



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ciencias de la Vida

“Pruebas de marcaje en los pepinos de mar *Holothuria theeli* e *Isostichopus fuscus* (Echinodermata: Aspidochirotida) en condiciones de laboratorio”

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Previo la obtención del Título de:

BIÓLOGO

Presentado por:

Miguel Ángel Herrera Vivar

GUAYAQUIL – ECUADOR

AÑO: 2016

**Pruebas de marcaje en los pepinos de mar *Holothuria theeli* e
Isostichopus fuscus (Echinodermata: Aspidochirotida) en condiciones
de laboratorio**

Herrera Vivar, M. A.; Sonnenholzner, J. I.

RESUMEN

Se evaluó la retención y los efectos producidos de dos métodos de marcaje: barras tipo T y dispositivo electromagnético tipo PIT, en ejemplares fisionados y enteros de dos especies de pepino de mar de interés comercial: *Holothuria theeli* (Deichmann, 1938) e *Isostichopus fuscus* (Ludwig, 1875), en condiciones de laboratorio durante 40 días. En general, hubo mejor respuesta al marcaje con la barra T que con PIT en ambas especies. *Holothuria theeli* registró mayor supervivencia y menor efecto por marcaje que *I. fuscus*. La pérdida de barras T en individuos de *H. theeli* fue a los 25 días post-marcaje, con una tasa de retención del 50%. *Isostichopus fuscus* expulsó sus marcas en una semana, y sólo dos individuos fisionados (parte posterior) la retuvieron. Ambas especies no retuvieron la marca tipo PIT insertada en la cavidad celómica, la expulsaron entre 8 horas y hasta una semana post-marcaje. Estos dos métodos pueden causar lesiones, pérdida de tejido y mortalidad. Se concluye que las marcas tipo T pueden ser más adecuadas para *H. theeli*. Se requieren realizar otras pruebas exploratorias de marcaje en *I. fuscus*.

Palabras Clave: Marcas, T-bar, PIT-tag, experimentos, Ecuador

ABSTRACT

Retention rates and effects caused by two tagging methods: T-bars and electromagnetic PIT-tags, in fissioned and complete individuals of two sea cucumber species of commercial interest *Holothuria theeli* (Deichman, 1938) and *Isostichopus fuscus* (Ludwig, 1875), were assessed under laboratory conditions during 40 days. In general, there was a better response to tagging with T-bars rather than with PIT-tags for both species. *Holothuria theeli* showed higher survival and less secondary post-tagging effects than *I. fuscus*. T-bar tag loss occurred 25 days after tagging, with a retention rate of 50%. *Isostichopus fuscus* shed their T-bar tags within a week, and only two fission individuals (posterior parts) retained them. Both species showed no retention for PIT-tags inserted into the coelomic cavity, and expelled them between 8 hours and a week after tagging. Both tagging methods can cause injuries, tissue loss and mortality. It was concluded that T-bar tagging can be more suitable for *H. theeli*. Exploratory tests with other tagging methods in *I. fuscus* are required.

Keywords: Tagging, T-bar, PIT-tags, experiments, Ecuador

INTRODUCCIÓN

El método de marcaje-recaptura es una herramienta utilizada para estudios de dinámica poblacional y patrones migratorios de animales terrestres y acuáticos (Pollock, Nichols, Brownie, & Hines, 1990; Pradel, 1996; Ricker, 1975). En organismos marinos, el marcaje permite identificar animales para diferentes propósitos: validación de edad (Sonnenholzner, Montaña-Moctezuma, & Searcy-Bernal, 2011), crecimiento, obtención de parámetros de historia de vida (Uthicke & Benzie, 2002). Esta información es importante para conocer el estado poblacional de organismos expuestos a sobrepesca.

Esta herramienta ha ido mejorando en el transcurso del tiempo (Leber, K.M., Blankenship, 2011), particularmente para trabajar con poblaciones de especies marinas que poseen interés comercial o se encuentran amenazadas por efecto de sobrepesca. Sin embargo, este método debe cumplir con tres criterios importantes: 1) alta retención de marcas, 2) baja mortalidad y 3) no efectos secundarios en el organismo marcado (Tabla 1).

Un caso interesante de estudio es el pepino de mar, cuyos bancos naturales son explotados en diferentes regiones del mundo debido a la gran demanda de productos derivados con fines alimentarios y biotecnológicos (Purcell, Lovatelli, Vasconcellos, & Ye, 2010; Purcell, Polidoro, Hamel, Gamboa, & Mercier, 2014). El método de marcaje-recaptura permitiría evaluar de forma más precisa el estado poblacional en pepinos de mar. Se han realizado varios estudios con marcas internas

tipo PIT-tag y externas tipo T-bar en holotúridos, con diferentes resultados, principalmente bajas tasas de retención (Cieciel, Pyper, & Eckert, 2009; Gianasi, Verkaik, Hamel, & Mercier, 2015; Rodríguez-Barreras, Serrano-Torres, & Macías-Reyes, 2014). Otros equinodermos han mostrado excelentes resultados en experimentos con marcaje físico o químico (Tuya, Martín, & Luque, 2003).

Un aspecto no considerado hasta ahora en estudios de marcaje en equinodermos es su naturaleza reproductiva. Algunos aspidoquirrótidos presentan dos formas reproductivas: una sexual (por unión de gametos), y una asexual (por fisión) (Dolmatov, 2014). Dado que la fisión ocurre en el medio natural por diferentes factores (Dolmatov, Khang, & Kamenev, 2012; Mladenov, 1996; Reichenbach & Holloway, 1995), esta forma reproductiva influye en el número total de individuos de una población.

En los ecosistemas marinos de Ecuador, los pepinos de mar son sujetos a sobrepesca. Se han reportado 19 holoturoideos en la plataforma continental ecuatoriana, en aguas someras y profundas, y en las Islas Galápagos (Sonnenholzner et al., 2013). Los pepinos de mar *Holothuria (Selenkothuria) theeli* (Deichmann, 1938) e *Isostichopus fuscus* (Ludwig, 1875) se distribuyen a lo largo de la costa este del Pacífico, desde Baja California, México, hasta la costa sur del Ecuador, incluyéndose las islas Galápagos. *Isostichopus fuscus* habita en zonas de aguas profundas de aproximadamente 20 m (Sonnenholzner, 1997). Esta especie ha sido reportada como “sobreexplotada” en la costa continental ecuatoriana y en las

Pruebas de marcaje en *H. theeli* e *I. fuscus* en laboratorio

pesquerías de Galápagos (Purcell et al., 2010, 2014). Por otra parte, *H. theeli* es un aspidoquirrótido comúnmente encontrado en zonas costeras de alta energía del oleaje, a las cuales se encuentran plenamente adaptados (Sonnenholzner, 2003).

Estos dos aspidoquirrótidos se alimentan del sustrato, y tienen en común su capacidad de reproducirse sexual y asexualmente (Sonnenholzner et. al, 2013; Sonnenholzner, Comunicación Personal). Estas características son de particular interés para estudios de evaluación de stocks e intentos de repoblación de bancos naturales. No se han realizado pruebas de marcaje en estas especies de interés comercial, dificultando la determinación de su crecimiento poblacional y parámetros de historia de vida.

El propósito de este estudio fue determinar la eficiencia en retención de marcas, supervivencia y pérdida de tejido corporal como efecto secundario, de dos métodos de marcaje en individuos reproducidos sexual y asexualmente de dos especies de pepino de mar, en miras a reintroducir individuos criados en laboratorio para recuperar las poblaciones.

Tabla 1.- Criterios propuestos para evaluar de forma general un procedimiento de marcaje.

	A corto plazo	A mediano plazo	A largo plazo	Referencia
Retención	100%	>90%	>70%	(Leber, K.M., Blankenship, 2011)
Supervivencia	100%	>80%	>80%	(Pollock et al., 1990)
Alteración en alimentación	No	No	No	(Hagen, 1996)
Afectación al crecimiento	No	No	No	(Hagen, 1996)
Daños físicos (necrosis, infección)	No	No	No	(Hagen, 1996; Sonnenholzner,2010)
Pérdida de tejido	<20% (respecto a biomasa total de animales marcados)	0	0	Presente estudio
Identificación rápida	Sí	Sí	Sí	(Hagen, 1996)

MATERIALES Y MÉTODOS

SELECCIÓN Y ACLIMATACIÓN DE INDIVIDUOS

Se seleccionaron 20 individuos de cada especie de pepino de mar, *I. fuscus* y *H. theeli*, de un tanque de cultivo acuícola del Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas de la Escuela Superior Politécnica del Litoral (CENAIM-ESPOL). Los animales fueron aclimatados por tres semanas en un set experimental en condiciones de semi-oscuridad, con flujo de agua y aire continuo. La temperatura del agua estuvo entre 25°C y 29°C, y los niveles de oxígeno disuelto fueron mayores a 5,5 mg/L.

Pruebas de marcaje en *H. theeli* e *I. fuscus* en laboratorio

Se utilizaron dos categorías de animales por cada especie de pepino de mar: animales fisionados (n=20) y animales enteros (n=20). Las tallas de los animales seleccionados como enteros de *H. theeli* e *I. fuscus* fueron $8,8 \text{ cm} \pm 1,3 \text{ cm}$ y $14,4 \text{ cm} \pm 1,9 \text{ cm}$ respectivamente. Las tallas de los animales que fueron fisionados de *H. theeli* e *I. fuscus* fueron $11,1 \text{ cm} \pm 1,3 \text{ cm}$ y $16,5 \text{ cm} \pm 2,2 \text{ cm}$ respectivamente.

Corte de animales: Los animales fueron cortados transversalmente utilizando un cuchillo de mango grueso (25 cm x 0,1 cm) y una regla. Luego se midieron la talla y peso de las partes anteriores y posteriores obtenidas de cada animal, y fueron colocados en tanques de una tonelada, base plana con flujo continuo de agua y aire para lograr que los animales cicatricen. Como consecuencia de la cicatrización, el tejido corporal desprendido del cuerpo del animal fue diariamente recolectado.

DESCRIPCIÓN DE MARCAS

T-bar.- Es una marca plástica de visibilidad externa con forma tipo T, de distintos tamaños de longitud. Se utilizaron marcas de 4 y 7 cm de longitud. Las marcas fueron insertadas utilizando una pistola (Avery-Dennison Mark III), mediante una perforación pequeña y rápida en la zona dorsal de individuos cortados y enteros.

PIT.- Es una marca de vidrio de colocación interna tipo transpondedor integrado pasivo de 1.1 cm de longitud. Las marcas PIT fueron insertadas en la cavidad celomica (Figura 1) mediante una perforación en la zona dorsal de animales enteros y fisionados (se trataron las partes anteriores y posteriores de animales cortados como individuos separados).



Figura 1.- Marcaje con PIT. a) Fotografía de la marca PIT y su inyector. b) Radiografía de un individuo completo *I. fuscus* de siete días de marcado con PIT.

MARCAJE T-BAR Y MONITOREO

Luego de tres semanas de la fisión, cuando los animales mostraron signos de cicatrización completa (estabilización de pérdida tisular, y zona de corte visiblemente sellada), se realizó el marcaje. Se distinguieron tres tratamientos experimentales (enteros, anteriores y posteriores marcados), tres controles positivos (punción sin marca), y tres controles negativos (sin marcaje ni punción) para ambas especies. Se designaron dos réplicas por tratamiento, donde cada unidad experimental contuvo tres individuos (n=3).

Las marcas T-bar de 4 cm fueron insertadas en la cavidad celómica a través de una punción en la zona dorsal de individuos completos y fisionados, que fueron colocados después en tanques de una tonelada de agua circulante y aireación constante.

Pruebas de marcaje en *H. theeli* e *I. fuscus* en laboratorio

Se monitoreó diariamente la retención de las marcas y los efectos posibles consecuentes del marcaje (pérdida de tejido, supervivencia).

RESULTADOS

PRUEBAS OBSERVACIONALES PREVIAS

Las pruebas preliminares en animales completos y fisionados de ambas especies se muestran en la Tabla 2.

T-bar.- Luego de realizar pruebas observacionales, las marcas tipo T mostraron retenciones altas para ambas especies.

Para las marcas T de 7 cm, el tiempo de retención fue alto en ambas especies, pero con visibles señales de estrés. La más sensible fue *I. fuscus*, con daños en el tejido dérmico y eventual expulsión de la marca en menos de 17 días. *Holothuria theeli* fue más resistente, aunque también mostró señales de laceración en la zona de punción.

Así, se decidió probar marcas T-bar de menor longitud (4 cm) para determinar si una marca de menor tamaño funcionaría mejor en retención, supervivencia y pérdida de tejido.

PIT-tag.- Los animales con marcas PIT en la cavidad celómica mostraron poca retención, independientemente de ser enteros o cortados.

Las partes anteriores de *I. fuscus* marcados con PIT mostraron poca retención, expulsándolos en menos de cuatro días a través de la boca. Los animales completos mostraron signos de estrés debido a la perforación, pues la zona de punción mostró pérdidas de tejido.

En individuos de *H. theeli*, el marcaje con PIT mostró menor tiempo de retención que *I. fuscus*.

Tabla 2.- Resultados preliminares de marcaje de pepinos de mar completos y fisionados, con marcas PIT y T-bars de 7 cm.

Especies	Tipo de individuo	Tiempo máximo de retención de PIT (días)	Tiempo máximo de retención de T-bar (días)
<i>I. fuscus</i>	Entero	7	12
	Parte anterior	4	17
	Parte posterior	3	1
<i>H. theeli</i>	Entero	3	14
	Parte anterior	3	14
	Parte posterior	1	14

EXPERIMENTO DE MARCAJE CON BARRAS T DE 4 CM

La Figura 2 muestra individuos marcados con barras T, visibles externamente. Las tasas de retención de marcas T de 4 cm fueron altas, y los signos de estrés fueron menores que con las marcas de 7 cm.

Pruebas de marcaje en *H. theeli* e *I. fuscus* en laboratorio

La retención se mantuvo al 100% en todos los individuos completos de *H. theeli* durante los primeros 15 días después de marcaje (Figura 3), y luego empezó a decaer. Al finalizar el periodo de 40 días, el 50% de individuos enteros de esta especie (Figura 3a).

Los individuos anteriores de *H. theeli* retuvieron las marcas por más tiempo, descendiendo a 80% al cabo de 10 días, y a 65% luego de 22 días. Los individuos posteriores alcanzaron una retención del 50% a los 25 días. Al finalizar el periodo de 40 días, ambos anteriores y posteriores redujeron su retención a 33%.

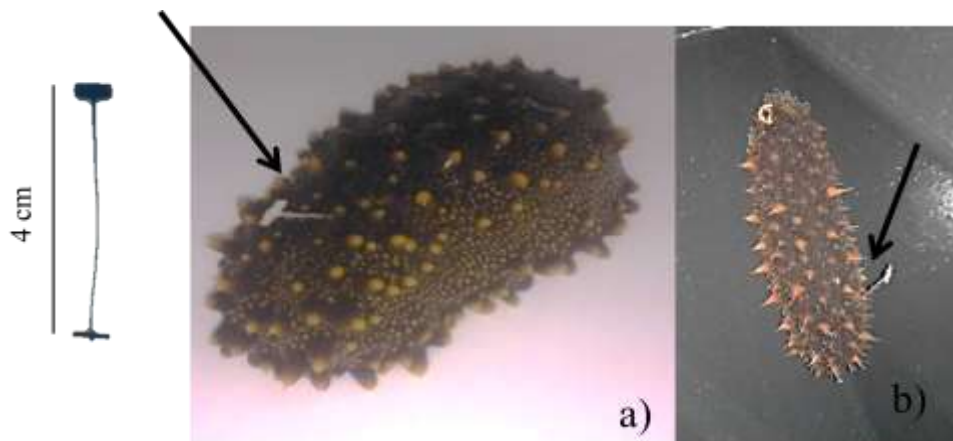


Figura 2.- Marcas tipo T de 4 cm; en individuos completos de a) *I. fuscus* y b) *H.*

theeli marcados con barras T. Flechas indican la ubicación de la marca.

Por otra parte, los individuos completos de *I. fuscus* perdieron la marca durante la primera semana. Los extremos anteriores de *I. fuscus* perdieron todas las marcas apenas 4 días después de su implante. Los clones posteriores redujeron su retención al

50% a los cuatro días post-marcaje, finalizando el periodo con una retención de 16,6%.

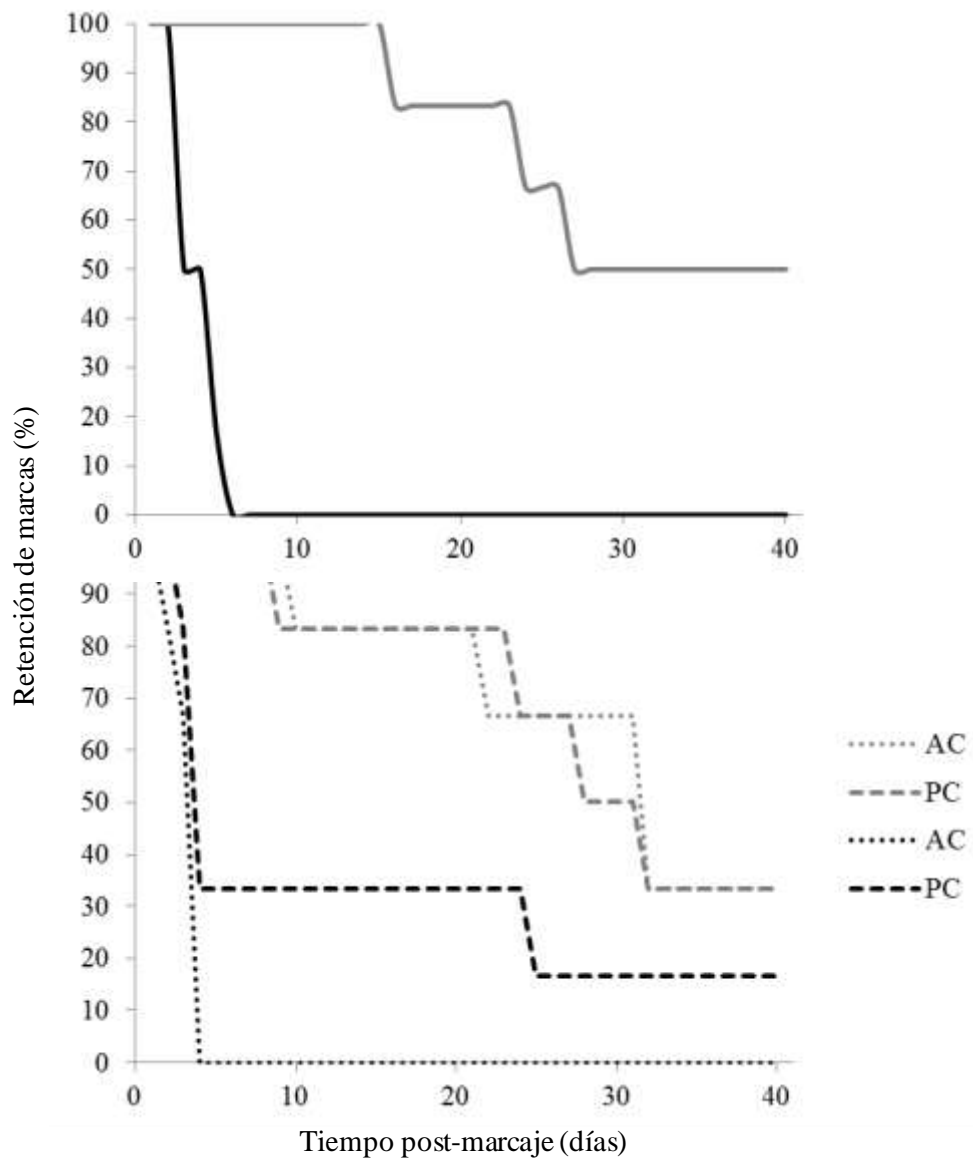


Figura 3.- Retención de marcas T para individuos a) completos y b) fisiónados de ambas especies (la línea gris corresponde a *H. theeli*, y la línea negra a *I. fuscus*).

Letras indican: AC: anterior clones, PC: posterior clones.

EFECTOS POST-MARCAJE

Supervivencia:

La supervivencia de los individuos enteros y anteriores de *I. fuscus* fue del 100% durante todo el experimento (Figura 4a, 4b). Los individuos posteriores de esta especie registraron mortalidad, siendo su tasa de supervivencia de 67% al final del periodo de 40 días (4c). Los controles positivos – animales punzados sin marca – también mostraron mortalidad (Figura 4d), y su supervivencia final fue de 83% para individuos enteros y anteriores, y de 33% de los individuos posteriores. Los controles negativos mantuvieron supervivencia del 100% (Figura 4e).

La supervivencia de individuos enteros de *H. theeli* marcados fue del 100%. Los individuos anteriores sufrieron un descenso en supervivencia a 80% al cabo de 30 días. Los extremos posteriores alcanzaron una supervivencia del 83% al final del periodo observado. Los controles positivos de *H. theeli* alcanzaron una supervivencia de 100%, 66 y 83% para animales enteros, anteriores y posteriores, respectivamente (Figura 4i). Los controles negativos mantuvieron supervivencia del 100%, con pérdida mínima de tejido (Figura 4j).

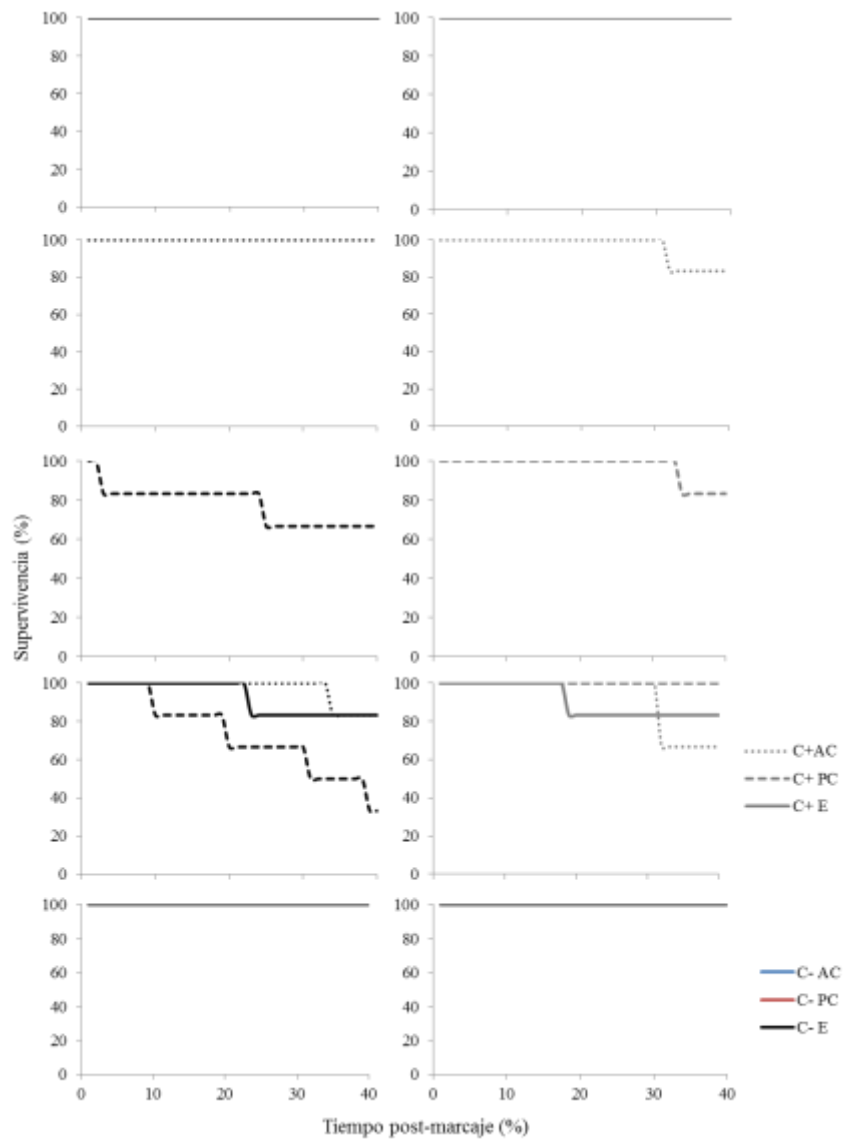


Figura 4.- Supervivencia de los animales enteros y fisionados de *I. fuscus* (a-e) y *H. theeli* (f-j) durante el periodo experimental de 40 días post-marcaje. Léanse los gráficos de arriba hacia abajo: individuos enteros, anteriores, posteriores, controles positivos (C+) y negativos (C-).

Pruebas de marcaje en *H. theeli* e *I. fuscus* en laboratorio

Pérdida de tejido

Se recolectó a diario los restos de tejido en cada unidad experimental, y se estimó el porcentaje de pérdida de tejido corporal considerando la biomasa total de cada tratamiento y la cantidad de tejido recolectado al final del periodo de observación de 40 días (Figura 5).

La mayor pérdida de tejido fue identificada en el tratamiento de los individuos posteriores de *I. fuscus* (>27% de biomasa perdida), y su control positivo (>30% biomasa perdida). Estos valores incluyen el peso de los individuos registrados como mortalidad.

Para *H. theeli*, la pérdida de tejidos fue mayor en los individuos posteriores marcados con barras T. Las menores pérdidas corresponden a los controles negativos de ambas especies.

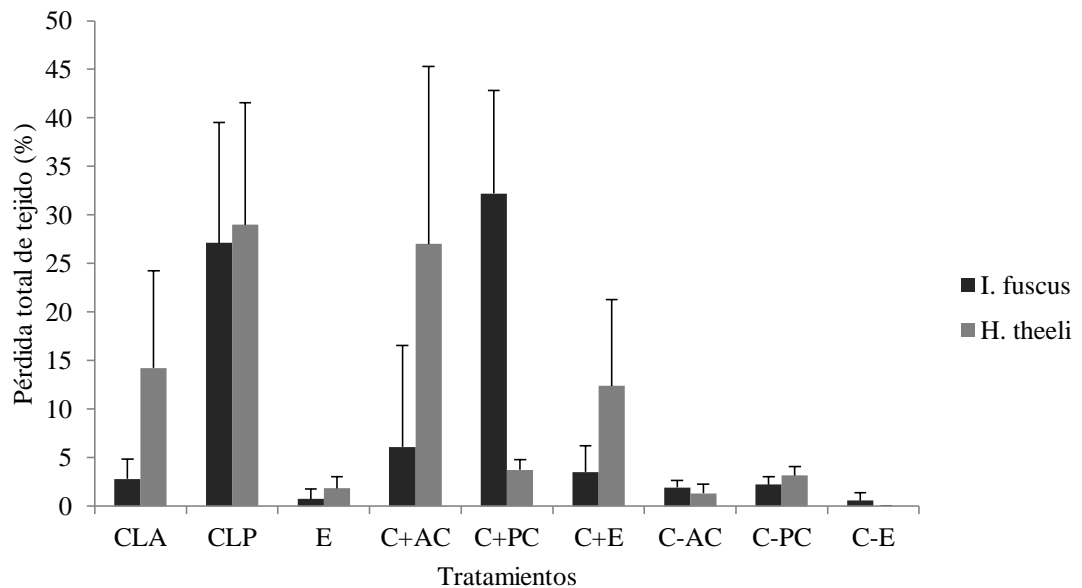


Figura 5.- Pérdida de tejido de los tratamientos experimentales respecto a la biomasa inicial total (peso de todos los individuos antes del marcaje), con errores estándar.

Barras negras corresponden a *I. fuscus*, y barras grises a *H. theeli*. Letras indican: AC: anterior clon, PC: posterior clon, E: enteros, C+: controles positivos, C-: controles negativos

DISCUSIÓN

Las marcas PIT han sido probadas con éxito en invertebrados marinos, tales como pepinos y erizos de mar (Lauzon Guay & Scheibling, 2008; Purcell, Agudo, & Gossuin, 2008; Rodríguez-Barreras & Sonnenholzner, 2014; Sonnenholzner et al., 2011; Woods & James, 2005). No obstante, los resultados reportados en este estudio para ambas especies de pepinos de mar no revelan retención en la cavidad celómica. De hecho, la mayor parte de las pruebas de marcaje han sido realizadas a través de inserciones de marcas PIT en esta cavidad (Lokani, 1992; Purcell et al., 2008;

Pruebas de marcaje en *H. theeli* e *I. fuscus* en laboratorio

Rodríguez-Barreras et al., 2014), con expulsión en menos de 8 semanas, y varios efectos secundarios como evisceración y estrés.

Las pruebas preliminares de marcaje con PIT permitieron identificar que la marca en esa ubicación se pierde y que los animales punzados muestran signos de estrés y baja retención. Los individuos de *H. theeli* expulsaron la marca en poco tiempo, y sin mayores signos de pérdida de tejido, lo cual refiere una mayor resistencia al marcaje respecto a *I. fuscus*.

Las partes anteriores de *I. fuscus* marcados con PIT mostraron poca retención, expulsándolos en menos de cuatro días a través de la boca. Mediante observaciones, fue posible distinguir que a pesar de no alimentarse (los animales fisionados no contaban con sistema digestivo plenamente regenerado), pudieron expulsar las marcas por apertura oral. La expulsión a través de la zona de fisión fue poco probable dado que los animales mostraron señales de sellamiento (sin pérdida de tejidos ni orificios visibles al momento del marcaje). Comportamientos similares fueron registrados para las partes posteriores de *I. fuscus*, siendo la cloaca el medio de expulsión de marcas en menos de tres días. Los animales completos mostraron signos de estrés debido a la perforación, pues la zona de punción mostró pérdidas de tejido. Estos resultados, junto con los estudios reportados por otros investigadores, sugieren que la cavidad celómica no es ideal para el marcaje. Hasta el momento, las retenciones más altas de PIT han sido reportadas por Gianasi *et al.* (2015) para el dendroquirrótido *Cucumaria frondosa* (Gunnerus, 1767), insertando la marca en la base del tentáculo bucal y en la

pared corporal. Este enfoque podría ser aplicado en aspidoquirrótidos mediante ciertas modificaciones metodológicas, dadas las diferencias morfológicas entre las especies.

El experimento de marcaje con barras T demostró ser más eficiente en términos de supervivencia y retención, aunque se han reportado lesiones en el tejido luego del marcaje para otras especies de pepino de mar (Conand, 1991).

Los resultados preliminares con barras T de 7 cm de longitud mostraron alto estrés, y se optó por marcas de menor tamaño para el experimento, pues una mayor longitud de marca causa su movimiento en la zona de punción, aumentando la laceración y aumentando el riesgo de infecciones y pérdida de tejido.

A partir del día 21 se registró un incremento de pérdida de marcas debido a que los individuos enteros y posteriores de *H. theeli* mostraban una absorción de la marca tipo T por el intestino y su expulsión a través del ano, generando un estrés en el animal. Este comportamiento ha sido reportado para otros holotúridos (Rodríguez-Barreras, comunicación personal), y fue la causante de reducción de supervivencia al finalizar el periodo de observación.

El tiempo de retención de marcas tipo T fue mayor en *H. theeli* que en *I. fuscus*. Particularmente, los individuos enteros de *H. theeli* fueron quienes retuvieron las marcas por mayor tiempo durante el periodo observado.

Pruebas de marcaje en *H. theeli* e *I. fuscus* en laboratorio

Se observó descenso de supervivencia en los controles positivos, lo que sugiere que la punción por sí misma ya genera un estrés en el animal que desencadena la pérdida de tejido y la mortalidad. Los resultados también sugieren que los individuos posteriores de ambas especies son más sensibles al marcaje que los individuos anteriores y enteros.

Las observaciones de pérdida de tejido luego del marcaje con barras T son diferentes en individuos enteros y fisionados. El porcentaje mayor de pérdida de tejido corresponde a los individuos posteriores de *I. fuscus*, coincidiendo con mayores cifras de mortalidad y retención para esta especie. Los resultados de retención fueron altos para los individuos anteriores y enteros, pues luego del marcaje, la pérdida temprana de tejido cercano a la zona de punción favoreció la pérdida de marcas en menos de una semana. A pesar de que sí hubo retención de marcas T en individuos posteriores de *I. fuscus* en un porcentaje bajo, los individuos mostraban al final de la prueba de 40 días señales de poca adherencia al sustrato en comparación con sus controles negativos y positivos.

Las dos especies tratadas en este estudio difieren en hábitat - *I. fuscus* prefiere aguas más profundas, y *H. theeli* es propia de zonas de alta energía del oleaje (Sonnenholzner, 1997, 2003; Sonnenholzner et al., 2013), lo cual implica adaptaciones para resistir diferentes condiciones ambientales. La mayor resistencia de *H. theeli* a condiciones de estrés de punción (alta supervivencia y baja pérdida de tejido) podría sugerir diferencias entre especies a nivel de composición bioquímica,

especialmente en contenido proteico, la cual ha sido corroborada para otras especies de pepino de mar (Bordbar, Anwar, & Saari, 2011; Takehana, Yamada, Tamori, & Motokawa, 2014; Tamori, Takemae, & Motokawa, 2010; Wen, Hu, & Fan, 2010). Sin embargo, no se han reportado estudios bioquímicos de la pared corporal de estas dos especies aún.

El enfoque de estudiar individuos fisionados y enteros es de particular interés para determinar un aumento de individuos a largo plazo. La vía reproductiva asexual de holotúridos puede darse bajo diferentes condiciones ambientales (Dolmatov et al., 2012; Mladenov, 1996) y debería ser considerado en estudios poblacionales, ya que el número de individuos se puede incrementar por la fisión de los individuos. No se conoce con exactitud la viabilidad de reproducción sexual en individuos que han sido previamente fisionados. Un estudio describe esta posibilidad en holotúridos (Kille, 1942), de forma que sería otro aspecto interesante a considerar en futuros estudios.

CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio sugieren que los individuos de *H. theeli* reproducidos sexual y asexualmente presentan mayores tasas de retención y supervivencia para las marcas tipo T. Se podrían realizar modificaciones a la marca para evitar su movimiento y roce con el tejido en los animales, utilizando barras T de menor tamaño o asegurando su estabilidad móvil, y causar menos pérdida de tejido, estrés y expulsión en *I. fuscus* y *H. theeli*. Las marcas PIT no fueron efectivas en la cavidad celómica de ambas especies, por lo que se deberían considerar otros sitios de

Pruebas de marcaje en *H. theeli* e *I. fuscus* en laboratorio

marcaje, o la utilización de marcas de menores dimensiones de tamaño. Finalmente, otro factor a considerar es la diferencia entre pruebas de laboratorio y evaluación de retención de marcas y supervivencia en campo. A pesar de que las pruebas de marcaje fueron realizadas en laboratorio, se enviaron individuos de *H. theeli* marcados con barras T al medio natural en canastas, cuyos resultados serán publicados en un próximo trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue posible gracias al Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas (CENAIM), donde se realizaron las experimentaciones con el apoyo del proyecto “Desarrollo de protocolos de domesticación para el uso sostenible de nuevas especies marinas para consumo de alimentos y repoblación de bancos naturales” (Proyecto PIC-2014-CENAIM-002), gracias al financiamiento de la Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencias, Tecnologías e Innovación (SENESCYT), y el aporte del Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca (MAGAP) de Ecuador.

.LITERATURA CITADA

Bordbar, S.; Anwar, F., & Saari, N. (2011). High-value components and bioactives from sea cucumbers for functional foods – A review. *Marine Drugs* 9(12), 1761-1805.

Cieciel, K.; Pyper, B. J., & Eckert, G. L. (2009). Tag retention and effects of tagging on movement of the giant red sea cucumber *Parastichopus californicus*. *North American Journal of Fisheries Management* 29(2), 288-294.

Conand, C. (1991). Long-term movements and mortality of some tropical sea cucumbers monitored by tagging and recapture. In *Biology of Echinodermata: Proceedings of the 7th International Echinoderm Conference* (pp. 169-175). Rotterdam.

Dolmatov, I. Y. (2014). Asexual reproduction in Holothurians. *The Scientific World Journal* 2014, 1-13

Dolmatov, I. Y.; Khang, N. A.; & Kamenev, Y. O. (2012). Asexual reproduction, evisceration, and regeneration in holothurians (Holothuroidea) from Nha Trang Bay of the South China Sea. *Russian Journal of Marine Biology* 38(3), 243-252.

Gianasi, B. L.; Verkaik, K.; Hamel, J-F., & Mercier, A. (2015). Novel Use of PIT tags in sea cucumbers: promising results with the commercial species *Cucumaria frondosa*. *Plos One* 10(5): e0127884.

Hagen, N. T. (1996). Tagging sea urchins: a new technique for individual identification. *Aquaculture*, 139(3-4), 271-284

Kille, F. R. (1942). Regeneration of the reproductive system following binary fission in the sea, *Holothuria parvula*. *Biol. Bulletin*. 83(1), 55-66.

Leber, K. M.; Blankenship, H. L. (2011). How advances in tagging technology improved progress in a new science: marine stock enhancement. *Amer. Fish. Soc. Symp.*, 2015: 1-12

Pruebas de marcaje en *H. theeli* e *I. fuscus* en laboratorio

Lauzon-Guay, J. S. & Scheibling, R. E. (2008) Evaluation of passive integrated transponder (PIT) tags in studies of sea urchins: caution advised. *Aquatic Biology* 2: 105-112.

Lokani, P. (1992). First results of an internal tag retention experiment on sea cucumber.

Mladenov, P. (1996). Environmental factors influencing asexual reproductive process in echinoderms. *Oceanologica Acta* 19(3-4), 227-235.

Pollock, K. H.; Nichols, J. D.; Brownie, C., & Hines, J. E. (1990). Statistical inference for capture-recapture experiments. *Wildlife Monographs*. Wiley.

Pradel, R. (1996). Utilization of capture–mark–recapture for the study of recruitment and population growth rate. *Biometrics* 52, 703-706.

Purcell, S.; Agudo, N., & Gossuin, H. (2008). Poor retention of passive induced transponder (PIT) tags for mark-recapture studies on tropical sea cucumbers. *SPC Beche-de-Mer Information Bulletin*.

Purcell, S.; Lovatelli, A.; Vasconcellos, M., & Ye, Y. (2010). Manejo de las pesquerías de pepino de mar con un enfoque ecosistémico.

Purcell, S.; Polidoro, B. A.; Hamel, J.-F.; Gamboa, R. U., & Mercier, A. (2014). The cost of being valuable: predictors of extinction risk in marine invertebrates exploited as luxury seafood. *Proc. Biol. Sci. / The Royal Society*, 281(1781).

Reichenbach, N., & Holloway, S. (1995). Potential for asexual propagation of several commercially important species of tropical sea cucumber (Echinodermata). *Journal of the World Aquaculture Society*, 26(3), 272-278.

Ricker, W. E. (1975). Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada*, (191), 70-90.

Rodríguez-Barreras, R.; Serrano-Torres, S., & Macías-Reyes, D. (2014). A study of two tagging methods in the Caribbean sea cucumber *Holothuria mexicana*. *Marine Biodiversity Records*, 7, 1-4.

Rodríguez-Barreras, R., & Sonnenholzner, J. (2014). Effect of implanted PIT-tags on growth, survival and tag retention in the sea urchin *Tripneustes ventricosus*. *Caribbean Journal of Science*, 48(2-3), 132-137.

Sonnenholzner, J. I. (1997). A brief survey of the commercial sea cucumber *Isostichopus fuscus* (Ludwig, 1875). *SPC Beche-de-Mer Information Bulletin*, March, 1995-1998.

Sonnenholzner, J. I. (2003). Seasonal variation in the food composition of *Holothuria theeli* (Holothuroidea: Aspidochirotida) with observations on density and distribution patterns at the central coast of Ecuador. *Bulletin of Marine Science*, 73(3), 527-543.

Sonnenholzner, J. I.; Brandt, M.; Francisco, V.; Hearn, A.; Luzuriaga, M.; Guarderas, P., & Navarro, J. C. (2013). Echinoderms of Ecuador. In J. J. Alvarado & F. A. Solís-Marín (Eds.), *Echinoderm Research and Diversity in Latin America* (1st ed, pp. 183-233). Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Sonnenholzner, J. I.; Montaña-Moctezuma, G. & Searcy-Bernal, R. (2010). Effect of three tagging methods on the growth and survival of the purple sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus*. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 5(3): 414-420.

Pruebas de marcaje en *H. theeli* e *I. fuscus* en laboratorio

Takehana, Y.; Yamada, A.; Tamori, M., & Motokawa, T. (2014). Softenin, a novel protein that softens the connective tissue of sea cucumbers through inhibiting interaction between collagen fibrils. *PLoS One*, 9(1), e85644.

Tamori, M.; Takemae, C., & Motokawa, T. (2010). Evidence that water exludes when holothurian connective tissue stiffens. *The Journal of Experimental Biology*, 213(11), 1960-1966.

Tuya, F.; Martín, J., & Luque, A. (2003). A novel technique for tagging the long-spined sea urchin *Diadema antillarum*. *Sarsia*.

Uthicke, S.; Benzie, J. A. H. (2002). A genetic fingerprint recapture technique for measuring growth in “unmarkable” invertebrates: negative growth in commercially fished holothurians (*Holothuria nobilis*). *Marine Ecology Progress Series*, 241: 221-226.

Wen, J.; Hu, C., & Fan, S. (2010). Chemical composition and nutritional quality of sea cucumbers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(14), 2469-2474.

Woods, C. M. C. & James, P. J. (2005), Evaluation of passive integrated transponder tags for individually identifying the sea urchin *Evechinus chloroticus* (Valenciennes). *Aquaculture Research* 36: 730–732.

DIRECCIÓN DE AUTORES

M A Herrera Vivar

Facultad de Ciencias de la Vida, Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL)

Km 30.5, Vía Perimetral, Guayaquil, Ecuador.

<migaherr@espol.edu.ec>

J I Sonnenholzner Varas ^(1,2)

(1) Facultad de Ciencias de la Vida, Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL)

Km 30.5, Vía Perimetral, Guayaquil, Ecuador.

(2) Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas (CENAIM), San Pedro de Manglaralto, Ecuador.

<sonnenhol@espol.edu.ec>

**Pruebas de marcaje en los pepinos de mar *Holothuria theeli* e
Isostichopus fuscus (Echinodermata: Aspidochirotida) en condiciones
de laboratorio**

Herrera Vivar, M. A.; Sonnenholzner, J. I.

RESUMEN

Se evaluó la retención y los efectos producidos de dos métodos de marcaje: barras tipo T y dispositivo electromagnético tipo PIT, en ejemplares fisionados y enteros de dos especies de pepino de mar de interés comercial: *Holothuria theeli* (Deichmann, 1938) e *Isostichopus fuscus* (Ludwig, 1875), en condiciones de laboratorio durante 40 días. En general, hubo mejor respuesta al marcaje con la barra T que con PIT en ambas especies. *Holothuria theeli* registró mayor supervivencia y menor efecto por marcaje que *I. fuscus*. La pérdida de barras T en individuos de *H. theeli* fue a los 25 días post-marcaje, con una tasa de retención del 50%. *Isostichopus fuscus* expulsó sus marcas en una semana, y sólo dos individuos fisionados (parte posterior) la retuvieron. Ambas especies no retuvieron la marca tipo PIT insertada en la cavidad celómica, la expulsaron entre 8 horas y hasta una semana post-marcaje. Estos dos métodos pueden causar lesiones, pérdida de tejido y mortalidad. Se concluye que las marcas tipo T pueden ser más adecuadas para *H. theeli*. Se requieren realizar otras pruebas exploratorias de marcaje en *I. fuscus*.

Palabras Clave: Marcas, T-bar, PIT-tag, experimentos, Ecuador

ABSTRACT

Retention rates and effects caused by two tagging methods: T-bars and electromagnetic PIT-tags, in fissioned and complete individuals of two sea cucumber species of commercial interest *Holothuria theeli* (Deichman, 1938) and *Isostichopus fuscus* (Ludwig, 1875), were assessed under laboratory conditions during 40 days. In general, there was a better response to tagging with T-bars rather than with PIT-tags for both species. *Holothuria theeli* showed higher survival and less secondary post-tagging effects than *I. fuscus*. T-bar tag loss occurred 25 days after tagging, with a retention rate of 50%. *Isostichopus fuscus* shed their T-bar tags within a week, and only two fission individuals (posterior parts) retained them. Both species showed no retention for PIT-tags inserted into the coelomic cavity, and expelled them between 8 hours and a week after tagging. Both tagging methods can cause injuries, tissue loss and mortality. It was concluded that T-bar tagging can be more suitable for *H. theeli*. Exploratory tests with other tagging methods in *I. fuscus* are required.

Keywords: Tagging, T-bar, PIT-tags, experiments, Ecuador