

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE BIOLOGÍA EN ACUICULTURA



DESARROLLO EMBRIONARIO Y MORFOLOGÍA LARVAL DE PEPINO DE MAR
***Patallus mollis* (HOLOTHUROIDEA: DENDROCHIROTIDA)**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE BIÓLOGO ACUICULTOR

TESISTAS: EUSEBIO FERNÁNDEZ MARITZA ELIZABETH

SALETTI VARAS ANGHY PRISCILA DALLANE

ASESOR: BLGA ACUI.CARMEN YZÁSIGA BARRERA

COASESOR: LUCIO ENCOMENDERO YÉPEZ

NUEVO CHIMBOTE – PERÚ

2015

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE BIOLOGÍA EN ACUICULTURA



DESARROLLO EMBRIONARIO Y MORFOLOGÍA LARVAL DE PEPINO DE MAR
***Patallus mollis* (HOLOTHUROIDEA: DENDROCHIROTIDA)**

APROVADO POR EL JURADO CALIFICADOR INTEGRADO POR LOS SEÑORES
MIEMBROS DEL JURADO

DR. LUIS CAMPOVERDE VIGO

PRESIDENTE

BLGO ACUIC. JUAN CARHUAPOMA GARAY

SECRETARIO

BLGA.ACUIC. CARMEN YZÁSIGA BARRERA

MIEMBRO

NUEVO CHIMBOTE – PERÚ

2015

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE BIOLOGÍA EN ACUICULTURA



DESARROLLO EMBRIONARIO Y MORFOLOGÍA LARVAL DE PEPINO DE MAR
***Patallus mollis* (HOLOTHUROIDEA: DENDROCHIROTIDA)**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE BIÓLOGO ACUICULTOR

BLGA ACUI. CARMEN YZÁSIGA BARRERA

ASESOR

NUEVO CHIMBOTE – PERÚ

2015

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Pág.
DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTO	II
PRESENTACIÓN	III
RESUMEN	IV
ABSTRACT	IV
I. INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	2
II. MATERIALES Y MÉTODOS	3
2.1. RECOLECCIÓN Y TRANSPORTE DE REPRODUCTORES.....	3
2.2. ACONDICIONAMIENTO DE REPRODUCTORES.....	3
2.3. INDUCCIÓN DEL DESOVE Y FERTILIZACIÓN.....	3
2.4. DESARROLLO EMBRIONARIO Y LARVAL.....	3
2.5. ALIMENTACIÓN.....	4
2.6. PARAMÉTROS MORFOMÉTRICOS.....	4
III. RESULTADOS	5
IV. DISCUSIÓN	9
V. CONCLUSIONES	13
VI. RECOMENDACIONES	14
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15
ANEXOS	18

ÍNDICE DE TABLA

TABLA 01. Fases de desarrollo embrionario y larval de <i>Patallusmollis</i>	6
--	---

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 01. División celular de <i>P. mollis</i>	7
FIGURA 02. Estadios de Gástrula y Blástula de <i>P. mollis</i>	7
FIGURA 03. Fase Pentactula de <i>P. mollis</i>	8
FIGURA 04. Juveniles de <i>P. mollis</i>	8

DEDICATORIA

Para mis padres con todo mi cariño y mi amor para las personas que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino se terminaba, a ustedes por siempre mi corazón y mi agradecimiento.

A mi hermana, porque me han brindado su apoyo incondicional.

Y a mi amiga, Maritza Eusebio Fernández por su apoyo y conocimientos hicieron de esta experiencia una de las más especiales.

Saletti Varas Anghy.

Primero y antes que nada, dar gracias a Dios, por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo.

Agradecer hoy y siempre a mis padres por el esfuerzo realizado ya que me brindan el apoyo, la alegría y me dan la fortaleza necesaria para seguir adelante.

A mi fiel amiga Anghy Saletti Varas, mi compañera de aventuras, alegrías y tristezas, por estar a mi lado en esta nueva experiencia.

Eusebio Fernández Maritza

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos afectuosamente a los docentes de la Escuela Académico Profesional de Biología en Acuicultura por los conocimientos brindados durante nuestra etapa universitaria.

A la BLGA ACUI. Carmen Yzásiga Barrera por aceptar ser nuestra asesora, por su constante apoyo y asesoría, guiándonos así a culminar satisfactoriamente esta tesis.

Al Mg. Lucio Encomendero Yépez quien nos brindó asesoramiento, además de consejos y recomendaciones a seguir en la tesis.

Finalmente, agradecer a nuestros compañeros de estudio: José Fernando Vázquez Mori y Gustavo Rojas Salvador, por su apoyo en la extracción de los organismos.

Maritza Elizabeth Eusebio Fernández

Saletti Varas Anghy Priscila Dallane

PRESENTACIÓN

Con la finalidad de cumplir con el reglamento de grados y títulos de la Escuela Académica Profesional de Biología en Acuicultura de la Universidad Nacional del Santa, presentamos el siguiente informe de tesis, titulado “Desarrollo embrionario y morfología larval de pepino de mar *Patallus mollis* (Holothuroidea: Dendrochirotida), el cual es requisito indispensable para optar el título de Biólogo Acuicultor.

De esta manera y pretendiendo cumplir con las exigencias que contempla el reglamento, esperamos contar con la aceptación y aprobación del jurado calificador, pasando a describir el informe realizado.

Maritza Elizabeth Eusebio Fernández

Saletti Varas Anghy Priscila Dallane

Desarrollo embrionario y morfología larval de pepino de mar
Patallus mollis (Holothuroidea: Dendrochirotida)

Eusebio, Maritza Elizabeth; Saletti, Anghy Priscila Dallane

RESUMEN

El presente estudio provee la primera descripción de los estadios de vida tempranos de *Patallus mollis*. El experimento se realizó en el laboratorio de Maricultura de la Universidad Nacional del Santa, siendo los objetivos del presente estudio identificar las fases de desarrollo embrionario y larval; determinar el tiempo de evolución de cada fase de desarrollo embrionario y larval; y, describir las características morfológicas de *P. mollis*. Se recurrió al método del shock térmico para la obtención de gametos necesarios, observándose las fases de blástula y gástrula. Las fases larvales observadas fueron Pentactula primaria y Pentactula y el juvenil primario se observó a los 13 días.

Palabras claves: *Patallus mollis*, desarrollo embrionario, morfología

ABSTRACT

The present study provides the first description of early life stages of *Patallus mollis*. The experiment was conducted in the laboratory of Mariculture of the National University of Santa, being the objective of this study describe the morphology and determine the duration of each stage of embryonic development in *Patallus mollis*. He appealed to the heat shock method to obtain gametes needed to determine their development, obtaining favorable results as it was possible to identify the larval stages, determine the time and measure the size of each phase.

Key words: *Patallus mollis*, embryonic development, morphology

I. INTRODUCCIÓN

Los equinodermos son organismos exclusivamente marinos que pertenecen al Phylum Echinodermata, el cual está dividido en cinco clases: Asteroidea, Ophiuroidea, Echinoidea, Holothuroidea y Crinoidea. La clase Holothuroidea, conocido como holoturia o pepino de mar, está constituida por 1,400 especies, con 6 órdenes, 25 familias, y aproximadamente 200 géneros (Pawson 2007). Los pepinos de mar habitan desde las zonas intermareales hasta las grandes profundidades oceánicas (Billett 1991), ya que pueden llegar a formar hasta el 90% de la biomasa de la mega fauna en el ecosistema (Hendler *et al.* 1995). Hendler *et al.*, 1995; Uthicke, 2001; Mangion *et al.*, 2003 mencionan que los pepinos de mar desempeñan un papel ecológico importante como modificadores de sustrato, al ingerir sedimentos, modificar su composición y reciclar la materia orgánica. Así mismo Purcell, (2004) menciona que algunas especies de pepinos de mar se entierran en el sedimento y se cree que ayudan a oxigenar las capas superficiales de los sedimentos y juegan un rol en la bioturbación (Alteraciones producidas en el sedimento por la actividad de los seres vivos.)

Los pepinos de mar son recursos importantes para los pueblos y ecosistemas costeros. Por lo menos 60 especies son pescadas en más de 40 países y la mayoría de la captura es procesada y posteriormente exportada a los mercados en Asia. Los pepinos de mar generalmente tienen una tasa de renovación poblacional lenta y son fácilmente colectados de aguas someras en los trópicos. Con precios de venta de hasta USD300–500 por kg (seco), la explotación generalmente ha sido indiscriminada y excesiva. La sobre pesca en los años recientes ha dado lugar a la extinción local de las especies de alto valor comercial en algunos lugares y ha generado vedas de muchas pesquerías nacionales para permitir que las poblaciones se recuperen y permitan el establecimiento de planes de manejo más sostenibles. Aparte de unos pocos países desarrollados, solo unas cuantas pesquerías de pepino de mar están siendo manejadas de manera sostenible. (FAO 2010)

En la última década, pocos holoturias comerciales han sido criados con éxito, incluyendo algunas especies tropicales y templadas (por ejemplo, *Holothuria scabra*, *Holothuria fuscogilva*, *Apostichopus japonicus*, *Australostichopus mollis*) (Ramofafia *et al* 2003.).

Debido a la creciente demanda de los mercados asiáticos, se está realizando una explotación no sostenible de este recurso, que presagia una drástica disminución de las poblaciones silvestres de *Patallus mollis* en un futuro próximo; datos obtenidos en la SUNAT 2012, demuestran que la extracción de *Patallus mollis* sobrepasa las 20 000 toneladas, siendo Hong Kong el país de mayor demanda del organismo (anexo 9 y 10).

La mayoría de estudios en esta especie se centraron en el comportamiento de reproducción, el desarrollo y la alimentación en cautividad, ya que son muy importantes para entender la historia de vida de la especie y determinar su posible potencial en la acuicultura. Sin embargo, el ciclo vital temprano de la especie no ha sido completamente descrito y hay una falta de conocimientos sobre morfología larval, el desarrollo, establecimiento y crecimiento de menores. Este trabajo se realizó con el fin de: 1) Identificar las fases del desarrollo embrionario y larval en *P. mollis*, 2) Determinar el tiempo de evolución de cada fase del desarrollo embrionario y larval en *P. mollis* y 3) Describir las características morfológicas de cada fase del desarrollo embrionario y larval en *P. mollis*.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. RECOLECCIÓN Y TRANSPORTE DE REPRODUCTORES

El 19 de enero del 2014 se realizó el muestreo de campo en la playa “Caleta Colorada”, del distrito de Nuevo Chimbote, provincia del Santa, departamento de Ancash, con coordenadas de 9°11′22.42″S de Latitud y 78° 33′43.81″O de Longitud (anexo 1). Recolectándose los organismos que superaran la talla reportada para la primera madurez sexual, realizándose además, *in situ*, un muestreo al azar de los organismos para determinar el grado de madurez sexual según Álvarez (2010). Se recolectaron un total de 15 organismos con tallas de 18 a 20 cm y un peso húmedo de 200-250 gr. Los individuos fueron encontrados entre las rocas y la arena en aguas poco profunda (1.5 m de distancia desde la orilla a una profundidad de 3 m), la recolección se realizó con la ayuda de un buzo. Luego los organismos fueron colocados en bolsas individuales, con agua de mar, las cuales se depositaron selladas, en un cooler para evitar el estrés y maltrato. Éstas fueron trasladadas al Laboratorio de Maricultura de la Escuela de Biología en Acuicultura.

2.2. ACONDICIONAMIENTO DE REPRODUCTORES

Los organismos fueron colocados en cinco recipientes de plástico con dimensiones de 28 x 37 x 53 cm y con un volumen de 44.8 L, a una densidad de 5 individuos por recipiente con aireación constante. Para toda la experiencia se utilizó agua de mar esterilizada con 4ml de lejía por cada 20 litros de agua, y neutralizada con tiosulfato de sodio a razón de 4 ml por cada 20 litros de agua de mar. La temperatura para el mantenimiento de los reproductores fue de 24° C y se mantuvo constante con la ayuda de un termostato. El agua de mar presentó una salinidad de 34‰ (anexo 3 A).

2.3. INDUCCIÓN DEL DESOVE Y FERTILIZACIÓN

El método utilizado para la inducción al desove fue de shock térmico, aumentando la temperatura del agua en 2°C. Después que los reproductores evacuaron los gametos, fueron retirados a otro recipiente; para dar paso a la fertilización (anexo 3 B).

2.4. DESARROLLO EMBRIONARIO Y LARVAL

Después que las hembras desovaron, los huevos fueron dejados durante una hora para ser fertilizados; los huevo recogidos se lavaron en agua de mar fresca (tratada), para eliminar el exceso de espermatozoides. Una vez que la fertilización se verificó bajo un estereoscopio, los huevos fueron lavados con agua de mar tratada y trasladados a dos recipientes de 7 L con agua de mar esterilizada (anexo 4 A1 Y A2). El cincuenta por ciento del agua de mar fue renovado a diario desde el segundo día de cultivo y se mantuvo a temperatura constante (22° C).

Para documentar el desarrollo embrionario y larval se tomaron cinco organismos al azar cada 15 minutos durante las primeras 8 horas después de la fertilización, hasta observar las primeras divisiones celulares. Luego se tomaron muestras cada hora, para determinar el tiempo y tamaño de las fases de blástula y gástrula, y la etapa larval de Pentactula. Las muestras fueron observadas en un estereoscopio, medidas con un micrométrico ocular y fotografiadas con una cámara digital (anexo 4B).

2.5. ALIMENTACIÓN

Después de 4 días de cultivo, se inició la alimentación de las larvas, el cual consistió en un caldo de 15 ml *Scenedesmus acutus* con una densidad de 198×10^4 cel/ml, *Tetraselmis suecica* con una densidad de 296×10^4 cel/ml y *Nanocloris sp* con una densidad de 258×10^4 cel/ml de alimento; después de 13 días de cultivo se duplico la densidad del alimento, la cepa microalgal se obtuvo del laboratorio de Cultivos Auxiliares de la Universidad Nacional del

Santa (anexo 5). El recambio de agua se hizo diariamente solo de las 3/4 partes y se mantuvo la aireación constante (Guisado et al, 2012).

2.6 PARAMÉTROS MORFOMÉTRICOS

El tamaño se determinó a intervalos diarios, tomando medidas de longitud máxima según Hamel y Mercier (1996), utilizando un ocular micrométrico y un estereoscopio.

III. RESULTADOS

En la tabla 1 se muestran las diferentes etapas, tiempo y tamaño del desarrollo embrionario de *P.mollis*, dentro de las cuales se encontraron: Estadío de 2 células, estadío de 4 células, estadío de 8 células, estadío de 16 células, estadío de 32 células, fase de Blástula y fase de Gástrula. Las fase larvarias encontradas para *P. mollis*, fueron Pentactula y juvenil primario.

TABLA 1. Fases de desarrollo embrionario y larval de *Patallus mollis*.

Fases	Tiempo (h,d)	Tamaño M.O.,mm
Oocito Fertilizado	0 min	1.2
Estadío de 2 cel.	1 - 1:45 h	1.0
Estadío de 4 cel.	1:45 - 2 h	1.1
Estadío de 8 cel.	2 - 2:30 h	1.0
Estadío de 16 cel.	2:30 - 3h	1.2
Estadío de 32 cel.	3 - 4 h	1.3
Blástula	1 - 2 d	0.5
Gástrula	2 - 3 d	1.3
Pentactula	4 d	1.4
Juvenil temprano	13 d	1 mm

El huevo fertilizado midió 1.2 M.O., la primera división celular se produjo entre 1 a 1:45 horas, con un tamaño de 10 M.O.; la segunda división celular (4 células) sucedió luego de 1 a 2 horas, presentando un tamaño de 11 M.O., la tercera división celular (8 células) ocurrió luego de 2 a 2:30 horas con un tamaño de 10 M.O., la cuarta división celular (16 células) ocurrió entre 2.30 a 3 horas con un tamaño de 12 M.O. y la quinta división celular (32 células) ocurrió entre 3 a 4 horas presentando un tamaño de 13 M.O.

La etapa de Blástula se dio inicio entre 1 a 2 días después de la fertilización presentando un tamaño de 5 M.O., haciéndose notorio una disminución de tamaño; el estadío de Gástrula ocurrió entre 2 a 3 días después de la fertilización con un tamaño de 13 M.O., observándose un aumento de tamaño; el estadio de Pentactula se observó al cuarto día con un tamaño de 14 M.O.; y finalmente a los 13 días se logró observar al juvenil primario con 1 mm.

En la figura 1A se muestra el Oocito Fertilizado con la membrana de fecundación (mf); en la figura 1B el estadio de 2 células y el blastómero (b); en la figura 1C. el estadio de 4 células; en la figura 1D el estadio de 8 células; en la figura 1E el estadio de 16 células y en la figura 1F el estadio de 32 células; Caracterizándose estos estadios por presentar segmentación total.

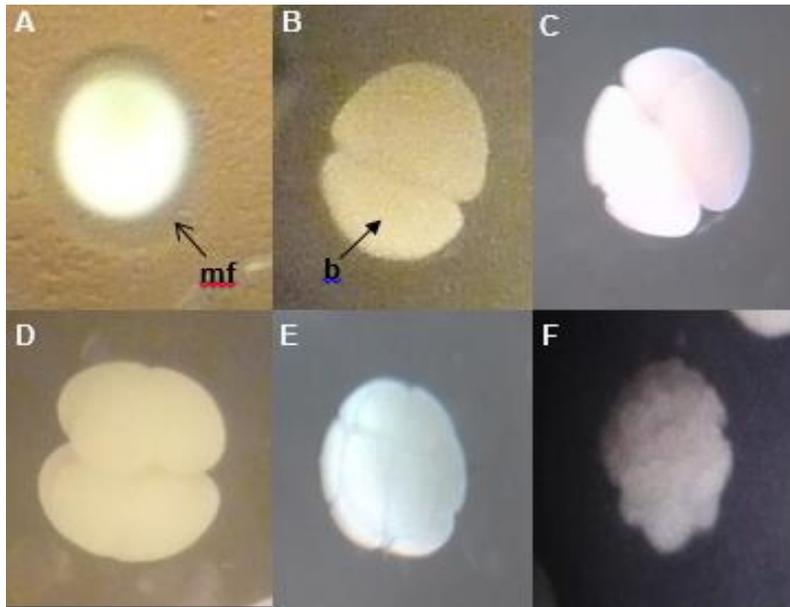


FIGURA 1. División celular de *P. mollis*.

En la figura 2, se observa la blástula de forma esférica, mostrando una ligera invaginación en el blastodermo. Además se observó que la gástrula presentó cuerpo ligeramente alargado y un vestíbulo.

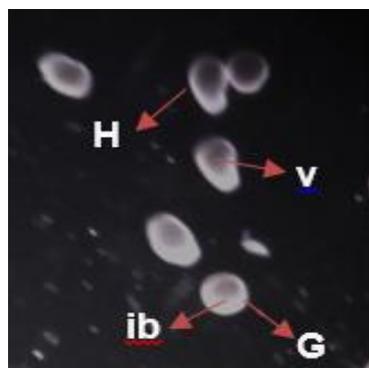


FIGURA 2. Estadios de Gástrula y Blástula de *P. mollis*. (G) Blástula; (H) Gástrula; (ib) invaginación del blastodermo; (v) vestíbulo.

En la figura 3, se observa las fases de Pentactula presentando forma redonda y tentáculos bucales (tb), a los 8 días esta Pentactula adoptó forma triangular; y finalmente a los 9 días se transformó en Pentactula secundaria con una forma ovoide y con aumento de tentáculos bucales.

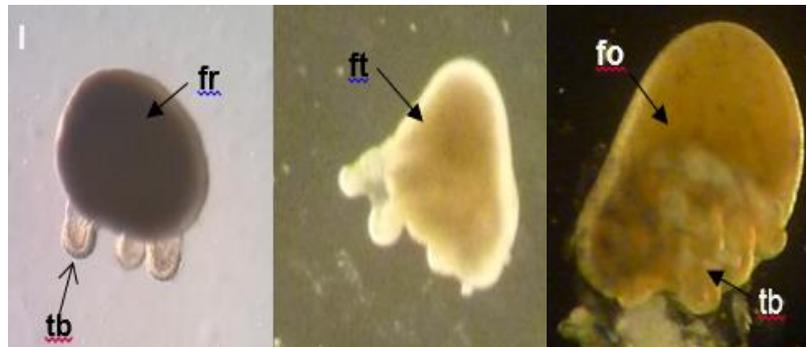


FIGURA 3. Fase Pentactula de *P. mollis*: (fr) Pentactula primaria con forma redonda; (tb) tentáculos bucales; (ft) Pentactula primaria con forma triangular; (fo) Pentactula Secundaria.

En la figura 4 se observa juvenil primario de 13 días con tentáculos bucales (tb) y podios ambulacrales (pa); luego de 15 días presentó tentáculos bucales (tb); podios ambulacrales (pa); intestino (i) y ano (a).

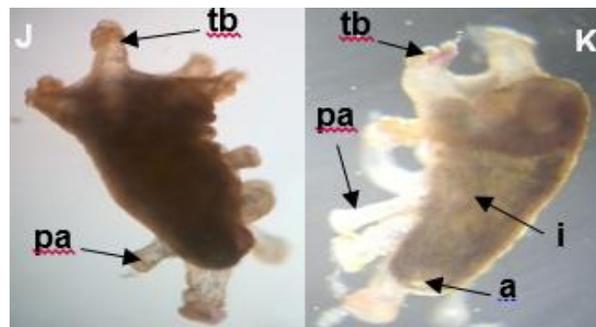


FIGURA 4. Juveniles de *P. mollis* (J) Juvenil primario de 13 días; (K) juvenil de 15 días; (tb) tentáculos bucales; (pa) podios ambulacrales; (i) intestino; (a) ano.

IV. DISCUSIÓN

Los equinodermos son organismos exclusivamente marinos que pertenecen al Phylum Echinodermata, el cual está dividido en cinco clases: Asteroidea, Ophiuroidea, Echinoidea, Holothuroidea y Crinoidea (lirios de mar). La clase Holothuroidea, conocido como holoturia o pepino de mar, está constituida por 1,400 especies actuales, con 6 órdenes, 25 familias, y aproximadamente 200 géneros (Pawson, 2007). Los pepinos de mar habitan desde las zonas intermareales hasta las grandes profundidades oceánicas (Billett, 1991), ya que pueden llegar a formar hasta el 90% de la biomasa de la megafauna en el ecosistema (Hendler *et al.*, 1995). Hendler *et al.* (1995) y Uthicke (2001) mencionan que los pepinos de mar desempeñan un papel ecológico importante como modificadores de sustrato, al ingerir sedimentos, modificar su composición y reciclar la materia orgánica. Así mismo Purcell, (2004) menciona que algunas especies de pepinos de mar se entierran en el sedimento y se cree que ayudan a oxigenar las capas superficiales de los sedimentos y juegan un rol en la bioturbación.

Los holoturoideos no presentan dimorfismo sexual externo en ninguna de sus etapas de desarrollo. La identificación del sexo en estos individuos solo puede efectuarse por la inspección directa de la gónada durante la disección del animal. El individuo tiene una única gónada localizada en la parte anterior del celoma, está constituida por muchos túbulos que se unen en forma de racimo, y se une al lado del mesenterio dorsal y forma un gonoducto que recorre el mesenterio y desemboca en un gonoporo situado entre los tentáculos de la cavidad bucal. Cuando se produce el desove de los gametos, las gónadas aumentan su volumen y luego regresionan (Mengod, 1976). En nuestro caso para asegurarnos que los ejemplares recolectados estuvieran sexualmente maduros recurrimos a la disección del pepino, verificando que el pepino sexualmente maduro posee las gónadas de un mayor grosor, también se pudo observar que el color de las gónadas era verde amarillento, lo que nos permitió observar con mayor claridad los huevos que están listos para su liberación al medio.

Guisado *et al.* (2012) reporta que, en *Athyonidium chilensis* el aumento de la temperatura del agua ha demostrado ser un método fiable para la obtención de gametos, ésta técnica también se utiliza para inducir al desove en una variedad de

pepinos de mar tropicales y templadas, incluyendo *Holothuria scabra*, *Holothuria fuscogilva*, *Actinopyga mauritiana* y *Australostichopus mollis* (Battaglione *et al*, 1999; Mercier *et al*, 2000; Battaglione *et al*, 2002; Ramofafia *et al*, 2003; y Morgan 2009). En *P.mollis*, también se utilizó el aumento de temperatura para la inducción al desove (shock térmico), dando resultados favorables ya que se logró que los pepinos desovaran. Después de la inducción de desove, los machos eyacularon constantemente antes que las hembras. Este mismo comportamiento reproductivo ha sido previamente descrito por varios autores en una extensa gama de pepinos de mar sin tener en cuenta el método de inducción utilizado, por ejemplo, Costelloe (1988) en *Aslia lefevrei*; McEuen (1988) en *Psolus chitonoides*. En la experiencia, el primero en eyacular fue el macho, esto conllevó a que las hembras empezaran a desovar minutos después, lográndose así la sincronización entre ellos.

Guisado *et al.* (2012) menciona que los huevos pueden ser vistos fácilmente y se observó la membrana de fertilización (Fe) después de 10 min de la fertilización (anexo 8A). La primera división de *A. chilensis* se produjo entre 1 a 3 h de la fertilización. La segunda, tercera y cuarta división tuvieron lugar entre 3 y 6 h de la fertilización (anexo 7). Durante estas etapas los blastómeros (b) se observaron del mismo tamaño y forma esférica, con una separación clara entre ellos (anexo 8 B). El polo animal y vegetal siguió dividiendo hasta la etapa de 32 células. En esta etapa la fertilización todavía estaba presente (anexo 8 C). En *P.mollis* los huevos también fueron vistos fácilmente observándose a los 20 min la membrana de fertilización (mf) (Fig 1 A). La división celular de los primeros estadios fue total; el tiempo de la primera división fue de 1 a 1:45 horas, la segunda, tercera y cuarta división se dio entre la 1:45 y 3 horas (tabla 1), presentando forma esférica y una división clara entre los blastómeros (Fig 1 B, C, D, E, F), la división de 32 células fue de 3 a 4 horas (tabla 1) desde la fertilización. El mismo autor menciona que en *A. chilensis* después de 24-25 h se observó, un proceso de compactación de embriones, que se caracteriza por una reducción considerable en el espacio entre los blastómeros. Después de este proceso, se observó una invaginación de la blastoderma (ib) (anexo 8 D), siendo la fase de blástula. También se observaron movimientos de rotación y la migración constante en toda la columna de agua de los embriones, y después de 48 h (anexo 7) de fertilización un alargamiento claramente visible de la blástula indicando la

transformación en una gástrula (anexo 8 E). El blastoporo era claramente visible en la región aboral y una pequeña depresión lateral en la región ecuatorial del cuerpo del embrión se comenzó a formar, lo que indica la posición del vestíbulo futuro (anexo 8 E). Después de 4 a 5 días de la fertilización el embrión comienza su transformación en una larva Vitellaria (anexo 8 F). En *P.mollis* la compactación de embriones se dio a lugar entre el primer y segundo día, esta etapa se caracterizó por presentar una reducción del tamaño (tabla 1), finalizado este proceso se observó una ligera invaginación del blastodermo, dando paso a la etapa de la blástula (Fig 2 G). Las mismas características que presentó *A. chilensis* en la transformación de blástula a gástrula lo presentó *P.mollis* (Fig. 2 H), siendo la única diferencia el tiempo de evolución que fue de 2 a 3 días (tabla 1). La etapa vitelaria no se logró observar en *P.mollis*, así como en las especies *Holothuria spinifera* (Asha & Muthiah P, 2002), *Holothuria scabra* (Dabbagh & Sedaghat, 2012), *Isostichopus badionotus* (Zacarías et al, 2013), *Isostichopus fuscus* (Hamel et al, 2003).

El mismo autor menciona que para *A. chilensis* la pentáctula se caracterizó por una disminución progresiva en la capacidad de nadar presumiblemente debido a la pérdida de los cilios del cuerpo. Los tentáculos bucales (bt) (anexo 8 G) fueron completamente sobresalientes y se utilizaron para la alimentación y la locomoción. En esta etapa, el poro anal también se observó en la región aboral del cuerpo. Tras el asentamiento de la pentáctula (21 días), los individuos eran capaces de la alimentación activa de microalgas asociada con el sedimento, utilizando sus tentáculos bucales para recoger e ingerir los alimentos. En las especies *Holothuria spinifera* (Asha & Muthiah, 2002), *Holothuria scabra* (Dabbagh & Sedaghat, 2012), *Isostichopus badionotus* (Zacarías et al, 2013), *Isostichopus fuscus* (Hamel et al, 2003) también se reportó la fase larvaria pentactula. Para *P. mollis* la fase de pentáctula primaria dio inicio desde el cuarto día desde la fertilización (tabla 1), presentando forma redonda con la presencia de 3 tentáculos bucales (tb) (Fig.3 I), durante el tiempo de desarrollo de la larva pentáctula, se presentaron diferentes transformaciones, por ejemplo su forma corporal pasó de redonda a triangular (ft) posiblemente esto se debe a que solo presentan tentáculos bucales, mas no podios ambulacrales ocasionando que el cuerpo flote y no pueda asentarse (8 días); a los 9 días se presentó la pentactula secundaria (Fig 3) con una forma ovoide (fo), varios tentáculos ambulacrales (tb) que fueron utilizados para la

alimentación y un alargamiento en cuerpo debido a la próxima presencia de los podios ambulacrales. Entre los 10 y 12 días siguieron presentando alargamiento corporal y un mayor número de podios ambulacrales para su posible fijación al sustrato.

Finalmente Guisado et al (2012) describió a los 21 días el primer juvenil primario (anexo 7), que posee además de los tentáculos bucales, un par de podios ambulacrales (AP); después de treinta y cinco días post fertilización (anexo 7) aparecieron el ano (a) y el cuarto par de podios ambulacrales, y se observaron menores con pigmentación verde hacia la parte posterior del cuerpo (anexo 8 H). Para *P.mollis* a los 13 días se observaron los primeros juveniles primarios (Tabla 1), presentando tentáculos bucales (tb) utilizados para capturar alimento, podios ambulacrales (pa) para la locomoción y para adhesión al sustrato (Fig 4 J); después de 2 días además de los tentáculos bucales (tb) se observó la presencia de más podios ambulacrales (pa), el ano (a) y el comportamiento de alimentación activa lo que indicó la presencia del intestino (i) (Fig 4 K).

Como se puede apreciar en lo antes descrito, *A.chilensis* y *P.mollis*, poseen características similares en las descripciones morfológicas y etapas de evolución, así mismo la diferencia entre éstos es en el tiempo de evolución de cada etapa, siendo *P.mollis* el más rápido en evolucionar, posiblemente debido a las diferentes temperaturas en las que se desarrollan ambas especies.

V. CONCLUSIONES

- Las fases embrionarias de *P.mollis* observadas fueron de blástula, a los 2 días; y gástrula, a los 3 días. Las fases larvales observadas fueron Pentactula primaria, a los 4 días, Pentactula secundaria a los 9 días y juvenil primario se observó a los 13 días.
- Las características morfológicas más notorias de cada etapa de *P.mollis* en la fase de blástula fue una invaginación del blastodermo; gástrula un pequeño alargamiento visible de la blástula; Pentactula la aparición de tentáculos bucales, variación en la forma del cuerpo; y en juvenil primario presencia de podios ambulacrales, ano e intestino.

VI. RECOMENDACIONES

- Se deben realizar más estudios sobre la biología, madurez sexual y reproducción de *P.mollis* (pepino de mar).
- Se recomienda el uso de láminas milimetradas para facilitar la toma de tamaños.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarez, C et al. 2010. Establecimiento de una escala empírica macroscópica de madurez sexual para pepino de mar *Patallus mollis*, Chimbote, Ancash – Perú, 2010. Universidad Nacional del Santa. En prensa.
- Asha PS & P Muthiah. 2002. El desove y cría de larvas de cohombro *Holothuria* (*Theelothuria*) *spinifera* Theel. SPC Beche-de-mer Boletín Informativo 16: 11-15.
- Battaglione SC, JE Seymour & C Ramofafia. 1999. Supervivencia y el crecimiento del cultivo de pepino de mar juvenil, *Holothuria scabra*. *Acuicultura* 178: 293-322.
- Battaglione SC, JE Seymour, C & I Ramofafia Lane. 2002. Inducción del desove de tres pepinos de mar tropical, *Holothuria scabra*, *H. fuscogilva* y *Actinopyga mauritiana*. *Acuicultura* 207: 29-47.
- Billett, D.S.M. 1991. Deep Sea Holothurians. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*. (Oceanography and Marine Biology). 29, 259-317.
- Costelloe J. 1988. Ciclo reproductivo, el desarrollo y contratación de dos poblaciones separadas geográficamente del holoturias dendrochirote *Aslia lefevrei*. *Marina Biología* 99: 535-545.
- Dabbagh A & Sedaghat M. 2012. Breeding and rearing of the sea cucumber *Holothuria scabra* in Iran. SPC Beche-de-mer Information Bulletin #32. pg 49-51
- FAO. 2010. Manejo de las pesquerías de pepino de mar con un enfoque ecosistémico.
- Fujiwara A, K Yamano, K Ohno & M Yoshikuni. 2010. El desove inducido por cubifrin en el mar común japonés pepino *Apostichopus japonicus*. *Pesca Ciencias* 76: 795-801.
- Guisado.C. et al. 2012. Embryonic development, larval morphology and juvenile growth of the sea cucumber *Athyonidium chilensis* (Holothuroidea: Dendrochirotida)

- Hamel, J.F. y A. Mercier. 1996. Studies on the reproductive biology of the Atlantic sea cucumber *Cucumaria frondosa*. SPS Beche-de-mer Info. Bull., 8: 22-33.
- Hamel J et al.2003. Larval development and juvenile growth of the Galapagos sea cucumber *Isostichopus fuscus*. SPC Beche-de-mer Information Bulletin #18. Pg. 3-7.
- Hendler, G., Miller, J. E., Pawson, D. L. & P. M. Kier. 1995. Sea Stars, sea urchins and Allies: Echinoderms of Florida and the Caribbean. Smithsonian Institution Press., 390 pp.
- Laxminarayana A. 2005. Inducido el desove y cría de larvas de los pepinos de mar, *Bohadschia marmorata* y *Holothuria atra* en Mauricio. SPC Beche-de-mer Boletín Informativo 22: 48-52.
- Mangion, P., D. Taddei, P. Frouin y C. Conand. 2003. Feeding rate and impact of sediment reworking by two deposit feeders *Holothuris leucospilota* and *Holothuria atra* on a fringing reef (Reunion Island, Indian Ocean). En: Heinzeller T. y J.H. Nebelsick, E. 2004. Echinoderms, München, Taylor & Francis Group, London. p 311-317.
- McEuen FS. 1988. Conductas de desove del noreste del Pacífico pepinos de mar (Holothuroidea: Echinodermata). Marina Biología 98: 267-279.
- Mercier A, SC Battaglione y JF Hamel. 2000. Asentamiento preferencias y la migración temprana del pepino de mar tropical *Holothuria scabra*. Revista de Biología Marina Experimental y Ecología 249: 89-110.
- Morgan AD. 2009. El desove del pepino de mar templado, *Australostichopus mollis* (Levin). Journal of the World Societal Aquiculture 40 (3): 363-373.
- Pawson, D. L. 2007. Phylum Echinodermata. *Zootaxa*. 1668: 749-764.

- Purcell, S.W. 2004. Rapid growth and bioturbation activity of the sea cucumber *Holothuria scabra* in earthen ponds. Proceedings of Australasian Aquaculture 2004, p. 244.
- Ramofafia C, M Byrne & SC Battaglione. 2003. Development of three commercial sea cucumbers, *Holothuria scabra*, *H. fuscogilva* and *Actinopyga mauritiana*: larval structure and growth. Marine and Freshwater Research 54: 657-667.
- Renbo W & C Yuan. 2004. Cría y cultura del mar pepino *Apostichopus japonicus*, Liao. En: Lovattelli A (Ed). Los avances en la acuicultura de pepino de mar y de gestión. Sesión III. Avances Acuiculturas, pp 277-286. FAO Departamento de Pesca, Roma.
- Uthicke S. 2001. Interactions between sediment-feeders and microalgae on coral reefs: grazing losses versus production enhancement. Mar. Ecol. Prog. Ser., 210: 125-138.
- Zacarías M et al. 2013. Spawning and Larval Development of the Four-Sided Sea Cucumber, *Isostichopus badionotus*, under Controlled Conditions. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (Cinvestav) Unidad Mérida, 97310 Mérida, Yucatán, México. Vol. 44, No. 5

ANEXOS

ANEXOS 1



Fig. 1. Ubicación geográfica de la zona de extracción.

ANEXO 2

Escala empírica macroscópica de madurez sexual para hembras de pepino de mar.

(Descrito por Álvarez, C et al.2010)

ESTADIOS	CARACTERÍSTICAS
	<p>Estadio 2.- Madurante. Adquiere un color verde permanente, sin presencia de ovocitos, se muestran los túbulos de textura lisa.</p>
	<p>Estadio 3.- Maduro. Gónada de color verde tenis con una pared delgada y con presencia de algunas ovocitos que se pueden observar a simple vista.</p>
	<p>Estadio 4.- Desove. Gónada turgente de color Verde cactus con ovocitos observados a simple vista de color amarillento los cuales se pueden observar a simple vista.</p>
	<p>Fig. 5. ND. Gónada de color Verde y amarillo lechoso, la cual aún no se determina el estadio de desarrollo y el sexo.</p>

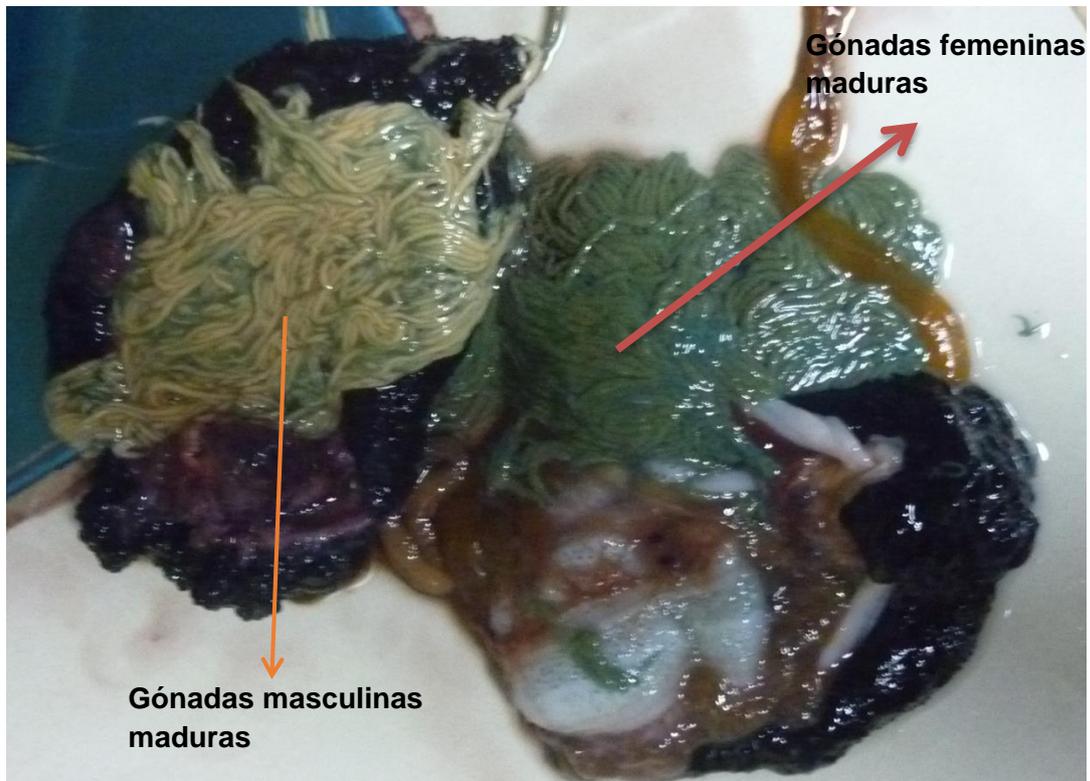


Fig.2. Gónadas maduras de *P. mollis* pepino de mar

En el caso de las gónadas de los machos deben estar de color amarillo crema y en las hembras de un verde claro, también a simple vista se puede apreciar sus ovocitos.

ANEXOS 3

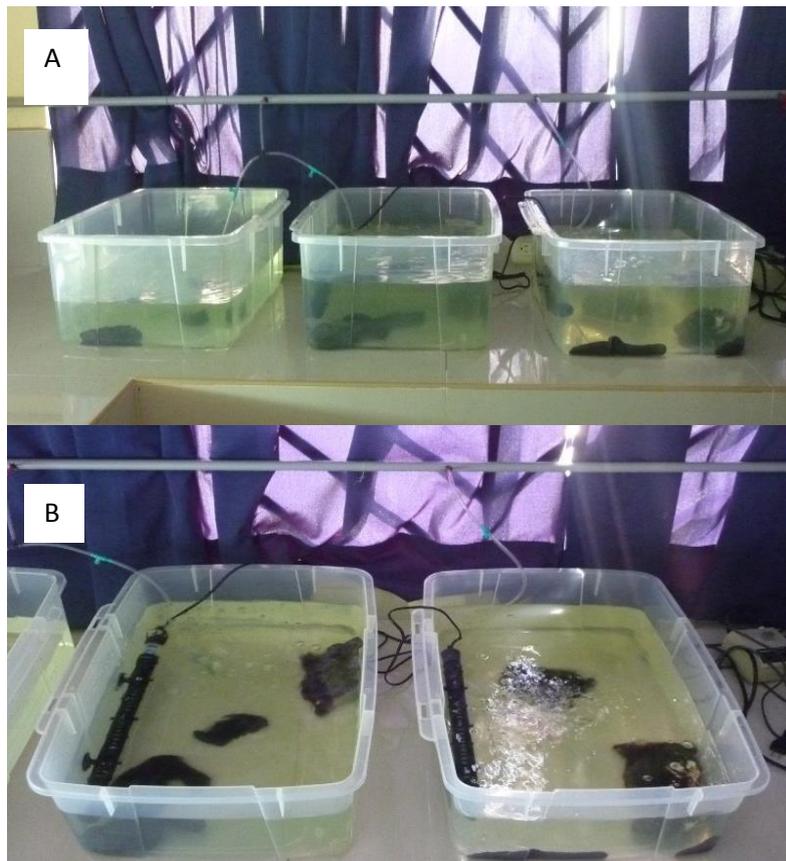


Fig. 3. A) Acondicionamiento de reproductores; B) Inducción al desove mediante shock térmico

ANEXO 4



Fig. 4. A1) tamizado y A2) traslado de huevos; B) Estereoscopio.

ANEXO 5



Fig 5. Cultivo de microalgas

ANEXO 6



Fig. 6. Expulsión de gametos femeninos y masculinos de *P.mollis*

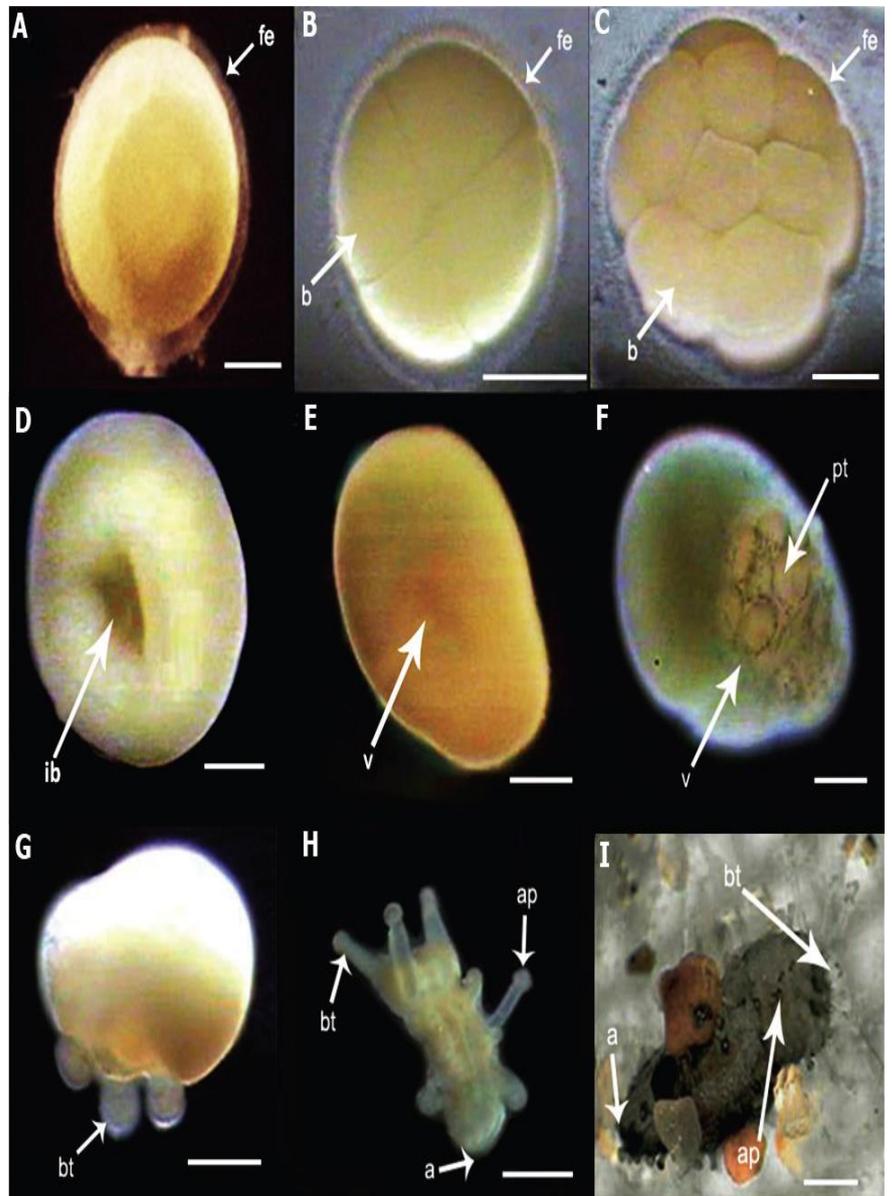
ANEXO 7

Cronología del Desarrollo y tallas aproximadas (PROMEDIO \pm DE, n = 30) de *Athyonidium chilensis* Bajo Condiciones Experimentales ($13 \pm 0,3$ ° C). Tiempo de Desarrollo es Presentado en horas (h) y Días (d) **(datos reportados por Guisado et al. 2012)**

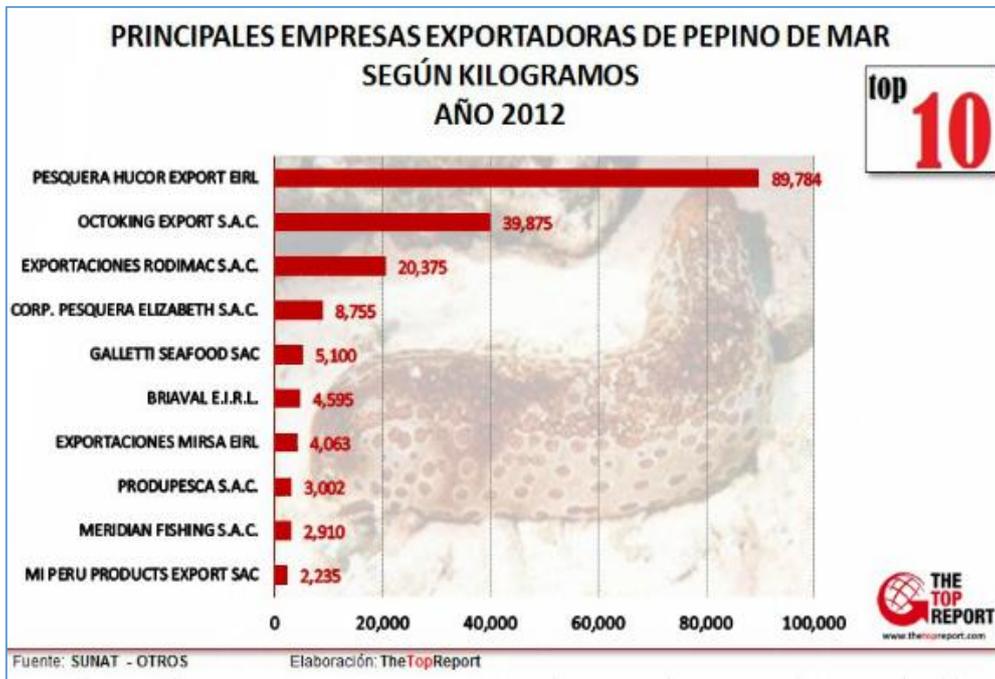
Stage	Time (h, d)	Size (μ m)
Fertilized oocyte	0 min	360 ± 16
2-cell	1-3 h	342 ± 14
4-cell	3-5 h	367 ± 72
8-cell	5-6 h	358 ± 14
16-cell	6-8 h	400 ± 25
32-cell	8-9 h	442 ± 14
Blastula	24-25 h	325 ± 25
Gastrula	48-49 h	483 ± 38
Vitellaria	4-5 d	433 ± 37
Pentactula	7 d	629 ± 36
Early juvenile	21 d	689 ± 64
Juvenile	35 d	684 ± 11

ANEXO 8

Microscopía Óptica del Desarrollo embrionario y larval de *Athyonidium chilensis*. **A.** oocito fertilizado con la membrana de fecundación (fe) Elevada. Escala = 120 micras. **B.** Estadio 4 Células. (b) blastómero. Escala = 180 micras. **C.** Estadio 32 Células. Escala = 150 μ m. **D.** Blástula. (ib) invaginación del blastodermo. Escala = 100 micras. **E.** gástrula. (v) Vestíbulo. Escala = 100 micras. **F.** Vitelaria. (pt) tentáculos primarios. Escala = 150 micras. **G.** Pentáctula. (bt) Tentáculos bucales. Escala = 200 micras. **H.** Juvenil 35 Días postfecundación. (a) ano, (bt) tentáculos bucales, (ap) podios ambulacrales. Escala = 230 micras. **I.** Juvenil 120 Días después de la fecundación. Escala = 275 m **(reportado por Guisado, C. et al. 2012)**



ANEXO 9



ANEXO 10

Datos de exportación de la Pesquera Hucor Export E.I.R.L en pepino de mar

Exportador	Descripción producto	Estado de la Mercancia	Unidad Comercial 2	Fecha aaaa-mm-dd	Pais Destino	Via	Fecha embarque	TOTAL Peso Neto (Kg)	Valor FOB Unitario US\$ (Cantidad-1)	TOTAL Valor FOB (US\$)
PESQUERA HUCOR EXPORT EIRL	PEPINOS DE MAR SECOS ABIERTOS	BUENO	KG	27/01/2012	HONG KONG	MARITIMA	02/02/2012	10020.00	20.00	200400.00
PESQUERA HUCOR EXPORT EIRL	PEPINOS DE MAR SECOS ABIERTOS	BUENO	KG	24/02/2012	HONG KONG	MARITIMA	01/03/2012	14340.00	20.00	286800.00
PESQUERA HUCOR EXPORT EIRL	PEPINOS DE MAR SECOS ABIERTOS	BUENO	KG	07/07/2012	HONG KONG	MARITIMA	13/07/2012	10500.00	20.00	210000.00
PESQUERA HUCOR EXPORT EIRL	PEPINOS DE MAR SECOS, ABIERTOS	BUENO	KG	10/10/2012	HONG KONG	MARITIMA	15/10/2012	7380.00	22.00	162360.00
PESQUERA HUCOR EXPORT EIRL	PEPINO SECO DE MAR SECOS ABIERTOS	BUENO	KG	05/11/2012	HONG KONG	MARITIMA	08/11/2012	10020.00	22.00	220440.00
PESQUERA HUCOR EXPORT EIRL	PEPINO DE MAR SECO, ABIERTOS	BUENO	KG	26/11/2012	HONG KONG	MARITIMA	01/12/2012	10020.00	22.00	220440.00
PESQUERA HUCOR EXPORT EIRL	PEPINO DE MAR SECO / DRIED SEA CUCUMBER	BUENO	KG	03/12/2012	CANADA	MARITIMA	17/12/2012	1500.00	22.00	33000.00
PESQUERA HUCOR EXPORT EIRL	PEPINOS DE MAR SECOS, ABIERTOS	BUENO	KG	20/12/2012	HONG KONG	MARITIMA	24/12/2012	11700.00	22.00	257400.00

Fuente: SUNAT 2012

