dr. Fernando Nuno Dias Marques Simões

Facultad de Ciencias, UNAM, Unidad Académica Sisal

Dra. Nuria Méndez Ubach

Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM, Unidad Mazatlán

Dr. Alejandro Granados Barba

Instituto de Ciencias Marinas y Pesquerías, Universidad Veracruzana

Dr. Eugenio de Jesús Carpizo Ituarte

Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Universidad Autónoma de Baja California

MÉXICO, D. F.

Febrero 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología
Universidad Nacional Autónoma de México



**Biología reproductiva del plumero de mar *Bispira brunnea*
(Polychaeta: Sabellidae): un acercamiento para su producción
en cautiverio**

T E S I S

Que para obtener el grado académico de

Maestro en Ciencias

(Biología Marina)

P r e s e n t a

Biól. Yasmín Davila Jiménez

Directora de tesis:

Dra. María Ana Tovar Hernández

Comité tutorial:

Dr. Fernando Nuno Días Marques Simoes

Dra. María Nuria Méndez Ubach

Dr. Alejandro Granados Barba

Dr. Eugenio de Jesús Carpizo Ituarte

México, Febrero 2016

Dedicatoria

A mis papás, Marycarmen y Benjamín

**A mi hermano Iván B.,
por todo su amor y paciencia,
por siempre creer en mí.**

**A mi Tía Martha,
por su eterno abrazo reconfortante,
siempre estás en mi corazón.**

Annelida of the Ganglia,
grand dame of dirt,
hermaphrodite of Nerves and of Love,
with her vine of five hearts and will to woo, who touches us all at last.

Hadara Bar-Nadav

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM que me ha forjado para ser una profesionista con valores y ética, a quién le debo mi formación académica. Agradezo a CONACyT por la beca de maestría y la beca mixta otorgadas.

Al posgrado en Ciencias del Mar y Limnología, así como a la Coordinadora la Dra. Gloria Villaclara, y las Maestras Diana Juárez, Guadalupe Godoy, Chantal Ruiz, Gabriela Almaraz por la buena disposición que recibí de ellas ante cualquier duda o pregunta.

A mi directora de tesis, la Dra. María Ana Tovar-Hernández que a pesar de la distancia, siempre conte con su dirección y apoyo, por todas las revisiones, comentarios y sugerencias realizadas a la tesis, las cuales también ayudaron a mi crecimiento personal, por ser una gran motivación para mí.

Al Dr. Nuno Simões por sus consejos y sugerencias a este trabajo, por recibirme en su laboratorio y por todo el apoyo académico que siempre recibí de él. Agradezo a los miembros del comité tutorial: Dr. Nuno, la Dra. Nuria Mendez, el Dr. Eugenio Carpizo Ituarte y al Dr. Alejandro Granados Barba por su valioso tiempo, por todas las revisiones, críticas y comentarios realizados durante el proceso de este trabajo, que al final enriquecieron enormemente esta tesis.

A la Mtra. Gemma Martínez por todo el apoyo técnico y los consejos brindados durante el mantenimiento de los organismos. Agradezco a: Fernando Mex, Yunuen, Dr. Ricardo, Antar, Mtra. Diana Ugalde, Dra. Natalia, Biól. Humberto, Mtro. Tulio Villalobos, Biól. Arturo por el apoyo durante el mantenimiento, colecta de los organismos y ayuda en las salidas al campo.

A la Dra. Maite Mascaró por ayudarme con los análisis estadísticos y por todas las críticas constructivas que recibí de ella.

Al Mtro. José Luis Bortolini por la elaboración de la técnica histológica y a la Dra. Silvia Espinosa de la Facultad de Ciencias, por las fotografías de microscopía electrónica de barrido.

A la Dra. Patricia Guadarrama y a la Mtra. Maribel Badillo, por el apoyo brindado en las instalaciones de microscopía, a la Mtra. Iveth Gabriela Palomino Albarrán y Patricia M. Balam por suministrar el alimento vivo usado para el mantenimiento de los organismos.

A mis amigos de la maestría Eri, Sara, Goyo, Antar, Ari, Efraín, Yoli, Yesica, Martín, Magui, Rub, Abraham, Julio y a Dani, Giulia, Naty y Nacho por su gran amistad. Por todos los momentos vividos durante mi estancia en Sisal.

A Arturo por su comprensión, cariño y apoyo en todo momento, por las todas las aventuras, risas y enojos, por ser parte de este logro que sin duda no hubiera sido el mismo, infinitas gracias.

A Michela y Maddy, por ser unas excelentes amigas durante mi estancia en Lecce, Italia.

Sin olvidar a mis amigos Mont, Ara, Aurora, Gio, Carlitos..que de alguna u otra forma fueron parte importante de esta tesis.

INDICE

LISTADO DE TABLAS	1
LISTADO DE FIGURAS.....	2
Resumen	4
1. INTRODUCCIÓN	5
2. ANTECEDENTES.....	7
2.1 Generalidades de los poliquetos.....	7
2.3 Aspectos reproductivos de los sabélidos	9
2.5 Aspectos ornamentales de los invertebrados y en particular, de los sabélidos.....	12
3. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	15
4. OBJETIVOS E HIPOTESIS.....	16
4.1 Objetivo general.....	16
4.2 Objetivos particulares.....	16
5. MATERIAL Y MÉTODOS	17
5.1 Área de estudio	17
5.3 Trabajo de laboratorio	18
5.3.1 Estructura y composición de las agregaciones.....	18
5.3.2 Distribución de gametos, morfología y gametogénesis.....	20
5.3.3 Microscopía electrónica de barrido	22
5.3.4 Inducción del desove y fertilización	23
5.3.5 Tasa de crecimiento y reconstrucción del tubo de <i>B. brunnea</i>	24
5.3.6 Descripción de la reproducción asexual por fisión natural en <i>B.</i> <i>brunnea</i>	24

5.3.7 Efecto del estrés en la adición de segmentos nuevos en <i>B. brunnea</i> (Grupos I y II).....	25
5.3.8 Cambios morfológicos asociados a procesos regenerativos presentes en los individuos producidos por mutilación (Grupos III y IV).....	26
6. RESULTADOS.....	27
6.1 Estructura de las agregaciones.....	27
6.2 Distribución de gametos, morfología y gametogénesis.....	32
6.3 Inducción del desove y fertilización.....	33
6.4 Tasa de crecimiento y reconstrucción del tubo de <i>B. brunnea</i>	33
6.5 Descripción de la reproducción asexual por fisión natural en <i>B. brunnea</i>	34
6.6 Efecto del estrés en la adición de segmentos nuevos en <i>B. brunnea</i> (Grupos I y II).....	35
6.7 Cambios morfológicos asociados a procesos regenerativos presentes en los individuos producidos por mutilación (Grupos III y IV).....	35
7. DISCUSIÓN.....	37
7.1 Estructura de las agregaciones.....	37
7.2 Estadios de madurez sexual y la morfología de los gametos.....	42
7.3 Inducción del desove.....	45
7.4 Tasa de crecimiento y construcción del tubo de <i>B. brunnea</i>	46
7.5 Descripción de la reproducción asexual por fisión natural en <i>B. brunnea</i> en condiciones de laboratorio.....	48
7.6 Efecto del estrés en la adición de segmentos nuevos en <i>B. brunnea</i> y cambios morfológicos asociados a procesos regenerativos presentes en los individuos producidos por mutilación (corte).....	49
8. Conclusión.....	54

9. Referencias	55
10. Anexos	62

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Procesamiento de tejidos para cortes en paraplast.....	62
Tabla 2. Agregaciones correspondientes a octubre (2013), febrero (2014) y marzo (2014), cada una con el número total de juveniles y adultos.	63
Tabla 3. Morfometría de juveniles y adultos.....	63
Tabla 4. Modos reproductivos de <i>B. brunnea</i>	64
Tabla 5. Diferencias entre juveniles producidos sexualmente vs brotes producidos asexualmente en las primeras etapas de desarrollo	65

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Agregaciones de <i>B. brunnea</i> en el Caribe mexicano.....	66
Figura 2. Estructuras generales de un sabélido.....	67
Figura 3. Mapa de Majahual, Q. Roo.....	68
Figura 4. Fotografías del proceso para la tasa de crecimiento, reconstrucción del tubo y descripción de la reproducción asexual (fisión espontánea) en <i>B. brunnea</i>	68
Figura 5. Esquema del experimento de regeneración en <i>B. brunnea</i>	69
Figura 6. Efecto del estrés en <i>B. brunnea</i> (arreglo de los grupos I y II).....	69
Figura 7. Cambios morfológicos asociados a procesos regenerativos en <i>B. brunnea</i>	70
Figura 8. Especies de moluscos eulímidos asociadas a las agregaciones de <i>B. brunnea</i>	70
Figura 9. Adultos de <i>B. brunnea</i> con fotografía digital.	71
Figura 10. Juveniles de <i>B. brunnea</i> con fotografía digital.....	72
Figura 11. Juveniles de <i>B. brunnea</i> con microscopía electrónica de barrido.....	73
Figura 12. Coeficiente de determinación (R^2) de los rasgos biométricos de <i>B. brunnea</i>	74
Figura 13. Reproducción asexual en <i>B. brunnea</i> con fotografía digital.....	75
Figura 14. Brotes de <i>B. brunnea</i> producidos asexualmente con fotografía digital..	76
Figura 15. Juveniles de <i>B. brunnea</i> producidos por fisión espontánea y subsecuente regeneración con microscopía electrónica de barrido.....	77
Figura 16. Distribución y morfología de gametos de <i>B. brunnea</i> con microscopía electrónica de barrido	78
Figura 17. Cortes histológicos que muestran la ovogénesis en <i>B. brunnea</i>	79
Figura 18. Método mecánico de punción.....	80

Figura 19. Gráfica de crecimiento del tubo de <i>B. brunnea</i> durante un periodo de 79 días realizada con el programa R.....	80
Figura 20. Crecimiento y reconstrucción del tubo de <i>B. brunnea</i>	81
Figura 21. Ilustración del proceso de la reproducción asexual por fisión natural en <i>B. brunnea</i>	81
Figura 22. Reproducción asexual por fisión natural en <i>B. brunnea</i>	82
Figura 23. Gráfica del efecto del tratamiento (con tubo y sin tubo) en <i>B. brunnea</i> sobre la adición de nuevos segmentos en el tiempo.....	82
Figura 24. Regeneración de los segmentos posteriores en <i>B. brunnea</i>	83
Figura 25. Gráficas de supervivencia en <i>B. brunnea</i>	84
Figura 26. Gráfica de supervivencia de los fragmentos posteriores de los grupos III y IV.....	85

Resumen

El gusano poliqueto *Bispira brunnea* es un organismo gregario que se explota con fines ornamentales. El propósito de este estudio fue generar conocimiento básico sobre aspectos reproductivos de *B. brunnea*, que permitan desarrollar un método para su producción en cautiverio. Diez agregaciones fueron colectadas en octubre 2013, febrero y marzo 2014 en Majahual, Quintana Roo; se fijaron, midieron y se observaron bajo microscopio. Se usaron técnicas de microscopio electrónico de barrido y técnicas histológicas. Se encontró que las agregaciones tienen un número variable de individuos (24-56) por agregación y están conformadas por tubos flexibles. Se registró por primera vez la asociación de un molusco piramidélido ectosimbionte (*Odostomia (Eulimastoma) caniculata*) y un nemátodo endosimbionte con *B. brunnea*. Se determinó el estado reproductivo de 355 individuos (53 juveniles y 302 adultos). Los adultos presentaron reproducción sexual (hermafroditismo simultáneo y gonocorismo) y asexual al mismo tiempo: 92.71% se reprodujeron sexualmente y el 52% por arquitomía. Con el método de punción se obtuvieron gametos, pero no se logró la fertilización. Los gametos se encontraron distribuidos en los segmentos posteriores del tórax y en todo el abdomen. La ovogénesis fue extraovárica, diferenciada en cuatro estados de desarrollo y con ovocitos asincrónicos. Los espermatozoides presentaron el patrón morfológico de fertilización externa. El crecimiento del tubo fue de 6-30 mm en 79 días y la reconstrucción sucedió después de 24 horas. La reproducción asexual por fisión natural ocurrió en 72 días y el nuevo fragmento presentó tres estados de regeneración. Los gusanos adicionaron segmentos rápidamente y aceleraron su proceso de reproducción asexual ante un estímulo externo. En 15 días se registró la regeneración completa del organismo demostrando que el proceso de propagación artificial es más rápido que el proceso por fisión natural. Este estudio provee información sobre *B. brunnea* que sirve como línea base para su aplicación en protocolos de cultivo.

Palabras clave: agregaciones, oogenesis, arquitomía, reproducción sexual, regeneración, Majahual, ornamental.

1. INTRODUCCIÓN

Durante la última década, se ha observado un incremento en la preferencia de especies marinas ornamentales, destacando los corales y otros invertebrados. Una gran variedad de gusanos poliquetos se usan con fines ornamentales, especialmente los serpúlidos y los sabélidos (Olivotto *et al.*, 2011).

A nivel global, los poliquetos se encuentran entre los diez invertebrados marinos más comercializados. Los sabélidos comúnmente conocidos como “gusanos plumero” o “flores de mar”, son utilizados en la industria de la acuariofilia debido a la sorprendente coloración que presentan en la corona branquial (Tovar-Hernández y Pineda-Vera, 2008); sin embargo, se desconocen las cifras exactas de su comercialización. México es uno de los principales exportadores de invertebrados, entre los cuales, los poliquetos ocupan un lugar muy importante (Wabnitz *et al.*, 2003).

La procedencia de este grupo de invertebrados es del medio silvestre y, comúnmente se emplean técnicas destructivas que afectan no sólo a estos animales, sino también a los invertebrados sésiles que se encuentran asociados a la roca base, ya que la mayoría de la especies son obtenidas de arrecifes de coral (Olivotto *et al.*, 2011). Debido a la carencia de conocimiento de la reproducción y desarrollo larvario de la mayoría de las especies comercializadas de gusanos poliquetos, su cultivo es una alternativa para reducir la presión en las poblaciones.

Por ello, se ha intentado inducir la propagación artificial por la vía sexual del sabélido solitario *Sabellastarte spectabilis* por Bybee *et al.* (2006a, b), que es una especie llamativa que habita entre huecos y cavidades de coral en Hawaii. Por la vía asexual, con el sabélido *Pseudopotamilla reniformis* se ha demostrado que presenta alta capacidad de regeneración en las regiones corporales anterior y posterior (Licciano *et al.*, 2012; Kolbasova *et al.*, 2013) y regeneración total a partir de segmentos de la región media del cuerpo (Bely, 2006). Esta vía ofrece buenos

resultados para satisfacer la demanda del mercado ornamental debido a la facilidad de obtención y bajo costo de producción (Murray *et al.*, 2013), pero debe utilizarse con reserva antes de hacer uso extensivo de este método para evitar repercusiones en la estructura de la población a largo plazo.

El sabélido *Bispira brunnea* (Treadwell) es un organismo sésil, gregario y se caracteriza por presentar tres variedades de color en la corona dependiendo del área geográfica donde se encuentre. Así, la variedad bandeada se ubica en la costa de Quintana Roo desde Cozumel hasta Xcalak y también en Belice, la variedad blanca al norte del estado de Quintana Roo y Cozumel (Figura 1D), y finalmente, la variedad violeta se registra para las Islas Caimán (Humman y Deloach, 2003; Tovar-Hernández y Pineda-Vera, 2008).

Bispira brunnea se puede encontrar asociada a diferentes taxones como esponjas, moluscos, crustáceos, corales y algas (Figura 1A, C). Se sabe que presenta reproducción sexual, asexual y presenta el fenómeno de regeneración en miembros de una sola agregación. Además es fotografiado para su venta como postales, calendarios y está incluido en guías de buceo para la identificación rápida de organismos del Caribe y es uno de los invertebrados marinos explotados con fines ornamentales (Tovar-Hernández y Pineda-Vera, 2008).

En México, la exhibición de la especie es común en acuarios públicos y privados, así como en mercados de mascotas. *B. brunnea* no está incluida en la lista de CITES ni en la NOM-059-SEMARNAT-2010. En el mercado internacional, se le conoce como “cluster duster” y, de acuerdo con el Tropical Marine Center, la especie es comercializada, por lo menos, en el Reino Unido. Se estima que 18,500 individuos son vendidos anualmente en el mercado ornamental (Murray *et al.*, 2012).

A pesar de la relevancia que tiene la especie en la industria de la acuariofilia, no ha sido propagada con fines ornamentales y únicamente se extrae de su hábitat

natural. Es por eso que este estudio es pionero en desarrollar técnicas que permitan reproducir de manera artificial a *B. brunnea* en condiciones controladas para tener una mejor comprensión de la biología de la especie.

2. ANTECEDENTES

2.1 Generalidades de los poliquetos

Los anélidos fueron formalmente descritos por Linneo (1785). Se reconocen tres clases: Polychaeta, Oligochaeta e Hirudinea. Las últimas dos clases se encuentran dentro del taxón Clitellata. Actualmente se incluye a los filo: Echiura, Pogonophora, Sipunculida y Vestimentifera como anélidos, aunque las relaciones entre estos y los demás linajes se encuentran aún sin resolver (Rouse y Pleijel, 2007; Rousset *et al.*, 2007). La clase Polychaeta se considera la más diversa, con 15,000 especies descritas (Tovar-Hernández *et al.*, 2014). Esa diversidad se atribuye a su considerable complejidad estructural, gran variedad morfológica y alta diversidad funcional.

De manera general, el cuerpo de los poliquetos se divide en tres regiones: 1) el peristomio, que porta estructuras sensoriales (ojos, antenas, palpos); 2) el metastomio, que presenta segmentación homómera cuando todos los segmentos son iguales entre sí, o heterómera cuando se diferencian los segmentos y especializan entre sí, y 3) el pigidio, que es el extremo posterior y porta al ano (Brusca y Brusca, 2002; Tovar-Hernández *et al.*, 2014).

Los poliquetos se distribuyen prácticamente en todos los ecosistemas bentónicos marinos, donde a menudo son el componente dominante en términos de número de individuos y especies (Rouse, 2001); no obstante, los poliquetos han logrado invadir con éxito el ambiente pelágico, cuerpos de agua dulce e inclusive el medio terrestre. Nueve familias son consideradas holopláncticas (ca. 95 especies) exclusivas de ecosistemas pelágicos de mar abierto (Suárez-Morales *et al.*, 2005);

aproximadamente 60 especies de las familias Nereididae, Spionidae, Capitellidae, Sabellidae y Serpulidae son dulceacuícolas (Wessenberg-Lund, 1958) y unas 10 especies de la familia Nereididae son semi-terrestres y arbóreas, propias de los bosques húmedos tropicales (Glasby *et al.*, 2000).

2.2 Características de la familia Sabellidae

El cuerpo de los sabélidos es heterómero, con tres regiones principales que incluyen: corona branquial, tórax y abdomen. La corona branquial tiene dos lóbulos basales de los que se extienden los radiolos. Estos lóbulos se encuentran unidos al peristomio (Figura 2). La familia presenta el fenómeno de inversión setal como una posible adaptación, en el que las notosetas cambian de una posición dorsal en el tórax, a una ventral en el abdomen con el fin de no contaminar el área bucal cuando se elimina el contenido fecal, ya que los sabélidos construyen tubos con una sola apertura por donde salen las heces hacia la columna de agua (Tovar-Hernández, 2009).

La familia Sabellidae Latreille, 1825 consta de una subfamilia: Sabellinae, en la que se reconocen 39 géneros (Capa *et al.*, en prensa). Para el Gran Caribe se enlistan 22 géneros y 51 especies (Tovar-Hernández y Salazar-Silva, 2008).

En especial, el género *Bispira* es un grupo bastante heterogéneo en cuanto a su filogenia, ya que en diferentes estudios se ha sugerido como un grupo hermano de *Sabella*, o grupo hermano del clado *Sabella*-*Sabellastarte*-*Pseudobranchiomma*-*Branchiomma*, presentado como una politomía, inclusive como un grupo parafilético que no incluye a *Branchiomma* y *Pseudobranchiomma* (Faasse y Giangrande, 2012). Hasta el momento, el género consta de 22 especies que han sido registradas en la Antártida, en el Ártico y en varias localidades de los trópicos (Capa *et al.*, 2013). Para la región del Caribe se tienen registradas tres especies: *B. melanostigma*, *B. paraporifera* y *B. brunnea* (Tovar-Hernández y Salazar-Vallejo, 2006; Tovar-Hernández y Pineda-Vera, 2008).

2.3 Aspectos reproductivos de los sabélidos

La reproducción asexual en el orden Sabellida sucede por medio de dos vías: paratomía, cuando las estructuras se modifican para dar origen a otro organismo completamente diferenciable del parental para después separarse de él; y arquitomía, cuando se fragmenta el organismo y después se regeneran las estructuras faltantes en el nuevo organismo (Rouse y Pleijel, 2001).

La familia Sabellidae presenta un amplio rango de estrategias reproductivas, ya sea por la vía sexual o asexual, y como el resto de los poliquetos, también presenta el fenómeno de regeneración. Los sabélidos son mayoritariamente gonocóricos; sin embargo, muchas especies de la familia presentan hermafroditismo simultáneo, como es el caso de los géneros *Amphiglana*, *Branchiomma*, *Laonome* y *Perkinsiana* (Rouse y Fitzhugh, 1994; Licciano *et al.*, 2002; Tovar-Hernández, 2009); en algunas especies ambos gametos (masculinos y femeninos) se distribuyen en los mismos segmentos (Bybee *et al.*, 2006a).

En la familia es común el desove libre de los gametos en la columna de agua, pero también existe el depósito de masas de huevos en el bentos e incubación de las larvas dentro o fuera del tubo, o incluso, en la corona branquial (McEuen *et al.*, 1983). La incubación está relacionada con organismos de cuerpo pequeño y se considera una condición plesiomórfica para la familia (Rouse y Fitzhugh, 1994; Giangrande *et al.*, 2000).

La reproducción por la vía asexual también es común en la familia Sabellidae. Esta ocurre por arquitomía, que es cuando el organismo se fragmenta por fisión en dos o varias partes de manera natural, a partir de la cuales se regeneran la parte anterior y posterior para formar individuos completos (Schroeder y Hermans, 1975; David y Williams, 2011). La arquitomía ha sido documentada en *Sabella variabilis*, *Perkinsiana rubra*, *Myxicola aesthetica*, *Perkinsiana milae*, *Megalomma cinctum* (Kolbasova *et al.*, 2013), y en *Pseudobranchiomma schizogenica* (Tovar-Hernández

y Dean, 2014), así como en los espiónidos *Amphipolydira vestalis*, *Pygospio elegans* y *Dipolydora quadrilobata* (Gibson y Paterson, 2003; Lindsay *et al.*, 2008). En algunos casos, se ha documentado que ocurre reproducción sexual y asexual al mismo tiempo (Tovar-Hernández *et al.*, 2011).

En lo que al género *Bispira* se refiere, únicamente existen trabajos de aspectos reproductivos en dos especies: *B. brunnea* por Tovar-Hernández y Pineda-Vera (2008) y *B. voluticornis* (distribuido en la costa oeste de Irlanda) por Nash y Keegan (2003), que registraron solo reproducción sexual en un ciclo de 12 meses, siendo la reproducción del macho más rápida que la de la hembra (Nash y Keegan, 2003).

2.4 Fenómeno de regeneración

La regeneración es la restauración de partes perdidas del cuerpo y puede ocurrir en múltiples niveles de organización biológica originando estructuras iguales o parecidas a las originales. Algunos animales pueden regenerar un individuo entero a partir de un fragmento del cuerpo, como algunos cnidarios y platelmintos (Bely y Nyberg, 2009). Filogenéticamente, la capacidad de regenerar se ha perdido y ha surgido muchas veces a lo largo de la historia evolutiva de los organismos y la gran mayoría de los estudios sobre regeneración están enfocados en organismos como las hidras, planarias y anfibios (Bely, 2006).

Las células que participan en la regeneración proceden de diferentes tejidos diferenciados y especializados. La habilidad de regenerar varía ampliamente, inclusive entre especies del mismo género. Los procesos de regeneración, incluida la mortalidad en respuesta a la herida, la rapidez de regeneración y los mecanismos por los cuales las partes perdidas son restauradas se desconocen para la mayoría de las especies de sabélidos (David y Williams, 2011; Licciano *et al.*, 2012).

Existen organismos capaces de reproducirse asexualmente y que tienen la capacidad de regenerar, y organismos que pueden regenerar pero no pueden

reproducirse asexualmente, por lo que la reproducción asexual y la regeneración tienen un origen evolutivo distinto (Bely y Wray, 2001). La reproducción asexual es inducida endógenamente, mientras que la regeneración es la respuesta a una amputación externa (Bely, 2006). Dos tipos de procesos están involucrados en la regeneración: la epimorfosis que implica la proliferación celular con la diferenciación de un blastema y la formación de las partes faltantes del cuerpo, y la morfólaxis, que se refiere a la remodelación de las estructuras pre-existentes. Ambos términos fueron descritos por Morgan en 1901 (Licciano *et al.*, 2012).

Berrill (1978) mencionó que los sabélidos tienen la capacidad de reconstruir la pérdida de segmentos anteriores y posteriores del cuerpo, aunque el proceso morfogenético involucrado permanecía en esos años sin esclarecer. En estudios posteriores Bely y Wray (2001) aislaron dos genes homólogos del oligoqueto *Pristina leydi*. Describieron que el gen (*en*) se expresa en el desarrollo del sistema nervioso durante el crecimiento del adulto, en la regeneración y en la fisión, mientras que el gen (*otx*) juega un papel importante en la definición de estructuras anteriores durante la embriogénesis.

En específico, la capacidad para regenerar segmentos posteriores es común entre los anélidos, a diferencia de la regeneración anterior, ya que si los gusanos son cortados en el tórax y el abdomen, la herida se restablece, pero los gusanos no regeneran los segmentos faltantes y eventualmente mueren de hambre. Inclusive, si el corte es realizado en la partes del prostomio y el peristomio, tampoco se produce la regeneración (Bely, 2006).

Contrariamente a lo anterior, Kobalova *et al.* (2013) demostraron que en *Pseudopotamilla reniformis*, la regeneración de segmentos posteriores comienza entre los 8-10 días de mutilados los organismos, con la formación de un nuevo pigidio y setígeros, mientras que la región anterior comienza a formar rudimentos branquiales. En las especies, *Sabella spallanzanii* y *B. luctuosum* la corona branquial y los segmentos anteriores fueron los primeros en formarse. Lo anterior determina, que esta estructura se vuelve importante, pero no esencial para la supervivencia del organismo, debido a que a través de la pared del cuerpo también se efectúa el intercambio gaseoso, necesario para la respiración (Licciano *et al.*, 2012). Asimismo, el gusano de fuego *Eurythoe* sp., posee regeneración anterior y posterior. Después de la amputación, la regeneración anterior comenzó a las 24 horas, en la que el organismo exhibe una capa epitelial que cubre la herida. En el caso de la regeneración posterior, ésta comenzó hasta el día 36, y para el día 90, el gusano alcanzó una apariencia normal (Yáñez-Rivera y Méndez, 2014).

2.5 Aspectos ornamentales de los invertebrados y en particular, de los sabélidos

La popularidad y demanda de invertebrados ornamentales ha incrementado durante la última década, debido a que presentan colores llamativos, aspectos raros y atractiva belleza (Murray y Watson, 2014). La industria del acuarismo ha tenido mucho auge durante la última década, tanto es así, que ha alcanzado cientos de millones de dólares y se puede tener acceso a las diferentes especies de invertebrados marinos mediante la compra por internet. Diariamente, los organismos son extraídos principalmente del Indo-Pacífico, el Mar Rojo y el Caribe para ser usados en acuarios de arrecife (Calado y Chapman, 2006). Estados Unidos y el Reino Unido son los países que más importan invertebrados marinos de uso ornamental y los mayores exportadores son Indonesia y Filipinas (Wabnitz *et al.*, 2003).

Con base en datos de importadores y exportadores de *Global Marine Aquarium Database* (GMAD), 516 especies de invertebrados son comercializadas para uso ornamental. En este negocio, México ocupó un lugar importante como exportador de invertebrados marinos entre los años 1988-2002 (Wabnitz *et al.*, 2003). Los poliquetos de uso ornamental de las familias Sabellidae y Serpulidae son los más comercializados, se estima que 18,500 individuos son vendidos anualmente tan solo en el Reino Unido (Murray *et al.*, 2012) exportándose 128,248 ejemplares de sabélidos entre los años 1998 y 2003 (Wabnitz *et al.*, 2003).

De acuerdo con el estudio de Murray *et al.* (2012), entre los años 2007 y finales del 2009, los poliquetos ornamentales que fueron importados por el Reino Unido, para re-distribuirlos a su vez en Irlanda y el continente Europeo, provinieron de seis regiones principales: Bali, Océano Índico, Singapur, República Dominicana, Filipinas y Hawaii. Bali, Singapur y el Océano Índico contribuyeron con el 89% de los 41,664 individuos importados en ese periodo. República Dominicana exportó al famoso “cluster duster” al Reino Unido en el mismo periodo con la cantidad de 1,107 individuos.

Se han realizado diferentes estudios para comprender los aspectos de la reproducción y facilitar el cultivo de poliquetos. Bybee y colaboradores (2006 a,b) con *Sabellastarte spectabilis*, proporcionan información para su propagación con fines ornamentales y acerca del crecimiento y supervivencia de los juveniles, así como la tasa de filtración y análisis de contenido de ácidos grasos (Tamaru *et al.*, 2008; 2011). Para sabélidos que forman agregaciones, únicamente se tiene un estudio enfocado en la reproducción asexual con la especie *P. reniformis*, en el que se observó que este tipo de reproducción ocurre cuando las condiciones no son favorables para la especie y como una adaptación para evitar el aumento de mortalidad en los diferentes estadios larvales por depredación (Kolbasova *et al.*, 2013).

Por último Murray *et al.* (2013) propusieron el método de regeneración, como una interesante técnica para el cultivo de sabélidos ornamentales mediante la fragmentación del individuo, registrado anteriormente con éxito en el grupo de los corales. Estos autores demostraron que dos especies de sabélidos (*Sabella pavonina* y *Sabellastarte* sp.) son capaces de regenerar las partes fragmentadas en tan solo cuatro semanas, obteniendo un porcentaje de supervivencia de casi el 80% de los individuos.

3. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

Pregunta principal de investigación

¿Cuál es el método más adecuado para llevar a cabo la reproducción de *B. brunnea* en cautiverio?

Preguntas secundarias:

- ¿Cuál es la proporción de hembras y machos en la población de *B. brunnea*?
- ¿Cuál es la proporción de individuos hermafroditas en la población de *B. brunnea* y cómo es este hermafroditismo: simultáneo o secuencial?
- ¿Cuál es el porcentaje de individuos parentales que presentan nuevos individuos o brotes dentro del mismo tubo?
- ¿Cuántos de estos individuos parentales también presentan reproducción sexual y asexual al mismo tiempo?
- ¿Cuál es la talla a la que los individuos de *B. brunnea* alcanzan la madurez sexual?
- La ablación, punción o presión ¿son métodos funcionales para inducir el desove de *B. brunnea*?
- ¿Cuál es tiempo que le toma a un gusano regenerar completamente la parte anterior y la parte posterior?
- ¿Cuál es el porcentaje de supervivencia de los gusanos al ser manipulados y/o fragmentados?
- ¿Los individuos o fragmentos regenerados logran producir gametos?

4. OBJETIVOS E HIPOTESIS

4.1 Objetivo general

Aportar datos sobre la biología reproductiva del plumero de mar *B. brunnea* (Polychaeta: Sabellidae) que permitan desarrollar un método para su producción en cautiverio.

4.2 Objetivos particulares

- Describir la estructura y composición general de las agregaciones de *B. brunnea*.
- Describir los estadios de madurez sexual y la morfología de los gametos.
- Probar un método mecánico para inducir el desove y la fertilización.
- Determinar la tasa de crecimiento y reconstrucción del tubo de *B. brunnea*.
- Describir el proceso asexual (fisión natural) en *B. brunnea* en condiciones de laboratorio.
- Evaluar el efecto del estrés en la adición de segmentos nuevos en *B. brunnea*.
- Describir los cambios morfológicos asociados a procesos regenerativos presentes en los individuos producidos por mutilación (corte).

4.3 Hipótesis

Debido a que *B. brunnea* es un organismo gregario, su comportamiento reproductivo será resultado del establecimiento de las larvas cerca de los adultos, de la reproducción sexual (gonogóricos y hermafroditas) y asexual en la misma agregación.

Debido a que los sabélidos poseen capacidad regenerativa, se espera que la propagación artificial, mediante la mutilación del cuerpo con la consecuente regeneración de estructuras faltantes, sea más rápida que por el proceso de fisión natural.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Área de estudio

La recolecta de *B. brunnea* se llevó a cabo en la laguna arrecifal de Majahual, Q. Roo (18° 42' 35.7" N, 87° 42' 44.7" W) (Figura 3), en la costa sureste de la Península de Yucatán, forma parte del Sistema Arrecifal Mesoamericano, el cual bordea la costa este de la península desde la Isla Contoy en el norte y en el sur hasta el Golfo de Honduras (Hernández-Ballesteros *et al.*, 2013). El promedio anual de la temperatura superficial del mar es 28.2°C, oscilando entre 29.7°C en el verano y 26.5°C en el invierno (Carricart-Ganivet, 2004).

El arrecife coralino es de tipo marginal con una extensión de 3,600 m aproximadamente y se encuentra muy cercano a la costa (300 m). La laguna arrecifal es somera, de 1 a 2 metros de profundidad con pastos marinos (*Thalassia testudinum* y *Syringodium filiforme*) y amplias zonas arenosas donde se ubican parches de arrecife. Los corales dominantes son *Montastrea annularis*, *Porites astreoides* y *Favia fragum* (Bastida-Zavala *et al.*, 2000). Además, como resultado de una caracterización del Sistema Arrecifal Mesoamericano realizada por la organización no gubernamental Amigos de Sian Ka'an, Majahual pertenece al área protegida de los Arrecifes de la Costa Maya con 6,028 ha (Bezaury-Creel, 2005).

Majahual es un arrecife con valores altos de diversidad y riqueza, principalmente en grupos de corales y peces (Arias-González *et al.*, 2008). A pesar de ello, en la última década, ha enfrentado niveles altos de explotación de turismo y pesca (Villegas-Sánchez *et al.*, 2010) dando lugar al incremento de la infraestructura turística como caminos, cuartos de hospedaje y puertos, promovida por el gobierno. Asimismo, la zona está expuesta a disturbios naturales como tormentas y huracanes (Hirales-Cota *et al.*, 2010).

5.2 Trabajo de campo

Los muestreos realizados en la laguna arrecifal de Majahual Q. Roo, fueron de tipo intencional, que es un método no probabilístico que se caracteriza por el uso de juicios y por un esfuerzo deliberado por obtener una muestra representativa (Ortiz-Uribe, 2004). Se realizaron cinco muestreos: en octubre (2013), febrero, marzo, septiembre (2014) y marzo (2015) con el permiso SAGARPA–CONAPESCA–PPF/DGOPA.127/14, en cada uno de los muestreos realizados se recorrió un área aproximada de 200 m².

Las agregaciones de *B. brunnea* se recolectaron manualmente mediante buceo libre, se trasladaron a la superficie y se colocaron en bolsas de plástico etiquetadas previamente, por ejemplo: A1, M1 (agregación 1, mes 1). En octubre (2013) se recolectaron nueve agregaciones, en febrero (2014) ocho agregaciones, en marzo (2014) siete, en septiembre (2014) cuatro agregaciones y en marzo (2015) cinco agregaciones. Todas las agregaciones se recolectaron adheridas a sustrato rocoso o coral muerto, se evitó recolectar las agregaciones que se encontraban adheridas a coral vivo. En total se recolectaron 33 agregaciones.

Diez agregaciones correspondientes a octubre (2013), febrero y marzo (2014) se fijaron en formol al 10%, mientras que las restantes 23 agregaciones de todos los meses se mantuvieron vivas en recipientes etiquetados con 2 L con agua marina aireada con bombas. Todas las muestras se trasladaron al Laboratorio de Ecología PIECEMO (Programa de Investigaciones en Ecología y Cultivo de Especies Marinas de Ornato) de la Unidad Académica de Sisal, Facultad de Ciencias, UNAM.

5.3 Trabajo de laboratorio

5.3.1 Estructura y composición de las agregaciones

a) Descripción general

Diez agregaciones que fueron fijadas en formol se mantuvieron en esa sustancia durante tres días: cinco agregaciones de octubre (2013), tres de febrero (2014) y

dos de marzo (2014). Después, se lavaron con agua corriente y se colocaron en alcohol al 95%. Se hicieron observaciones cualitativas sobre la estructura y composición de las agregaciones: distribución y organización de los tubos, sustrato, epifauna, presencia de simbioses, etc., y se midió el ancho y largo de los tubos. Se determinó el número de individuos por agregación, para lo cual, cada individuo fue separado de su respectiva agregación, se retiró de su tubo cuidadosamente y se colocó en un vial etiquetado en código, por ejemplo: C1, M1, individuo 1.

b) Morfología y morfometría

Se describió la morfología y se registraron las medidas de longitud total del cuerpo, ancho del tórax, longitud de la corona branquial, número de segmentos torácicos y número de segmentos abdominales con ayuda de un microscopio estereoscópico *Leica* EZ4D para cada uno de los individuos de las diez agregaciones. Las medidas obtenidas se condensaron en una hoja de Excel y se usó el programa R para analizar los datos. Para obtener las correlaciones se usaron las mediciones de 232 individuos (28 juveniles y 204 adultos). Se determinó si los individuos eran juveniles o adultos con base en su talla y se corroboró su clasificación con base en la presencia o ausencia de gametos (ver punto c a continuación).

c) Madurez sexual y modos reproductivos

Para cada individuo se registró si éste presentaba alguna evidencia de reproducción asexual, ya sea en pre-fragmentación, que es cuando el individuo tiene la parte posterior del abdomen abruptamente adelgazada y con un tono más claro que el resto del abdomen (Figura 13A-E), o en post-fragmentación, que es cuando el individuo ya liberó el brote y tiene la particularidad de tener la zona de ruptura plana (Figura 13F).

Para corroborar el estado de madurez y el sexo de cada ejemplar (hembra, macho o hermafrodita) de las diez agregaciones, se hizo un corte longitudinal a lo largo del cuerpo con una navaja para facilitar la búsqueda de gametos. Los

individuos de menor tamaño y sin gametos se consideraron juveniles, o bien individuos sin gametos (adultos inmaduros). A los adultos que presentaban gametos se les tomó una alícuota con una aguja y se observó al microscopio óptico Nikon SMZ 745, principalmente para corroborar la presencia de espermatozoides, ya que la de óvulos es evidente tan solo al abrir el ejemplar.

Se seleccionaron ejemplares adultos, juveniles y brotes de *B. brunnea* para documentar a detalle la morfología externa con fotografía digital (cámara Cannon S5 con adaptadores al microscopio estereoscópico Leica MZ75), los cuales se tiñeron con Shirla Stain A, y posteriormente, fueron procesados para Microscopía Electrónica de Barrido (ver técnica en el punto 5.3.3). Se registró el sitio donde fueron encontrados los juveniles y se comparó la morfología de los juveniles producidos sexualmente contra los brotes producidos por la vía asexual.

5.3.2 Distribución de gametos, morfología y gametogénesis

a) Distribución de los gametos y morfología

El corte longitudinal que se hizo a cada espécimen permitió registrar la distribución de los gametos a lo largo del cuerpo. La morfología y tamaño de los espermatozoides se describió con base en observaciones al microscopio óptico y corroborado con MEB (ver la técnica descrita en el punto 5.3.3). Los ovocitos se analizaron con la técnica histológica detallada a continuación para la gametogénesis.

b) Gametogénesis

Se fijaron 15 individuos pertenecientes a los acuarios de marzo (2014) con una mezcla de alcohol, formol y ácido acético (solución Davidson) para evitar la degradación y autólisis del tejido. Posteriormente, los tejidos fueron procesados para cortes en *paraplast* en el Departamento de Biología Comparada de la Facultad

de Ciencias de la UNAM, mediante el proceso que se indica a continuación y que se resume en la Tabla 1.

Se reemplazó el agua de los tejidos usando diferentes porcentajes de alcoholes, que tienen por función endurecer y afirmar los constituyentes celulares. Posteriormente, se realizó la aclaración con xilol, proceso que consiste en que el tejido contenga un líquido que sea miscible con el alcohol al 100% y la parafina. Después, se llevó a cabo la impregnación, donde el tejido se colocó tres veces en parafina líquida regulada a la temperatura de 56-58°C, para favorecer una completa sustitución del líquido intermediario por la parafina. La parafina líquida se vertió en moldes y se solidificó a temperatura ambiente (Hewitson y Darby, 2010) Finalmente, se realizaron los cortes seriados longitudinales de 7 µm de grosor con un microtomo rotatorio Leica RM2125RT.

Se aplicó la técnica de tinción hematoxilina-eosina que tiñe de azul-violeta los núcleos y las partes del citoplasma con una abundancia de retículo endoplásmico rugoso. La eosina tiñe de rojo otras partes del citoplasma, así como muchos componentes extracelulares fibrosos. El color azul-violeta se debe a la existencia de regiones con carga negativa en el preparado (ácidos nucleicos, DNA, RNA), debido a la basofilia que tiene el DNA y además se tiñen proteínas extracelulares (Welsch, 2008; Cediél *et al.*, 2009). Posteriormente, las muestras fueron montadas con resina sintética en portaobjetos.

Cada una de las laminillas se observaron al microscopio óptico Nikon Eclipse E600 para diferenciar cada uno de los estados reproductivos presentes en los individuos. Posteriormente, se fotografiaron los estados reproductivos y la distribución de los gametos. Asimismo, se midió el diámetro de 100 ovocitos.

Cada uno de los estados reproductivos fueron caracterizados con base en Bybee *et al.* (2007):

- **Estado 1:** no existe evidencia de actividad reproductiva en el celoma (no puede ser determinado el sexo).
- **Estado 2:** se observan estructuras de celomocitos en el celoma (el sexo no puede ser determinado).
- **Estado 3:** algunos gametos están presentes en el celoma (el sexo puede ser determinado).
- **Estado 4:** se observan paquetes densos de gametos dentro del celoma (el sexo puede ser determinado).

5.3.3 Microscopía electrónica de barrido

Se procesaron muestras de ejemplares maduros sexualmente, maduros con procesos de fisión, juveniles y brotes en regeneración previamente fijados en formol al 10% para, con el uso del Microscopio Electrónico de Barrido (MEB), documentar a detalle la morfología corporal externa, la distribución, tamaño y morfología de los gametos, y los procesos regenerativos. El procesamiento de las muestras se realizó en el Laboratorio de Microscopía Electrónica de Barrido de la Facultad de Ciencias, UNAM y consistió en lo siguiente:

Los ejemplares sexualmente maduros fueron cortados longitudinalmente en dos secciones con el propósito de determinar la distribución, el tamaño y la morfología de los gametos. Estas secciones, así como los ejemplares juveniles, los maduros con procesos de fisión y brotes en regeneración, fueron deshidratados con dos cambios de etanol al 100%, y después fueron secados mediante la técnica del punto crítico, que consistió en sustituir el líquido presente en la muestra por dióxido de carbono, que luego se transformó en gas y se eliminó lentamente (Gomez de Ferraris y Campos Muñoz, 2009).

Posteriormente, las muestras se montaron en portamuestras cubiertos con cinta de platino; después se les hizo un recubrimiento de metalización con oro (2000Å de espesor). Las muestras fueron observadas bajo MEB Cambridge 250 y se obtuvieron fotografías digitales. Esta técnica se basa en la interacción de un haz de electrones sobre la superficie del material. El haz realiza un barrido sobre la superficie y al incidir en la misma, electrones secundarios son captados por un detector dando lugar a una señal eléctrica que es ampliada y transmitida a un monitor. Con la técnica de MEB se pueden observar superficies naturales o artificiales de diferentes epitelios, células, fibras extracelulares, sustancias duras y, órganos o animales enteros (Welsch, 2008).

5.3.4 Inducción del desove y fertilización

Se tomaron de 2 a 4 individuos por agregación y se les retiró el tubo cuidadosamente a cada uno. Para inducir el desove se probaron tres métodos: el primero consistió en realizar una pequeña incisión en la parte posterior del cuerpo para extraer los ovocitos y esperma; en el segundo se colocaron organismos de manera individual entre dos portaobjetos y se comprimieron; y en el tercero se utilizó una jeringa ultrafina para hacer una ligera punción en la región abdominal. Del método más viable para inducir el desove se tomaron muestras de gametos y se mezclaron en un contenedor para inducir la fertilización.

EXPERIMENTACIÓN

Para los siguientes experimentos se usaron las agregaciones de septiembre (2014) (n=4) y marzo (2015) (n=5). Todas las agregaciones se aclimataron durante 24 horas en el laboratorio antes de empezar cada uno de los experimentos evitando algún estrés *a priori*.

5.3.5 Tasa de crecimiento y reconstrucción del tubo de *B. brunnea*

Se usaron 22 gusanos correspondientes a una sola agregación (septiembre 2014) para determinar la tasa de crecimiento en *B. brunnea*. Para esto, cada tubo fue desprendido de la agregación dejando a su respectivo gusano dentro del tubo (Figura 4A-B). Los individuos fueron colocados en acuarios de recirculación de cuatro litros de capacidad, a una temperatura entre 25 y 27°C, salinidad de 35 ups y fotoperiodo de 12 h con luz y 12 h en la oscuridad controlado con un temporizador. Se alimentaron dos veces por semana con 6 ml de alimento KENT Marine microvert, disuelto en 250 ml de agua marina. El experimento tuvo una duración de 72 días. Dentro de este período, se seleccionaron dos organismos cada 5-7 días para medir el aumento del tubo (Figura 4D). Con las mediciones registradas se obtuvo la función lineal del crecimiento del tubo con el programa R.

Para documentar la reconstrucción *de novo* del tubo, se usaron 22 individuos de otra agregación de septiembre (2014) a los que se les retiró cuidadosamente el tubo: presionando con los dedos la parte basal del tubo y luego presionando gradualmente hacia la parte media, hasta que el organismo saliera por completo por la boca del tubo. Los individuos fueron colocados en acuarios de circulación con las mismas condiciones descritas en el párrafo anterior. El experimento tuvo una duración de 72 días. Dentro de este periodo, cada cinco días se seleccionaron dos organismos, a los cuales se les midió y registró la parte del tubo reconstruido, indicado en mm, y se fotografiaron con un microscopio *Leica* EZ4D (Figura 4E).

5.3.6 Descripción de la reproducción asexual por fisión natural en *B. brunnea*

Los 22 individuos utilizados en el punto 5.3.5 (tasa de crecimiento) fueron a su vez empleados para describir la reproducción asexual. En un periodo de 72 días, cada 5-7 días se seleccionaron dos organismos, a los que se les retiró el tubo para determinar los cambios morfológicos que pudieran ocurrir en el proceso de reproducción asexual; se midieron y se fotografiaron las estructuras morfológicas

con un microscopio estereoscópico Leica EZ4D equipado con cámara integrada (Figura 4E). Posteriormente, ambos individuos fueron colocados en viales etiquetados y fijados con alcohol al 70%. Así, la descripción del fenómeno asexual registrada en este estudio, está basada en datos puntuales de cada medición en cada uno de los gusanos, es decir, no se le dio seguimiento a un solo gusano a lo largo de su proceso de reproducción asexual, sino que se describen los cambios morfológicos ocurridos al día en que cada individuo fue observado. Finalmente, se elaboró una ilustración científica del proceso de reproducción asexual por fisión natural.

Para los siguientes experimentos se usaron 96 gusanos de cuatro agregaciones de septiembre (2014). Los gusanos se dividieron en cuatro grupos o tratamientos (Figura 5).

5.3.7 Efecto del estrés en la adición de segmentos nuevos en *B. brunnea* (Grupos I y II)

Grupo I: 24 individuos con tubo.

Grupo II: 24 individuos, a los que se les retiró el tubo presionando con los dedos la parte basal del tubo, y luego presionando gradualmente hacia la parte media hasta que el organismo saliera por completo por la boca del tubo.

Los grupos I y II se colocaron en ocho acuarios de cuatro litros de capacidad con recirculación (Figura 6A, C), a una temperatura de 25 a 27°C, salinidad de 35 ups y fotoperiodo de 8 horas con luz y 16 horas en la oscuridad. Se alimentaron dos veces por semana con 6 ml de alimento KENT Marine microvert, disuelto en 250 ml de agua marina. El arreglo de los individuos dentro de los acuarios para los grupos I y II consistió de seis individuos por acuario (Figura 6B). Cada cinco a siete días se revisaron dos individuos de cada grupo, durante un periodo de 79 días. Se evaluó el efecto del estrés mediante un análisis de covarianza con el programa R.

5.3.8 Cambios morfológicos asociados a procesos regenerativos presentes en los individuos producidos por mutilación (Grupos III y IV)

Grupo III: 24 individuos sin tubo, a los que se les realizó un corte transversal con una navaja a la mitad del cuerpo para obtener dos partes: parte anterior y parte posterior.

Grupo IV: 24 individuos sin tubo a los que se les aplicó un corte transversal en el último cuarto del abdomen.

Para los grupos III y IV, se colocaron los dos fragmentos de cada individuo en una caja Petri (Figura 7B). En total se utilizaron 48 cajas Petri y seis bandejas (recipientes cuadrados de dos litros, de 38x29 cm). Los recipientes se mantuvieron con agua de mar en recirculación con flujo reducido (Figura 4A), a una temperatura de 26-27° C y 35 ups. Los individuos se alimentaron, dos veces por semana con 6 ml de alimento KENT Marine microvert, disuelto en 250 ml de agua marina. Cada cinco a siete días se revisaron dos individuos fragmentados (su parte anterior y su parte posterior) durante un periodo de 79 días, se registró el crecimiento y se fotografió cada organismo en un microscopio *Leica* con cámara integrada (Figura 4D-E).

a) Análisis de supervivencia de todos los grupos

La supervivencia de los fragmentos se midió mediante el estimador no paramétrico Kaplan-Meier, que estima la función de supervivencia en cada uno de los experimentos y se basa en una cantidad de tiempo y en algún tipo de tratamiento previo realizado al organismo (Goel *et al.*, 2010). En este trabajo el tratamiento es el corte realizado a los gusanos. Se obtiene mediante la fórmula y el resultado se expresa en porcentaje:

$$St = \frac{\text{No. de individuos vivos al comienzo} - \text{No. de individuos muertos en un momento}}{\text{No. de individuos vivos al comienzo}}$$

6. RESULTADOS

6.1 Estructura de las agregaciones

a) Descripción general

Todos los tubos de *B. brunnea* se encontraron adheridos en su base al sustrato que generalmente fue coral muerto o roca viva. La conformación de la agregación propicia un hábitat para distintos filos: algas (*Dictyota* cf. *linearis* y *D.* cf. *bartayresii*), crustáceos (cangrejo decorador), equinodermos (ofiuros), nemátodos, esponjas incrustantes, poliquetos sílidos y micromoluscos (piramidélido, cerítido y turbínido). De los micromoluscos se encontraron tres especies (Figura 8A-C) en las agregaciones de marzo y septiembre (2014): seis individuos de la especie 1 (*Odostomia (Eulimastoma) caniculata*), tres de la especie 2 (*Cerittium literatum*) y cuatro de la especie 3 (*Turbo (Marmarostoma) castanea*) cuyos tamaños variaron entre 1 y 3 mm. Los nemátodos son comunes entre los sedimentos que cementan los tubos, pero también se encontraron como endoparásitos de la cavidad celómica en seis ejemplares adultos de *B. brunnea* (un parásito por sabélido), aunque se desconoce su identidad por tratarse de estadios tempranos de desarrollo.

Las agregaciones de *B. brunnea* se conformaron por tubos flexibles constituidos de partículas de arena fina (Figuras 1D, 10A). Éstos presentaron un ancho de 1-2.8 mm, con una media de 1.74 ± 0.43 mm (n=80), y un alto de 2.5-6.5 mm, con media de 3.94 ± 0.77 mm (n=80). El número de individuos por agregación fue variable independientemente de los meses de recolecta, encontrando el menor número en la agregación VII (24 individuos) y el mayor en la agregación I (56 individuos) (Tabla 2).

b) Morfología y morfometría

La descripción morfológica y las medidas biométricas para adultos y juveniles fueron las siguientes:

Adultos (Figura 9A-G, Tabla 3)

La corona branquial, estructura encargada de la respiración y alimentación, fue tan larga como la longitud del cuerpo 12.45 ± 3.13 mm ($n=204$; 5-20 mm) y cuenta con 24 radiolos ± 2 ($n=204$; 18-28 radiolos) que están arreglados en dos semicírculos (Figura 9G) y fusionados basalmente por una membrana palmada corta. El par de radiolos más dorsales presentaron una saliente o extensión ancha en la parte basal, tan larga como la membrana palmada. Las salientes o extensiones radiolares fueron delgadas y se extienden a lo largo del radiolo, comenzando justo después de la membrana palmada. Las pínulas más largas se localizaron a la mitad del radiolo. Las puntas radiolares fueron largas y filiformes. Los labios dorsales fueron triangulares y erectos (Figura 9G), y se extienden más allá de la membrana palmada y presentan apéndices radiolares. Los labios ventrales fueron cortos, curvados. Los sacos ventrales o sacos de arena, encargados del almacenamiento y selección de partículas para la alimentación o construcción del tubo, se proyectaron por encima de los lóbulos ventrales (Figura 9F). Los márgenes dorsales del collar no están fusionados al surco fecal (Figura 9C). El anillo peristomial anterior está expuesto dorsalmente (Figura 9C). Los márgenes laterales del collar están incisos (Figura 9C), formando así, dos lóbulos ventrales y dos dorsales. Los lóbulos ventrales, encargados de moldear la boca del tubo, son triangulares y tienen el borde distal redondeado (Figura 9A, F). El cojinete del collar está dividido longitudinalmente en dos secciones, tiene forma de "w" y su naturaleza es glandular. Las setas del collar (Figura 9B) fueron alargadas y presentaron limbos delgados, dispuestas en forma de arco, y dentro de este arco hay setas tipo espina. La longitud del cuerpo fue de 18.7 ± 5.13 mm ($n=204$; 8-30 mm). El tórax presentó 12 ± 1 segmentos ($n=204$; 7-15) y midió 1.88 ± 0.38 mm de ancho ($n=204$; 1-2.8 mm) (Figura 9D). Los cojinetes ventrales fueron glandulares, de forma rectangular o ligeramente trapezoidal (Figura 9A). Los lóbulos torácicos notopodiales forman pequeños bultos (Figura 9B). Las setas de la hilera superior fueron alargadas, con limbos delgados y dispuestas en forma de arco; mientras que las setas de la hilera inferior son en forma de espina. Los uncinos o ganchos torácicos son aviculares, presentaron varias hileras de

dientes pequeños sobre el diente principal, el pecho está bien desarrollado y el manubrio fue de tamaño medio. Las setas acompañantes tienen una capucha asimétrica que se adelgaza gradualmente hasta la punta. Las manchas u ojos interramales son oscuras y pequeñas. El abdomen presentó 30 ± 6 segmentos ($n=204$; 13-49) (Figura 9D). Los lóbulos neuropodiales fueron cónicos y las setas están dispuestas en un patrón en espiral apretado (Figura 9E), son alargadas, con limbos muy delgados y también presentan setas tipo espina. Los uncinos abdominales o ganchos fueron muy similares a los del tórax pero con un manubrio corto. El pigidio fue bilobulado, presentó un epitelio glandular bien desarrollado y ojos.

Juveniles (Figuras 10A-E, 11A-E, Tabla 3)

Los juveniles se encontraron dentro de sus propios tubos, adheridos a la base del tubo de un adulto (Figura 10A) y poseen una apariencia muy similar a los adultos, aunque pequeños (Figuras 10B-E, 11A-B). La corona branquial midió 7.3 ± 1.76 mm ($n=28$; 3.5-11 mm) y presentó 21 ± 2 radiolos ($n=28$; 18-24 radiolos) y todas las estructuras accesorias útiles en los procesos de alimentación, respiración y construcción del tubo secundario: pínulas (Figura 11D), membrana palmada (Figura 11D), labios dorsales y ventrales, sacos de arena (Figura 10E, 11B). El cuerpo midió 9.25 ± 1.75 mm de largo ($n=28$; 6-12 mm), con un ancho a la altura del tórax de 1.2 ± 0.5 mm ($n=28$; 0.5-2.5 mm). Presentaron 11 ± 1 ($n=28$; 9-14) segmentos torácicos y 22 ± 5 ($n=28$; 12-32) segmentos abdominales (Tabla 3), claramente diferenciados por la presencia del surco fecal (Figura 10C-D, 11A-C, E), así como notosetas y neurosetas bien definidos tanto en el tórax como en el abdomen (Figuras 10D, 11C, E).

Correlaciones

Todas las correlaciones mostraron valores positivos entre la talla y el estado de madurez. El mayor valor de R^2 para cada uno de los modelos ajustados de regresión corresponde a la longitud total con respecto a la longitud de la corona branquial, con una proporción de 0.652 (Figura 12B); mientras que el menor valor correspondió a

la longitud total y los segmentos torácicos 0.063 (Figura 12C). Finalmente, para la longitud total con el ancho del tórax y los segmentos abdominales, las correlaciones fueron de 0.367 y 0.295, respectivamente (Figura 12A, D).

c) Madurez sexual y modos reproductivos

De los 355 individuos muestreados, 53 fueron juveniles (14.92%) y 302 adultos (85.07%). El número de adultos en las agregaciones varió entre 19 y 51, mientras que el de juveniles varió entre 2 y 9 (Tabla 2). Se observaron dos modos de reproducción: asexual por arquitomía y sexual (gonocorismo y hermafroditismo simultáneo) como a continuación se describe:

Modo asexual por arquitomía (Figuras 13A-F, 14A-E, 15A-D, Tabla 4)

Incluye individuos con pre-fragmentación y post-fragmentación. La pre-fragmentación es cuando el individuo tiene la parte posterior del abdomen abruptamente adelgazada y con un tono más claro que el resto del abdomen, lo que sugiere estar próxima a ser liberada (Figura 13A-E). En la post-fragmentación, el individuo parental ya liberó el brote (Figuras 13F, 10A).

Para el caso de la pre-fragmentación, la agregación X presentó la mayor proporción (42.42%), mientras que la agregación VI el menor valor (14.81%), con nueve individuos por agregación en promedio. Por otro lado, en la post-fragmentación, la agregación IX obtuvo el mayor valor (53.33%) y el menor valor en la agregación IV (9.09%), con un promedio de siete individuos que presentaron esta particularidad por agregación (Tabla 4).

A su vez, la post-fragmentación presentó tres estados de regeneración:

1. Aquéllos brotes que se encontraron en una fase temprana posterior a la fisión, sólo presentaron un blastema (masa diferenciada de células que

regenerarán partes del cuerpo) en la zona de abscisión (o de ruptura), segmentos abdominales y pigidio (Figuras 13F, 14B, 15A-B).

2. Brotes con regeneración incompleta: presentaron coronas reminiscentes en las que los radiolos son rudimentarios y variables, tanto en tamaño como en desarrollo; las pínulas son cortas y en general, carecen de estructuras accesorias para la alimentación (labios dorsales, ventrales), para la construcción del tubo secundario (sacos de arena) y remodelado de la boca del tubo (collar y lóbulos ventrales) (Figuras 14A, C-E, 15C). La mayoría no formó segmentos torácicos, aunque aquellos brotes que los llegaron a presentar, fueron en un número reducido (2-3 segmentos) y no presentaron neurosetas (uncinos), en su lugar, presentaron otro setígero; es decir, dos grupos de notosetas en el mismo segmento.
3. El estado más avanzado corresponde a la regeneración completa del brote y su transformación en un estado juvenil. Su apariencia general es la de un adulto, pero pequeño (Figura 15D). La corona branquial se ha completado incluyendo todas sus estructuras accesorias; el tórax y el abdomen se han diferenciado pero aún presentan 2 ó 3 segmentos en reorganización (Figura 15D); y el pigidio ha continuado la formación de segmentos nuevos. Estos organismos se encontraron aún dentro del tubo parental, pero la presencia de estructuras clave para la alimentación y para la construcción del tubo sugieren que los juveniles estaban cerca de salir del tubo del parental, construir su propio habitáculo y alimentarse.

Modo sexual (Figuras 16A-G, 17E, Tabla 4)

El modo sexual incluyó a machos (Figura 16C), hermafroditas simultáneos (Figura 16F) y hembras (Figura 17E). Del total de los 302 adultos examinados, 100 fueron hembras (33.11%), 111 fueron machos (36.75%) y 69 fueron hermafroditas simultáneos (22.84%).

La mayor proporción de hembras la presentó la agregación V (50%), mientras que el menor valor lo presentó la agregación VII (16.66%), con un promedio total de 10 hembras por agregación. La mayor proporción de machos la presentó la agregación VII (54.16%), mientras que el menor valor lo presentó la agregación V (15.62%), con un promedio de 11 individuos por agregación. Los individuos hermafroditas simultáneos presentaron el mayor valor en la agregación IV (32.43 %) y la menor proporción en la agregación IX (13.33%), con un promedio de siete individuos por agregación (Tabla 4).

La comparación entre las diferencias de los juveniles producidos sexualmente vs los brotes producidos asexualmente se muestran en la Tabla 5.

6.2 Distribución de gametos, morfología y gametogénesis

a) Distribución de los gametos y morfología (Figuras 16A-G, 17D)

En los cortes longitudinales realizados a los organismos adultos se observó que los gametos tanto en hembras, machos y hermafroditas, se encontraron distribuidos en los segmentos posteriores torácicos y en todos los segmentos abdominales, particularmente en los mesenterios ventrales (Figuras 16A, D, 17D). Los ovocitos presentaron un desarrollo asincrónico y se localizaron flotando libremente en el celoma (Figura 16E). En el caso de los hermafroditas, ambos gametos, espermatozoides y óvulos, se encontraron juntos, en los mismos segmentos (Figura 16F). Los espermatozoides se desarrollan en tétradas; los maduros tienen un acrosoma pequeño y redondeado, núcleo esférico (3 μm), cuatro mitocondrias esféricas y un flagelo notoriamente largo, tan largo como diez veces el diámetro del núcleo (25-30 μm) (Figura 16C, G).

b) Gametogénesis (Figura 17A-F).

Únicamente fue posible determinar la ovogénesis mediante la técnica histológica y de tinción con hematoxilina-eosina, ya que no se encontraron machos ni

hermafroditas en las muestras procesadas. La ovogénesis es extraovárica y los estados de ovogénesis que se caracterizaron son los siguientes:

- Estado 1: el celoma carece de células germinales o celomocitos (Figura 17A).
- Estado 2: presenta racimos de células en previtelogénesis (celomocitos). Durante esta etapa se observaron ovocitos con un núcleo largo desproporcionado (Figura 13B-C).
- Estado 3: presenta vitelogénesis notoria con un incremento en el volumen de ovocitos (Figura 17D).
- Estado 4: el celoma presenta ovocitos maduros con un diámetro variable de $60.97 \pm 20 \mu\text{m}$ ($n= 100$, 22-98 μm) que se encuentran adyacentes a gotas de lípidos y células germinales unidas exteriormente a los vasos sanguíneos entre los septos intersegmentales (Figura 17E-F).

6.3 Inducción del desove y fertilización

Los métodos de incisión y de presión para inducir el desove no dieron resultado favorable, contrario al método de punción, con el que sí se pudieron obtener gametos (Figura 18A-B). La mayoría de los ejemplares que liberaron gametos con este método resultaron machos y muy pocas fueron hembras. Los gametos obtenidos se mezclaron en un contenedor, y posteriormente se observaron gradualmente con ayuda de un microscopio óptico Nikon Eclipse Ci (Figura 18C), pero no se logró la fertilización y en consecuencia, tampoco se obtuvieron larvas.

6.4 Tasa de crecimiento y reconstrucción del tubo de *B. brunnea*

La tasa de crecimiento del tubo de *B. brunnea* fue de 6-30 mm/79 días con una media de 16.13 ± 7.42 mm ($N=22$) y una función lineal de $y=0.2414x + 8.1068$ (Figura 19). La parte nueva o añadida al tubo es fácilmente diferenciable del resto por la coloración verde-parda, en contraste con la parte vieja que es color arena (color en su ambiente natural) (Figura 20C).

La reconstrucción total del tubo, se presentó después de 24 horas de haber retirado el tubo original (N=22). Las glándulas de los cojinetes ventrales secretan moco con el que los gusanos forman un tubo primario compuesto únicamente por moco en las primeras horas de experimentación. Posteriormente, los gusanos comenzaron a canalizar y seleccionar las partículas suspendidas en el agua o de sedimento con ayuda de los radiolos, pinulas y cilios, para utilizarlas después en la cementación del tubo secundario, que culmina a las 24 horas. Los tubos secundarios reconstruidos *de novo* presentaron un color verde-pardo debido a que aparentemente, los individuos construyeron su tubo con sus propias excretas o con partículas disponibles en la columna de agua de los sistemas a falta de arena del medio natural (Figura 20B).

6.5 Descripción de la reproducción asexual por fisión natural en *B. brunnea*

En la Figura 21 se ilustra de manera gráfica el proceso de fisión natural en *B. brunnea*, que consiste en lo siguiente: en los primeros días del experimento (días 1-5), es notoria la formación de nuevos segmentos en el abdomen, siendo el segmento adyacente al pigidio el más joven o recién formado. Al día 10, los individuos añadieron cinco segmentos nuevos; ocho segmentos nuevos al día 18 y 12 al día 32 (Figura 22A). Conforme se fueron adicionando segmentos nuevos en la parte posterior del cuerpo, el abdomen se fue adelgazando y tornando una coloración más clara que la del resto del cuerpo (Figura 22B). Posteriormente, al día 59, la parte que contiene los nuevos segmentos adicionados (región posterior del abdomen) se desprendió espontáneamente del resto del cuerpo. Este brote midió 5 mm y tuvo 27 segmentos abdominales (Figura 22C). Al día 72, este brote migró hacia la parte posterior del tubo parental (Figura 22D) y la corona branquial comenzó el proceso de regeneración, evidenciado por el desarrollo de radiolos pequeños (Figura 22E). Los fragmentos nuevos son segmentos abdominales y no se observó la reorganización de las setas.

6.6 Efecto del estrés en la adición de segmentos nuevos en *B. brunnea* (Grupos I y II)

Se demostró mediante un valor de $p < 0.05$ que hubo un efecto significativo en el tratamiento (con o sin tubo); es decir, que conforme pasa el tiempo al gusano que se le aplicó el tratamiento (sin tubo) creció más rápido adicionando nuevos segmentos, comparado con el gusano que permaneció en su tubo (Figura 23). Además los gusanos sin tubo, presentaron un proceso de reproducción asexual (arquitomía) para el día 32 y los gusanos con tubo hasta el día 59.

6.7 Cambios morfológicos asociados a procesos regenerativos presentes en los individuos producidos por mutilación (Grupos III y IV)

Regeneración de la parte anterior (corona branquial y tórax)

Debido a la mortalidad de la parte posterior mutilada en ambos grupos, no se observó la regeneración de la parte anterior. Esto se debe posiblemente, a que el estrés del corte (mutilación) representa un gasto energético alto para el fragmento, impidiéndole cicatrizar la herida, secretar moco suficiente para reconstruir el tubo primario, y la posterior regeneración de estructuras faltantes.

Regeneración de la parte posterior (abdomen y pigidio)

Para la parte anterior mutilada, sí se observó la regeneración de la parte posterior: en los tres primeros días después de que el cuerpo fue mutilado (corte) ocurrió la cicatrización superficial de la herida (Figura 24A); al quinto día se presentó un pigidio rudimentario (Figura 24B); entre el séptimo y décimo días la formación completa del pigidio (Figura 24C); para el día 13 la formación de los primeros segmentos posteriores (Figura 24E) y finalmente la adición de segmentos abdominales a partir del 15 día, donde adquirió la apariencia de un individuo completo (Figura 24F).

a) Análisis de supervivencia con el estimador no paramétrico Kaplan-Meier

El grupo I (con tubo) presentó una supervivencia del 91.66%, el grupo II (sin tubo) exhibió una supervivencia de 83.33 % (Figura 25A). En ambos grupos la alta supervivencia fue resultado de que los gusanos no fueron sometidos al estrés del corte (mutilación); sin embargo, en el grupo II la supervivencia fue menor porque el gusano sí presentó estrés por no tener tubo, ya que este es la primera defensa o barrera contra factores externos que lo ayudan a realizar sus actividades fisiológicas.

En el grupo III, la parte posterior tuvo cero supervivencia, mientras que la parte anterior dentro de los tres primeros días presentó una supervivencia de 58.33 %, que disminuyó en los días 5 y 7 (24.9 % y 8.3%, respectivamente) y para el día 10 presentó un valor de cero (Figura 25B). El grupo IV, al igual que en el grupo anterior, la parte posterior presentó cero supervivencia y la parte anterior en los primeros tres días mostró un valor de 54.16 % de supervivencia, disminuyendo a un 4.16 % en el día 10 y para el día 12 el valor fue de cero (Figura 25C).

En cuanto a los fragmentos posteriores de los grupos III y IV, se observó que todos los fragmentos lograron cicatrizar la herida en los primeros días: a los cinco días solo 14 (grupo III) y 10 (grupo IV) fragmentos lograron formar el blastema; al séptimo día 6 (grupo III) y 5 fragmentos (grupo IV) formaron el pigidio; y, por último, los primeros segmentos formados sólo se observan en 2 y 3 fragmentos (grupo III y IV, respectivamente) (Figura 26).

7. DISCUSIÓN

7.1 Estructura de las agregaciones

a) Descripción general

Las agregaciones de *B. brunnea* se localizaron dentro de la laguna arrecifal que se caracteriza por tener escombros de sustrato duro, parches de arena y praderas de pastos marinos (Castro y Huber, 2003). Éstas reciben gran cantidad de luz debido a la poca profundidad de la laguna y a que se encuentra protegida por la acción del oleaje gracias a la barrera arrecifal. Estos factores hacen que la laguna arrecifal funcione como un sitio de alimentación, crianza y reproducción para distintos organismos como es el caso de *B. brunnea*, así como macroalgas, anémonas, equinodermos, anfípodos, tanaidáceos, larvas de peces y decápodos (Castellanos-Osorio y Suárez-Morales, 1997; Trujillo-Luna y González-Vallejo, 2006; Gonzalez-Muñoz *et al.*, 2012).

El tubo es una estructura protectora en los sabélidos y en *B. brunnea* se encuentra expuesto totalmente, en contraste con otros sabélidos que habitan en sustratos suaves, cuyos tubos se encuentran enterrados y protegidos por el sedimento (Giangrande *et al.*, 2014). Los tubos de *B. brunnea* son suaves y flexibles, se inclinan según sea la dirección de la corriente de agua para con ello favorecer la filtración de un número mayor de partículas de alimento. Este patrón se ha observado en otras especies de *Bispira*, así como en especies de *Sabella* (Nicol, 1931) y *Sabellastarte* (Fitzsimons, 1965). En general, los tubos de los poliquetos son importantes en la estabilización de los sedimentos. La estructura que forman es un refugio para especies de tamaño pequeño y otros organismos sésiles (Merz, 2015). Además es un área de anclaje para distintos tipos de algas (Berke *et al.*, 2009).

En el género *Bispira* sólo se ha registrado la presencia de ectosimbiontes en una especie: *B. volutacornis*, especie que vive en asociación con *Gastrodelphys*

clausii, un copépodo gastrodelfido que habita en la corona branquial del sabélido (Nash y Keegan, 2006). En este estudio, se registran tres especies de moluscos asociadas a los tubos de *B. brunnea*; dos de ellas epiobiontes (*Ceritium litteratum* y *Turbo (Marmarostoma) castanea*) y una ectosimbionte (*Odostomia (Eulimastoma) caniculata*). Esta última es remarcable porque pertenece a Pyramidellidae, una familia de micromoluscos marinos caracterizada por ser ectoparásitos de poliquetos sedentarios y de otros moluscos que se alimentan de los fluidos de sus hospederos (Robertson y Mau-Lastovicka, 1979; Høisæter, 2014) como *Crassostrea virginica* (Wilson *et al.*, 1988), *Chlamys hastata* y *C. rubia* (Collin y Wise, 1997). Los poliquetos serpúlidos y sabeláridos son huéspedes comunes de estos micromoluscos, siendo menos conocida la relación de éstos ectoparásitos piramidélidos con sabélidos ya que únicamente se han registrado en *Myxicola infundibulum* (Høisæter, 1989, 2014) y en este estudio en *B. brunnea*.

Como en *B. brunnea*, también se han registrado nemátodos dentro de los tubos de *B. bairdi* (Arias *et al.*, 2013); sin embargo, en este estudio se registra por primera ocasión la presencia de nemátodos habitando la cavidad celómica de los sabélidos (endoparásitos), pero como ocurre con los eulímidos, la identidad de la especie de nemátodo endoparásito aún no es revelada. Actualmente, se conocen nemátodos parásitos de bivalvos (Cáceres-Martínez y Vásquez-Yeomans, 2008), parásitos de peces de agua salada de interés comercial (Cortés *et al.*, 2009) y de peces dulceacuícolas (Quiroz-Martinez y Salgado-Maldonado, 2013).

b) Morfología y morfometría

La morfología externa de *B. brunnea* es típica de la mayoría de los miembros de la familia Sabellidae. Posee las estructuras básicas: corona branquial; cuerpo con segmentos torácicos y abdominales, cada segmento equipado con setas y uncinos; y pigidio. Respecto a la corona branquial, ésta actúa en el mecanismo de filtración de partículas en suspensión, que son canalizadas como alimento o para la construcción o re-construcción del tubo. Asimismo, ésta interfiere en el intercambio

respiratorio por medio de los radiolos o filamentos branquiales y las pínulas que contienen (Giangrande, 1991). En *B. brunnea*, la corona es notoriamente larga, siendo tan larga como la longitud del cuerpo y presenta una base que se encuentra fuertemente adherida al peristomio, por lo que con rareza la especie libera la corona como ocurre en muchos otros géneros de sabélidos que, al menor estímulo, liberan la corona. En sabélidos que comparten estas características, el intercambio respiratorio en la corona es alto (80%), distinto a los gusanos que pierden la corona fácilmente en los que, debido a factores de estrés, suplen la respiración mediante la pared del cuerpo (Sander, 1976; Giangrande *et al.*, 2014). En consecuencia, en *B. brunnea* la corona branquial es una estructura importante para la alimentación y respiración, y debería tomarse en cuenta en el diseño de protocolos de cultivo de la especie.

En cada uno de los segmentos del cuerpo se ubican las setas y uncinos, siendo importantes en el movimiento peristáltico del cuerpo de los sabélidos dentro del tubo, así como en el anclaje de los mismos, y éstas son reemplazadas continuamente durante la vida del gusano (Merz y Woodin, 2006; Kobalova *et al.*, 2014). Los movimientos del sabélido dentro del tubo permiten el intercambio de agua, y con este, la expulsión de gametos y heces fecales fuera del tubo.

Bispira brunnea es un sabélido de talla mediana, cuyos individuos adultos miden 8-30 mm. Una especie gregaria y de similar talla es *B. bairdi*, que posee un tamaño entre 6-25 mm (Tovar-Hernández *et al.*, 2011). En comparación, *Pseudopotamilla reniformis* y *S. pavonina* son especies de talla grande; la primera mide entre 50 a 70 mm (Kobalova *et al.*, 2013), y la segunda entre 150-200 mm (Murray *et al.*, 2011).

El comprender cómo es la morfología de cualquier especie (en estados juvenil y adulto), y en qué es empleada cada estructura, así como sus rasgos biométricos, resulta imprescindible cuando se pretende inducir su reproducción en cautiverio.

Así, los datos proporcionados de *B. brunnea* en este estudio, constituyen un pilar fundamental para cualquier método de reproducción que se proponga hacer con la especie.

c) Madurez sexual y modos reproductivos

Modo asexual

La arquitomía es el tipo de reproducción asexual más común en poliquetos que, involucra la fragmentación del gusano seguida de una regeneración anterior y/o posterior de cada uno de los nuevos individuos (David y Williams, 2011). Durante el presente trabajo, individuos de *B. brunnea* se encontraron en un estado de pre-fragmentación o de post-fragmentación, resultado del proceso de arquitomía. Este fenómeno reproductivo ocurre también y en un alto porcentaje en los sabélidos *Pseudobranchiomma schizogenica* y en *Pseudopotamilla reniformis* (82 % y 95 %, respectivamente) (Tovar-Hernández y Dean, 2014; Kolbasova *et al.*, 2013) Mención aparte merecen los géneros de serpúlidos *Filograna* y *Salmacina* que se reproducen asexualmente, pero éstos a partir del proceso de paratomía, mediante la liberación de un sola cría completamente formada desde la parte posterior del individuo parental (Pernet, 2001).

La fisión natural en *B. brunnea*, seguida de la regeneración de las partes faltantes, ha sido registrada también por lo menos en 14 especies de sabélidos (Tovar-Hernández y Dean, 2014), pero en la mayoría de ellas (excepto en *P. reniformis* por Kolbasova *et al.* 2013), la reproducción asexual ha sido descrita pobremente debido a la presencia de pocos brotes entre las muestras, que con frecuencia pasan desapercibidos cuando se extraen los gusanos parentales de sus tubos para ser propiamente identificados. En estudios realizados con anterioridad, la reproducción sexual se presenta en ambientes favorables y bajo condiciones estables, mientras que la reproducción asexual se ve favorecida en escenarios inestables (Kolbasova *et al.*, 2013); o bien, para evitar altas tasas de depredación y mortalidad en estadios larvarios (Gambi *et al.*, 2000); sin embargo, la información

es aún escasa sobre la relación que existe entre la reproducción asexual y el medio físico.

Modo sexual

En este estudio se observaron machos y hembras de *B. brunnea* en una proporción similar, y también hermafroditas simultáneos, presentando este último un porcentaje de 22.84 %. Por otro lado, la especie hermana *Bispira volutacornis* no es hermafrodita y se registró como una especie dioica (Nash y Keegan, 2003). En este sentido, se puede argumentar que incluso dentro del mismo género, especies hermanas poseen características reproductivas distintas entre sí, o inclusive abrir la posibilidad de que *B. volutacornis* presente hermafroditismo, pero que no fue detectado en el estudio de Nash y Keegan (2003). En contraste, en *Branchiomma bairdi* el hermafroditismo simultáneo es más común en la población (93%) y se presenta a lo largo del año, diferente a *Sabellastarte spectabilis* que posee hermafroditismo secuencial (85%) y el 15% de la población posee ambos tipos de gametos. También se tiene conocimiento de que la especie *Branchiomma luctuosum* presenta hermafroditismo simultáneo (Licciano *et al.*, 2002).

El hermafroditismo es poco conocido dentro de la familia Sabellidae, siendo el hermafroditismo simultáneo el más común, exhibiendo dos tipos: El primero, con gametos femeninos y masculinos encontrados juntos en los mismos segmentos como en *B. brunnea* y en los géneros *Branchiomma* y *Sabellastarte*. El segundo, con los gametos femeninos en unos segmentos y los masculinos en otros segmentos, como ocurre en los géneros *Perkinsiana*, *Laonome* y *Amphiglana* (Rouse y Fitzhugh, 1994).

Gregarismo

Bispira brunnea se caracteriza por ser una especie gregaria, patrón que posiblemente es resultado del establecimiento gregario de las larvas, que ocurre cerca o en la base de los tubos de adultos de la misma especie (conespecíficos),

como ocurre en los serpúlidos *Hydroides dianthus* e *H. elegans*. En el caso de esos serpúlidos, las larvas reconocen una señal química soluble en el agua que está asociada con los conoespecíficos de una agregación (Toonen y Pawlik, 2001). Aunque en este estudio no se determinó el asentamiento larvario de *B. brunnea*, se demostró que los miembros de una sola agregación de esta especie experimentan reproducción sexual (hermafroditas y gonocóricos) y asexual (fisión natural) al mismo tiempo, por lo que la combinación de ambos modos reproductivos determinan el comportamiento gregario como registraron (Nishi y Nishira, 1994) y Kobalova *et al.*, (2013) para otras especies de poliquetos tubícolas.

De acuerdo con Toonen y Pawlik (1994), el establecimiento gregario es una ventaja en los adultos, porque asegura un mayor éxito reproductivo; sin embargo, la competencia intraespecífica aumenta. En *B. brunnea*, esta competencia entre los miembros de una agregación podría ser por alimento o por espacio. Por otro lado, la reproducción por fisión natural (asexual) produce clones, por lo que la presencia de individuos sexuales en *B. brunnea* deviene importante para el intercambio genético de las poblaciones. Finalmente, la presencia de hermafroditas simultáneos en *B. brunnea* también es una ventaja para la especie cuando el número de hembras o de machos, o su proporción, no garantice la reproducción.

7.2 Estadios de madurez sexual y la morfología de los gametos

a) Morfología y distribución de los gametos

De acuerdo con Rouse y Fitzhugh (1994) existen tres tipos de distribución de los gametos en la familia Sabellidae, se pueden encontrar en los segmentos abdominales, en segmentos torácicos y abdominales o pueden estar delimitados de la mitad del cuerpo a la parte posterior en los segmentos torácicos. En *B. brunnea* los gametos se encuentran ubicados en los segmentos torácicos posteriores y en todos los segmentos abdominales, al igual que en *B. luctuosum* (Licciano *et al.*, 2002) y *B. bairdi* (Tovar-Hernández *et al.*, 2009). En contraste, en *S. spectabilis* y *S. pavonina* los gametos se presentan sólo en los segmentos abdominales (Bybee *et*

al., 2007); Murray *et al.*, 2011), y en *B. volutacornis* los gametos se ubican principalmente en todo los segmentos del cuerpo pero muy pocos en la región torácica (Nash y Keegan, 2003).

Los ovocitos de *B. brunnea* son asincrónicos, lo que permite una reproducción continua, aunque probablemente estacional, como en *P. schizogenica* (Tovar-Hernández y Dean, 2014), *S. spectabilis* (Bybee *et al.*, 2007), *B. bairdi* (Tovar-Hernández *et al.*, 2009), *S. pavonina* (Murray *et al.*, 2011) y *S. spallanzanii* (Currie *et al.*, 2000). En el trabajo de Eckelbarger (2006) se menciona que el desarrollo del ovario es similar entre las familias de la clase Polychaeta, pero el lugar, el número y la complejidad estructural son variables inclusive dentro de especies hermanas. En contraparte, la morfología del espermatozoide y la espermatogénesis son altamente diversas dentro de la familia Sabellidae (Simon y Rouse, 2005).

De manera general, la espermatogénesis ocurre en tétradas de espermatidas desarrollándose sincrónicamente. Las espermatidas forman racimos sinciciales unidos por un citóforo central, con un número de células por racimo que van desde cuatro a cientos de células (Schroeder y Hermans, 1975; Rouse y Fitzhugh, 1994). Para el caso de algunos sabélidos y serpúlidos los espermatozoides son lanzados en el agua, percibidos por la hembra y almacenados en espermatecas o en las células epidérmicas (Rouse, 1999). Sin embargo, *B. brunnea* no presenta espermateca y la fertilización tendría que ocurrir necesariamente en la columna de agua (fertilización externa).

Franzén (1956) planteó que el espermatozoide que tiene un acrosoma simple, un núcleo esférico, un reducido número de mitocondrias y un flagelo libre están relacionados con una fertilización externa. Con base en lo anterior, el análisis de Rouse (1999) propone que las especies que tienen un núcleo esférico y un acrosoma pequeño presentan fertilización externa, mientras que aquellas con un acrosoma alargado e incubación de la larva, presentan fertilización interna.

Teniendo esto en consideración, las características que muestra el espermatozoide de *B. brunnea* (núcleo esférico y acrosoma pequeño y redondeado), así como el de las especies *S. pavonina* (Murray *et al.*, 2011) y *S. spallanzanii* (Currie *et al.*, 2000), refuerzan la correlación existente entre este tipo de espermatozoides y la fertilización externa en la columna de agua.

b) Gametogénesis

De acuerdo con Giese y Pearse (1974) dos hipótesis se postularon para explicar el control de la gametogénesis. Primero, el intrínseco: regulado por factores endógenos, como la acumulación de nutrientes y la interacción entre hormonas y segundo, el extrínseco: mediante variaciones ambientales. Respecto a este último, se ha documentado que la reproducción está sincronizada con factores ambientales con el fin de maximizar el éxito de la fertilización y/o la supervivencia de las crías (Mercier y Hamel, 2009).

En este estudio sólo se registró el desarrollo de la ovogénesis en *B. brunnea* sin determinar los factores que la regulan. En la clase Polychaeta la mayoría de las especies tienen bien delimitados los ovarios pero el número, la complejidad estructural e inclusive la posición cambian de una familia a otra, frecuentemente se ubican en los parapodios o en la región ventral del cuerpo (Eckelbarger, 2006). En la familia Sabellidae, la ovogénesis es extraovárica, donde los ovocitos previtelogénicos son liberados desde el ovario al fluido celómico para finalizar la vitelogénesis (Eckelbarger, 2005) lo cual ha sido corroborado en *S. spallanzanii* (Giangrande *et al.*, 2000), *B. voluticornis* (Nash y Keegan, 2003), *S. spectabilis* (Bybee *et al.*, 2006b) y *B. brunnea*, pero el estudio de la ovogénesis solamente se ha documentado para el 0.3 % de las especies de poliquetos actualmente descritas (Giangrande, 1997; Eckelbarger, 2006), Así, la información proporcionada aquí sobre *B. brunnea* contribuye a reforzar el conocimiento en la familia.

En cuanto al diámetro de los ovocitos, en *B. brunnea* variaron de 22 a 98 μm y son asincrónicos, al igual que en las especies *P. schizogenica* (25-70 μm) (Tovar-Hernández y Dean, 2014), *S. spectabilis* con un diámetro de seis a más de 10 μm (Bybee *et al.*, 2007), *B. bairdi* con un mínimo de 7.5 μm y máximo de 110 μm (Tovar-Hernández *et al.*, 2009), *S. pavonina* entre 20 y 350 μm de diámetro (Murray *et al.*, 2011) y en *S. spallanzanii* van de 20 a 200 μm de diámetro (Currie *et al.*, 2000). Destaca el hecho de que en la única especie del género *Bispira* (*B. volutacornis*) con información reproductiva (además de la especie motivo de este estudio), los ovocitos no son asincrónicos, todos presentan el mismo estado de desarrollo, y su diámetro es de 20 μm (Nash y Keegan, 2003).

En poliquetos, cuando los ovocitos son menores a 180 μm de diámetro el desarrollo es indirecto, cuando son mayores a 180 μm de diámetro se tiene un desarrollo directo sin estados larvales (Hermans y Schroeder, 1975). A pesar de que en este trabajo no se pudo observar la larva se podría estipular que en *B. brunnea* se presenta un desarrollo indirecto por el tamaño de su ovocito (22-98 μm); sin embargo, en los sabélidos no existe una relación definida entre el tamaño del huevo y el modo reproductivo (Giangrande, 1997).

7.3 Inducción del desove

La prueba realizada evidenció que la punción es el método más eficaz para inducir la liberación de los gametos en *B. brunnea*. En *Sabellastarte spectabilis* la ablación en la parte posterior del gusano fue exitosa para obtener gametos (Bybee *et al.*, 2007); en *Branchiomma bairdi* la presión y la incisión en el abdomen (Tovar-Hernández *et al.*, 2011); y, en el serpúlido *Spirobranchus tetracerus* la incisión dorsal en la pared del cuerpo para obtener los gametos (Selim *et al.*, 2005).

No obstante, cuando se pretenden aplicar alguno de estos métodos en diseños experimentales para lograr la fertilización y estadios larvarios, se debe tener en cuenta el modo reproductivo de la especie, ya que es variable. Cuando sólo hay

hembras y machos, el diseño resultaría más simple, pero cuando en una población existen hembras, machos y hermafroditas simultáneos como en *B. bairdi*, se deben tomar en cuenta otros factores porque: 1) morfológicamente es imposible distinguir sexos; 2) en la práctica la probabilidad de encontrar hembras, machos o hermafroditas maduros, es muy variable; 3) el tiempo empleado en retirar el tubo de cada gusano, realizar la punción, observar al microscopio si son gametos maduros y después combinarlos es elevado, por lo que el número de muestras y número de personas que pueden hacer esta actividad deben concentrarse en el diseño experimental, con la finalidad de obtener los mejores resultados y tener éxito al momento de realizar la fecundación de los gametos.

7.4 Tasa de crecimiento y construcción del tubo de *B. brunnea*

Para la construcción de *novus* del tubo es necesario que el organismo produzca moco, ya que con este el gusano construye el tubo primario que posteriormente servirá de base para cementar las partículas del tubo secundario. Las células glandulares presentes en los cojinetes ventrales de los sabélidos, son las responsables de la producción del moco que recubre la epidermis (Mastrodonato *et al.*, 2006). En el ambiente natural, el moco secretado por los gusanos es mezclado con sedimentos de diferente textura tomados de la columna de agua y excretas (Giangrande *et al.*, 2014).

En *Sabella pavonina*, *Sabellastarte magnifica* y en *B. brunnea*, los labios dorsales y ventrales interfieren en la canalización de partículas hacia la boca y/o hacia los sacos ventrales (sacos de arena), donde éstos son almacenados para después ser usados para reparar o construir el tubo (Nicol, 1931; Bonar, 1972). En condiciones de laboratorio, el tubo reconstruido de *B. brunnea* tiene un color verdopardo, lo cual puede deberse a la mezcla de las propias excretas de la especie a falta de arena de su medio natural.

El reciente avance en el conocimiento, permitirá que otros estudios empleen arena de colores atractivos en el cultivo de la especie, para con ello incrementar su demanda en el mercado, como ha ocurrido con otros invertebrados y roca viva en los acuarios tipo “mini-reefs”, que han incrementado su venta y popularidad debido a su amplia diversidad de colores y formas ((Wabnitz *et al.*, 2003; Murray *et al.*, 2012). El uso de la arena también podría servir para estudiar el efecto de condiciones de cultivo en el crecimiento de la especie, indicado por los anillos de crecimiento en el tubo (bandas de color alternadas).

En la familia Sabellidae, el moco no sólo está involucrado en la construcción del tubo, sino también en la absorción de metabolitos que consisten principalmente de polisacáridos y proteínas (Giangrande *et al.*, 2014), e inclusive es necesario para que ocurra la fertilización (Tovar-Hernández *et al.*, 2011; Stabili *et al.*, 2009). Se ha registrado que los cnidarios sésiles, igualmente secretan moco que usan para cubrir la superficie del disco oral, al mismo tiempo que funciona para captar el alimento y hacer una limpieza superficial (Tibdall, 1984). De manera general, la producción de moco involucra una pérdida de energía, tal es el caso de la liberación del moco en los corales, que consumen más del 50% de energía en producirlo (Wild *et al.*, 2004)

En general, se espera que los sabélidos reconstruyan rápidamente su tubo por ser organismos sedentarios, obligados a contar con una estructura protectora como lo es el tubo para ellos. En el trabajo de Shah *et al.* (2014) se comprobó que el tubo le brinda al sabelárido *Chaetopterus* sp., una estructura estable en un ambiente sujeto a fuerte oleaje y con un amplio rango de temperatura, presentando un rápido crecimiento y capacidad de reparación del tubo, por lo que el tubo funciona contra estresores ambientales, e inclusive frente a ataques de microorganismos patógenos (Stabili *et al.*, 2014).

Con respecto al crecimiento del tubo, en un estudio realizado con dos especies de serpúlidos, *Galeolaria hystrix* y *Spirobranchus carniferus*, se encontró que en un año crecieron de 2.5-6.6 cm y 0.4-3.4 cm, respectivamente (Riedi y Smith, 2014) ,

mientras que en *B. brunnea*, el tubo creció en 79 días 0.6-3 cm. En los serpúlidos el carbonato de calcio es secretado en la abertura del tubo por un par de glándulas ubicadas en el peristomio ventral, y el material orgánico es producido por el epitelio en el escudo ventral. La tendencia es que cuando los gusanos son grandes, las glándulas secretoras de calcio son de mayor tamaño y por lo tanto tienen mayor capacidad de producción de carbonato de calcio (Riedi, 2012), los sabélidos construyen el tubo con la arena disponible del medio natural y cuentan con glándulas secretoras en los cojinetes ventrales y en zonas aisladas a lo largo del cuerpo (Merz, 2015).

7.5 Descripción de la reproducción asexual por fisión natural en *B. brunnea* en condiciones de laboratorio

Los sabélidos gregarios *B. brunnea*, *P. reniformis* y *P. schizogenica* presentan el proceso de arquitomía. Dentro de los tubos de las dos últimas especies se registró la presencia de 3-4 fragmentos liberados del cuerpo parental, que después regenerarán las partes faltantes (Kobalova *et al.*, 2013; Tovar-Hernández y Dean, 2014); es decir, un sólo individuo parental de estas especies es capaz de producir varios fragmentos originados asexualmente uno detrás de otro (en cadena pero sin estar unidos). En contraste, *B. brunnea* únicamente presenta un fragmento dentro del tubo del organismo parental y en la parte posterior del mismo, con un tamaño de 3.5-6 mm, lo que demuestra que la especie libera un brote de manera asexual a la vez (no uno de trás de otro).

En lo que respecta a cómo los brotes nuevos generados asexualmente salen del tubo del organismo parental, el trabajo realizado con serpúlidos de Pernet (2001) explica que los adultos forman una ventana de escape de material calcáreo depositado alrededor del margen del tubo, lo que permite la salida del brote cuando alcanza cierto tamaño. Lo anterior puede deberse a que cuando el brote produce sus propias hormonas el adulto forma la ventana de escape o bien, que la formación del brote y de la ventana sucedan al mismo tiempo. En *B. brunnea* no se logró

observar cómo emerge el nuevo brote del tubo parental debido a la duración del experimento y al período en el que éstos fueron revisados.

Las condiciones de laboratorio de temperatura, cantidad de alimento, salinidad y fotoperiodo en las que se logró documentar la reproducción asexual de *B. brunnea* fueron lo más parecidas o similares a las de su entorno natural. Estos resultados pueden ser útiles para establecer un protocolo de mantenimiento de agregaciones de *B. brunnea* y generar una continua reproducción asexual por fisión natural, como se ha hecho en algunas especies de espiónidos como *Amphipolydora vestalis*, *Dipolydora caullery*, *Dipolydora socialis* y *Pygospio elegans* bajo condiciones de laboratorio (David y Williams, 2011).

La vía de reproducción asexual puede ser ventajosa para el sector industrial debido a que generalmente se presenta un cuello de botella en los estados larvales y también en los factores que inducen o regulan el establecimiento de la larva en los invertebrados. Además puede ayudar a proyectos que no cuenten con la infraestructura y tecnología especializadas en reproducción de invertebrados marinos con fines de ornato; sin embargo, la reproducción asexual es una vía que debe tratarse con cautela ya que a la larga reduce la variación genética de la especie.

7.6 Efecto del estrés en la adición de segmentos nuevos en *B. brunnea* y cambios morfológicos asociados a procesos regenerativos presentes en los individuos producidos por mutilación (corte)

La regeneración es un proceso importante debido a su papel en la recuperación después de una lesión, así como en la reproducción asexual por arquitomía (David y Williams, 2011). La regeneración se inicia en respuesta a una herida que amputa una parte del cuerpo (Bely y Nyberg, 2009), y dependiendo de la frecuencia de la lesión y la capacidad de regeneración deviene la supervivencia del individuo

(Lindsay *et al.*, 2007; 2008) En este sentido, la regeneración puede ser sensible a diferentes factores abióticos y es un buen marcador de estrés (Pires *et al.*, 2015) como el que se registró en *B. brunnea* al retirar el tubo de los gusanos: se documentó un número de segmentos regenerados mayor que los gusanos que conservaron su tubo.

La información obtenida en este estudio ofrece un panorama en el que al exponer al organismo a un estrés (retirarle el tubo) y sin mutilarlo, se puede obtener un mayor número de segmentos y nuevos brotes producidos asexualmente en menos días, lo que posiblemente disminuiría el gasto energético provocado por la pérdida de tejido (Lindsay *et al.*, 2008).

Regeneración de la parte anterior (corona branquial y tórax)

En este estudio, la regeneración de la parte anterior no se observó en *B. brunnea*, ya que los fragmentos murieron. En los sabélidos, la mortalidad de la región posterior después de la amputación parece estar relacionada con la remoción de la corona branquial. Trabajos previos suponen que la supervivencia del gusano depende de la importancia de esta estructura para llevar a cabo el intercambio gaseoso para la respiración (Licciano *et al.* 2012, 2015). Es posible que en *B. brunnea* la irrigación a través del cuerpo no proporcione la suficiente respiración para sobrevivir sin la estructura de la corona, por ejemplo se tiene conocimiento de que en la especie *Eudystilia vancouveri* la corona branquial provee el 80% del total de intercambio de gaseoso en la respiración (Giangrande, 1991).

Asimismo, Bely (2006) mencionó que en sabélidos, si los gusanos son cortados en el tórax y en el abdomen, la parte del abdomen logra sanar la herida pero los gusanos no completan la regeneración de la corona branquial y eventualmente mueren de hambre, como se observó para la especie *Myxicola infundibulum*, pero en un estudio reciente se identificó que esta especie si logra regenerar con éxito la corona branquial (Licciano *et al.*, 2015). De igual manera se

puede observar que en otros sabélidos: *P. reniformis*, *S. spallanzanii* y *B. luctuosum*, en los primeros 10 días se da la formación de los lóbulos branquiales rudimentarios (Licciano *et al.* 2012, Kobalova *et al.* 2013) y por ejemplo, para el día número 80 la especie *P. reniformis* posee una corona branquial totalmente formada.

No obstante es importante realizar un estudio enfocado en los requerimientos respiratorios de *B. brunnea* y también es necesario considerar la cantidad de reserva energética disponible en el gusano, como puede ser el glicógeno, lípidos y triglicéridos ya que estos son útiles para llevar a cabo la regeneración y otros procesos bioquímicos y fisiológicos. En este sentido un estudio relacionado con la cantidad de reserva energética, podría esclarecer la capacidad o incapacidad de la especie para regenerar la parte anterior. Otro tipo de trabajos ya han evaluado las reservas de energía en el organismo, como el de Freitas *et al.* (2015) para el onúfido *Diopatra neapolitana* y el de Yáñez-Rivera y Méndez-Ubach (2014) para el anfinómido *Eurythoe* sp.

Regeneración de la parte posterior (abdomen y pigidio)

En lo que respecta a la regeneración de la parte posterior, como respuesta a un fenómeno de mutilación, se sabe que es común en los sabélidos (Licciano *et al.*, 2015). *Bispira brunnea* regeneró con éxito los segmentos posteriores: 15 días después de la mutilación el gusano alcanzó la apariencia de un individuo completo, al igual que las especies *Bispira melanostigma*, *Branchiomma luctuosum*, *Myxicola aesthetica*, *Pseudopotamilla reniformis*, *Sabella pavonina* y *Sabella spallanzanii*, que también recuperan su forma original después de sufrir mutilación (Licciano *et al.*, 2015).

La supervivencia de las partes anteriores, puede estar relacionada con el hecho de que mantienen la corona branquial la cual como ya se mencionó anteriormente, es importante para el intercambio respiratorio y la alimentación. Asimismo, la regeneración de los segmentos posteriores no involucra la diferenciación de tejido o un proceso de epimorfosis, como sucede en la

regeneración de la estructura de la corona (Licciano *et al.*, 2012; Murray *et al.*, 2013); es decir, sólo se da la formación del pigidio y la adición de nuevos segmentos (Hill *et al.*, 1993) mediante el proceso de morfolaxis. Inclusive se puede argumentar que si las reservas energéticas disponibles en el organismo fueran bajas los gusanos podrían sobrevivir gracias a que poseen la corona branquial y con esto lograrían regenerar los segmentos posteriores.

Cambios morfológicos

En cuanto a los cambios morfológicos asociados a procesos regenerativos, se ha documentado que en los sabélidos, dentro de las primeras 24 horas, la herida superficial es cubierta con epidermis y, esta fase inicial de cicatrización resulta de la migración celular. Posteriormente, se restaura el pigidio y se da la adición de nuevos segmentos posteriores (Hill *et al.*, 1993). En el caso de *B. brunnea*, después de realizar el corte en la región abdominal, la cicatrización superficial de la herida se observó en el quinto día así como la formación de un pigidio rudimentario, en comparación con las especies *S. pavonina* y *Sabellastarte* sp. , en las que este proceso se registró en el séptimo día (Murray *et al.*, 2013) y en *P. reniformes* entre los días ocho y diez (Kobalsova *et al.*, 2013).

Con base en la literatura, en *B. brunnea* se presentó el proceso de morfolaxis; es decir, ocurre la remodelación de las estructuras pre-existentes. En consecuencia los primeros segmentos posteriores en *B. brunnea* no se observaron hasta el día 13, en relación con *P. reniformis* registrados en el día 20 (Kobalsova *et al.*, 2013) y en *S. pavonina* en el día 21. La apariencia de un adulto completo en *S. pavonina* se presenta para el día 28 (Murray *et al.*, 2013), en 20 días para *P. reniformis* y en *B. brunnea* en el día 15, cuando el organismo ya posee un tracto digestivo completo y, puede efectuar la actividad de alimentación, por tener el pigidio y ano completamente formados.

Este estudio no se enfocó en examinar con detalle el tipo de proceso, morfolaxis o la epimorfosis, que presentó la regeneración, es decir, sólo se realizaron observaciones hipotéticas sobre los cambios en las estructuras externas. Más adelante se podría efectuar un análisis dirigido en marcadores moleculares para tener una mejor comprensión de la regeneración en *B. brunnea* como el realizado para el oligoqueto *Pristina leydi* (Bely y Wray, 2001).

8. Conclusión

La información obtenida del sabélido *B. brunnea* refuerza el conocimiento previo de la especie sobre aspectos de biología reproductiva básica que a su vez, sirvió para implementar de un método experimental adecuado para reproducir a la especie en cautiverio, ofreciendo al mercado ornamental otra alternativa. Esa alternativa versa en el uso del potencial de la especie para reproducirse asexualmente, así como el de regeneración. Esas cualidades en combinación con la sencillez de la técnica empleada en este estudio, así como su bajo costo y viabilidad, permiten proponer la vía asexual para reproducir a la especie con fines comerciales.

Para futuras investigaciones resta conocer el ciclo larval de la especie, así como los factores o señales involucrados en el desove, la fertilización, el establecimiento y desarrollo de la larva. Por lo que se podrán realizar experimentos que involucren ambos tipos de reproducción (asexual y sexual) y que ayuden a ampliar el conocimiento sobre la biología reproductiva no solo de esta especie, sino que puedan ser aplicables y útiles para otras especies de sabélidos poliquetos.

9. Referencias

- Arias-González, J. E., P. Legendre y F. A. Rodríguez-Zaragoza. 2008. Scaling up beta diversity on Caribbean coral reefs. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 366: 28-36.
- Arias, A., A. Giangrande, M. C. Gambi y N. Anadon. 2013. Biology and new records of the invasive species *Branchiomma bairdi* (Annelida: Sabellidae) in the Mediterranean Sea. *Mediterranean Marine Science*, 14(1): 162-171.
- Bastida-Zavala, J. R., A. U. Beltrán-Torres, M. A. Gutiérrez-Aguirre y G. De La Fuente-Betancourt. 2000. Evaluación rápida de los arrecifes parche de Majagual, Quintana Roo, México. *Revista de Biología Tropical*, 48(1): 137-143.
- Bely, A. y K. G. Nyberg. 2009. Evolution of animal regeneration: re-emergence of a field. *Trends in Ecology and Evolution*, 25(3): 161-170.
- Bely, A. y G. A. Wray. 2001. Evolution of regeneration and fission in annelids: insights from engrailed and orthodenticle-class gene expression. *Development*, 128: 2781-2791.
- Bely, A. E. 2006. Distribution of segment regeneration ability in the Annelida. *Integrative and Comparative Biology*, 46(4): 508-518.
- Berke, S. K., V. Cruz y R. W. Osman. 2009. Sublethal predation and regeneration in two Onuphid Polychaetes: Patterns and Implications. *Biological Bulletin*, 217: 242-252.
- Berril, N. J. 1978. Induced segmental reorganization in sabellid worms. *Journal of Embryology and Experimental Morphology*, 47: 85-96.
- Bezaury-Creel, J. E. 2005. Protected areas and coastal and ocean management in México. *Ocean & Coastal Management* 48: 1016-1046.
- Bonar, D. B. 1972. Feeding and tube construction in *Chone mollis* Bush (Polychaeta, Sabellidae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 9: 1-18.
- Brusca, R. C. y G. J. Brusca 2002. *Invertebrates*, U. S. A, Sinauer, Associates Inc.
- Bybee, D. R., J. H. Bailey-Brock y C. S. Tamaru. 2006a. Evidence for sequential hermaphroditism in *Sabellastarte spectabilis* (Polychaeta: Sabellidae) in Hawaii. *Pacific Science*, 60(4): 541-547.
- Bybee, D. R., J. H. Bailey-Brock y C. S. Tamaru. 2006b. Larval development of *Sabellastarte spectabilis* (Grube, 1878) (Polychaeta: Sabellidae) in Hawaiian waters. *Scientia Marina*, 70(S3): 279-286.
- Bybee, D. R., J. H. Bailey-Brock y C. S. Tamaru. 2007. Gametogenesis and spawning periodicity in the fan worm *Sabellastarte spectabilis* (Polychaeta: Sabellidae). *Marine Biology*, 151: 639-648.
- Cáceres-Martínez, J. y R. Vásquez-Yeomans. 2008. La patología en moluscos bivalvos: principales problemas y desafíos para la producción de bivalvos en América Latina. In: A. LOVATELLI, A. F. E. I. U. (ed.) *Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina*. Puerto Montt, Chile. FAO: Acta de Pesca y Acuicultura. FAO. pp.327-337

- Calado, R. y P. T. Chapman. 2006. Aquarium species: Deadly invaders. *Marine Pollution Bulletin*, 42: 599-601.
- Campuzano-Caballero, J. C. 2010. *Estructura histológica comparada del gonoducto de dos especies de peces teleosteos: una ovípara, Brachydanio rerio (Cyprinidae), y una vivípara, Poecilia reticulata (Poeciliidae), durante tres etapas del ciclo reproductor.* Tesis de Maestría (Biología experimental), Universidad Nacional Autónoma de México
- Capa, M., E. Nishi, K. Tanaka y K. Fujikura. 2013. First record of a *Bispira* species (Sabellidae: Polychaeta) from an hydrothermal vent. *Marine Biodiversity Records*, 6(68): 1-6.
- Carricart-Ganivet, J. P. 2004. Sea surface temperature and the growth of the West Atlantic reef-building coral *Montastraea annularis*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 302: 249-260.
- Castellanos-Osorio, I. y E. Suárez-Morales. 1997. Observaciones sobre el zooplancton de la zona arrecifal de Mahahual, Quintana Roo (Mar Caribe Mexicano). *Anales del Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoológica* 68(2): 237-252.
- Castro, P. y M. E. Huber 2003. *Marine Biology*, The McGraw-Hill Companies.
- Cediel, J. F., M. H. Cardenas, A. García, L. Chuarie, C. Payán, V. Villegas y C. Sánchez 2009. *Manual de Histología. Tejidos fundamentales*, Colombia, Universidad del Rosario
- Collin, R. y J. B. Wise. 1997. Morphology and development of *Odostomia columbiana* Dall and Bartsch (Pyramidellidae): Implications for the evolution of Gastropod development. *Biological Bulletin*, 192: 243-252.
- Cortés, J., J. Valbuena y G. Manrique. 2009. Nemátodos parásitos de *Lutjanus synagris* (Linneaus, 1758) y *Lutjanus analis* (Cuvier, 1828) (Perciformes, Lutjanidae) en las zonas de Santa Marta y Neguanje, Caribe Colombiano. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 56: 23-31.
- Currie, D. R., M. A. Mc Arthur y B. F. Cohen. 2000. Reproduction and distribution of the invasive European fanworm *Sabella spallanzanii* (Polychaeta: Sabelliidae) in Port Philip Bay, Victoria, Australia. *Marine Biology*, 136: 645-656.
- David, A. A. y J. D. Williams. 2011. Asexual reproduction and anterior regeneration under high and low temperatures in the sponge associate *Polydora colonia* (Polychaeta: Spionidae). *Invertebrate Reproduction & Development*, 1: 1-10.
- Eckelbarger, K. J. 2005. Oogenesis and oocytes. *Hydrobiologia*, 535: 179-198.
- Eckelbarger, K. J. 2006. Oogenesis. In: ROUSE, G. & PLEIJEL, F. (eds.) *Reproductive Biology and Phylogeny of Annelida*. Enfeld, USA: Science Publishers.
- Faasse, M. A. y A. Giangrande. 2012. Description of *Bispira polyomma* n. sp. (Annelida: Sabellidae): a probable introduction to the Netherlands. *Aquatic Invasions*, 7(4): 5921-598.
- Franzen, A. 1956. On spermiogenesis, morphology of the spermatozoa and biology of fertilization among invertebrates. *Zoologiska Bidrag Fran Uppsala*, 31: 355-482.

- Freitas, R., D. Coelho, A. Pires, A. M. V. Soares, E. Figueira y B. Nunes. 2015. Preliminary evaluation of *Diopatra neapolitana* regenerative capacity as a biomarker for paracetamol exposure. *Environmental Science and Pollution Research*.
- Gambi, M. C., A. Giangrande y F. P. Patti. 2000. Comparative observations on reproductive biology of four species of *Perkinsiana* (Polychaeta: Sabellidae: Sabellinae). *Bulletin of Marine Science*, 67(1): 299-309.
- Giangrande, A. 1991. Behaviour, irrigation and respiration in *Eudistylia vancouveri* (Polychaeta, Sabellidae). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 71: 27-35.
- Giangrande, A. 1997. Polychaete reproductive patterns, life cycles and life histories: an overview. *Oceanography and Marine Biology: an Annual Review*, 35: 323-386.
- Giangrande, A., M. Licciano, P. Pagliara y M. C. Gambi. 2000. Gametogenesis and larval development in *Sabella spallanzanii* (Polychaeta: Sabellidae) from the Mediterranean Sea. *Marine Biology*, 136: 847-861.
- Giangrande, A., M. Licciano, R. Schirosi, L. Musco y L. Stabili. 2014. Chemical and structural defensive external strategies in six sabellid worms (Annelida). *Marine Ecology* 35: 36-45.
- Gibson, G. D. y I. G. Paterson. 2003. Morphogenesis during sexual and asexual reproduction in *Amphipolydora vestalis* (Polychaeta: Spionidae). *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 37: 741-752.
- Giese, A. C. y J. S. Pearse. 1974. Introduction: general principles. In: GIESE, A. C. & PEARSE, J. S. (eds.) *Reproduction of Marine Invertebrates*. New York: Academic Press.
- Glasby, C. J., P. A. Hutchings, K. Fauchald, H. Paxton, G. W. Rouse, C. Watson Russell y R. S. Wilson. 2000. Class Polychaeta. In: BESSLEY, P. L., ROSS, G. J. & GLASBY, C. J. (eds.) *Polychaetes & Allies: The Southern Synthesis. Fauna of Australia. Polychaeta, Myzostomida, Pogonophora, Echiura, Sipuncula*. . CSIRO Publishing: Melbourne. 465 pp.
- Goel, M. K., P. Khanna y J. Kishore. 2010. Understanding survival analysis: Kaplan-Meier estimate. *International Journal of Ayurdeva Research*, 1(4): 274-278.
- Gomez De Ferraris, M. E. y A. Campos Muñoz 2009. *Histología, embriología e ingeniería tisular bucodental*, Madrid, España.
- Gonzalez-Muñoz, R., N. Simoes, J. Sanchez-Rodriguez, E. Rodriguez y L. Segura-Puertas. 2012. First Inventory of Sea Anemones (Cnidaria:Actinaria) of the Mexican Caribbean. *Zootaxa*, 3556: 1-38.
- Hermans, C. O. y P. C. Schroeder. 1975. Annelida: Polychaeta. In: GIESE, A. C. & PEARSE, J. S. (eds.) *Reproduction of Marine Invertebrates*. New York: Academic Press.
- Hernández-Ballesteros, L. M., E. M. Elizalde-Rendón, J. L. Carballo y J. P. Carricart-Ganivet. 2013. Spone bioerosion on reef-building corals: Dependent on the environment or on skeletal density? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 441: 23-27.
- Hewitson, T. D. y I. A. Darby 2010. *Histology protocols*, Hatfield, UK, Humana Press.
- Hill, S. D., A. M. Shipley y P. J. S. Smith. 1993. Endogenous currents during wound healing and regeneration in Sabellid Fanworms. *Biological Bulletin*, 185: 303-304.

- Hirales-Cota, M., J. Espinoza-Avalos, B. Schmook, A. Ruiz-Luna y R. Ramos-Reyes. 2010. Agentes de deforestación de manglar en Mahahual-Xcalak, Quintana Roo, sureste de México. *Ciencias Marinas*, 36(2): 147-159.
- Høisæter, T. 1989. Biological notes on some Pyramidellidae (Gastropoda: Opisthobranchia) from Norway. *Sarsia*, 74: 283-297.
- Høisæter, T. 2014. The Pyramidellidae (Gastropoda, Heterobranchia) of Norway and adjacent waters. A taxonomic review. *Fauna norvegica*, 34: 7-78.
- Humman, P. y N. Deloach 2003. *Reef creature identification. Florida Caribbean Bahamas*, Florida, USA, New World Publications, Inc.
- Kobalsova, G. D., A. B. Tzetlin y E. K. Kupriyanova. 2014. Chaetal loss and replacement in *Pseudopotamilla reniformis* (Sabellidae, Annelida). *Invertebrate Biology*, 133(3): 261-273.
- Kolbasova, G. D., A. B. Tzetlin y E. K. Kupriyanova. 2013. Biology of *Pseudopotamilla reniformis* (Müller 1771) in the White Sea, with description of asexual reproduction. *Invertebrate Reproduction & Development*, 57(4): 264-275.
- Licciano, M., A. Giangrande y M. C. Gambi. 2002. Reproduction and simultaneous hermaphroditism in *Branchiomma luctuosum* (Polychaeta, Sabellidae) from the Mediterranean Sea. *Invertebrate Biology*, 2(1): 55-65.
- Licciano, M., J. M. Murray, G. J. Watson y A. Giangrande. 2012. Morphological comparison of the regeneration process in *Sabella spallanzanii* and *Branchiomma luctuosum* (Annelida, Sabellida). *Invertebrate Biology*, 131(1): 40-51.
- Lindsay, S. M., J. L. Jackson y D. L. Forest. 2008. Morphology of anterior regeneration in two spionid polychaete species: implications for feeding efficiency. *Invertebrate Biology*, 127(1): 65-79.
- Lindsay, S. M., J. L. Jackson y S. Q. He. 2007. Anterior regeneration in the spionid polychaetes *Dipolydora quadrilobata* and *Pygospio elegans*. *Marine Biology*, 150: 1162-1172.
- Mastrodonato, M., M. Gherardi, G. Todisco, M. Sciscioli y E. Lepore. 2006. The epidermis of *Timarete filigera* (Polychaeta, Cirratulidae): Histochemical and ultrastructural analysis of the gland cells. *Tissue and Cell*, 38: 279-284.
- Mceuen, F. S., B. L. Wu y F. S. Chia. 1983. Reproduction and development of *Sabella media*, a sabellid polychaeta with extratubular brooding. *Marine Biology*, 76: 301-309.
- Mercier, A. y J. F. Hamel 2009. *Advances in Marine Biology Endogenous and Exogenous control of gametogenesis and spawning in Echinoderms* London, UK, Academic Press.
- Merz, R. A. 2015. Textures and traction: how tube-dwelling polychaetes get a leg up. *Invertebrate Biology*, 134(1): 61-77.
- Merz, R. A. y S. A. Woodin. 2006. Polychaete chaetae: function, fossils, and phylogeny. *Integrative and Comparative Biology*, 46(4): 481-496.
- Murray, J. M. y G. J. Watson. 2014. A critical assessment of marine aquarist biodiversity data and commercial aquaculture: identifying gaps in culture initiatives to inform local fisheries managers. *PLoS ONE*, 9(9).

- Murray, J. M., G. J. Watson, A. Giangrande, M. G. Bentley y P. Farrell. 2011. Reproductive biology and population ecology of the marine fan worm *Sabella pavovina* (Savigny) (Polychaeta: Sabellidae). *Invertebrate Reproduction & Development*, 55(3): 183-196.
- Murray, J. M., G. J. Watson, A. Giangrande, M. Licciano y M. G. Bentley. 2012. Managing the marine aquarium trade: revealing the data gaps using ornamental polychaetes. *PLoS ONE*, 7(1).
- Murray, J. M., G. J. Watson, A. Giangrande, M. Licciano y M. G. Bentley. 2013. Regeneration as a novel method to culture marine ornamental sabellids. *Aquaculture*, 410–411: 129-137.
- Nash, R. y B. F. Keegan. 2003. Reproductive cycle of *Bispira volutacornis* (Polychaeta: Sabellidae) on the west coast of Ireland. *Marine Biology*, 143: 919-925.
- Nicol, E. a. T. 1931. The feeding mechanism, formation of the tube, and physiology of digestion in *Sabella pavovina*. *Transactions of the Royal Society of Edinburg*, 56: 537-598.
- Nishi, E. y M. Nishira. 1994. Colony formation via sexual and asexual reproduction in *Salmacina dysteri* (Huxley) (Polychaeta, Serpulidae). *Zoological Science*, 11: 589-595.
- Olivotto, I., M. Planas, N. Simoes, G. J. Holt, M. T. Avella y R. Calado. 2011. Advances in breeding and rearing marine ornamentals. *Journal of the World Aquaculture Society*, 42(2): 135-166.
- Ortiz-Uribe, F. G. 2004. *Diccionario de metodología de la investigación científica*, México, D.F., Limusa.
- Pernet, B. 2001. Escape Hatches for the clonal offspring of serpulid Polychaetes. *Biological Bulletin*, 200: 107-117.
- Pires, A., E. Figueira, J. Moreira, A. M. V. Soares y R. Freitas. 2015. The effects of water acidification, temperature and salinity on the regenerative capacity of the polychaete *Diopatra neapolitana*. *Marine Environment Research* 106: 30-41.
- Quiroz-Martinez, B. y G. Salgado-Maldonado. 2013. Patterns of distribution of the helminth parasites of freshwater fishes of Mexico. *PLoS ONE*, 8(1).
- Riedi, M. A. 2012. *Skeletal allometry, mineralogy, growth and calcification of Galeolaria hystrix and Spirobranchus cariniferus (Polychaeta: Serpulidae), southern New Zealand*. Thesis of Master University of Otago, Dunedin.
- Riedi, M. A. y A. M. Smith. 2014. Tube growth and calcification of two reef-building ecosystem engineers in southern New Zealand: *Galeolaria hystrix* and *Spirobranchus cariniferus* (Polychaeta: Serpulidae). *Marine Geology*, 367: 1-35.
- Robertson, R. y T. Mau-Lastovicka. 1979. The ectoparasitism of *Boonea* and *Fargoa* (Gastropoda: Pyramidellidae). *Biological Bulletin*, 157: 320-333.
- Rouse, G. W. 1999. Polychaete sperm: phylogenetic and functional considerations. *Hydrobiologia*, 402: 215-224.
- Rouse, G. W. 2001. Family Sabellidae. In: ROUSE, G. W. & PLEIJEL, F. (eds.) *Polychaetes*. Oxford: Oxford University Press.

- Rouse, G. W. y K. Fitzhugh. 1994. Broadcasting fables: Is external fertilization really primitive? Sex, size, and larvae in sabellid polychaetes. *Zoologica Scripta*, 23(4): 271-312.
- Rouse, G. W. y F. Pleijel. 2007. Annelida. *Zootaxa*, 1668: 245-264.
- Rousset, V., F. Pleijel, G. W. Rouse, C. Erséus y M. E. Siddal. 2007. A molecular phylogeny of annelids. *Cladistics*, 23: 41-63.
- Sander, F. 1976. The respiratory significance of the *Sabellastarte magnifica* branchial crown. *Comparative Biochemistry Physiology*, 53A: 263-264.
- Schroeder, P. C. y C. O. Hermans. 1975. Annelida: Polychaeta. In: GIESE, A. C. P., J. S. (ed.) *Reproduction of Marine Invertebrates: annelids and echiurans*. London: Academic Press.
- Selim, S. A., F. Abdel Naby, A. a.-F. A. Gab-Alla y A. Ghobashy. 2005. Gametogenesis and spawning of *Spirobranchus tetracerus* (Polychaeta, Serpulidae) in Abu Kir Bay, Egypt. *Mediterranean Marine Science*, 6(1): 89-97.
- Shah, D. U., F. Vollrath, D. Porter, J. Stires y D. Deheyn. 2014. Housin tubes from the marine worm *Chaetopterus* sp.: biomaterials with exceptionally broad thermomechanical properties. *Journal of The Royal Society Interface*, 11: 1-12.
- Stabili, L., R. Schirosi, M. Licciano y A. Giangrande. 2009. The mucus of *Sabella spallanzanii* (Annelida, Polychaeta): Its involvement in chemical defence and fertilization success. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 374(2): 144-149.
- Suárez-Morales, E., S. Jiménez-Cueto y S. I. Salazar-Vallejo 2005. *Catálogo de los Poliquetos Pelágicos (Polychaeta) del Golfo de México y Mar Caribe Mexicano*, CONACYT, SEMARNAT & ECOSUR. México. 99 p.
- Tamaru, C. S., H. Ako, A. Baker, D. R. Bybee, K. Brittain y M. Nguyen. 2011. Growth and survival of juvenile feather duster worms, *Sabellastarte spectabilis*, fed live and preserved algae. *Journal of the World Aquaculture Society*, 42(1): 12-23.
- Tamaru, C. S., D. R. Bybee y K. Brittain. 2008. Update on the artificial propagation of the feather duster worm (*Sabellastarte spectabilis*). *Regional notes of center for tropical and subtropical aquaculture*, 19(3): 1-6.
- Tibdall, J. G. 1984. Cnidaria: Secreted Surface. In: BEREITER-HAN, J., MATOLTSY, A. G. & RICHARDS, K. S. (eds.) *Biology of the Integument 1 Invertebrates*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Toonen, R. J. y J. R. Pawlik. 2001. Settlement of the gregarious tube worm *Hydroides dianthus* (Polychaeta: Serpulidae). I. Gregarious and nongregarious settlement. *Marine Ecology Progress Series*, 224(19): 103-114.
- Tovar-Hernández, M. A. 2009. Sabellidae Latreille, 1825 42:489-520. In: DE LEÓN-GONZÁLEZ, J. A., BASTIDA-ZAVALA, J. R., CARRERA-PARRA, L. F., GARCÍA-GARZA, M. E., PEÑA-RIVERA, A., SALAZAR-VALLEJO, S. I. & SOLIS-WEISS, V. (eds.) *Poliquetos (Annelida: Polychaeta) de México y América Tropical*. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México, 73 pp.
- Tovar-Hernández, M. A. y H. Dean. 2014. A new gregarious sabellid worm from the Gulf of California reproducing by spontaneous fission (Polychaeta, Sabellidae). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*: 1-12.

- Tovar-Hernández, M. A., N. Méndez y J. Salgado-Barragán. 2009. Branchiomma bairdi: a Caribbean hermaphrodite fan worm in the south-eastern Gulf of California (Polychaeta: Sabellidae). *Marine Biodiversity Records*, 2: 1-8.
- Tovar-Hernández, M. A. y A. Pineda-Vera. 2008. Taxonomía y estrategias reproductivas del poliqueto sabélido *Bispira brunnea* (Treadwell, 1917) del Caribe mexicano. *Ciencia y Mar*, XI(33): 3-14.
- Tovar-Hernández, M. A. y P. Salazar-Silva. 2008. Catalogue of Sabellidae (Annelida: Polychaeta) from the Gran Caribbean Region. *Zootaxa*, 1894: 1-22.
- Tovar-Hernández, M. A., P. Salazar-Silva, J. A. De León-González, L. F. Carrera-Parra y S. I. Salazar-Vallejo. 2014. Biodiversidad de Polychaeta (Annelida) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85: 190-196.
- Tovar-Hernández, M. A. y S. I. Salazar-Vallejo. 2006. Sabellids (Polychaeta: Sabellidae) from the Grand Caribbean. *Zoological Studies*, 45(1): 24-66.
- Tovar-Hernández, M. A., B. Yáñez-Rivera y J. L. Bortolini-Rosales. 2011. Reproduction of the invasive fan worm *Branchiomma bairdi* (Polychaeta: Sabellidae). *Marine Biology Research*, 7(7): 710-718.
- Trujillo-Luna, B. R. y N. E. González-Vallejo. 2006. Echinoderms (Echinodermata) in the Reference Collection of Coastal Benthos in Ecosur. *Universidad y Ciencias Tropico Húmedo*, 22(1): 83-88.
- Villegas-Sánchez, C. A., R. Rivera-Madrid y J. E. Arias-González. 2010. Small-scale genetic connectivity of Bicolor damselfish (*Stegastes partitus*) recruits in Mexican Caribbean reefs. *Coral Reefs*, 29: 1023-1033.
- Wabnitz, C., M. Taylor, E. Green y T. Razak 2003. *From ocean to aquarium. The global trade in marine ornamental species*, UNEP-WCMC. Cambridge, UK.
- Welsch, U. 2008. *Histología*, España, Editorial Medica Panamericana.
- Wessenberg-Lund, E. 1958. Lesser Antillean Polychaetes, chiefly from brackish water, with a survey and a bibliography of fresh and brackish-water polychaetes. *Studies on the Fauna of Curacao and other Caribbean Islands*, 8: 1-41.
- Wild, C., M. Huettel, A. Klueter, S. G. Kremb, R. M.Y.M. y B. B. Jörgensen. 2004. Coral mucus functions as an energy carrier and particle trap in the reef ecosystem. *Nature*, 428(4): 66-70.
- Wilson, E. A., E. N. Powell y S. M. Ray. 1988. The effect of the ectoparasitic pyramidellid snail, *Boonea impressa*, on the growth and health of oysters, *Crassostrea virginica*, under field conditions. *Fishery Bulletin*, 86(3): 553-566.
- Yáñez-Rivera, B. y N. Méndez. 2014. Regeneration in the stinging fireworm *Eurythoe* (Annelida): Lipid and triglyceride evaluation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 459: 137-143.

10. Anexos

Tabla 1. Procesamiento de tejidos para cortes en paraplast. Modificado de Campuzano-Caballero, 2010.

Temperatura ambiente	Deshidratación con alcoholes graduales: 1. Alcohol 50% 2. Alcohol 70% 3. Alcohol 80% 4. Alcohol 96% 5. Alcohol 100%-Xilol Aclaración: 6. Xilol
Temperatura 56-58°C	Inclusión en paraplast: 7. Paraplast-Xilol 8. Paraplast I 9. Paraplast II

Tabla 2. Agregaciones correspondientes a octubre (2013), febrero (2014) y marzo (2014), cada una con el número total de juveniles y adultos.

Número de agregación	Mes de colecta	Número de juveniles	Número de adultos	Número total de individuos
I	octubre 2013	5	51	56
II	octubre 2013	4	30	34
III	octubre 2013	4	26	30
IV	octubre 2013	4	33	37
V	octubre 2013	5	27	32
VI	febrero 2014	2	27	29
VII	febrero 2014	5	19	24
VIII	febrero 2014	7	26	33
IX	marzo 2014	9	30	39
X	marzo 2014	8	33	41
Total		53	302	355

Tabla 3. Morfometría de juveniles y adultos. Se indica el rango, la media y la desviación estándar para cada medida.

Medición	Juveniles (n=28)	Adultos (n=204)
Longitud de la corona	3.5-11 mm 7.30 ± 1.76 mm	5-20 mm 12.45 ± 3.13 mm
Número de radiolos	18-24 radiolos 21 ± 2.27 radiolos	18-28 radiolos 23.56 ± 2.37 radiolos
Largo del cuerpo (del tórax al pigidio)	6-12 mm 9.25 ± 1.75 mm	8-30 mm 18.73 ± 5.13 mm
Ancho del tórax	0.5-2.5 mm 1.20 ± 0.50 mm	1-2.8 mm 1.88 ± 0.38 mm
Tórax (# segmentos)	9-14 segmentos 11.14 ± 1.17 segmentos	7-15 segmentos 11.81 ± 1.45 segmentos
Abdomen (# segmentos)	12-32 segmentos 22.32 ± 5.43 segmentos	13-49 segmentos 29.71 ± 5.71 segmentos

Tabla 4. Modos reproductivos de *B. brunnea*. *La proporción mostrada incluye a individuos que presentan fisión (ya sea pre o post-fragmentación) y que al mismo tiempo presentan gametos (sexualmente reproductivos).

Agregación	Número de individuos	Proporción de juveniles	Proporción de individuos sexualmente reproductivos			Proporción de individuos reproduciéndose asexualmente*	
			Hembras	Machos	Hermafroditas	Pre-fragmentación	Post-fragmentación
I	56	8.92%	28.57%	44.64%	17.85%	15.68%	11.76%
II	34	11.76%	29.41%	20.58%	8.82%	36.66%	26.66%
III	30	13.36%	20%	36.66%	30%	34.61%	19.23%
IV	37	10.81%	35.13%	21.62%	32.43%	39.39%	9.09%
V	32	15.62%	50%	15.62%	18.75%	18.51%	11.11%
VI	29	6.89%	17.24%	44.82%	31.03%	14.81%	14.81%
VII	24	20.83%	16.66%	54.16%	8.33%	31.57%	31.57%
VIII	33	21.21%	30.76%	46.15%	23.07%	26.92%	46.15%
IX	39	23.07%	26.66 %	20%	13.33%	30%	53.33%
X	41	19.51%	42.42%	33.33%	24.24%	42.42%	27.27%
Promedio	35.5	5.3	10	11.1	6.9	8.6	7.2
Desviación estándar	±8.75	±2.11	±4.46	±5.68	±3.24	±3.30	±4.18

Tabla 5. Diferencias entre juveniles producidos sexualmente vs brotes producidos asexualmente en las primeras etapas de desarrollo

	Modo sexual	Modo asexual
Lugar dónde se encontraron	Dentro de sus propios tubos, adheridos a la base de la agregación	Dentro del tubo del organismo parental
Apariencia general	Como adultos, excepto por la talla (pequeños, enanos)	Gusanos o fragmentos anormales
Corona branquial	Completa: con radiolos, pínulas, labios dorsales y ventrales bien desarrollados	Sin corona o reminiscente: radiolos rudimentarios, variables en tamaño y en desarrollo. Algunos con pínulas cortas. Sin labios dorsales o ventrales
Segmentos torácicos	Cada uno con notosetas (setas) y neurosetas (uncinos), excepto en el segmento del collar, donde, de manera general en Sabellidae, sólo hay notosetas	Principalmente carecen de ellos, aunque algunos presentan un número reducido de segmentos torácicos. En el último caso, los segmentos no presentan neurosetas (uncinos), en su lugar presentan otro setífero; es decir, dos grupos de notosetas en el mismo segmento



Figura 1. Agregaciones de *B. brunnea* en el Caribe mexicano. A, D) Variedad blanca. B-C) Variedad bandeada. Fotografías: Humberto Bahena-Basave.

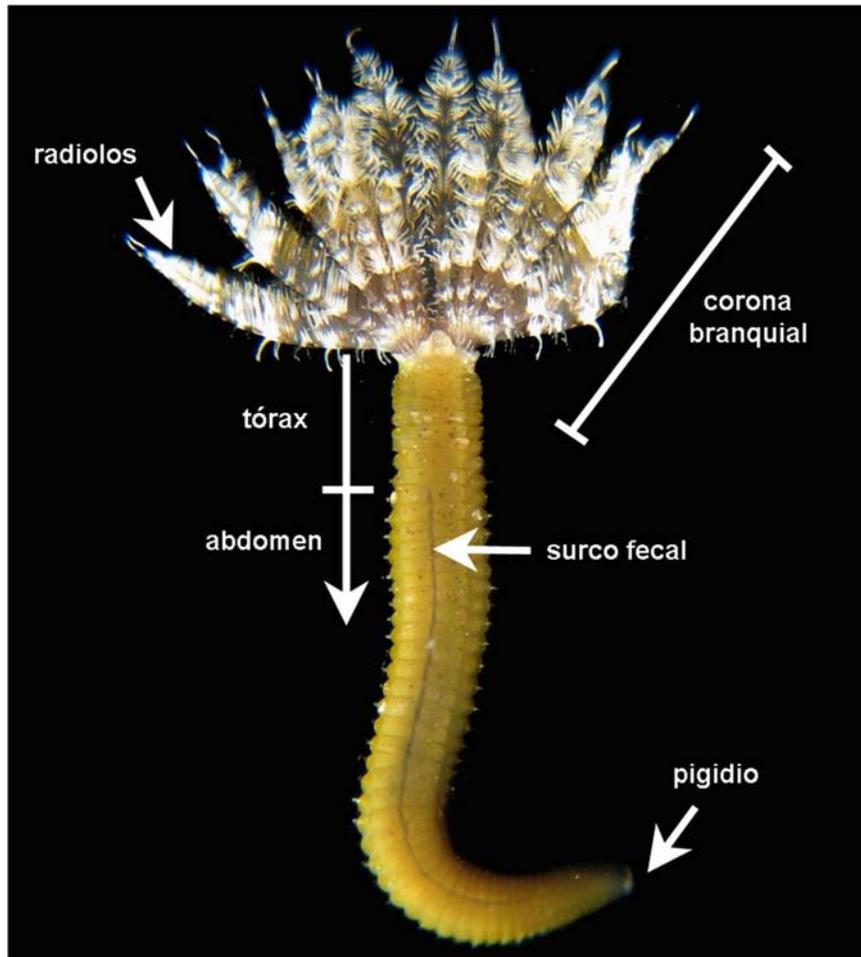


Figura 2. Estructuras generales de un sabélido. Modificado de Tovar-Hernández, 2009

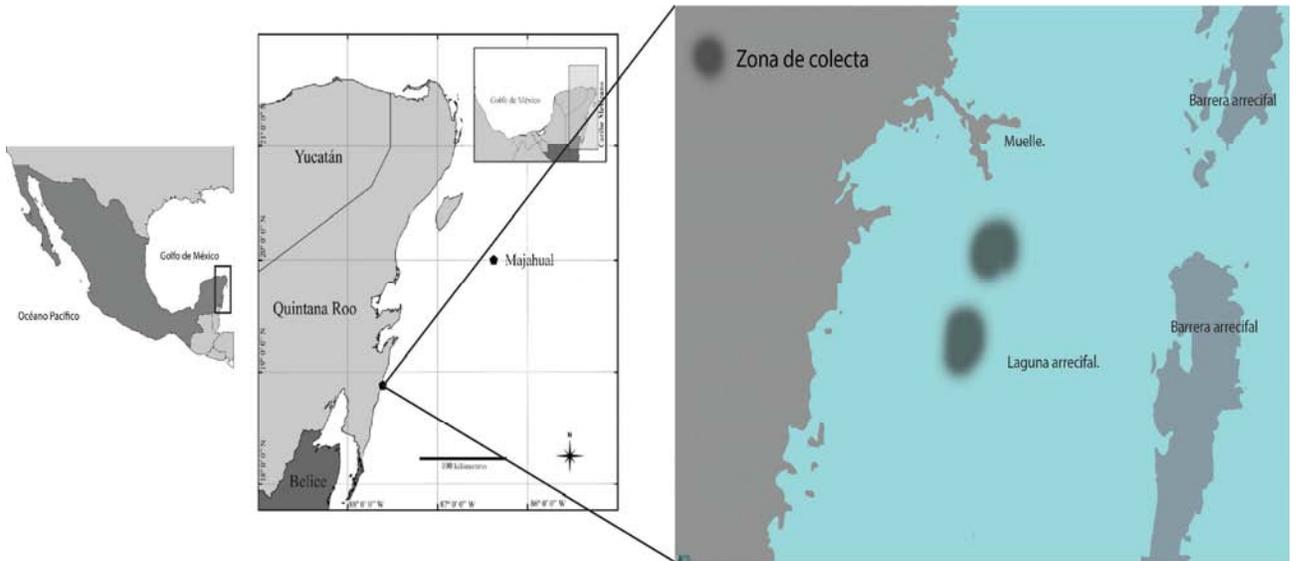


Figura 3. Mapa de Majahual, Q. Roo. Modificado de González-Muñoz *et al.*, 2012

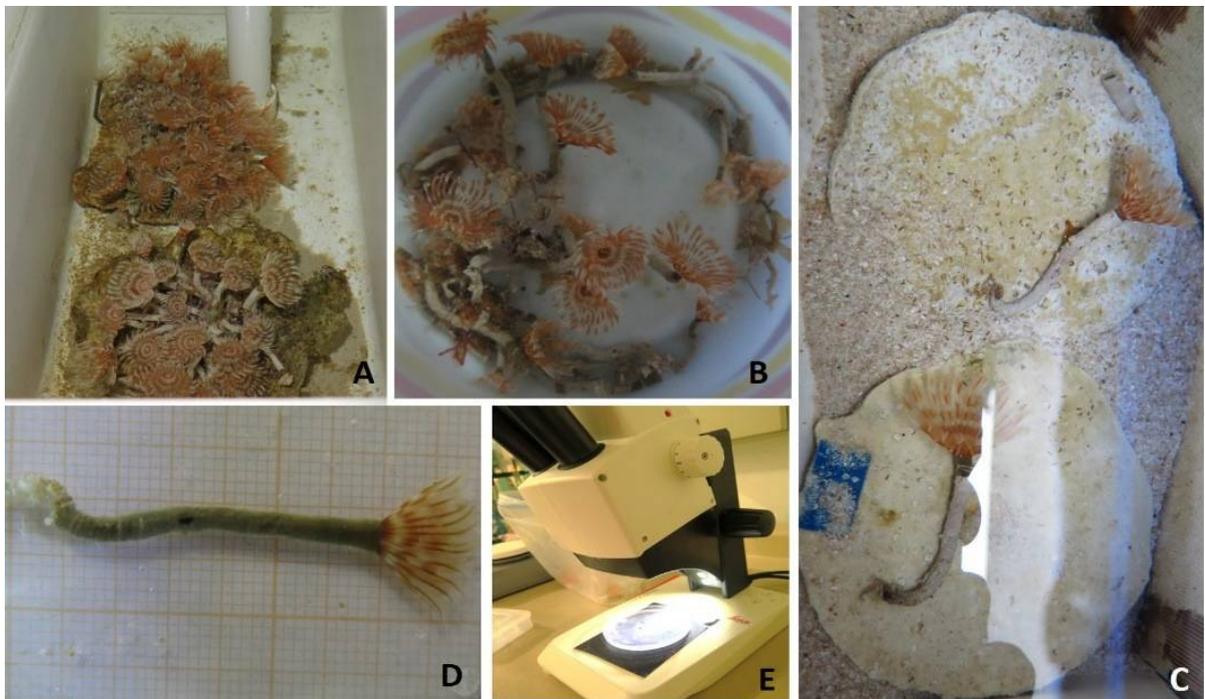


Figura 4. Fotografías del proceso para la tasa de crecimiento, reconstrucción del tubo y descripción de la reproducción asexual (fisión espontánea) en *B. brunnea*. A) Agregaciones en acuarios de cuatro litros en sistemas de recirculación. B) Gusanos separados de las agregaciones. C) Acomodo de los gusanos dentro de los acuarios. D-E) Medición individual de los gusanos y observación bajo microscopio estereoscópico.

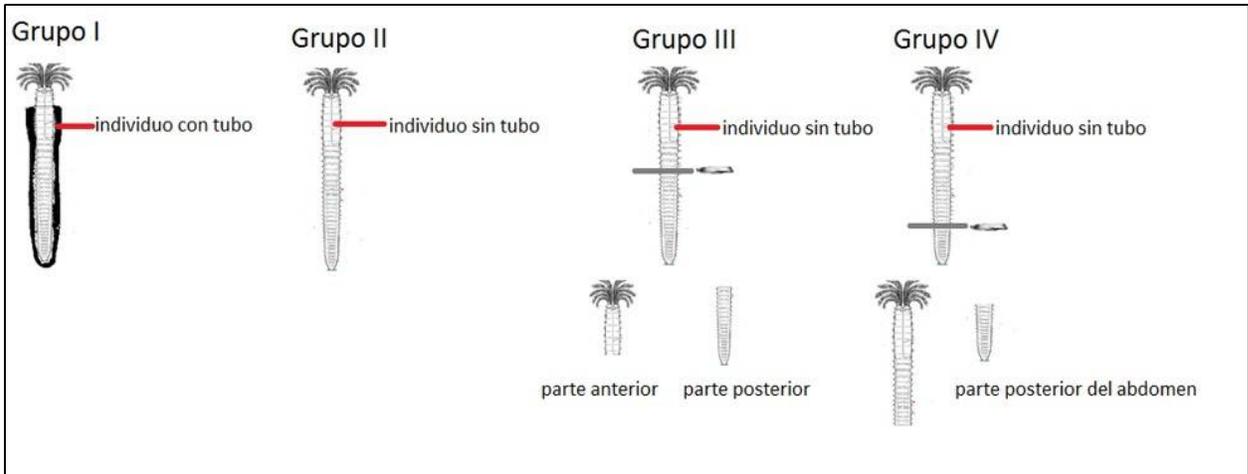


Figura 5. Esquema del experimento de regeneración en *B. brunnea*. Grupo I: Individuo con tubo; Grupo II: individuo sin tubo; Grupo III: individuo sin tubo, con corte transversal en la región media del cuerpo: parte anterior y posterior; Grupo IV: individuo sin tubo, con corte transversal en la región posterior del cuerpo: parte anterior y abdomen posterior.

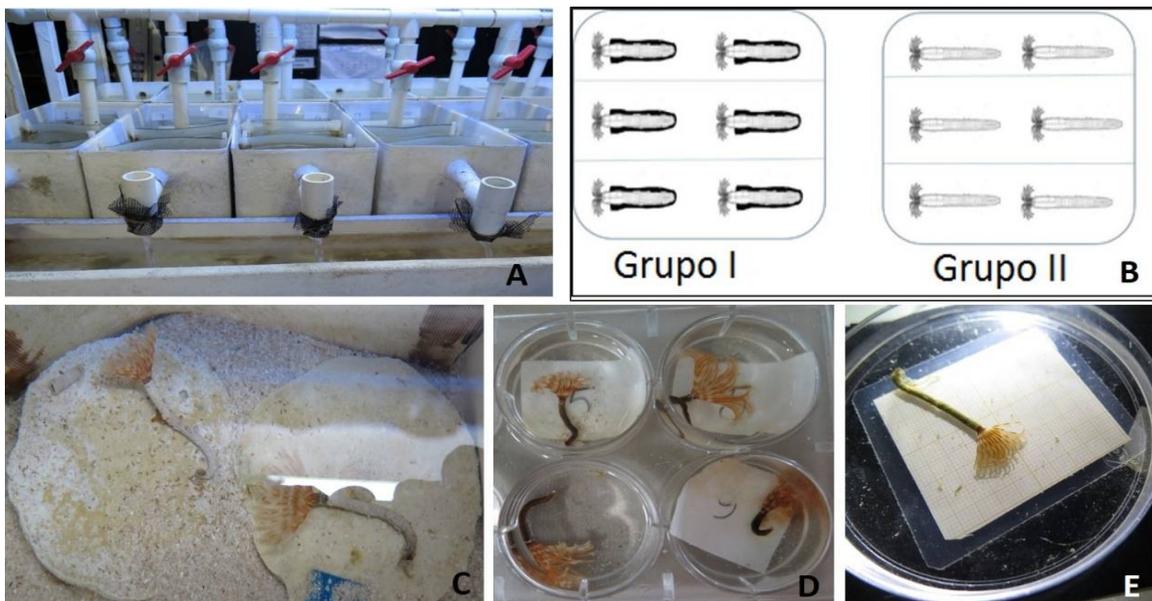


Figura 6. Efecto del estrés en *B. brunnea* (arreglo de los grupos I y II). A) Sistema de acuarios individuales de cuatro litros en recirculación. B) Arreglo de cada uno de los grupos dentro de los acuarios, grupo I con seis individuos con tubo por acuario; grupo II con seis individuos sin tubo, por acuario. C) Acomodo de los gusanos en el acuario. D-E) Revisión de cada uno de los gusanos y observación bajo el microscopio estereoscópico

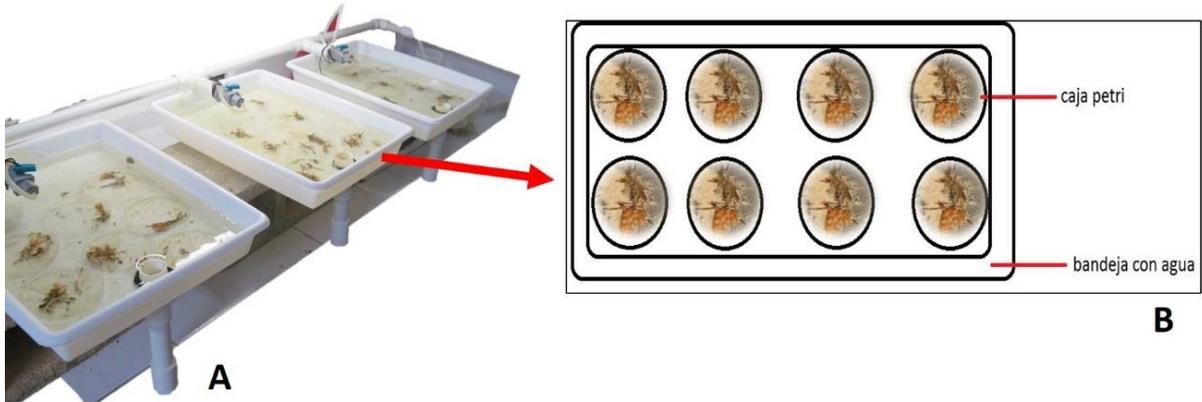


Figura 7. Cambios morfológicos asociados a procesos regenerativos en *B. brunnea*. A) Recipientes con agua de mar en recirculación y poco flujo a 26 ° C de temperatura y 35 ups. B) Arreglo de los grupos III y IV: cada caja Petri contiene un individuo fragmentado en parte anterior y parte posterior. En el grupo III el corte es a la mitad; en el grupo IV el corte es en los últimos segmentos del abdomen. En total se utilizaron 48 cajas petri en seis bandejas.

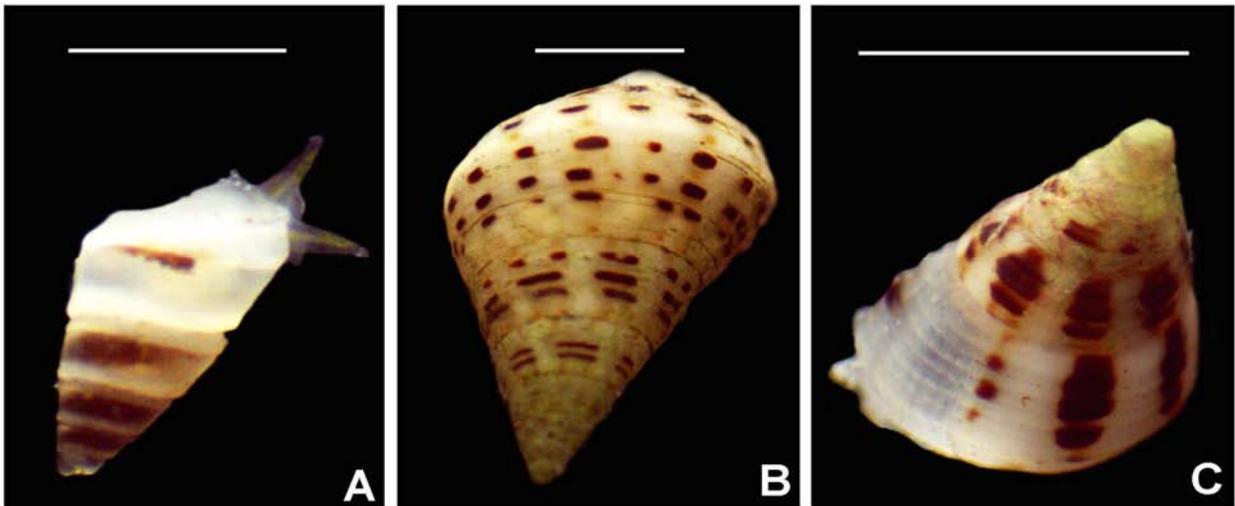


Figura 8. Especies de moluscos eulímidos asociadas a las agregaciones de *B. brunnea*. A) *Odostomia (Eulimastoma) caniculata*, B) *Cerittium literatum*, C) *Turbo (Marmarostoma) castanea*. Barras de escalas: 1 mm.

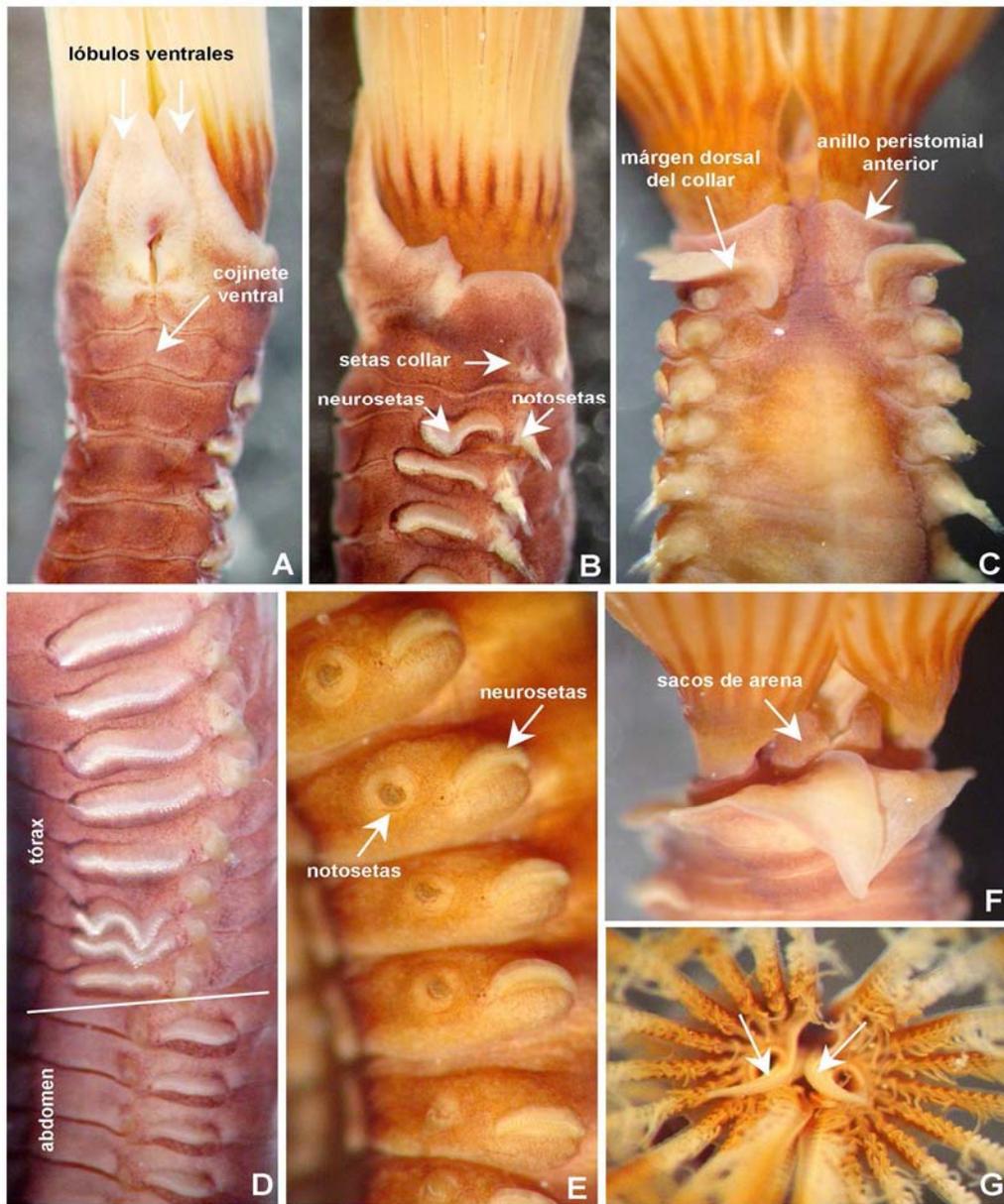


Figura 9. Adultos de *B. brunnea* con fotografía digital. A) Collar y segmentos torácicos en vista ventral. B) Collar y segmentos torácicos en vista lateral. C) Collar y segmentos torácicos en vista dorsal. D) Transición del tórax y abdomen en vista lateral. E) Distribución de las setas en el abdomen. F) Collar en vista ventral mostrando los sacos de arena. G) Base de la corona branquial y labios dorsales señalados con flechas.

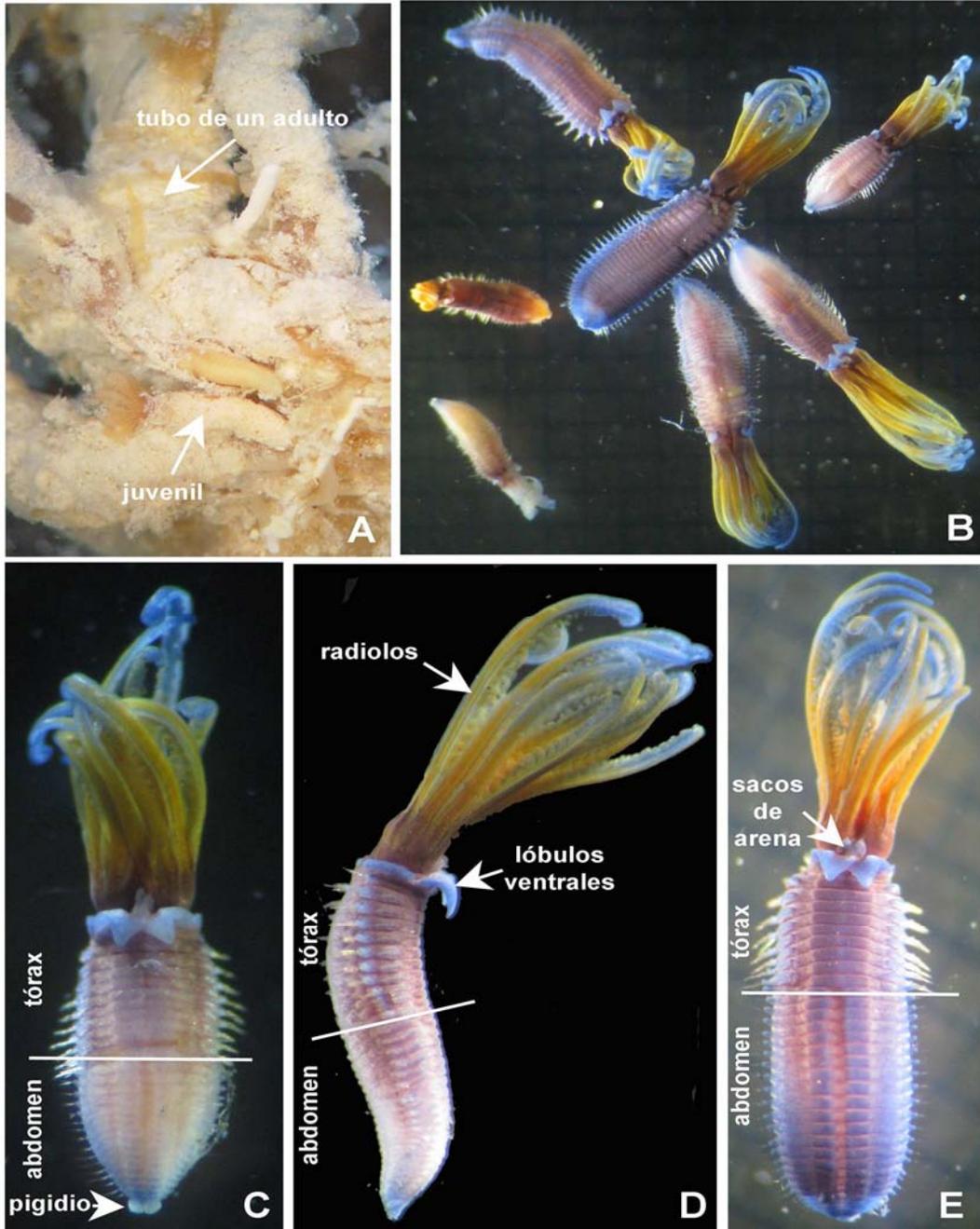


Figura 10. Juveniles de *B. brunnea* con fotografía digital. A) Ubicación de un juvenil en la base de la agregación, adherido al tubo de un adulto. B) Juveniles de diferente talla. C, E) Juveniles en vista ventral. D) Juvenil en vista lateral. Las líneas transversales en C-E muestran la división entre el tórax y el abdomen. Los juveniles en B-E fueron teñidos con Shirla Stain A.

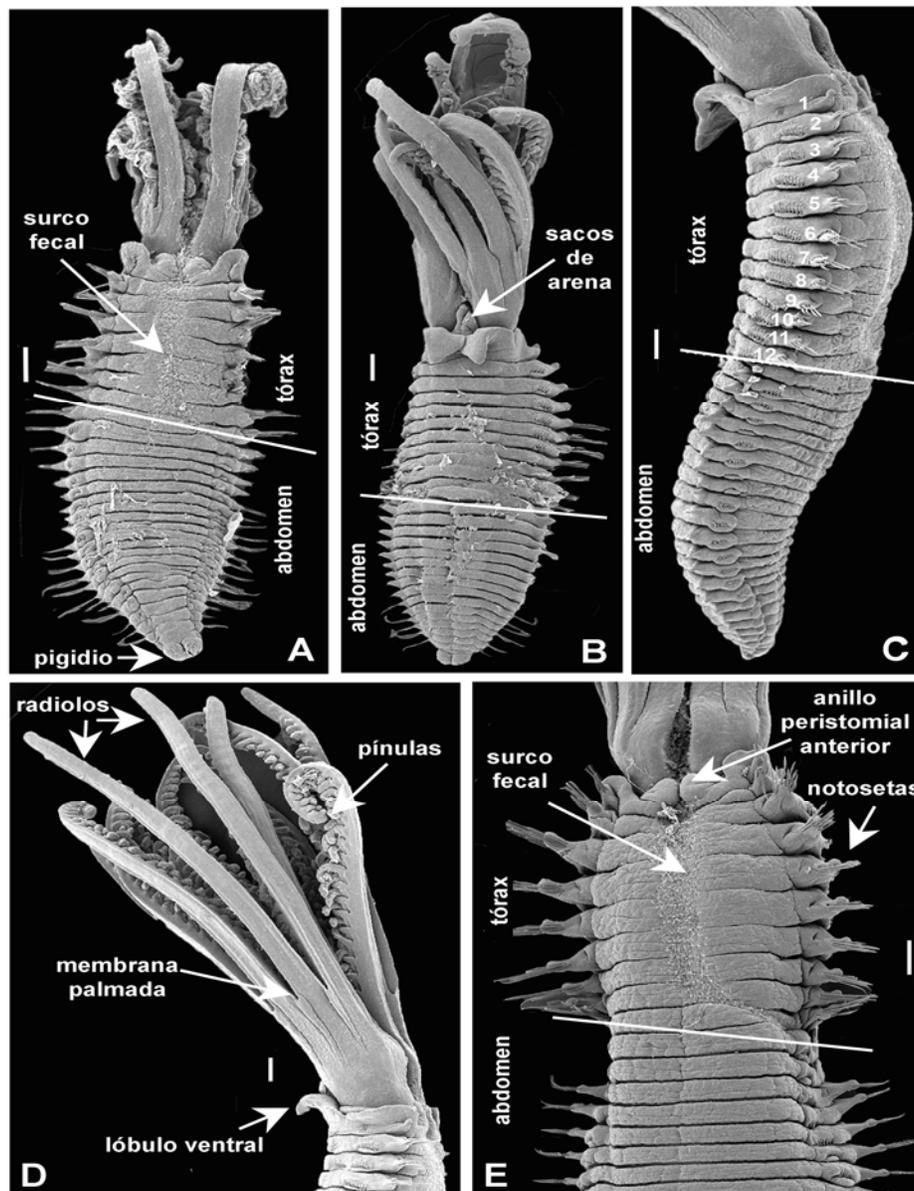


Figura 11. Juveniles de *B. brunnea* con microscopía electrónica de barrido. A) Vista dorsal del gusano completo. B) Vista ventral del gusano completo. C) Vista lateral del tórax y abdomen. D) Corona branquial. E) Tórax y segmentos abdominales anteriores. Barras de escalas: A-E) 100 μ m. Líneas diagonales continuas en A-C, E indican la transición entre el tórax y el abdomen

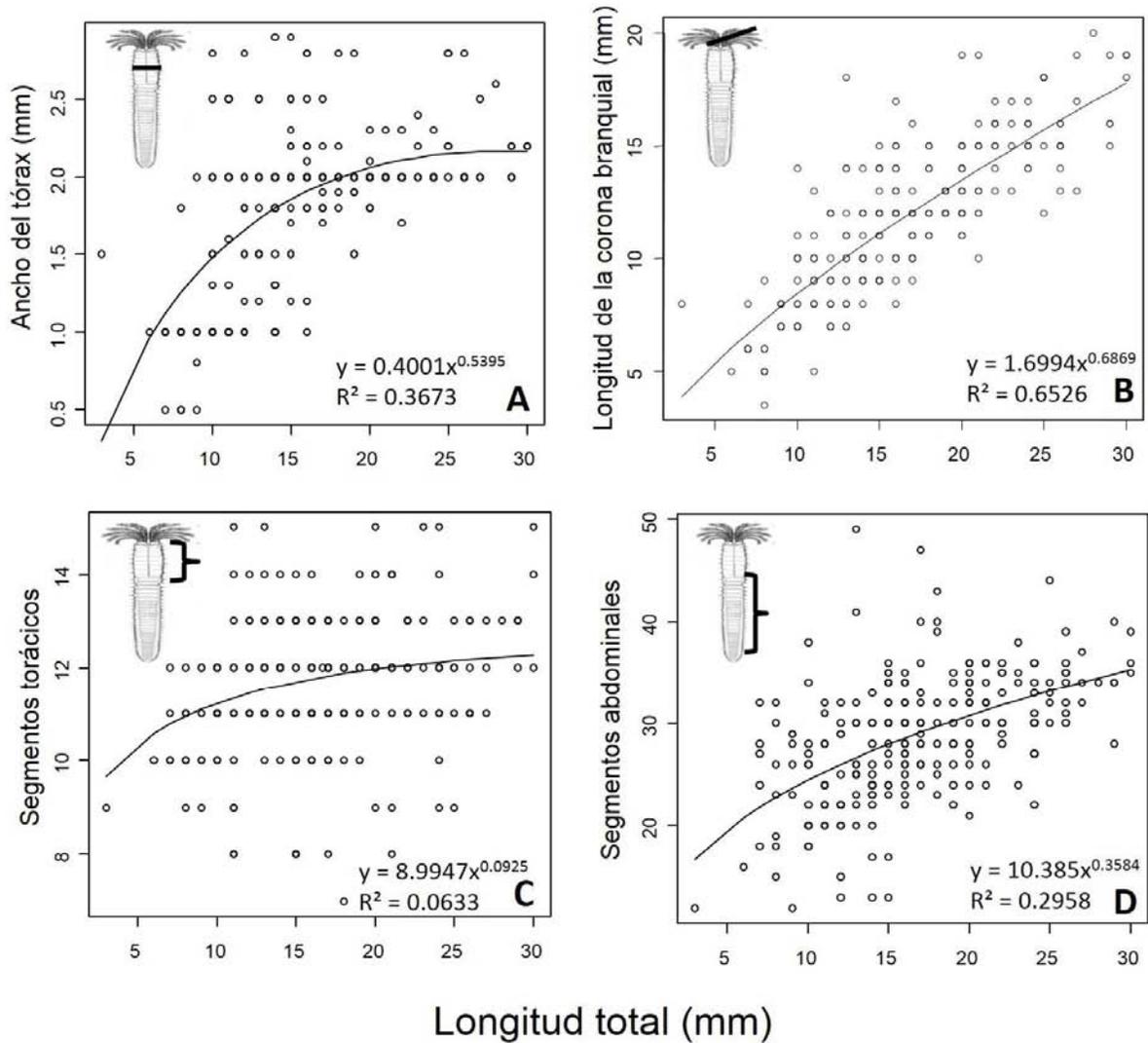


Figura 12. Coeficiente de determinación (R^2) de los rasgos biométricos de *B. brunnea*. A) Longitud total del cuerpo con ancho del tórax. B) Longitud total del cuerpo con longitud de la corona branquial. C) Longitud total del cuerpo con segmentos torácicos. D) Longitud total del cuerpo con segmentos abdominales. En cada uno de los rasgos biométricos se ajustó una curva potencial

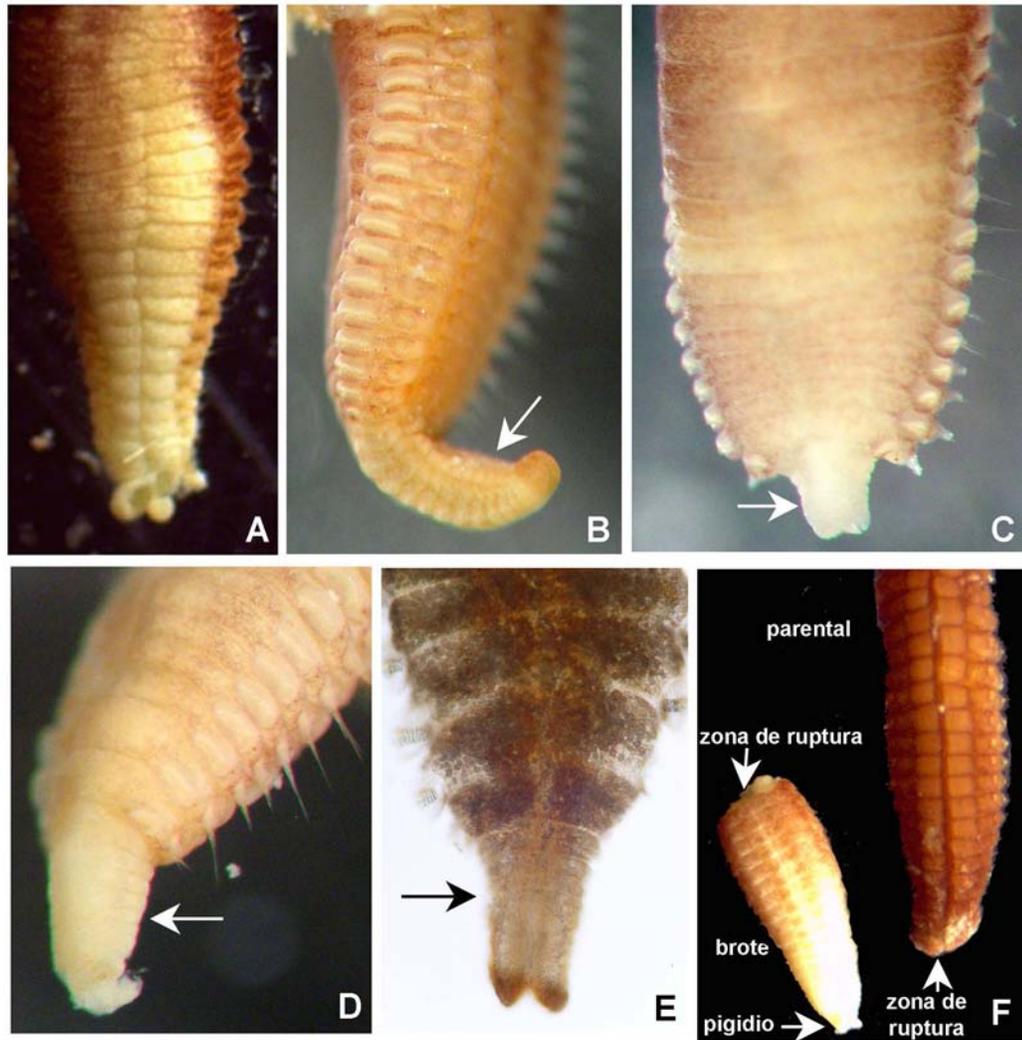


Figura 13. Reproducción asexual en *B. brunnea* con fotografía digital. A-E) Pre-fragmentación: adelgazamiento abrupto indicado con flechas y atenuación del color en la región posterior del gusano. F) Post-fragmentación: el individuo parental liberó el brote quedando la zona de ruptura plana.

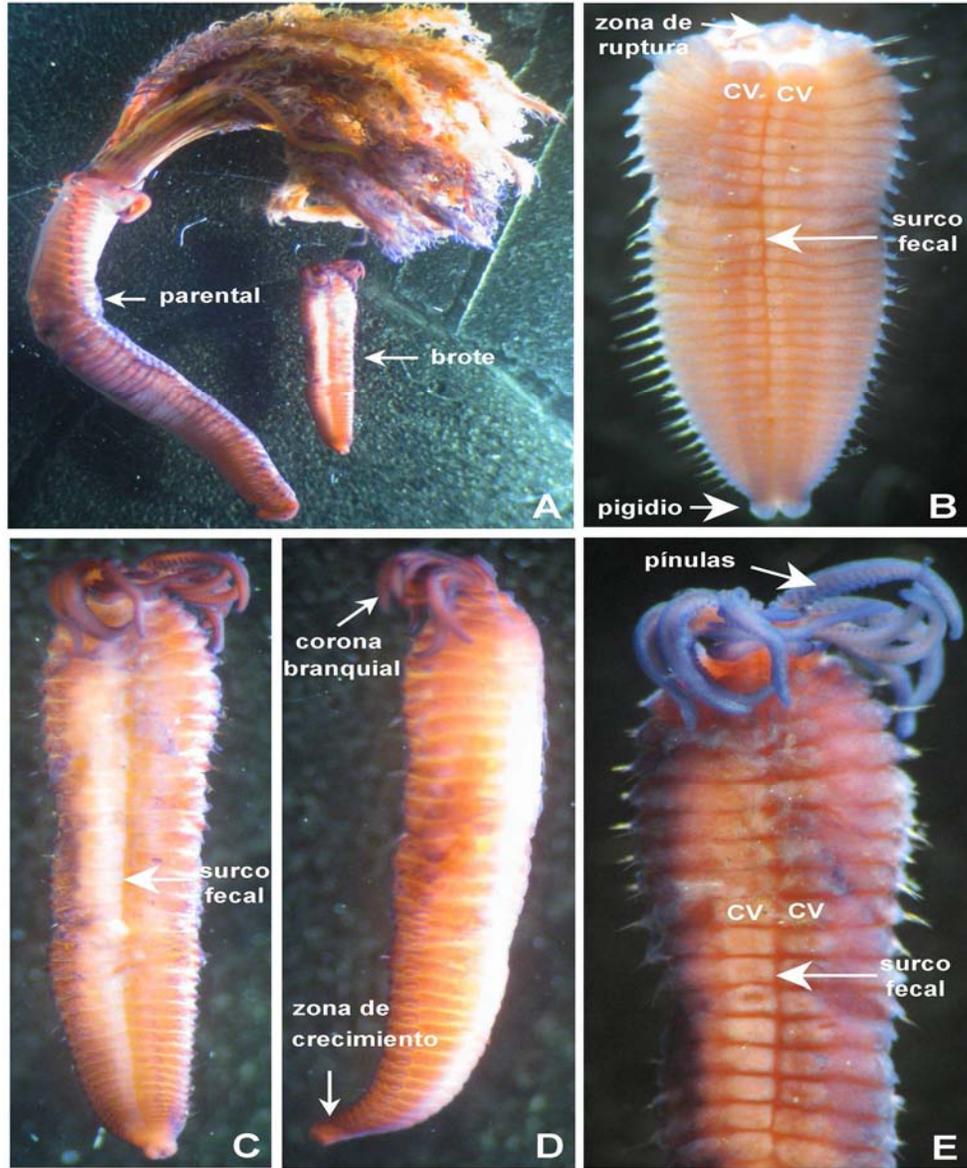


Figura 14. Brotes de *B. brunnea* producidos asexualmente con fotografía digital. A) Organismo parental y brote, encontrados ambos dentro del mismo tubo. B) Brote post-fragmentación extraído dentro del mismo tubo que el parental en estado de regeneración 1. C-E) Diferentes vistas de un brote en estado de regeneración 2. Abreviación: cv) cojinete ventral.

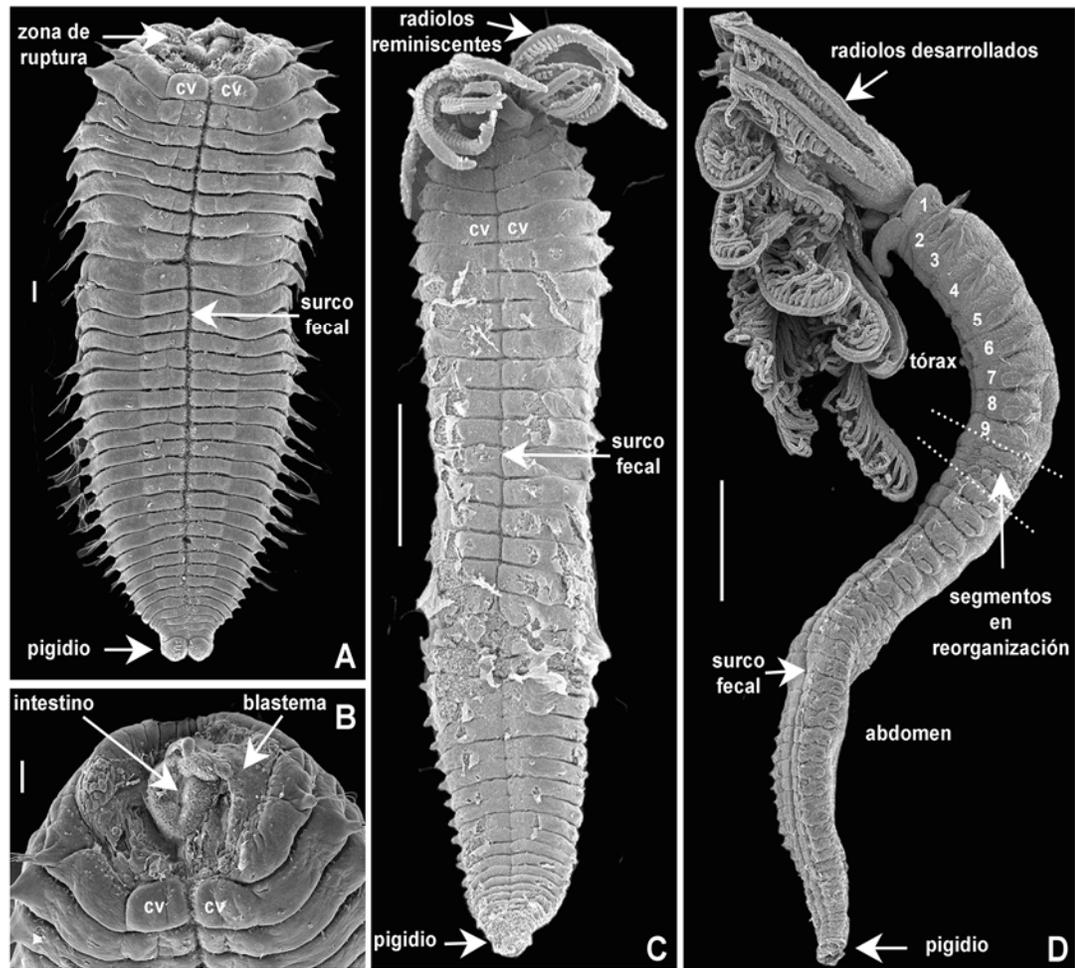


Figura 15. Juveniles de *B. brunnea* producidos por fisión espontánea y subsecuente regeneración con microscopía electrónica de barrido. A) Fragmento abdominal separado naturalmente del progenitor (estado de regeneración 1). B) Detalle de la zona de ruptura. C) Juvenil extraído del tubo parental (estado de regeneración 2). D) Regeneración completa (estado de regeneración 3). Barras de escalas: A-B) 100 μ m, C-D) 1 mm. Abreviación: cv) cojinete ventral. En D las líneas diagonales semi-continuas muestran la reorganización de los segmentos entre el tórax y el abdomen, y en números, se indican los segmentos torácicos.

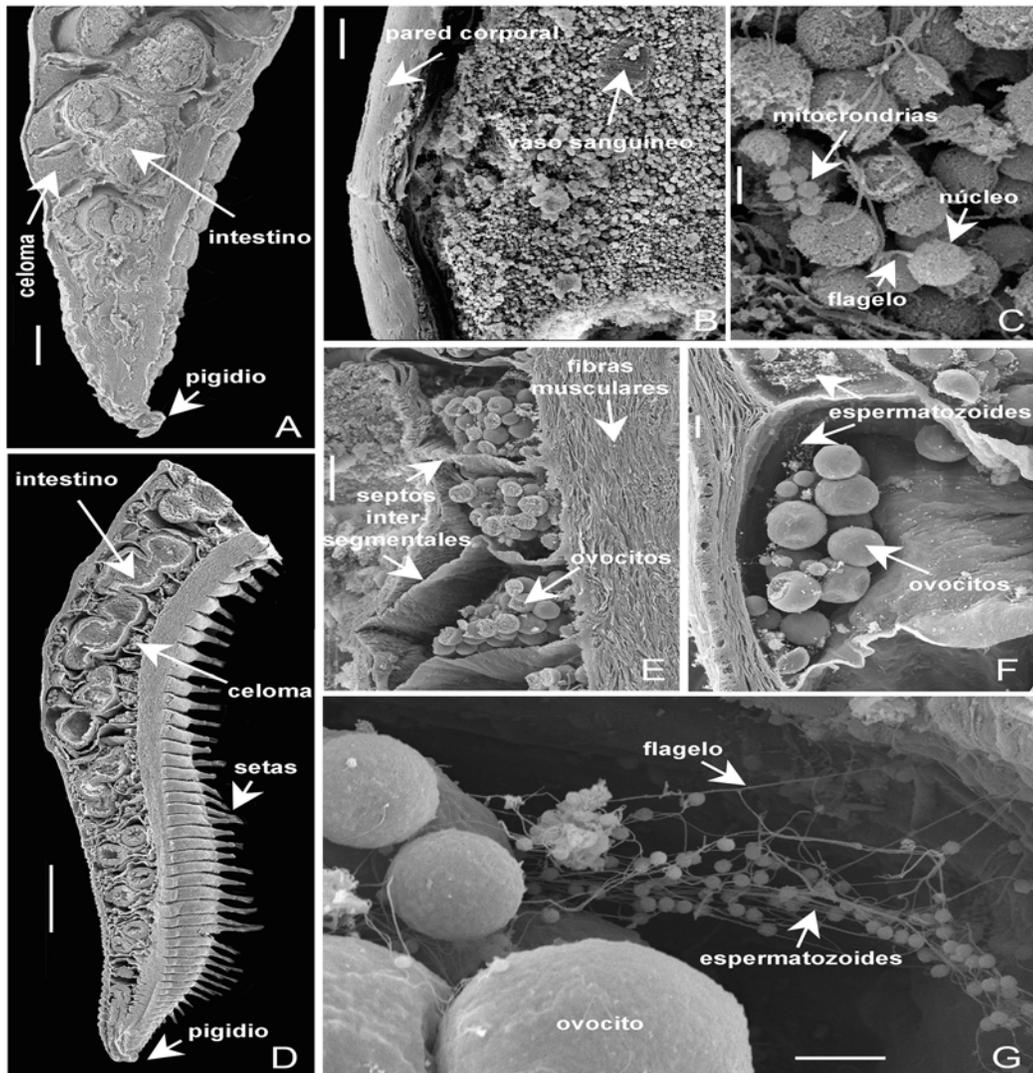


Figura 16. Distribución y morfología de gametos de *B. brunnea* con microscopía electrónica de barrido. A) Sección longitudinal de un macho en el abdomen posterior mostrando el celoma lleno de tejido espermático. B) Detalle de tejido espermático extraído de A. C) Espermatozoides. D) Sección longitudinal del abdomen de un hermafrodita mostrando los paquetes de gametos dentro del celoma. E) Gametos femeninos en los septos intersegmentales. F) Óvulos y espermatozoides de un hermafrodita simultáneo. G) Detalle de óvulos y espermatozoides de un hermafrodita. Barras de escalas: A) 300 μm , B) 20 μm , C) 2 μm , D) 1 mm, E) 100 μm , F) 20 μm , G) 10 μm .

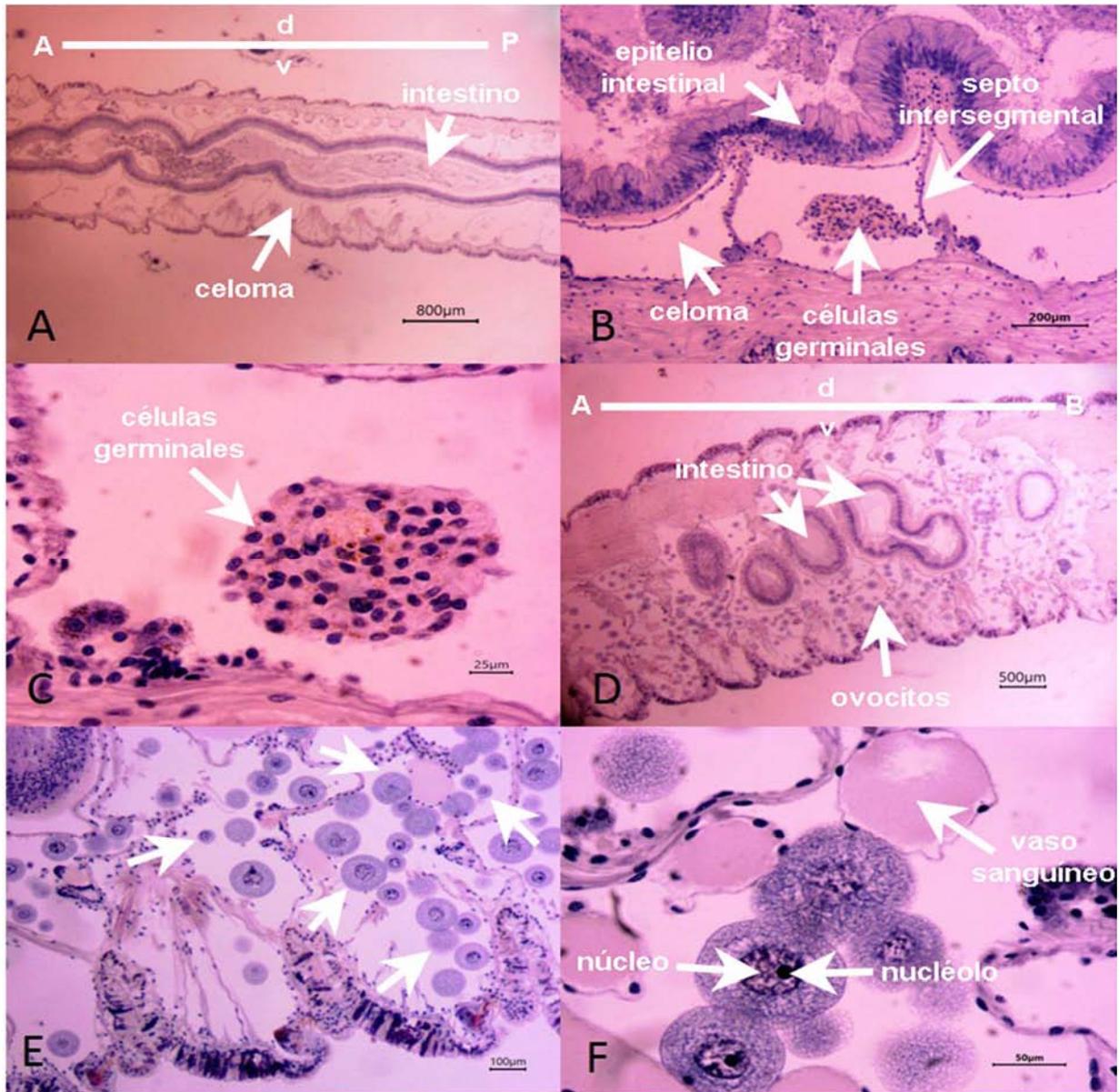


Figura 17. Cortes histológicos que muestran la ovogénesis en *B. brunnea*. A) Estado 1: celoma sin células germinales o gametos. B-C) Estado 2: previtelogénesis, primeras células germinales presentes en el celoma. D) Estado 3: vitellogénesis con un incremento en el número de ovocitos en el celoma. E-F) Estado 4: ovocitos con un núcleo definido y células germinales en el celoma. En A y D se incluye el plano de corte, donde: A indica la zona anterior y P la zona posterior, d la zona dorsal y v la zona ventral. Las flechas en E apuntan señalan los ovocitos en distinto grado de desarrollo.

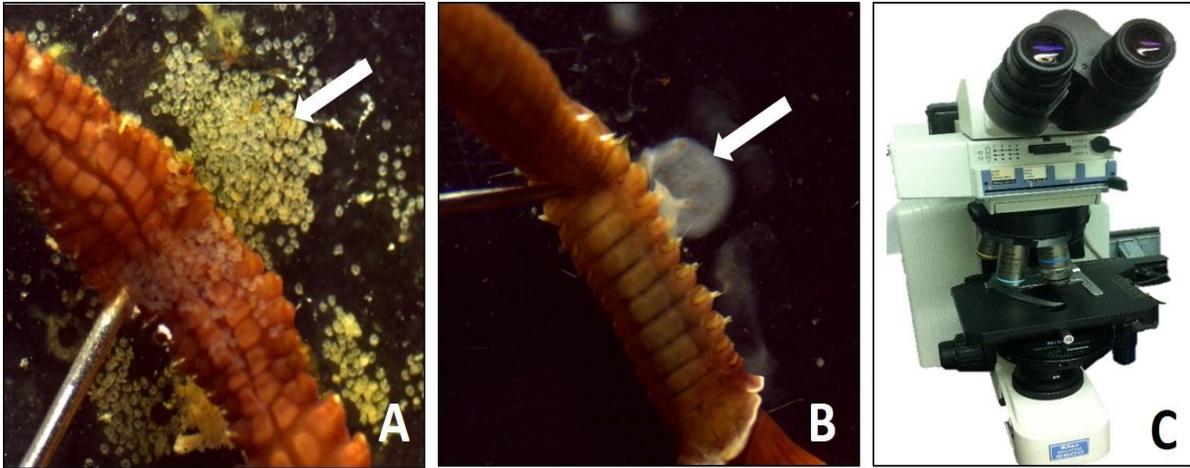


Figura 18. Método mecánico de punción. A) Desove de una hembra. B) Desove de un macho. C) Observación bajo microscopio óptico Nikon Eclipse Ci. La flecha en A y B señalan los ovocitos y los espermatozoides, respectivamente.

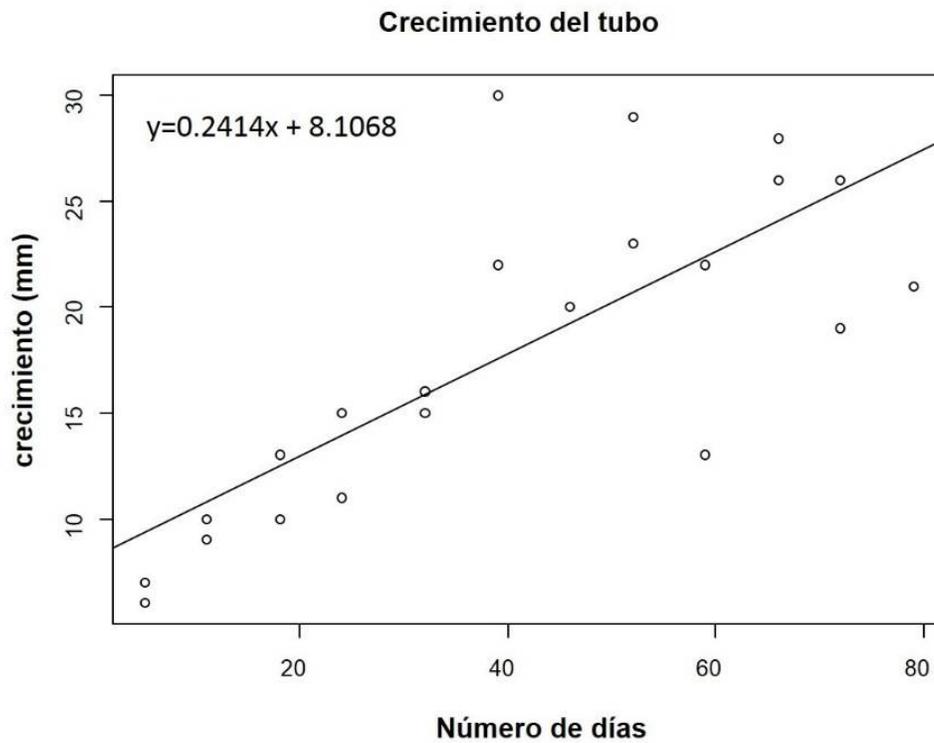


Figura 19. Gráfica de crecimiento del tubo de *B. brunnea* durante un periodo de 79 días realizada con el programa R. Se hizo un ajuste lineal y se obtuvo la función para el crecimiento.

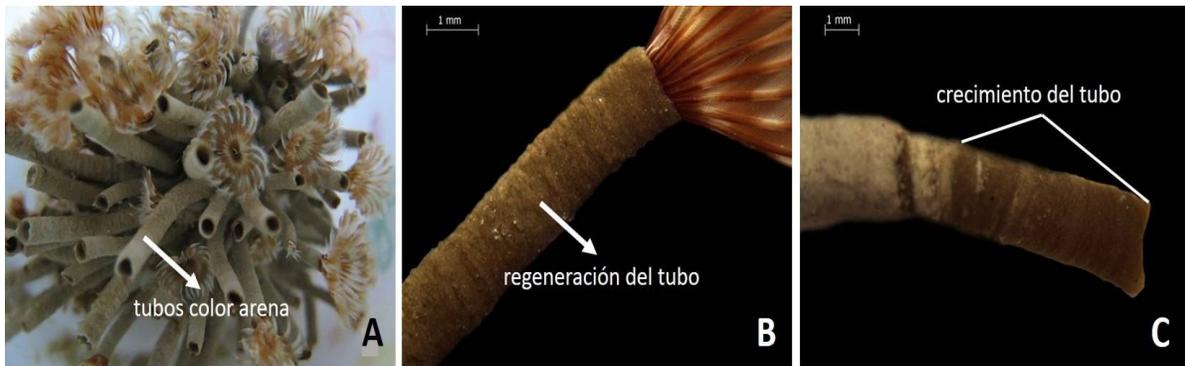


Figura 20. Crecimiento y reconstrucción del tubo de *B. brunnea*. A) Agregación mostrando los tubos de color arena en su ambiente natural. B) Reconstrucción completa del tubo en cautiverio, color verde-pardo. C) Crecimiento del tubo en condiciones de cautiverio, zona adelgazada verde-pardo.

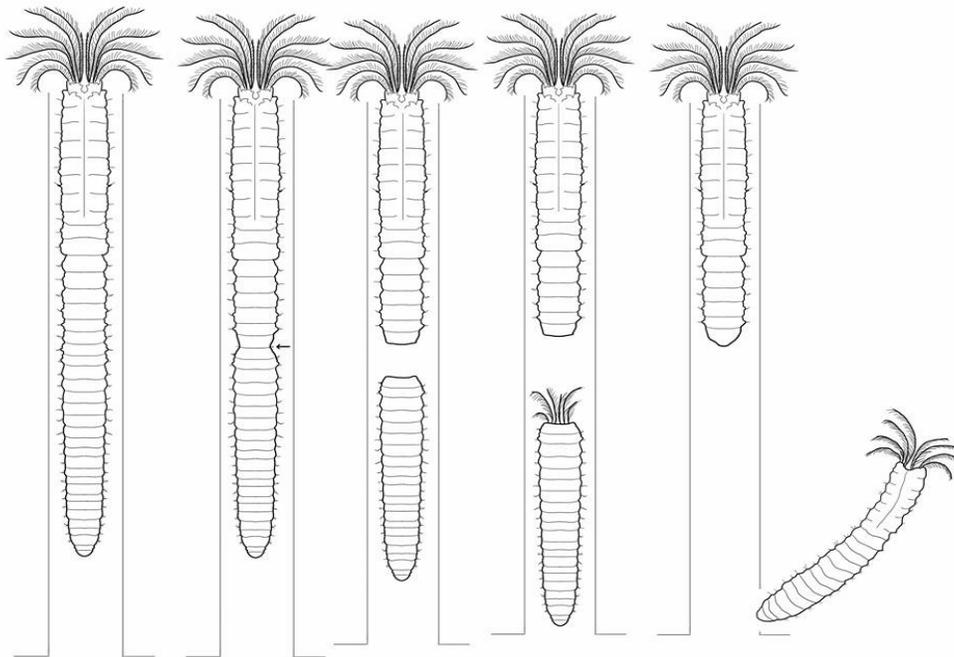


Figura 21. Ilustración del proceso de la reproducción asexual por fisión natural en *B. brunnea*. Elaborada por Alberto Guerra



Figura 22. Reproducción asexual por fisión natural en *B. brunnea*. A) Crecimiento de los segmentos abdominales posteriores. B) Adelgazamiento del abdomen para liberar el brote. C-D) Liberación y migración del brote hacia la parte posterior del tubo parental. E) Nuevo brote con corona reminiscente.

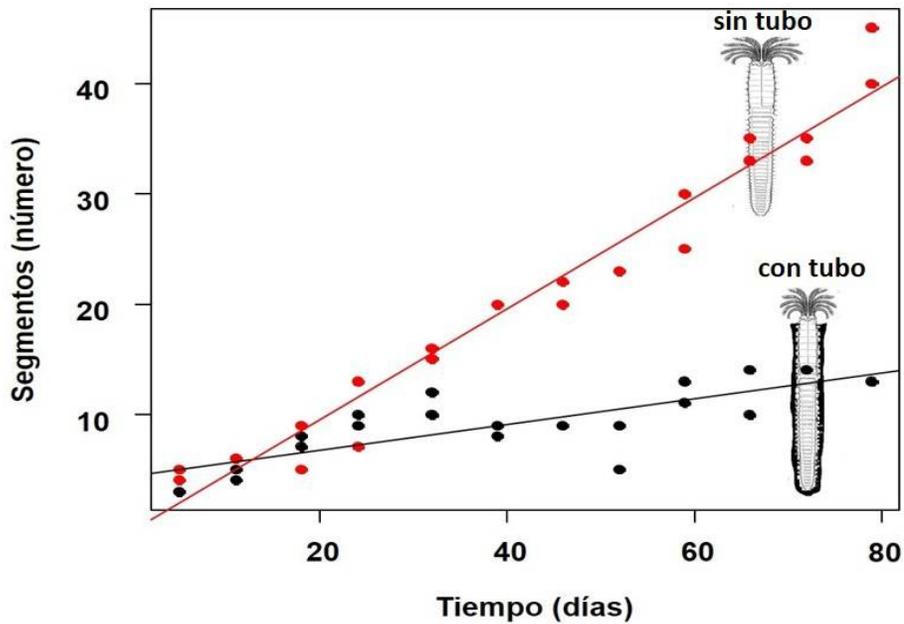


Figura 23. Gráfica del efecto del tratamiento (con tubo y sin tubo) en *B. brunnea* sobre la adición de nuevos segmentos en el tiempo.

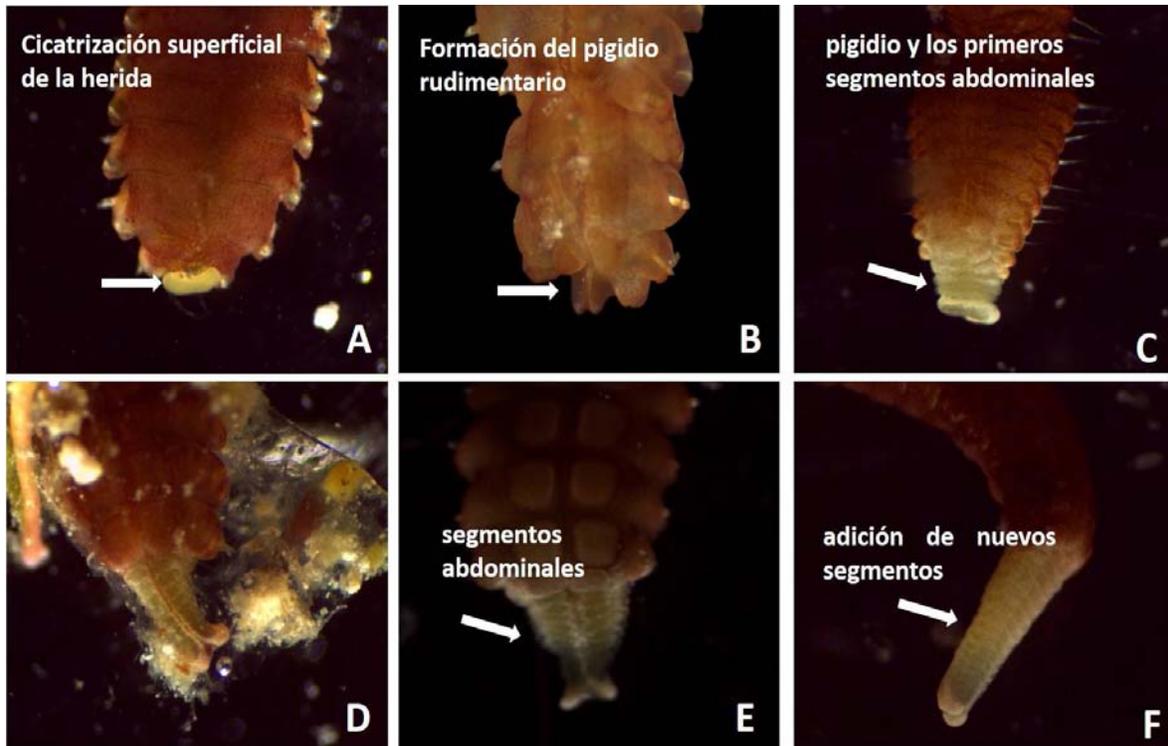


Figura 24. Regeneración de los segmentos posteriores en *B. brunnea*. A) Cicatrización de la herida superficial indicada con la flecha. B) Formación de un pigidio rudimentario indicado con la flecha. C-D) Formación completa del pigidio y los primeros segmentos abdominales. E) Segmentos abdominales (gusano sin tubo). F) Crecimiento del gusano mediante la adición de nuevos segmentos.

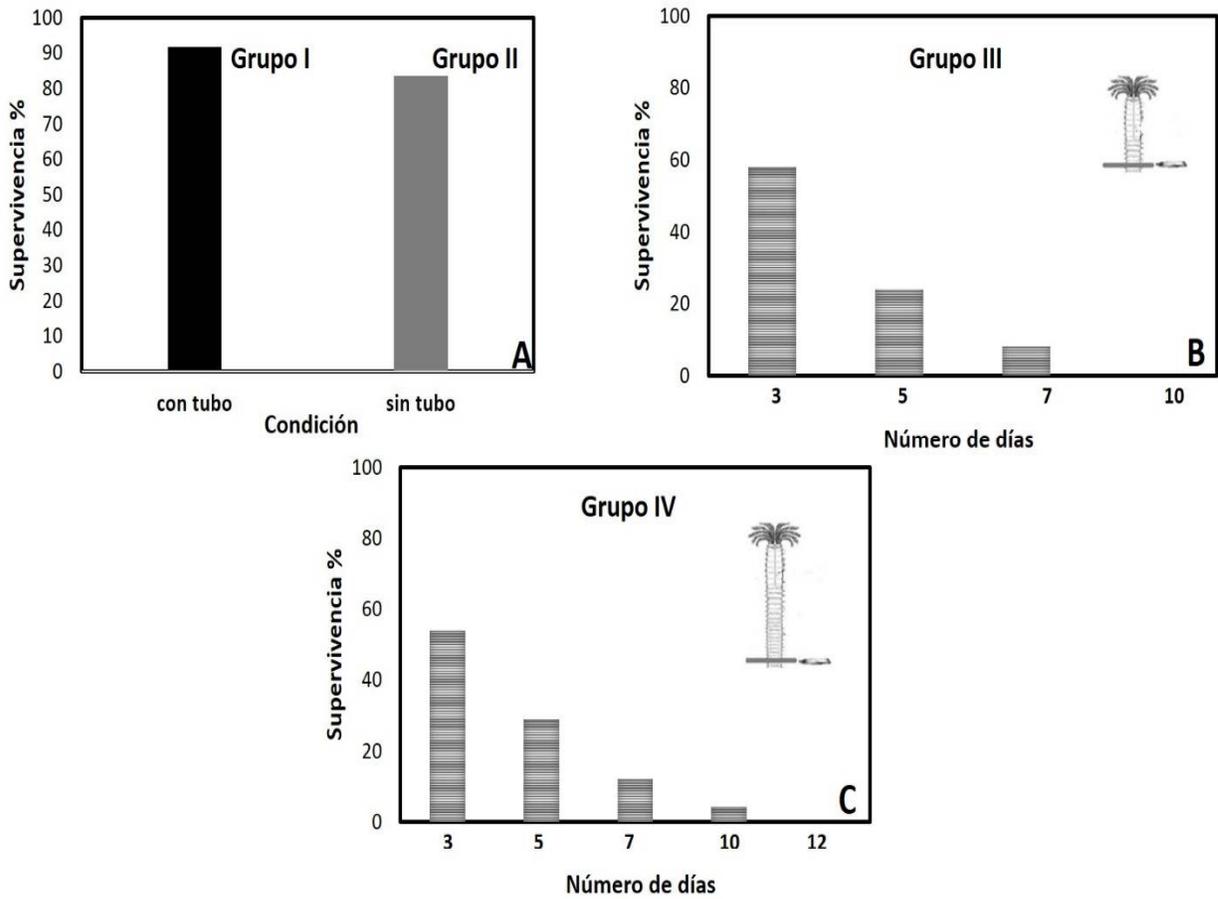


Figura 25. Gráficas de supervivencia en *B. brunnea*. A) Supervivencia de grupo I (con tubo) y grupo II (sin tubo). B) Supervivencia del grupo III: segmentos anteriores (parte posterior). C) Supervivencia del grupo IV: segmentos anteriores (parte posterior).

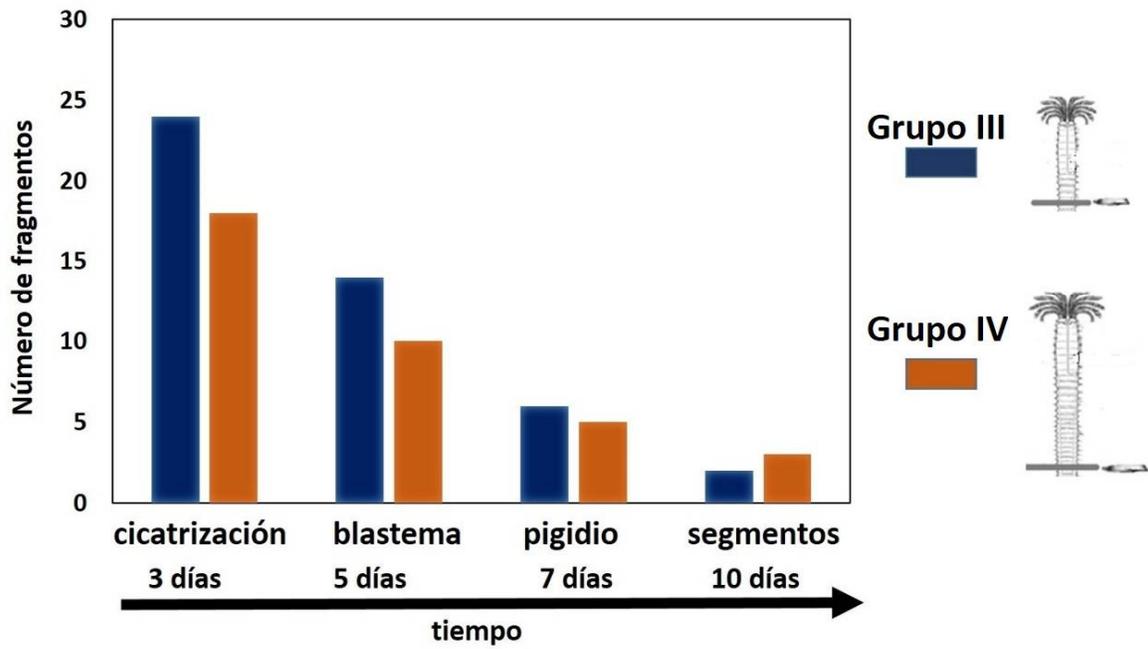


Figura 26. Gráfica de supervivencia de los fragmentos posteriores de los grupos III y IV. Se observa que al paso del tiempo el número de fragmentos vivos disminuye, posterior al día 10 todos los fragmentos se mueren.

Reproducción asexual y regeneración del plumero de mar *Bispira brunnea* (Polychaeta: Sabellidae): Un acercamiento para su producción en cautiverio

Yasmín Dávila Jiménez¹, Nuno Simões², María Ana Tovar-Hernández³, Maite Mascaró Miquelajáuregui⁴

¹Posgrado de Ciencias del Mar y Limnología, Unidad Académica Sisal, Puerto de Abasco s/n, 97355, Sisal, Yucatán, México. yaj@ciencias.unam.mx
²Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación (UMDI-Sisal), UNAM-Facultad de Ciencias, Puerto de Abasco s/n, 97355, Sisal, Yucatán, México. ms@ciencias.unam.mx
³CE Cytoprog de Sisal, Cda. Antonio Rosales s/n, Puerto, C.P. 97355, Sisal, Yucatán, México. yaj@ciencias.unam.mx
⁴Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación (UMDI-Sisal), UNAM-Facultad de Ciencias, Puerto de Abasco s/n, 97355, Sisal, Yucatán, México. mmm@ciencias.unam.mx

Introducción

La acuicultura de especies marinas ornamentales es una alternativa para disminuir la colecta de poblaciones silvestres y la demanda de la industria del acuario. Un nuevo método de cultivo para sifonios ornamentales es mediante el proceso de regeneración proceso similar al de corales "fragging". La regeneración es un proceso importante en la reproducción sexual a través de la arquitomía. Por otro lado, la regeneración es la restauración de partes perdidas del cuerpo y puede ocurrir en múltiples niveles de organización biológica originando estructuras iguales o parecidas a las originales. La reproducción asexual es inducida endógenamente, mientras que la regeneración es la respuesta a una amputación externa. Este estudio es pionero en desarrollar técnicas que permitan propagar por la vía asexual a *B. brunnea*, aprovechando la capacidad de regeneración de la especie. Por lo que se tiene como objetivos determinar la tasa de crecimiento y reconstrucción del tubo de *B. brunnea*, describir el proceso asexual (fisión espontánea), evaluar el efecto del estrés en la adición de segmentos nuevos y describir los cambios morfológicos asociados a procesos regenerativos, por mutilación (corte).

Área de estudio

Laguna arrecifal de Mahahual, Q. Roo (18° 42' 35.7" N, 87° 42' 44.7" W)



Figura 1. Mapa de Mahahual, Q. Roo. Modificado de González-Muñoz et al., 2012



Figura 2. Fotografías de *B. brunnea* adheridas a diferentes tipos de sustrato.

Materiales y métodos

Tubo experimental

Tasa de crecimiento y reconstrucción del tubo de *B. brunnea*



Figura 3. Tasa de crecimiento y reconstrucción del tubo de *B. brunnea*. A) Tubo experimental con tubo (n=22 gusanos) y sin tubo (n=22 gusanos). B) Condiciones de cultivo: 25-27 °C, 30 hrs luz y 16 oscuridad.

Proceso asexual (Fisión espontánea o natural) en *B. brunnea*

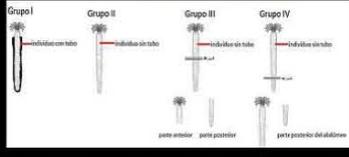


Figura 4. Proceso asexual (Fisión espontánea o natural) en *B. brunnea*. A) Individuo con tubo. B) Individuo sin tubo. C) Parte anterior. D) Parte posterior. E) Parte posterior del abdomen.

Efecto del estrés en la adición de segmentos nuevos en *B. brunnea*

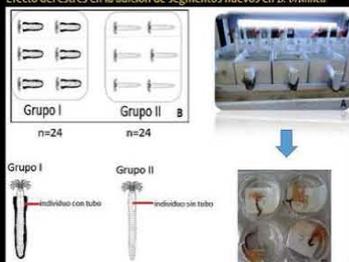


Figura 5. Efecto del estrés en la adición de segmentos nuevos en *B. brunnea*. A) Sistema de acuarios individuales de cuatro litros en recirculación. B) Arreglo de cada uno de los grupos dentro de los acuarios, grupo I con seis individuos con tubo por acuario, grupo II con seis individuos sin tubo, por acuario.

Cambios morfológicos asociados a procesos regenerativos producidos por mutilación (corte)



Figura 6. Cambios morfológicos asociados a procesos regenerativos producidos por mutilación (corte). A) Sistema de acuarios. B) Cada caja petri contiene un individuo fragmentado en parte anterior y parte posterior, grupo III el corte es a la mitad y para el grupo IV, el corte es en los últimos segmentos del abdomen.

Resultados

Tasa de crecimiento y reconstrucción del tubo de *B. brunnea*

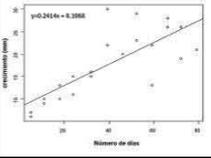


Figura 6. Gráfica de crecimiento del tubo de *B. brunnea* durante un periodo de 75 días. $y = 0.2414x + 8.1988$



Figura 7. Crecimiento del tubo de *B. brunnea* durante un periodo de 75 días. A) Crecimiento del tubo. B) Regeneración del tubo. C) Crecimiento del tubo.

Proceso asexual (Fisión espontánea o natural) en *B. brunnea*

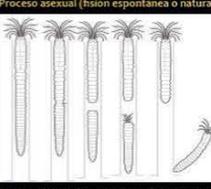


Figura 7. Reproducción asexual espontánea en *B. brunnea*. A) Crecimiento de los segmentos abdominales posteriores. B) Adecuamiento del abdomen, para liberar el brote. C) Liberación y migración del brote hacia la parte posterior del tubo parental. D) Nuevo brote con corona rufescente.

Crecimiento de segmentos en el tiempo en dos tratamientos

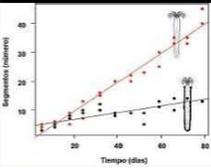


Figura 8. Crecimiento de segmentos en el tiempo en dos tratamientos. Se registró una mortalidad del 100% de los segmentos posteriores.

Cambios morfológicos asociados a procesos regenerativos producidos por mutilación (corte)

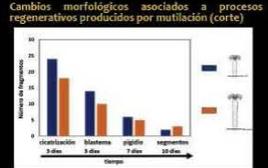


Figura 9. Regeneración de los segmentos posteriores en *B. brunnea*. A) Cicatrización de la herida superficial indicada por la flecha. B) Formación del blastema bilobulado indicado por la flecha. C) Formación del pigdío rudimentario, indicado por la flecha. D) Formación de los primeros segmentos abdominales, gusano dentro de su tubo. E) Primeros segmentos abdominales (gusano sin tubo). F) Crecimiento de gusano mediante la adición de nuevos segmentos.

Conclusión

- Se evaluó que mediante el efecto del estrés (sin tubo) el gusano adiciona más rápido los segmentos en comparación con los que conservan el tubo.
- Se describió la reproducción asexual (arquitomía) por fisión natural para la especie y se encontró que en 75 días se tiene un nuevo brote.
- Se encontró una mortalidad del 100% para los segmentos posteriores, posiblemente la especie al carecer de la estructura de la corona branquial no puede llevar a cabo las funciones de alimentación y respiración y esencialmente muere de hambre.
- Se describieron los cambios morfológicos asociados al corte en los segmentos posteriores, para el día 15 el gusano tiene la apariencia de un individuo completo.

www.sisal.unam.mx