



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS



**INFLUENCIA DE LAS FASES LUNARES EN EL
CICLO REPRODUCTIVO DEL OFIUROIDEO
Ophiocoma aethiops LÜTKEN, 1859 EN BAHÍA
DE LA PAZ, B.C.S.**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS**

PRESENTA

CYNTHIA EDITH MÉNDEZ AQUINO

LA PAZ, B.C.S., DICIEMBRE DEL 2016



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 12:00 horas del día 01 del mes de Diciembre del 2016 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis titulada:

"INFLUENCIA DE LAS FASES LUNARES EN EL CICLO REPRODUCTIVO DEL OFIUROIDEO
***Ophiocoma aethiops* LÜTKEN, 1859 EN BAHÍA DELA PAZ, B.C.S."**

Presentada por el alumno:

MÉNDEZ Apellido paterno	AQUINO materno	CYNTHIA EDITH nombre(s)
Con registro:		
A	1	5
0	1	3
5		

Aspirante de:

MAESTRIA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA DEFENSA DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA

Directores de Tesis



DRA. BERTHA PATRICIA CEBALLOS VÁZQUEZ
Directora de Tesis



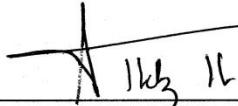
DRA. MARÍA DINORAH HERRERO PEREZRU
2ª. Directora de Tesis



DR. BERNARDO SHIRASAGO GERMAN

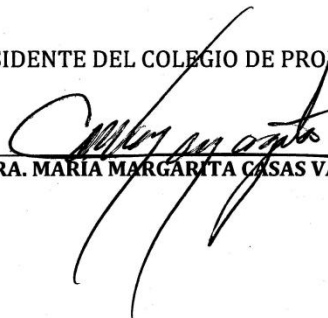


DR. MARCIAL ARELLANO MARTÍNEZ



DR. AGUSTÍN HERNÁNDEZ HERRERA

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES



DRA. MARÍA MARGARITA CASAS VALDEZ



I.P.N.
CICIMAR
DIRECCIÓN



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 09 del mes de Diciembre del año 2016

El (la) que suscribe BM. CYNTHIA EDITH MÉNDEZ AQUINO Alumno (a) del Programa
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

con número de registro A150135 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

manifiesta que es autor(a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de:

DRA. BERTHA PATRICIA CEBALLOS VÁZQUEZ Y DRA. MARÍA DINORAH HERRERO PEREZRUL

y cede los derechos del trabajo titulado:

"INFLUENCIA DE LAS FASES LUNARES EN EL CICLO REPRODUCTIVO DEL OFIUROIDEO

Ophiocoma aethiops LÜTKEN, 1859 EN BAHÍA DE LA PAZ, B.C.S."

al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Éste, puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: cynedi248@gmail.com - bceballo@ipn.mx - dherrero@ipn.com

Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

BM. CYNTHIA EDITH MÉNDEZ AQUINO

Nombre y firma del alumno

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Politécnico Nacional (IPN) que por medio del Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) me permitió continuar con mis estudios de posgrado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), a la Beca de Estímulo Institucional de Formación de Investigadores (BEIFI) y a los proyectos SIP 20150103 y SIP 20160465 por el apoyo económico otorgado.

A mis directoras de tesis, Dra. Patricia Ceballos y Dra. Dinorah Herrero, ya que me dieron la oportunidad de ser parte de este proyecto, por la confianza y el conocimiento transmitido.

A mi comité revisor por su atención y por sus sugerencias para mejorar este trabajo.

A Alma Rivera y Efraín Flores por el apoyo brindado durante las salidas de campo, por las enseñanzas durante el trabajo de laboratorio y porque en ocasiones sentía su amor de padres. ¡Gracias por su cariño! ☺

Especiales a Humberto Ceseña y a Cesar Casas por hacer de los trámites burocráticos los más sencillos, y por la dedicación y eficiencia en su trabajo.

A mis amigos, Ania, Ana Karen, Yasú, Rubén, Julio, Sergio, Román, Frank y Yuliesky, porque siempre que se está lejos de casa es reconfortante encontrar personas que te apoyen, aconsejen y alienten a seguir adelante.

A ti, Felipe Muriel Hoyos, por haberme enseñado a disfrutar la vida yendo sobre dos ruedas, por ser mi amigo, confidente y compañero en esta etapa de nuestras vidas, y por apoyarme incondicionalmente. ¡Eres grandioso! ¡Gracias por ser tan tú! 😊

A mis papás y hermanos por ser mi inspiración para alcanzar mis metas, estar siempre conmigo aún en la distancia, por creer en mí y amarme tanto. ¡Los amo!

Finalmente, dedicó este logro a mi sobrina, Zoe Iliany, ya que es el ser fantástico que alegra mis días y porque el sólo hecho de pensarla me hace muy feliz. ¡Te amo, monstrua! ❤️

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	i
RESUMEN.....	ii
ABSTRACT.....	iii
GLOSARIO.....	iv
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1 Generalidades de la especie.....	3
2.2 Reproducción de equinodermos con influencia lunar.....	4
2.3 Reproducción de ofiuroideos del género <i>Ophiocoma</i>	6
2.4 Morfología de la gónada de <i>Ophiocoma aethiops</i>	7
3. JUSTIFICACIÓN.....	7
4. OBJETIVOS.....	8
4.1 General.....	8
4.2 Particulares.....	8
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
5.1 Área de estudio.....	9
5.2 Obtención de muestras.....	10
5.3 Procesamiento de muestras.....	11
5.4 Proporción de sexos.....	12
5.5 Caracterización de las células germinales y fases de desarrollo gonádico..	12
5.6 Relación del ciclo reproductivo y las fases lunares.....	13
6. RESULTADOS.....	13
6.1 Proporción de sexos.....	14
6.2 Características de los estadios de desarrollo de los ovocitos.....	15
6.3 Fases del desarrollo gonádico.....	16
6.3.1 Hembras.....	16
6.3.2 Machos.....	19
6.4 Distribución de frecuencias de ovocitos por fase de desarrollo gonádico...	22

6.5 Ciclo gonádico de <i>Ophiocoma aethiops</i>	23
6.5.1 Hembras.....	23
6.5.2 Machos.....	25
6.6 Ciclo reproductivo.....	26
6.7 Relación del ciclo reproductivo con las fases lunares.....	27
7. DISCUSIÓN.....	28
8. CONCLUSIONES.....	32
9. RECOMENDACIONES.....	33
10. REFERENCIAS.....	33
11. ANEXOS.....	42

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Ejemplar de *Ophiocoma aethiops* (Foto: Cynthia Méndez).....3
- Figura 2.** Ubicación geográfica del sitio de muestreo.....10
- Figura 3.** Referencia de la medida considerada como diámetro del disco (DD) de *Ophiocoma aethiops*.....11
- Figura 4.** Vista aboral del disco de una hembra madura de *O. aethiops*, en donde se delinea un par de ramificaciones de folículos gonádicos.....14
- Figura 5.** Proporción de sexos encontrada en luna nueva (LN) y luna llena (LL). Los asteriscos indican una proporción de sexos diferente de 1:1.....15
- Figura 6.** Fases del desarrollo gonádico en hembras de *Ophiocoma aethiops*. A) Reposo, B) desarrollo, C) maduración, D), E) liberación de ovocitos y F) post liberación. F: fagocitos; Gv: gránulos de vitelo; L: lumen; Lo: lamelas ovígeras; Oa: ovocitos atrésicos; Og: ovogonias; Op: ovocitos previtelogénicos; Or: ovocitos residuales; Ov: ovocitos vitelogénicos... Barra de escala =50 μm18
- Figura 7.** Fases del desarrollo gonádico en machos de *Ophiocoma aethiops*. A) Reposo, B) desarrollo, C) maduración, D), E) liberación de espermatozoides y F) post liberación. f: fagocitos; L: lumen; PF: pared folicular; S: espermatozoides; Sg: espermatogonias; St: espermátidas. Barra de escala =50 μm21
- Figura 8.** Distribución de los diámetros de las ovogonias (barra blanca), ovocitos previtelogénicos (barra gris), ovocitos vitelogénicos (barra negra) y de los ovocitos residuales (barra en trama) en las diferentes fases de desarrollo gonádico.....23
- Figura 9.** Ciclo gonádico de hembras de *Ophiocoma aethiops*, considerando las fases lunares: luna nueva (●) y luna llena (○).....25
- Figura 10.** Ciclo gonádico de machos de *Ophiocoma aethiops*, considerando las fases lunares: luna nueva (●) y luna llena (○).....26
- Figura 11.** Ciclo reproductivo de *Ophiocoma aethiops*, considerando las fases lunares: luna nueva (●) y luna llena (○).....27

RESUMEN

Ophiocoma aethiops es una especie detritívora que remueve gran cantidad de materia orgánica, la cual es aprovechada por organismos de otros niveles tróficos. Es susceptible a la depredación debido a que forma parte importante de la dieta de varias especies. Sin embargo, podrían existir estrategias reproductivas que le confieran el mayor éxito de fertilización, para mantenerse como un ofiuroideo abundante de la comunidad bentónica, como la sincronización de la liberación de gametos con una fase lunar. Por lo cual, el objetivo del presente estudio consistió en describir el ciclo reproductivo de *O. aethiops* considerando la posible influencia de las fases lunares en la liberación de los gametos. El período de estudio comprendió de julio del 2015 a junio del 2016. Se realizaron muestreos bimensuales durante la luna nueva y luna llena, recolectando en cada uno 15 individuos en promedio. Se obtuvieron un total de 508 individuos, con un intervalo de peso total de 0.07 a 59.3 g, con talla del diámetro del disco entre 4 y 37.5 mm. La proporción sexual encontrada fue de 1M:1H ($Xc^2 < 3.84$). El desarrollo gonádico de ambos sexos se diferenció en cinco fases: reposo, desarrollo, madurez, liberación de gametos y post-liberación. Asimismo, el tamaño mínimo del diámetro de las ovogonias fue de 3 μm y el máximo de los ovocitos vitelogénicos de 72 μm . El ciclo reproductivo de *O. aethiops* se caracterizó por ser continuo, con liberación de gametos durante todo el año, este patrón de reproducción es particular de especies tropicales en donde no existe estacionalidad en los ecosistemas. Debido a esto, no se observó influencia de las fases lunares en la sincronía de la liberación de gametos. Es posible que existan otros factores relacionados con el ciclo reproductivo de *O. aethiops*.

Palabras clave: Ciclo lunar, Echinodermata, Ophiuroidea, reproducción, sincronía.

ABSTRACT

Ophiocoma aethiops is detritivorous and removes large amount of organic matter, which is used by other trophic levels. Its susceptible to predation because is important part of the diet of several species. However, there may be reproductive strategies that confer the maximum percentage of fertilization, to remain as an abundant brittle star of the benthic community, such as the synchronization of the release of gametes with a lunar phase. This study described the reproductive cycle of *O. aethiops* considering the possible influence of the moon phases in the release of gametes. The study period comprised July 2015 to June 2016. Bi-monthly samples were taken during the new moon and full moon. In each, 15 individuals on average were collected. 508 individuals in total were collected with a weight range weight of 0.0671-59.3 g and the diameter of the disc was 4 - 37.5 mm. The sex ratio was 1M: 1H ($\chi^2 < 3.84$). The gonadal development of both sexes differed in five phases: rest, development, maturity, gamete release and post-release. Also, the minimum diameter of the ovogonias was 3 μm and the maximum for vitellogenic oocytes was 72 μm . The reproductive cycle of *O. aethiops* was characterized by continuous, with release of gametes throughout the year; this pattern of reproduction is particularly tropical species where there is no seasonality in ecosystems. According to the results, there was no influence of the moon phases in the synchronicity of the release of gametes; therefore, there are other factors relating to the reproductive cycle of *O. aethiops*.

Keywords: Lunar cycle, Echinodermata, Ophiuroidea, reproduction, synchrony.

GLOSARIO

Áreas interambulacrales: Es el espacio del disco que existe entre los brazos de ofiuroides y estrellas de mar.

Atresia: Es el proceso por medio del cual los ovocitos vitelogénicos o previtelogénicos comienzan la degeneración de su estructura y la reabsorción de sus reservas energéticas (Ross & Pawlina, 2008).

Canto rodado: Fragmentos erosionados de rocas, regularmente redondos, que son susceptibles de ser transportados por medios naturales, como corrientes de agua, y se encuentran en la orilla del mar (Bartol-Hernández *et al.*, 1992).

Células mioepiteliales: Son células contráctiles con muchas prolongaciones que se ubican entre la membrana plasmática basal de las células epiteliales, también están debajo de las células de la porción proximal del sistema de conductos excretores (Ross & Pawlina, 2008). En los folículos gonádicos, se encuentran en la pared de los sacos interno y externo (Byrne, 1989).

Ciclo gonádico: es la representación repetida del desarrollo de la gónada, desde el momento en que se encuentra en reposo hasta la post liberación de gametos.

Ciclo reproductivo: Frecuencia de aparición de las diferentes fases del desarrollo gonádico dentro de una población durante un año. Este comportamiento es repetitivo.

Corrientes de marea: Son corrientes marinas superficiales que presentan una periodicidad generada por las mareas, creadas por efecto de la atracción gravitacional de la luna y la Tierra. En altamar las corrientes de marea son débiles pero cerca de la costa pueden adquirir grandes velocidades, se dividen en corrientes de flujo y de reflujo (de la Lanza-Espino *et al.*, 1999; SHOA, 2002).

Criptocromos: Son pigmentos receptores de luz azul (longitud de onda de 320 a 400 nm) y de radiación ultravioleta A (longitud de onda de 400 a 520 nm). Encargados de algunos procesos de desarrollo de plantas y de invertebrados que involucran la detección de luz, mediante la sincronización de relojes biológicos (Curtis *et al.*, 2008; Sadava *et al.*, 2009).

Ensenada: Es la entrante del mar en la costa, en forma de recodo, es menor que una bahía (escotadura amplia y curva abierta en la tierra por el mar, se caracteriza

por una línea de costa cóncava hacia el exterior) y mayor que una caleta (lengua estrecha de mar que se interna en la tierra firme, o de un lago en sus orillas) (SNIEG, 2015).

Epitelio germinal: Es una capa delgada de células epiteliales distribuidas en la superficie del folículo gonádico, las cuales son precursoras de las células germinales (ovogonias y espermatogonias) (Jáuregui-Rincón & Chávez-Vela, 2006).

Fagocitos: En el presente estudio, se consideraron como células sanguíneas que tienen la capacidad de reabsorber ovocitos residuales.

Fisiparidad: Modo de reproducción asexual, consiste en que un individuo separa su cuerpo en dos mitades a partir de la división del disco y posteriormente cada mitad forma un animal completo por regeneración.

Folículo gonádico: Se considera como unidad básica de la biología reproductiva y se caracteriza por ser una estructura en forma de saco rodeado por tejido conectivo transparente, que en sus paredes se localizan células germinales que a medida que maduran se desarrollan en gametos. El conjunto de estos folículos componen la gónada.

Hendiduras bursales o hendiduras genitales: Zonas en donde se desarrolla la gónada de los ofiuroideos. Se disponen en pares a lado de cada brazo, resultando 10 hendiduras bursales por individuo.

Lamelas ovígeras: Son prolongaciones de la túnica albugínea (tejido conjuntivo denso que carece de células sanguíneas) hacia el interior del ovario, con distribución irregular, en las cuales tiene lugar la ovogénesis y vitelogénesis (Ceballos-Vázquez, 1993).

Lumen: Es el espacio interior del folículo gonádico, se le denomina la luz de dicha estructura, que carece de células.

Ritmo circalunar: Es un componente periódico de aproximadamente 29.5 días, la duración del ciclo lunar, que regula factores endógenos que sincronizan algunos procesos de plantas y animales (e.g. la reproducción) (Cardinali *et al.*, 1994; Sarmiento, 2000).

1. INTRODUCCIÓN

La etapa reproductiva y la manera en que se reproduce cualquier especie es fundamental en su historia de vida, e importante para asegurar su permanencia en los ecosistemas (Bailey, 2008). Por lo tanto, su éxito biológico radica en que sus miembros se mantengan vivos el tiempo suficiente para llegar a reproducirse (Brusca & Brusca, 2003; Bandaranayake, 2006). Existen diversos factores que se utilizan como señales para sincronizar el inicio del desarrollo de las células germinales o para la liberación de los gametos y, en consecuencia, pueden ser críticos para la supervivencia de las larvas (Soong *et al.*, 2009).

La sincronización de la actividad reproductiva con algunos factores ha sido una ventaja para especies que habitan la zona intermareal y submareal, ya que uno de los problemas a los que se enfrentan es que la reproducción ocurra en un momento en el que se incremente el éxito de fertilización, con lo cual se garantice el desarrollo de las larvas (Iliffe & Pearse, 1982; Fanjul de Moles & Hiriart-Urdanivia, 2008). Bajo este supuesto, se han reportado componentes cíclicos lunares, semilunares y mareales en el ritmo reproductivo de algunos peces e invertebrados marinos (Lessios, 1984; Glynn *et al.*, 1994; Figuerola *et al.*, 1998; Glynn *et al.*, 2000; Kubota, 2000), producidos por la influencia de la luna sobre los océanos (Sentis-Hernández, 2008).

Las ventajas que tienen las especies al liberan sus gametos en determinada fase lunar son, que los gametos pueden estar ocultos por la oscuridad o por el brillo que ofrecen la luna nueva y la luna llena, respectivamente, o pueden ser retenidos o dispersados por las corrientes de marea (Numata & Helm, 2014).

No obstante, parece ser que la luz de la luna es más importante para inducir un ritmo reproductivo que las propias mareas (Kennedy & Pearse, 1975), tal como se ha observado en la liberación de gametos de los corales *Pocillopora lobata*, *Pavona gigantea* y *Gardineroseris planulata*, durante la luna nueva y luna llena (Glynn *et al.*, 1994; Glynn *et al.*, 2000), y del poliqueto *Eunice viridis*, en luna llena (Fanjul de Moles & Hiriart-Urdanivia, 2008; Numata & Helm, 2014). Los corales presentan fuerte

sincronía con estas fases lunares debido a que se ha demostrado recientemente que son capaces de detectar la luz de la luna a través de criptocromos (Harrison, 2011).

La liberación de gametos o la temporada reproductiva de algunos equinodermos también se ha asociado a fases lunares (Kubota, 2000). Esto se ha reportado para el crinoideo *Comanthus japonica* (Kubota, 1980), los equinoideos *Mespilia globulus* (Kobayashi, 1967), *Centrostephanus coronatus* (Kennedy & Pearse, 1975), *Diadema setosum* (Fox, 1924; Pearse, 1990), *D. antillarum* (Ilfie & Pearse, 1982; Lessios, 1991), *D. mexicanum*, *Eucidaris tribuloides*, *Lytechinus variegatus* (Lessios, 1991), *Evechinus chloroticus* (Lamare & Stewart, 1998) y *Strongylocentrotus droebachiensis* (Gaudette et al., 2006), los holotúridos *Bohadschia argus*, *Euapta godeffroyi*, *Stichopus chloronotus*, *S. variegatus* (Babcock et al., 1992) y *Polycheira rufescens* (Kubota & Tomari, 1998), y para los ofiuroides *Ophiothrix fragilis* (Smith, 1940), *Ophiopholis aculeata* y *Ophiura robusta* (Hendler, 1991). En estos últimos ha sido poco documentado el mecanismo de sincronización que se presenta en sus ritmos reproductivos lunares, pero está claro que es el resultado de una adaptación para aumentar el éxito de fertilización (Ilfie & Pearse, 1982; Harrison, 2011).

Los ofiuroides forman parte importante de la criptofauna de arrecifes coralinos y se les puede encontrar en algas y esponjas (Hendler & Littman, 1986). Aunque las especies del género *Ophiocoma* son más abundantes en arrecifes rocosos (Benavides-Serrato & O'Hara, 2008) donde viven debajo de las rocas debido a la fotosensibilidad que poseen; característica ecológica importante porque les permite reaccionar para huir (Hendler & Byrne, 1987).

2. ANTECEDENTES

2.1 Generalidades de *Ophiocoma aethiops*

Al igual que todos lo ofiuroides, *Ophiocoma aethiops* tiene un disco central del cual se prolongan cinco brazos robustos con espinas romas, gruesas y largas. El disco está cubierto con gránulos, sus papilas dentales están agrupadas en el apéndice mandibular y su placa bucal es grande y es más larga que ancha. Su color generalmente es negro pero debido a los cristales de calcita que se distribuyen en las placas dorsales de los brazos y que actúan como órganos sensoriales especializados pueden cambiar de color, se le puede observar en una variación de colores de café a negro; dependiendo de la intensidad de luz a la que se encuentre expuesto. Asimismo, el disco puede presentar tramas de diferentes formas de color blanco en la región aboral (Granja-Fernández *et al.*, 2014) (Fig. 1).



Figura 1. Ejemplar de *Ophiocoma aethiops* (Foto: Cynthia Méndez).

Ophiocoma aethiops se caracteriza por ser un ofiuroides micrófago y detritívoro que se alimenta de pequeños animales y de sedimento que atrapa con sus pies ambulacrales (Birkeland, 1989), es depredado por diversas especies de peces,

crustáceos y moluscos (Aguilar-Duarte, 2011). Se distribuye a lo largo de la costa del Pacífico Oriental, desde Puerto Peñasco, Sonora, México hasta la Isla de Lobos de Afuera en Perú, incluyendo las islas Revillagigedo, Clipperton, Coco y Galápagos. Es una especie muy abundante y común de la zona del intermareal rocoso, encontrándose hasta los 55 m de profundidad (Maluf, 1988).

2.2 Reproducción de equinodermos con influencia lunar

El proceso por el cual se sincroniza la actividad reproductiva de algunos equinodermos considerando la intensidad de la luz de luna no es claro y lo único descrito hasta ahora son aspectos generales.

Por ejemplo, la liberación de gametos puede presentarse durante los cuartos de luna, tal como se ha documentado en el crinoideo *Comanthus japonica* y en el erizo de mar *Mespilia globulus* (Dan & Kubota, 1960; Kobayashi, 1967; Kubota, 1980), en cada luna nueva y luna llena (tipo de sincronía semilunar) como se ha observado en *Lytechinus variegatus* (Lessios, 1991), o en un ciclo lunar como lo hacen los erizos de mar *Evechinus chloroticus* y *Echinothrix diadema*, los cuales liberan sus gametos en cada luna llena (Lamare & Stewart, 1998; Coppard & Campbell, 2005). Incluso, una misma especie puede liberar sus gametos en diferente fase lunar (e.g. *Diadema antillarum*) (Iliffe & Pearse, 1982; Lessios, 1991).

Por otro lado, aunque no se ha observado influencia de la luna en la liberación de gametos del erizo de mar *Eucidaris tribuloides*, se sabe que éste tiene la capacidad de cambiar sus ciclos gametogénicos como resultado de pequeños cambios en el fotoperiodo (McClintock & Watts, 1990; Lessios, 1991).

Además, en equinoideos pertenecientes a la familia Diadematidae se ha reportado que los cromatóforos y las feromonas juegan un papel importante en la sincronización de su reproducción con un ritmo lunar (Dambach, 1969; Pearse, 1972; Kennedy & Pearse, 1975). De esta manera, Dambach (1969) y Pearse (1972) encontraron una expansión significativa de cromatóforos cerca de intensidades de luz de la luna llena en *Centrostephanus longispinus* y *D. setosum*, respectivamente. Por otra parte, Kennedy y Pearse (1975) sugirieron que las feromonas que estimulan la liberación de gametos en *C. coronatus* son más eficaces bajo un ritmo lunar.

Algunas especies del género *Diadema* son capaces de percibir la luz de luna en bajas intensidades (Lessios, 1991; Coppard & Campbell, 2005), así *D. setosum*, *D. antillarum* y *D. savignyi* pueden liberar sus gametos en diferentes fases lunares (Yoshida, 1952; Pearse, 1972; Iliffe & Pearse, 1982; Lessios, 1991; Drummond, 1995; Coppard & Campbell, 2005). Durante la temporada de reproducción *D. setosum* puede desovar en cada luna llena (Fox, 1924; Yoshida, 1952; Pearse, 1990) o en la fase de luna nueva (Coppard & Campbell, 2005). *D. antillarum* en Bermudas, Florida e Islas Vírgenes en el primer cuarto lunar (Iliffe & Pearse, 1982) y en Panamá libera sus gametos en luna nueva (Lessios, 1984). Mientras que *D. savignyi* tiene reproducción anual con liberación de gametos durante la luna nueva (Drummond, 1995), aunque también puede liberarlos en luna llena (Coppard & Campbell, 2005).

Los holoturoideos *Euapta godenoyi*, *Bohadschia argus*, *Stichopus chloronotus* y *S. variegatus* liberan sus gametos de dos a tres días después de la luna llena; no obstante, este último también puede liberar sus gametos después de dos días de la luna nueva (Babcock *et al.*, 1992). En *Polycheira rufescens* se ha documentado una sincronía de tipo semilunar al desovar antes de cada luna llena y luna nueva (Kubota & Tomari, 1998).

Asimismo, en algunos ofiuroides de agua fría como *Ophiothrix fragilis*, *Ophiopholis aculeata* y *Ophiura robusta* se ha observado una sincronización de tipo circalunar en la liberación de sus gametos (Smith, 1940; Hendler, 1991).

En general, los ofiuroides (también llamados ofiuras, ofiuros o estrellas quebradizas) presentan diversas estrategias reproductivas, provenientes de la adaptación a condiciones ambientales variables. Hay especies que llevan a cabo la reproducción sexual con fecundación externa y algunas pueden incubar sus huevos; otras especies se pueden reproducir asexualmente por fisiparidad; produciendo finalmente, individuos genéticamente idénticos (Munar, 1984; Brusca & Brusca, 2003), y otras pueden ser hermafroditas protándricas como *Ophiolepis kieri*, *Amphiura stepanovii*, *Ophiacantha bidentata* y *Ophiothrix synoecina* (Policansky, 1982).

2.3 Reproducción de ofiuroides del género *Ophiocoma*

Con respecto a la reproducción de ofiuroides, el factor asociado con la liberación de gametos más común es la temperatura del mar para especies que se distribuyen en latitudes altas, y para especies de áreas tropicales son la salinidad, la productividad, las mareas y las corrientes (Hendler, 1979). A pesar de esto, se ha demostrado que los ciclos reproductivos de algunos ofiuroides del género *Ophiocoma* están fuera de ritmo con respecto a sus conespecíficos de otras regiones (Hendler, 1991). Por lo tanto, las variables que influyen en la liberación de gametos de una especie pueden no ser las mismas en diferentes regiones de su distribución.

Así también, en ofiuridos puede haber dos estrategias en el periodo de reproducción, el primero es el que consiste en presentar periodos de reproducción estacionales, con periodos de liberación de gametos diferentes para cada región; tal como ocurre en *O. dentata*, *O. endeani*, *O. aethiops*, *O. alexandri*, *O. echinata* y *O. wendii*, y el segundo se caracteriza por tener periodos prolongados de reproducción con liberación de gametos constante, descrito en *O. pumila* (Hendler, 1979; Falkner & Byrne, 2003).

En *O. dentata* se ha descrito una temporada anual de desove, de primavera a verano, con varios episodios de liberación de gametos por individuos (Soong *et al.*, 2009). El tamaño de sus ovocitos ($71 \pm 0.7 \mu\text{m}$) sugiere que desarrolla una larva planctotrófica, los cuales se caracterizan por tener gránulos de proteína más grandes que aquellas especies con larva lecitotrófica (Falkner *et al.*, 2013). En cambio, *O. endeani* desarrolla una larva lecitotrófica ($353 \pm 2.0 \mu\text{m}$), con un pico de madurez y de liberación de gametos en verano, pudiendo presentarse hasta invierno (Falkner *et al.*, 2013).

Particularmente, Benítez-Villalobos *et al.* (2012) encontró que en la costa de Oaxaca *O. aethiops* se reproduce anualmente y que la liberación de gametos se lleva a cabo de abril a diciembre, coincidiendo con la temporada de lluvias. Los mismos autores, sugieren que la reproducción de este ofiuroides está determinada en gran medida por las horas luz. Contrario a lo que sucede con *O. alexandri* en la misma región, el cual rige su temporada reproductiva con base en la temperatura del mar.

2.4 Morfología de la gónada de *Ophiocoma aethiops*

Benítez-Villalobos *et al.* (2012) describió que la gónada de *O. aethiops* es un saco de epitelio transparente que contiene numerosos folículos ovalados. La pared de los folículos presenta un saco interno y un externo separados por el celoma genital, las membranas de estos sacos contienen células epiteliales y células mioepiteliales (Byrne, 1989). En machos, el epitelio germinal se encuentra en la periferia del saco interno mientras que en hembras se encuentra disperso en el folículo.

Además, el mismo autor describió cuatro fases de desarrollo para hembras (crecimiento, madurez, desove y postdesove) y tres para machos (crecimiento y maduración gonadal, evacuación y postevacuación); ya que encontró testículos que estaban en maduración o liberando gametos, observando actividad espermatogénica de manera constante (Benítez-Villalobos *et al.*, 2012).

3. JUSTIFICACIÓN

Los ofiuroideos son abundantes en los ecosistemas marinos y pueden llegar a ser especies dominantes en ambientes rocosos. Tienen diversos hábitos alimentarios, puesto que pueden ser depredadores, carroñeros, sedimentívoros y suspensívoros, por lo cual juegan un papel ecológico relevante en los ecosistemas que habitan. Además, forman parte de la dieta de muchas especies de peces y de otros invertebrados, incluyendo algunas de importancia comercial, como camarones, langostas y cangrejos ermitaños, así como de otros equinodermos.

El género *Ophiocoma* está conformado por aproximadamente 25 especies en el mundo, pero solo se conocen dos en el Pacífico Oriental Tropical (Granja Fernández *et al.*, 2014; 2015). Este género se caracteriza por poseer cristales de calcita que se distribuyen en las placas dorsales de los brazos, que además de ser utilizados para la construcción del esqueleto, funcionan también como órganos foto-sensoriales especializados (Hendler & Byrne, 1987; Aizenberg *et al.*, 2001; Raible *et al.*, 2006). Adicionalmente, los cromatóforos que tienen pueden percibir la luz de luna en bajas intensidades (Coppard & Campbell, 2005), y cabe mencionar que son muy similares

a los de erizos diademátidos (Hendler & Byrne, 1987). Estos erizos muestran una fuerte asociación entre el ciclo lunar y sus periodos de reproducción.

En México, *O. aethiops* es una de las especies más comunes y abundantes en aguas someras del Pacífico y Golfo de California. Es posible que este ofiuro tenga como estrategia reproductiva la de sincronizar la liberación de sus gametos con base en un ciclo lunar, con lo cual garantizaría un mayor éxito en la fertilización y, por consiguiente, aseguraría la permanencia de su población.

4. OBJETIVOS

4.1 General

Determinar la influencia de las fases lunares sobre el ciclo reproductivo de *Ophiocoma aethiops* en Bahía de La Paz, B. C. S.

4.2 Particulares

- Estimar la proporción de sexos por mes.
- Caracterizar los estadios de desarrollo de los ovocitos en las gónadas de machos y hembras.
- Describir las fases de desarrollo de las gónadas de ambos sexos.
- Analizar la frecuencia de aparición de los estadios de desarrollo de los ovocitos de *O. aethiops* por fase de desarrollo gonádico.
- Describir el ciclo gonádico de *O. aethiops* para ambos sexos.
- Determinar el ciclo reproductivo de *O. aethiops*.
- Determinar si existe relación entre el ciclo reproductivo de *O. aethiops* y las fases de la luna.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Área de estudio

La Bahía de La Paz (BLP) se localiza en la costa occidental del Golfo de California (GC), posee una superficie aproximada de 2000 km², su profundidad máxima es de 400 m en la zona norte y la mínima de 50 m en la zona sur (Balart *et al.*, 1995; Martínez-López *et al.*, 2001). En la bahía ocurren procesos de mezcla de régimen de marea semidiurno (Obeso-Nieblas, 2003), el refluo que se da entre la pleamar superior y la bajamar inferior es el más intenso, provocando corrientes de marea muy fuertes (Jiménez-Illescas *et al.*, 1997).

De manera general, la estructura termohalina de la BLP está determinada por la presencia del agua del Golfo de California, del agua Superficial Ecuatorial y del agua Subsuperficial Subtropical (Obeso-Nieblas *et al.*, 2008). La temperatura superficial del mar varía de 18 a 31°C, con un promedio de 21°C (Martínez-Flores *et al.*, 2006). El clima de la región se caracteriza por ser de tipo muy árido o muy seco (BW) (García, 2004), con lluvias en verano, asociadas a vientos del sureste, tormentas tropicales y huracanes (Obeso-Nieblas, 2003; García, 2004).

El presente estudio se llevó a cabo en Punta Galeras (24°21'182" N, 110°17'007" W), sitio ubicado al sureste de la bahía y frente al Canal de San Lorenzo (CSL) (Montuy-Gómez, 2008). Este canal es una de las dos entradas que conectan a la BLP con el GC, es muy dinámico y somero con una profundidad promedio de 10 m (Obeso-Nieblas *et al.*, 2004) (Fig. 2).

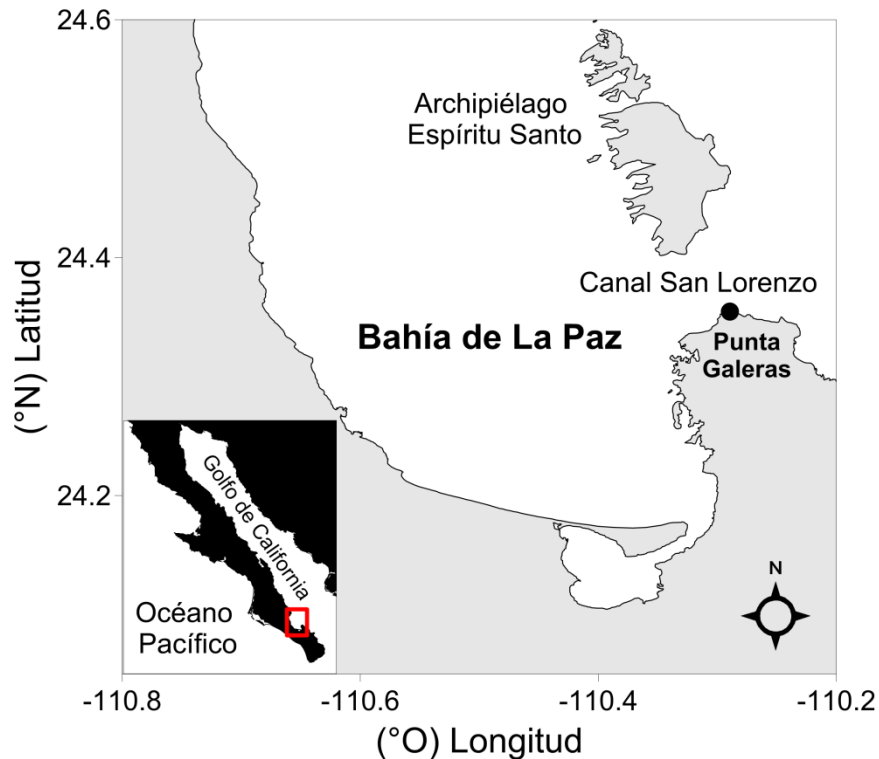


Figura 2. Ubicación geográfica del sitio de muestreo.

Punta Galeras es una pequeña ensenada expuesta a las fuertes corrientes de marea y el oleaje es muy dinámico (Gomez-Daglio, 2003). El fondo lo compone principalmente el sustrato areno-rocoso, seguido de corales y abundantes rodolitos que se distribuyen hasta la playa, junto con fósiles de moluscos, fragmentos de diferentes rocas, arena calcárea (Cintra-Buenrostro *et al.*, 2002) y tepetates. Y la pendiente de la playa es suave (Gomez-Daglio, 2003).

5.2 Obtención de muestras

Los muestreos se llevaron a cabo un día antes y un día después de la luna nueva y de la luna llena, de julio del 2015 a junio del 2016. En cada muestreo se hicieron recorridos en el intermareal rocoso para buscar, de manera aleatoria, ofiuros debajo de rocas que estuvieran cubiertas por algas y arena, ya que es el sustrato idóneo para refugiarse y protegerse de la luz y de sus depredadores. De esta manera y durante la marea baja, se recolectaron en promedio 15 individuos por muestreo, los

cuales se pesaron completos y sin brazos, en una balanza portátil marca OHAUS® modelo Scout Pro SP 6000 (± 0.001 g), para obtener el peso total (g) y el peso del disco (g), respectivamente, y con ayuda de un vernier (± 0.1 mm) se midió el diámetro del disco (mm) (Fig. 3).

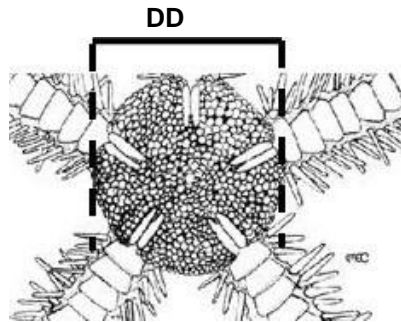


Figura 3. Referencia de la medida considerada como diámetro del disco (DD) de *Ophiocoma aethiops*.

Posteriormente, se fijaron los discos con solución Davidson durante 24 horas y después se preservaron en alcohol al 70% para su posterior análisis histológico.

5.3 Procesamiento de muestras

En el laboratorio, se realizó una incisión en la región oral de los discos para extraer una porción de la gónada, la cual se colocó en un histocasette para su procesamiento. Si era posible se determinaba el sexo de los organismos, en función de la coloración que presentaban los folículos gonádicos, en machos eran blancos y en hembras variaban de rosa a púrpura dependiendo del estado de desarrollo de la gónada.

La técnica histológica que se utilizó consistió en deshidratar el tejido gonádico sumergiéndolo en etanol al 70% durante 12 h, luego se hicieron dos cambios de etanol al 96% y dos de etanol al 100%, cada dos horas. En seguida, se aclaró con una solución HemoDe por 2 h, pasado este tiempo se incluyeron en una mezcla de parafina y polímeros (Paraplast Xtra®) a 56 °C por 4 h. Después, se realizaron cortes de un grosor de 3 μ m en un micrótopo de rotación semiautomático Leica RM2255®, para obtener una preparación en la que se montaron de cuatro a seis cortes

(Humanson, 1979). Los cortes se tiñeron siguiendo el método tradicional de tinción de hematoxilina-eosina y se montaron en portaobjetos con Cytoseal® (Tominaga *et al.*, 2004).

Debido a que la frecuencia relativa de la fase de liberación de gametos no varió al considerar los muestreos como un día antes y un día después de la luna nueva y de la luna llena, respectivamente ($F_{(3, 0.05)}=0.98$, $p=0.41$), los datos de ambos días se unieron y el análisis de los datos se hizo por cada luna nueva y por cada luna llena. Este resultado se obtuvo al ejecutar el análisis de una vía, en donde el factor considerado fue un día antes y un día después de cada luna nueva y luna llena, y la variable frecuencia de organismos que se encontraron liberando gametos.

5.4 Proporción de sexos

La proporción de sexos se estimó dividiendo el número total de machos entre el número total de hembras. Esta relación se analizó mediante la prueba Chi cuadrada con modificación de continuidad de Yates (Xc^2), para determinar si existía una desviación significativa de una proporción 1H: 1M. La regla de decisión se tomó con un intervalo de confianza del 95%, rechazando una proporción de 1:1 cuando el valor de Xc^2 obtenido fue mayor a 3.84 (Sokal & Rohlf, 1979).

5.5 Caracterización de las células germinales y fases de desarrollo gonádico

Las preparaciones se analizaron con un microscopio óptico y se tomaron fotografías de tres campos de observación aleatorios por gónada. La caracterización de las células germinales y de los estadios de desarrollo se hicieron con base en los criterios establecidos por Benítez-Villalobos *et al.* (2012). Además, mediante las observaciones se hicieron estimaciones de la presencia y abundancia de las células germinales por fase de desarrollo. A partir de las fotografías y usando el software SCAN PRO 5.0 se midieron los diámetros de los ovocitos, en los cuales el núcleo era visible, esto se hizo por fase de madurez.

5.6 Relación del ciclo reproductivo y las fases lunares

Debido a que se sabe que la liberación de gametos de algunos invertebrados marinos es influenciado por la luna (Sentis-Hernández, 2008; Harrison, 2011), se consideraron sólo las frecuencias relativas de la fase de liberación de gametos por cada luna nueva y luna llena; además de que se estableció como etapa reproductiva el período en el cual los organismos se encontraban liberando gametos. Así, para determinar si existió relación entre el ciclo reproductivo de *O. aethiops* y las fases lunares, se aplicó análisis de varianza de una vía (con un nivel de significancia de 0.05) (Zar, 2010) teniendo en cuenta a la fase lunar (luna nueva y luna llena) como factor y a la frecuencia de organismos liberando gametos como variable.

6. RESULTADOS

Se recolectaron un total de 508 individuos, con un intervalo de 0.07 a 59.3 g de peso total y con tallas de 4 a 37.5 mm de diámetro del disco. La gónada de *O. aethiops* estuvo constituida por folículos o sacos gonádicos cubiertos por tejido conectivo transparente, que les proporcionaba soporte y los mantenía unidos. Los folículos se caracterizaron por tener dos ramificaciones localizadas a ambos lados de las hendiduras bursales (Fig. 4). Los folículos gonádicos presentaron una coloración distinta entre sexos, en machos fueron blancos y en hembras variaban de rosa a púrpura. Cuando la gónada está madura los folículos gonádicos ocupan todas las áreas interambulacrales del disco, después del desove, los folículos disminuyen su proporción y aumenta la de los ciegos pilóricos.

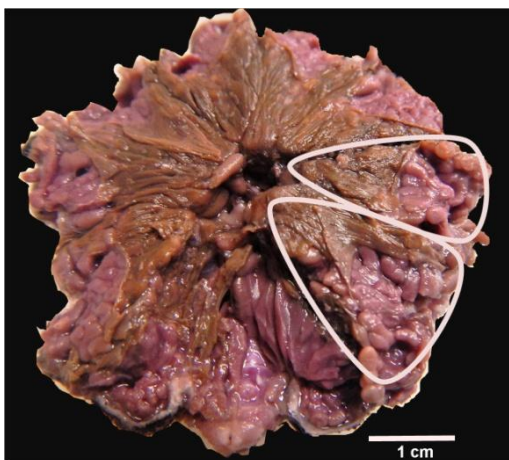


Figura 4. Vista aboral del disco de una hembra madura de *Ophiocoma aethiops*, en donde se delinea un par de ramificaciones de folículos gonádicos.

6.1 Proporción de sexos

Del total de organismos recolectados, 244 fueron machos (48.0%), 261 hembras (51.4%) y 3 fueron indeterminados (0.6%). La proporción sexual en la mayoría de los muestreos fue de 1:1 ($Xc^2 < 3.84$), excepto durante la luna nueva de febrero y luna llena de mayo; cuando se encontraron más machos que hembras, y en la luna nueva de agosto, diciembre, mayo y junio y luna llena de febrero, cuando la proporción de hembras fue mayor ($Xc^2 > 3.84$) (Fig. 5). A los organismos indeterminados no se les pudo asignar sexo debido a que los folículos gonádicos estaban ausentes y se presentaron en la luna llena de octubre y en la luna nueva de diciembre y de febrero.

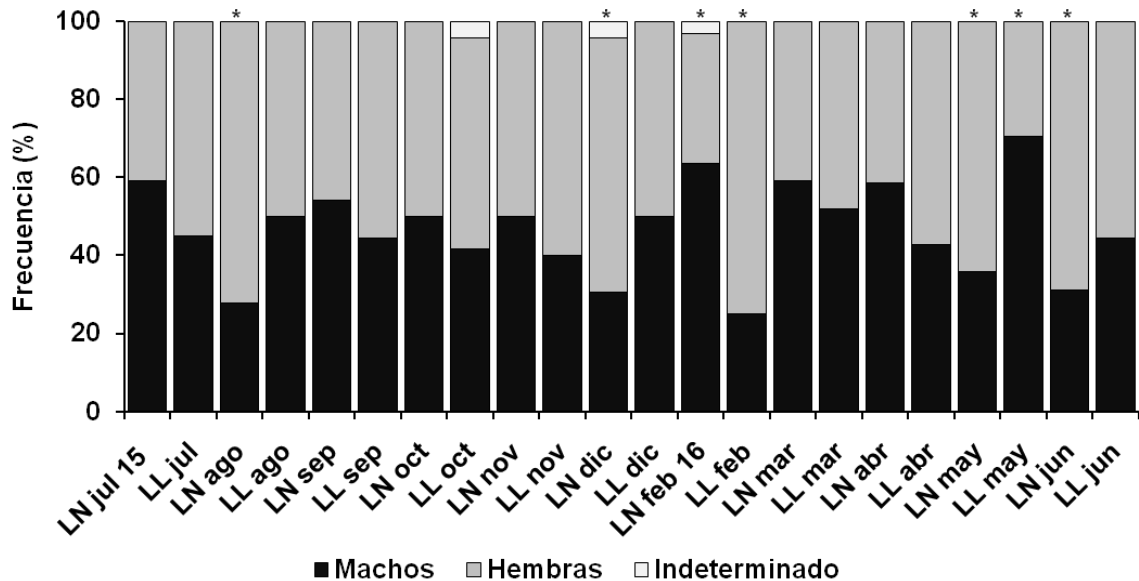


Figura 5. Proporción de sexos encontrada en luna nueva (LN) y luna llena (LL). Los asteriscos indican una proporción de sexos diferente de 1:1.

6.2 Características de los estadios de desarrollo de los ovocitos

El desarrollo de los ovocitos considera la diferenciación y maduración de los ovocitos. De acuerdo con esto se consideraron cuatro estadios de desarrollo de los ovocitos: ovogonias, ovocitos previtelogénicos, ovocitos vitelogénicos, ovocitos residuales o atresias.

Las ovogonias son células pequeñas y redondas, con un intervalo de diámetro de 2 a 8 μm ($4.38 \pm 1.10 \mu\text{m}$). Histológicamente se caracterizaron por presentar color violeta intenso, ya que el núcleo basófilo ocupó la mayor parte del citoplasma. Estuvieron distribuidas en todo el folículo ovárico siguiendo la dispersión del epitelio germinal o lamelas ovígeras y se presentaron en todas las fases del desarrollo gonádico.

Los ovocitos previtelogénicos se identificaron por tener un intervalo de diámetro de 7 a 43 μm ($18.30 \pm 6.40 \mu\text{m}$), aproximadamente. El citoplasma y el núcleo son más grandes ya que aumentaron su volumen, siendo el último menos picnótico con pequeños cúmulos de cromatina observados de color violeta intenso.

En estas células el núcleo se encuentra en migración y en algunos se observa el nucléolo.

Los ovocitos vitelogénicos son células grandes y presentaron diámetros de 23 a 72 μm ($53.51 \pm 8.53 \mu\text{m}$) Los gránulos de vitelo se incrementan y se unen ocupando la mayor parte del citoplasma, el cual es ácidofilo por lo que presenta un tono rosáceo. El núcleo se encuentra hacia el polo animal, tiene forma esférica, con nucléolo basófilo evidente.

Los ovocitos residuales fueron aquellos que no se liberaron o que no alcanzaron el desarrollo máximo; en consecuencia, son reabsorbidos mediante un proceso denominado atresia folicular. Las tallas registradas para estos ovocitos fueron de 19 a 72 μm ($48.71 \pm 14.86 \mu\text{m}$). En esta etapa se encontraron algunos ovocitos iniciando la reabsorción (con degeneración interna).

6.3 Fases del desarrollo gonádico

De acuerdo con las características de los folículos gonádicos observadas microscópicamente, se consideraron cinco estadios de desarrollo gonádico para ambos sexos, los cuales fueron:

- 1) reposo,
- 2) desarrollo,
- 3) madurez,
- 4) liberación de ovocitos o espermatozoides, según fuera el sexo, y
- 5) post liberación.

6.3.1 Hembras

1) Reposo

Durante la fase de reposo en hembras, los folículos ováricos se encontraron reducidos en tamaño con lumen grande, agrupaciones de fagocitos, ovogonias embebidas en el epitelio germinal y con ovocitos previtelogénicos situados en la periferia. En algunos fue posible encontrar ovocitos atrésicos avanzados en baja proporción. Además, la pared folicular era gruesa notándose un gran espacio entre el saco interno y el saco externo (Fig. 6A).

2) Desarrollo

En esta fase se encontraron ovocitos en diferentes fases de desarrollo, desde ovogonias hasta ovocitos vitelogénicos. Siendo los ovocitos previtelogénicos los más abundantes, después las ovogonias y en menor proporción estaban los ovocitos vitelogénicos. El espacio que había en la fase de reposo entre el saco interno y el saco externo se reduce y la pared folicular se empezó a adelgazar, el epitelio germinal ocupó más espacio entre los ovocitos lo que ocasionó que el lumen se redujera (Fig. 6B).

3) Madurez

La madurez gonádica se distinguió por la reducción total del lumen, y los folículos ováricos estaban completamente llenos de ovocitos vitelogénicos. La densa aglomeración de ovocitos ocasionó que se descompusiera su forma esférica haciéndola ovalada. Durante esta fase la pared folicular se observó más delgada, los ovocitos alcanzaron la talla máxima $72 \mu\text{m}$ ($56.05 \pm 6.71 \mu\text{m}$) y los fagocitos, ovogonias y ovocitos previtelogénicos fueron poco comunes (Fig. 6C).

4) Liberación de ovocitos

Esta fase se caracterizó por haber espacios que antes habían sido ocupados por ovocitos vitelogénicos haciendo notorio el lumen, lo cual evidenció la liberación de ovocitos. Los ovocitos son menos abundantes conforme avanza la liberación, los espacios se incrementan y los fagocitos aumentan. Es en esta etapa cuando los folículos ováricos comienzan a reducir su tamaño y la pared folicular se empieza a engrosar (Figs. 6D, E).

5) Post liberación

Los folículos gonádicos se encontraron casi vacíos, conteniendo algunos ovocitos residuales que iniciaban el proceso de reabsorción. Además de éstos, el lumen estuvo ocupado por gránulos de vitelo, principalmente, y por algunos ovocitos

previtelogénicos que pudieron seguir su desarrollo para la siguiente etapa reproductiva. Al finalizar esta etapa, los folículos eran más pequeños como en la fase de reposo (Fig. 6F).

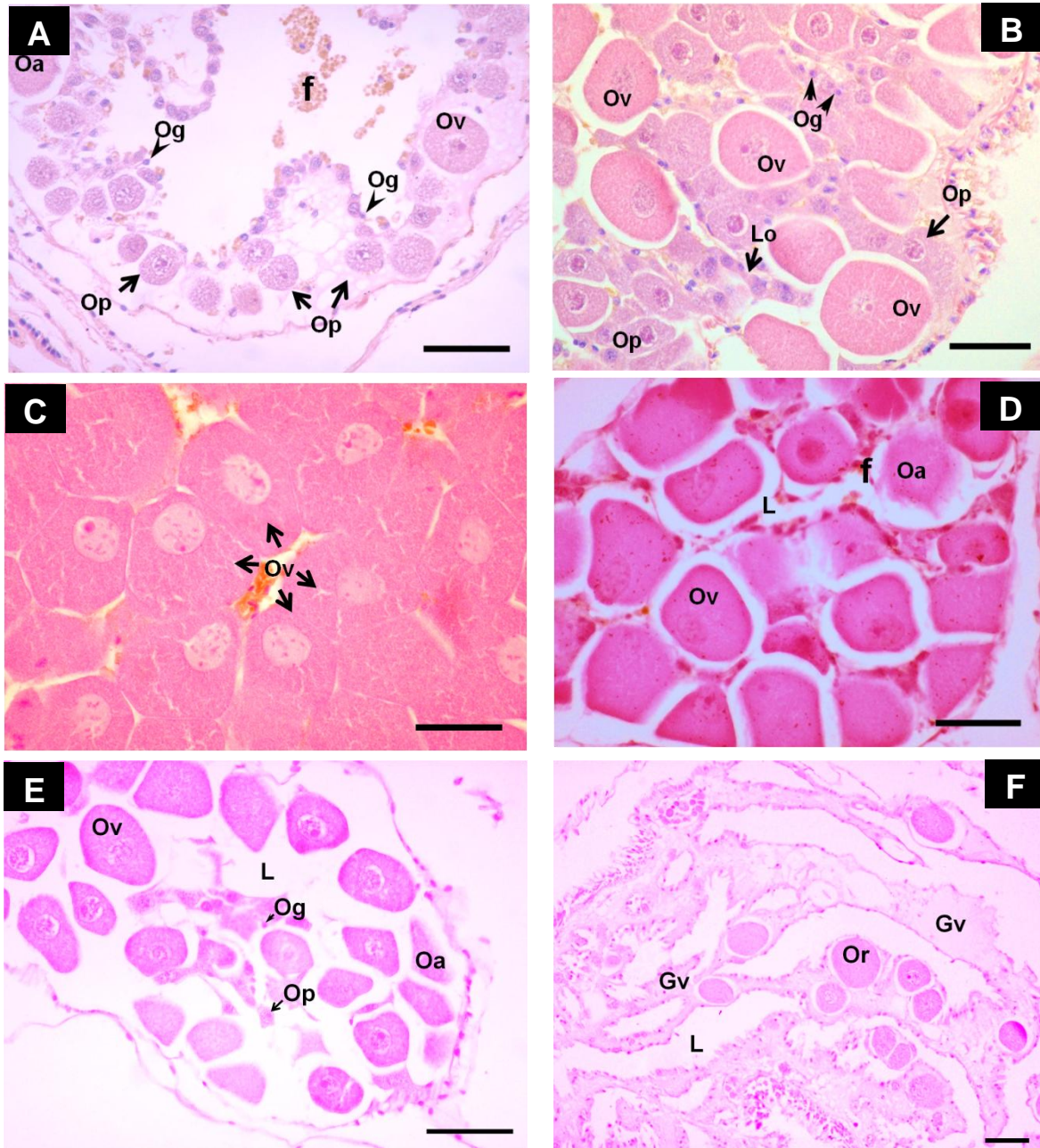


Figura 6. Fases del desarrollo gonádico en hembras de *Ophiocoma aethiops*. A) Reposo, B) desarrollo, C) madurez, D) y E) liberación de ovocitos, y F) post liberación. F: fagocitos; Gv: gránulos de vitelo; L: lumen; Lo: lamelas ovígeras; Oa: ovocitos atrésicos; Og: ovogonias; Op: ovocitos previtelogénicos; Or: ovocitos residuales; Ov: ovocitos vitelogénicos. Barra de escala= 50 μ m.

6.3.2 Machos

Los folículos gonádicos de un macho se observaron en diferentes fases de desarrollo, persistiendo siempre algunos con células germinales (espermatogonias). Este tipo de desarrollo gonádico se conoce como asincrónico, ya que no todos los folículos de un individuo se encuentran en la misma fase. Dicha característica asegura una producción constante de espermatozoides. Debido a que en la mayoría de los testículos se encontraron folículos en dos fases de desarrollo, los folículos con la fase de desarrollo más avanzado dentro de un testículo fueron la base para establecer la fase de desarrollo correspondiente para cada individuo.

1) Reposo

En la fase de reposo los folículos testiculares eran de tamaño pequeño, la pared folicular era gruesa con fibras musculares de color rosa. Había una gran cantidad de fagocitos reabsorbiendo los restos de los espermatozoides que no se liberaron. El epitelio germinal aumentó su área en el lumen del folículo para generar nuevas células germinales y continuar con la siguiente fase. Las espermatogonias se observaron en pequeñas cantidades (Figs. 7A, B).

2) Desarrollo

Los folículos en desarrollo se caracterizaron porque se observaron espermatogonias en la periferia de la pared folicular, iniciando la espermatogénesis en esta zona hacia el centro del folículo, observando a los espermatozoides en el lumen del folículo. Las espermatogonias y los espermatocitos estaban contenidos en capas concéntricas. En esta etapa el espacio que había entre el saco interno y el saco externo era grande y disminuía conforme avanzaba el desarrollo (Fig. 7C).

3) Madurez

El lumen de los folículos estaba totalmente lleno de espermatozoides, algunas veces se pudo observar una capa delgada de espermatogonias en el margen del epitelio germinal, el cual era poco visible (Fig. 7D).

4) Liberación de espermatozoides

En esta fase se incluyeron aquellos folículos que estuvieran en liberación de espermatozoides parcial y avanzada. Los cuales se caracterizaron por tener áreas vacías entre los espermatozoides en forma de estrías; que a la vez aumentaban conforme avanzaba la liberación de gametos. El epitelio germinal era más evidente, sin embargo aparecieron algunos fagocitos (células de color café) entre las espermatogonias que se encontraban allí. La pared folicular se engrosaba a medida que el folículo se desocupaba. Cabe mencionar, que en un mismo individuo se encontraron folículos en madurez y en liberación de gametos (Fig. 7E).

5) Post liberación

Al final de la fase anterior, los folículos testiculares se reducen en tamaño. El lumen se observó casi vacío con algunas espermatogonias y espermatozoides residuales en la pared, los cuales estaban siendo reabsorbidos por fagocitos. Así también, se observaron las fibras musculares de la pared folicular, el saco interno era grueso y presentaba algunas invaginaciones (Fig. 7F).

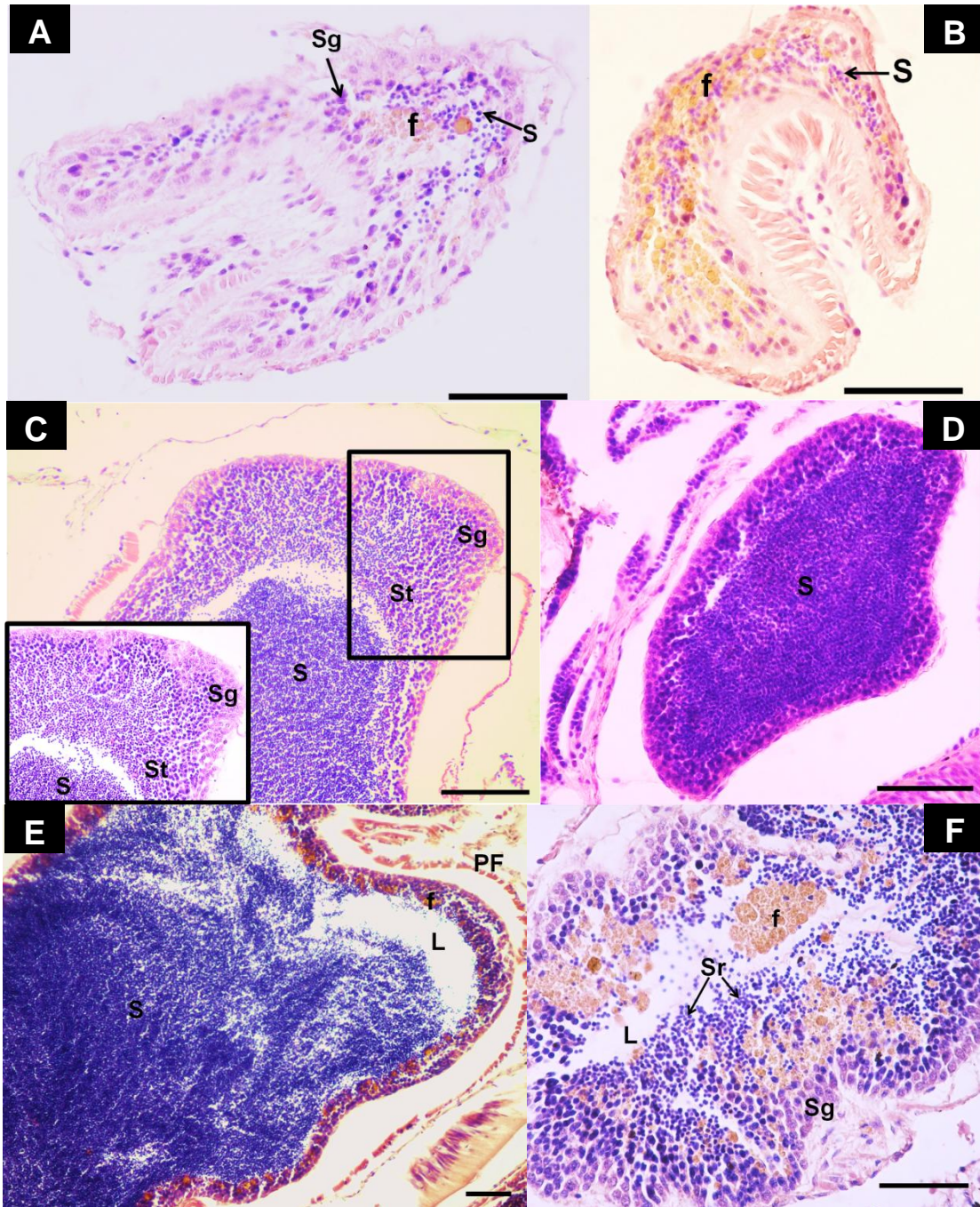


Figura 7. Fases del desarrollo gonádico en machos de *Ophiocoma aethiops*. A) y B) Reposo, C) desarrollo, D) madurez, E) liberación de espermatozoides y F) post liberación. f: fagocitos; L: lumen; PF: pared folicular; S: espermatozoides; Sg: espermatozonias; St: espermátidas. Barra de escala= 50 μ m.

6.4 Distribución de frecuencias de ovocitos por fase de desarrollo gonádico

De acuerdo con los histogramas de frecuencia de los diámetros de los ovocitos obtenidos, se observa, como era de esperarse, que mientras más avanzada es la fase de desarrollo gonádico mayor es el tamaño de los ovocitos (Fig. 8).

En la fase de reposo la distribución de los diámetros de los ovocitos fue de tipo unimodal, siendo las ovogonias de 2.47 μm de diámetro las más abundantes (40.5%), seguidas de los ovocitos previtelogénicos de 12.35 μm (17.7 %) y en muy baja proporción aparecieron ovocitos residuales de 37.5 μm (0.2%).

En la fase de desarrollo, las ovogonias de 2.47 μm prevalecieron como las más abundantes (25.1%), seguidas de ovogonias de 7.41 μm (19.6%); con el incremento en la frecuencia de aparición de las últimas se denotó un aumento en el crecimiento de las ovogonias. Por otra parte, los ovocitos previtelogénicos mejor representados fueron los que tuvieron diámetros de 12.35 a 22.23 μm (9.2%), seguidos de ovocitos vitelogénicos de 32.11, 37.05 y 46.93 μm (3.8%).

En la etapa de madurez gonádica los ovocitos vitelogénicos fueron los mejor representados, el 31.8% de estos ovocitos tuvieron 56.81 μm de diámetro, otro 21.7% tuvo 61.75 μm y el 16.9% tuvieron 51.87 μm . Las demás tallas estuvieron representadas por menos del 10%, incluido los pocos ovocitos previtelogénicos que fueron observados en esta fase.

En la liberación de ovocitos, se mantuvo la tendencia de la frecuencia de ovocitos observada en la etapa de madurez. Aumentando la frecuencia de los ovocitos con 56.81 y 51.87 μm de diámetro a 34.2 y 17.8%, respectivamente, y disminuyendo los de 61.75 μm (19.6%).

Como se había descrito anteriormente, en la fase de post liberación los ovocitos residuales resultaron ser los más numerosos, teniendo diámetros de 17.29 a 71.63 μm . Manteniendo los ovocitos de 56.81 μm el porcentaje de aparición más alto (27.9%) y aumentando los de 41.99 (13.95%) y 22.23 μm (11.6%). Además, se observó una frecuencia de 6.97% de ovocitos previtelogénicos de 37.05 μm .

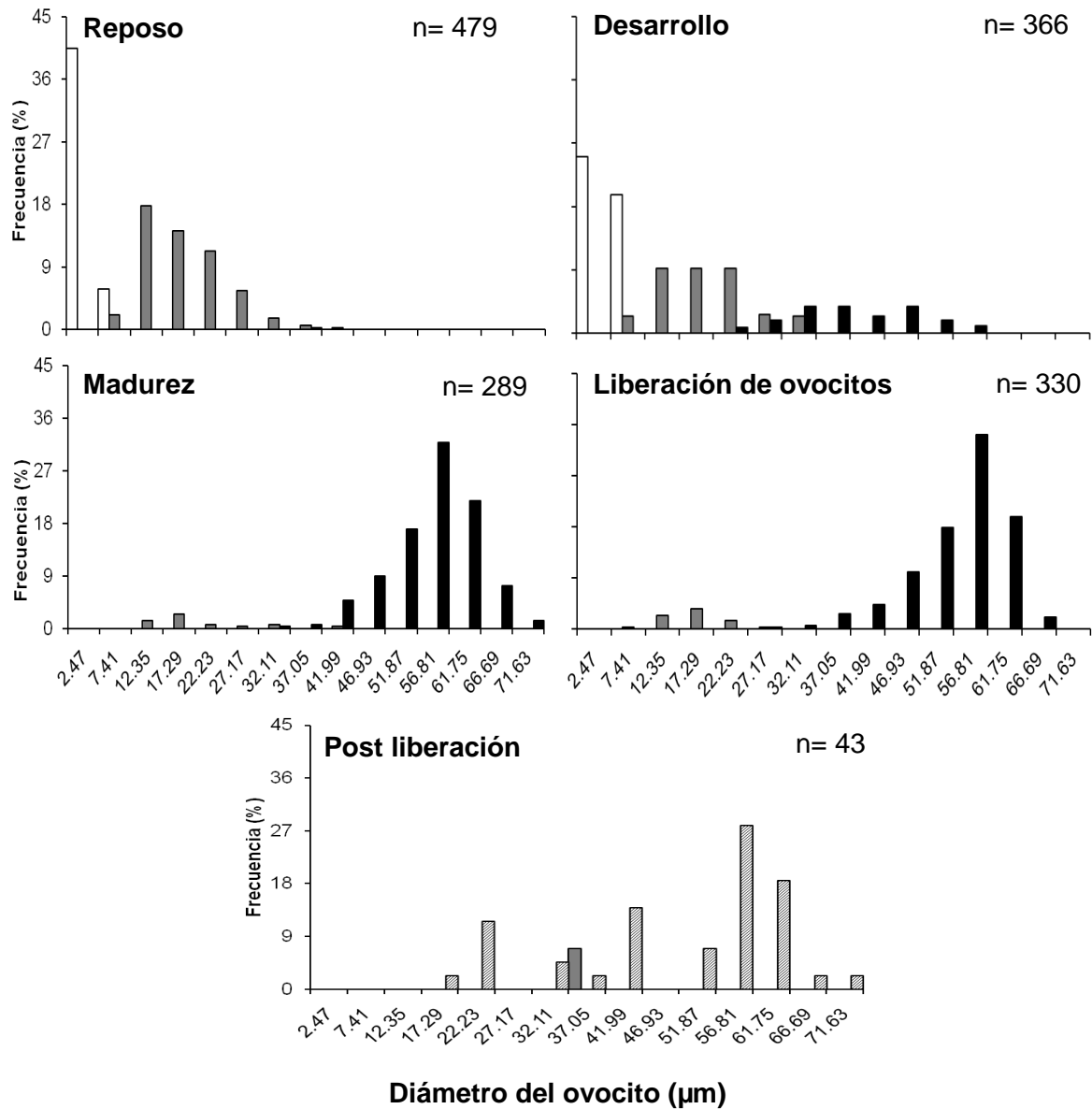


Figura 8. Distribución de los diámetros de las ovogonias (barra blanca), ovocitos previtelogénicos (barra gris), ovocitos vitelogénicos (barra negra) y de los ovocitos residuales (barra en trama) en las diferentes fases de desarrollo gonádico.

6.5 Ciclo gonádico de *Ophiocoma aethiops*

6.5.1 Hembras

En las hembras, la fase de reposo ovárico se presentó durante la luna nueva de julio y, principalmente, desde la luna nueva de noviembre hasta la luna nueva de febrero y de la luna nueva de marzo hasta la luna llena de junio; presentando la mayor

frecuencia (50%) en la luna nueva de marzo. El desarrollo gonádico se observó de la luna llena de octubre a la luna llena de noviembre, en la luna llena de marzo y abril y en la luna nueva de mayo y junio; habiendo la mayor frecuencia (19%) de desarrollo durante la luna nueva de noviembre.

Los ovarios maduros se distribuyeron de manera bimodal, ya que se observaron en dos grandes momentos. Las mayores frecuencias de ovarios maduros se presentaron desde la luna nueva de julio hasta la luna llena de octubre. En la luna llena de julio todos los ovarios (100%) estaban maduros. Después, se presentaron algunas gónadas maduras durante la luna llena de diciembre y la luna nueva de abril. Finalmente, aumentó su frecuencia en la luna llena de mayo (13%) y en la luna llena de junio (31%).

La fase de liberación de ovocitos se presentó a lo largo del período de estudio, excepto durante la luna llena de julio. En la luna llena de febrero el 100% de las hembras se encontraron en esta etapa. Por último, la fase de post liberación se encontró en baja frecuencia en la luna nueva de julio (11%), y durante la luna nueva de septiembre (9%); posteriormente incrementó su frecuencia en la luna nueva de octubre (22%), continuó hasta alcanzar su máximo (50%) en la luna nueva de noviembre y al llegar a la luna nueva de febrero la proporción disminuyó (22%), volviendo a incrementar en la luna nueva de marzo en un 20% de hembras. A partir de entonces la frecuencia de esta etapa aumentó hasta el 50% en la luna llena de mayo y finalizó en la luna nueva de junio con un 10% (Fig. 9).

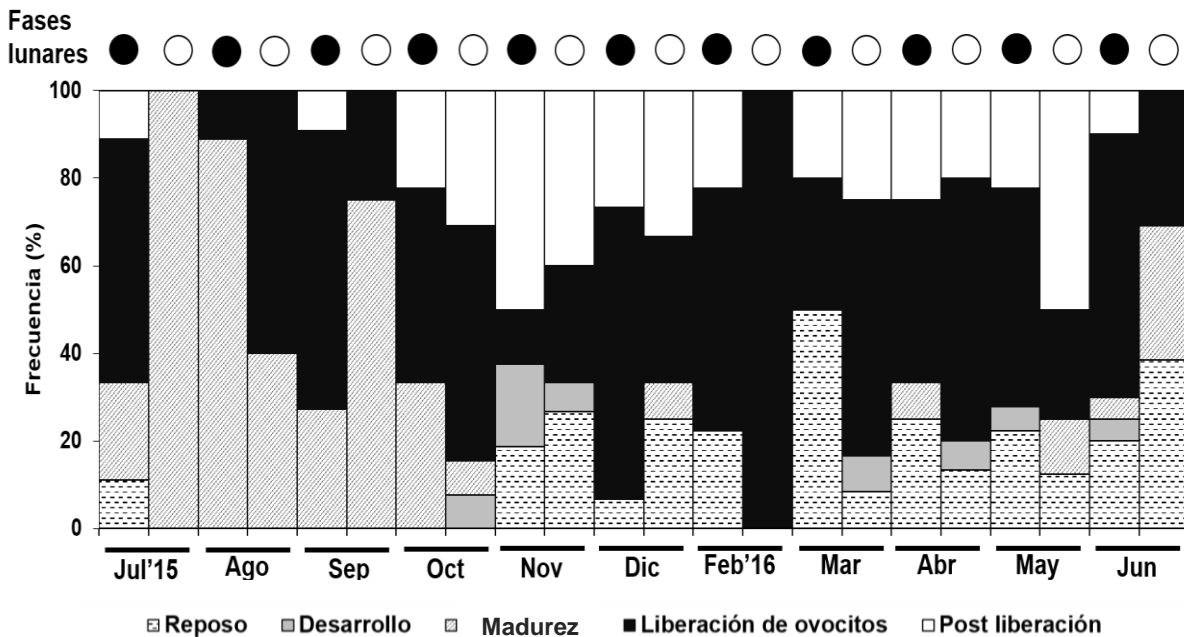


Figura 9. Ciclo gonádico de hembras de *Ophiocoma aethiops*, considerando las fases lunares: luna nueva (●) y luna llena (○).

6.5.2 Machos

A diferencia de las hembras, los machos tuvieron un período corto de reposo, el cual se encontró en la luna nueva de noviembre (6%), durante la luna llena de diciembre (9%) y luna nueva de febrero (15%). En seguida, esta fase se presentó desde la luna nueva de marzo hasta la luna llena de abril, encontrando en la luna llena de marzo la máxima frecuencia (23%) de testículos en reposo.

La etapa de desarrollo se presentó en la luna nueva de agosto con una frecuencia de 50% de machos, en la luna nueva de septiembre y luna llena de octubre el desarrollo disminuyó a 18 y 22%, respectivamente; y desde la luna nueva de mayo la etapa aumentó a 30%; obteniendo la mayor frecuencia (100%) de machos en desarrollo gonádico en la luna llena de junio.

Los testículos maduros se encontraron con mayor frecuencia de la luna nueva de julio a la luna nueva de octubre, con excepción de la luna llena de agosto, alcanzando el 100% de éstos en la luna llena de septiembre. Al igual que las hembras, los machos se encontraron liberando gametos casi todo el tiempo. Las

mayores proporciones de gónadas liberando gametos se obtuvieron durante la luna llena de agosto (80%), de noviembre (90%) y de febrero (100%).

La post liberación de gametos también se encontró en casi todo el muestreo; sin embargo, las frecuencias de aparición no fueron tan grandes como en la fase anterior. Los valores máximos se presentaron durante la luna llena de octubre (44%) y de diciembre (45%) y en la luna nueva de febrero (50%) (Fig. 10).

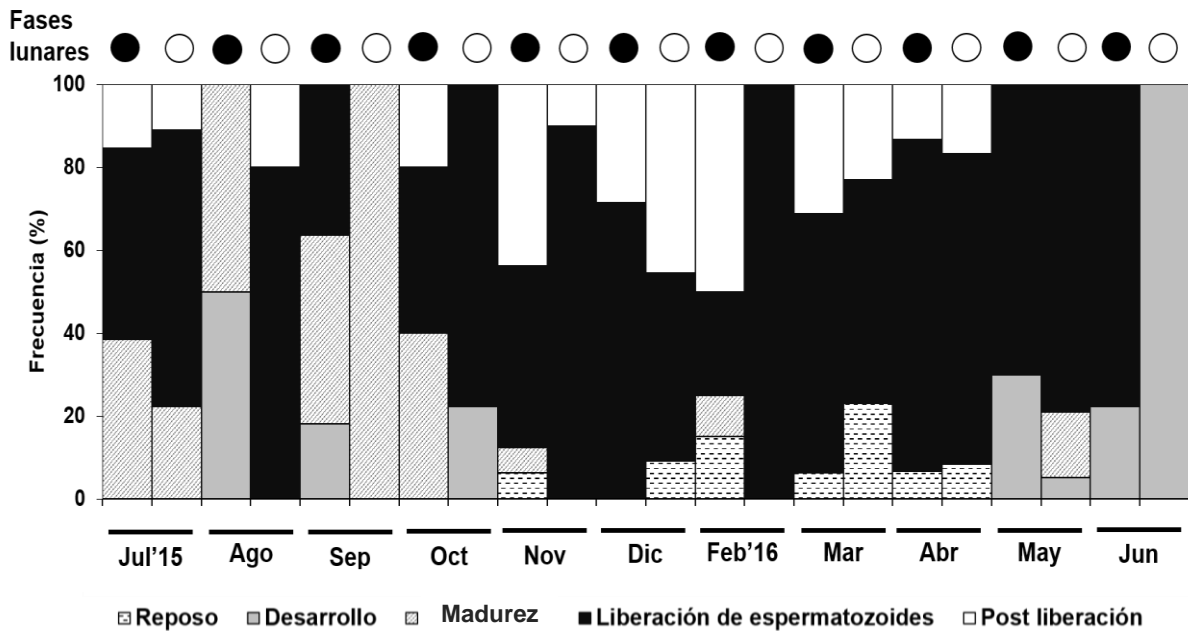


Figura 10. Ciclo gonádico de machos de *Ophiocoma aethiops*, considerando las fases lunares: luna nueva (●) y luna llena (○).

6.6 Ciclo reproductivo

Considerando los ciclos gonádicos de ambos sexos se obtuvo el ciclo reproductivo poblacional de la especie. El ciclo reproductivo inicia con la fase de reposo, esta fase fue de corta duración en comparación con las demás, se presentó desde la luna nueva de noviembre hasta la luna llena de junio; pudiendo terminar hasta la luna nueva de julio. En seguida, la fase de desarrollo se presentó en dos momentos, el primero se da con menor frecuencia desde la luna nueva de agosto hasta la luna llena de noviembre y el segundo se encontró desde la luna llena de marzo hasta la

luna llena de junio. Este comportamiento de la fase de desarrollo ocasiona que las gónadas se encuentren en constante producción de gametos. La etapa de madurez presentó casi el mismo patrón de distribución que la fase de desarrollo; no obstante, esta fase se presentó un mes antes que el desarrollo y con mayores frecuencias. Por otro lado, la especie se encontró en continua liberación y post liberación de gametos a lo largo de todo el ciclo.

Es importante resaltar que en varios muestreos fue posible encontrar las cinco fases de desarrollo gonádico (por ejemplo, en la luna nueva de noviembre y de junio, y en la luna llena de mayo), lo cual hace que dentro de la población simultáneamente puedan encontrarse individuos que estén en las diferentes etapas de desarrollo (Fig. 11).

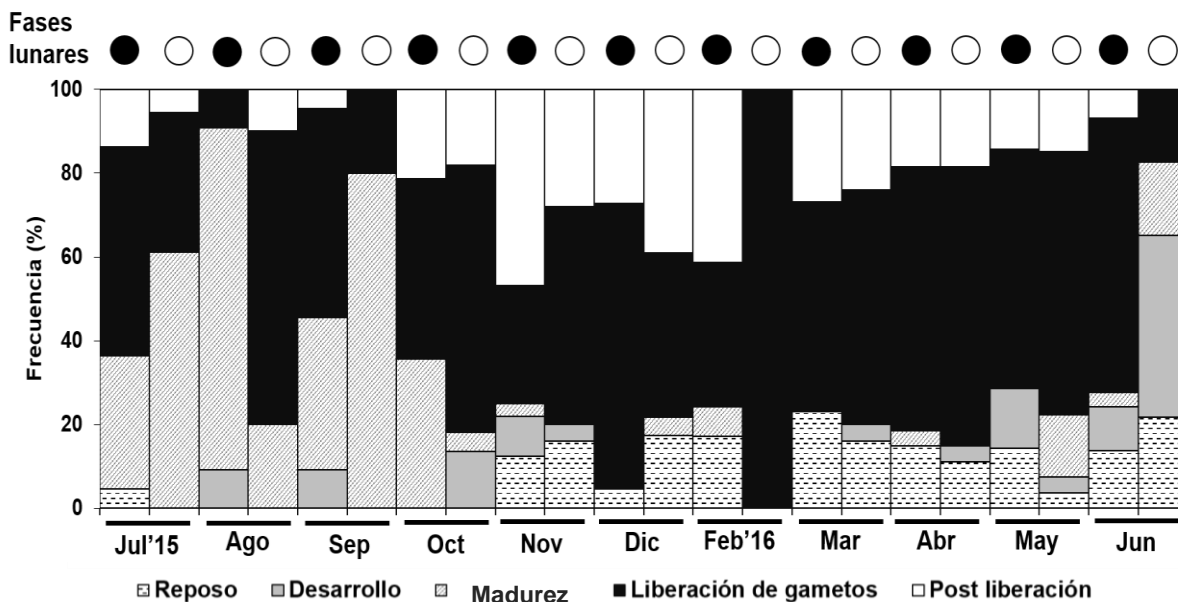


Figura 11. Ciclo reproductivo de *Ophiocoma aethiops*, considerando las fases lunares: luna nueva (●) y luna llena (○).

6.7 Relación del ciclo reproductivo con las fases lunares

Como se observó en la figura 10, no se encontró un pico en la actividad reproductiva de la especie, puesto que la frecuencia de los individuos con liberación de gametos es alta y continua a lo largo del ciclo reproductivo. Por tal motivo, el análisis de

varianza de una vía no detectó variaciones en las frecuencias de los organismos liberando gametos entre la fase de luna nueva y la fase de luna llena ($F_{(1, 0.05)}=0.037$, $p=0.84$).

7. DISCUSIÓN

Ophiocoma aethiops es una especie dioica. La proporción sexual encontrada en la mayoría de los muestreos fue de 1:1, lo cual es congruente con lo reportado por Hendler (1991) para ofiueros dioicos.

La organización y estructura de los folículos gonádicos de *O. aethiops* fueron similares a las de otros ofiuroides que también presentan dos sacos gonádicos en cada hendidura bursátil, separados por el celoma genital (Selvakumaraswamy & Byrne, 1995). Además, en el saco interno se encuentra el epitelio germinal, más organizado en los machos, que en las hembras, en las que se encuentra disperso en el folículo gonádico. Las membranas de los sacos externo e interno presentan células epiteliales y células mioepiteliales, una característica del epitelio celómico de los equinodermos (Byrne, 1989), con evidentes fibras musculares en la pared folicular.

Durante el desarrollo gonádico se observó que los folículos gonádicos incrementan de tamaño conforme avanzan las fases de desarrollo; desde el reposo hasta la post liberación de gametos, sin embargo esto no fue posible sustentar con base en el índice gonádico debido a que era difícil extraer la gónada cuando no estaba madura. Aunque el aumento de tamaño fue evidente durante la disección y en los cortes histológicos.

Se sabe que en la costa de Oaxaca *O. aethiops* tiene un ciclo anual de reproducción, que las hembras presentan una temporada de desove prolongada y bien marcada que va de abril a diciembre (Benítez-Villalobos *et al.*, 2012). Sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio difieren con los reportados por dichos autores, ya que tanto las hembras como los machos estuvieron liberando gametos a lo largo de todo el año. Al terminar la fase de liberación de gametos en machos, se observaron algunas células germinales en desarrollo, lo cual sugiere que

la espermatogénesis es continua en la Bahía de La Paz. Esto último también difiere de lo reportado para la población de Oaxaca en donde sí se reporta un periodo de inactividad reproductiva (reposo) en machos.

Por otra parte, el desarrollo de los ovarios en Bahía de La Paz varió en cuanto sincronía se refiere, algunas hembras presentaron ovocitos con desarrollo sincrónico y otras asincrónico. A pesar de esto fue posible establecer claramente las fases de desarrollo gonádico en hembras. Opuesto a lo que ocurre en los testículos, en donde el desarrollo de los folículos gonádicos de un macho es asincrónico, pudiendo encontrar de esta manera folículos en desarrollo durante la fase de madurez, o folículos maduros durante la liberación de gametos.

Durante el procesamiento de las muestras se observaron folículos más pequeños debajo de los más grandes, los cuáles son gónadas en formación. Esta observación fue congruente con lo observado anteriormente por Benítez-Villalobos *et al.* (2012). Es probable que este crecimiento de gónadas se deba a que la especie tenga folículos con un tiempo de vida corto y que el reemplazo por nuevos sea necesario, según lo propuesto por Selvakumaraswamy & Byrne (1995) para *Ophionereis schayeri* y por Smiley (1988) para el pepino de mar *Stichopus californicus*.

En la fase de liberación de gametos se observaron en mayor cantidad células cafés desintegrando ovocitos. Dichas células son cúmulos de pigmento de lipofuscina resultado de un metabolismo de rompimiento (Falkner & Byrne, 2003), en este caso fueron producto de la degeneración celular de los ovocitos. El primer registro que se tuvo de la presencia de lipofuscina en tejido gonádico de equinodermos fue el hecho por Benítez-Villalobos *et al.* (2012) para *O. aethiops*.

Se ha documentado que la liberación de gametos en los ofiuros puede ser corta y con fuerte sincronía entre ambos sexos, o puede ser de periodo prolongado seguido de un periodo intenso de reposo con pequeños pulsos de liberación de gametos (Falkner & Byrne, 2003). En este estudio, el periodo de reproducción de *O. aethiops* fue prolongado, contrario a lo reportado para la misma especie en las costas de Panamá y Oaxaca, en donde el segundo patrón coincidió con los periodos

de liberación de gametos registrados por Hendler (1979) y Benítez-Villalobos *et al.* (2011).

La sincronización de la liberación de gametos puede estar determinada por varios factores físicos y biológicos relacionados con señales del ambiente, entre los que se pueden ver involucrados mecanismos endógenos de los relojes biológicos (Soong *et al.*, 2005). Dado lo anterior, muchas especies en áreas tropicales tienen una sola temporada reproductiva al año. En algunos casos para especies con una amplia distribución latitudinal, la reproducción puede ocurrir a lo largo del año en las poblaciones cercanas al ecuador, mientras que puede ser estacional en aquellas que se encuentran a mayor distancia de este (Giese & Pearse, 1974). Un factor sincronizador para la liberación de gametos es la luna, lo cual no se vio reflejado en este estudio.

No obstante, la reproducción continua con prolongadas temporadas en la liberación de gametos es característica de un gran número de especies de ofiuros tropicales, muchos de los cuales producen un alto número de huevos (Mladenov & Emson, 1984). Sin embargo, la sincronía en la liberación de gametos influenciada por señales ambientales evita el entrecruzamiento de especies filogenéticamente cercanas, que pueden encontrarse influenciadas de la misma manera por la misma combinación de factores (Soong *et al.*, 2005).

La duración del tiempo de reproducción es una respuesta a las presiones selectivas, las cuales reflejan condiciones favorables para que ésta sea exitosa, lo cual es conocido como factores próximos. Por otro lado, las causas últimas son asociadas a condiciones favorables para el desarrollo de las larvas o los juveniles. Con lo cual se asegura que la larva se desarrolle durante la temporada en la que haya suficiente alimento (Giese & Pearse, 1974).

A pesar de ello, no se ha documentado lo suficiente al respecto. Thorson (1950) argumenta que hay muchas especies de aguas templadas que se reproducen cuando el plancton necesario se encuentra disponible para las larvas. A parte de la alimentación existen otras condiciones que son importantes para las larvas, siendo una de las más importantes la temperatura, la cual puede ser necesariamente favorable para el desarrollo de la larva. Además de la depredación que es otro factor

importante. No obstante, estos pueden ejercer una presión selectiva crítica para la reproducción, no solo sobre las larvas sino también sobre juveniles o adultos (Giese & Pearse, 1974).

Para que el desarrollo de las larvas tenga éxito, algunos invertebrados marinos se han adaptado para liberar sus gametos durante alguna fase lunar, cuando los gametos pueden permanecer ocultos bajo la oscuridad que brinda la luna nueva o en el brillo de la luna nueva. Esta estrategia adaptativa ha sido mayormente documentada que la que depende de las mareas (Lessios, 1984; Glynn *et al.*, 1994; Figuerola *et al.*, 1998; Glynn *et al.*, 2000; Kubota, 2000; Sentis-Hernández, 2008). Entonces, para que la sincronización de una temporada reproductiva con un ritmo lunar sea favorable es necesario que la liberación de gametos sea de corta duración, con lo que se asegura que haya menos depredación de gametos (Kennedy & Pearse, 1975). Esta estrategia adaptativa durante la temporada reproductiva no fue posible observarla en *O. aethiops*, pues su ciclo reproductivo es continuo con periodos prolongados de liberación de gametos.

Cabe mencionar que durante el presente estudio, se observó que la ceca pilórica ocupaba mayor área en el disco cuando el alimento era abundante, a pesar de que había algunos folículos gonádicos maduros. Con respecto a esto, los modelos de fecundidad sostienen que si el alimento es escaso, el éxito reproductivo baja para las especies cuya estrategia tiene huevos de tamaño pequeño y que éste incrementa con el aumento de talla de huevo, sin embargo cuando los niveles de alimento son altos, entonces el éxito reproductivo es alto para los huevos de tallas pequeñas (Grange *et al.*, 2004). Lo que implica que si *O. aethiops* posee pequeños tamaños de huevos la larva que desarrolla es planctotrófica, por lo que produce huevos en altas cantidades como consecuencia de la disponibilidad de alimento en el ambiente que habita.

La talla máxima de los ovocitos fue mayor a la reportada para la especie en las costas de Oaxaca, aunque se sabe que los huevos de *O. aethiops* pueden llegar a medir hasta 98 μm de diámetro (Benítez-Villalobos *et al.*, 2012). En general las características de los patrones de desarrollo en ofiuroideos han sido establecidas, de modo tal que especies con huevos pequeños (70-200 μm de diámetro), tienen un

desarrollo planctotrófico y requieren de 12 a 40 días aproximadamente para llevar a cabo la metamorfosis (Mladenov, 1979).

El tipo de reproducción que presentó *O. aethiops* ha sido reportada principalmente para especies tropicales como *O. pumila* (Hendler, 1979), contrario a lo que sucede en especies de aguas templadas que generalmente se reproducen una vez al año (Purcell, 2010). Este resultado fue producto de la alta asincronía que se observó en el desarrollo gonádico. Es probable que la reproducción del ofiuro dependa en gran medida de la disponibilidad de alimento, el cual es abundante en el área de estudio (obs. pers.).

8. CONCLUSIONES

En la bahía de La Paz, B.C.S., *Ophiocoma aethiops* tiene una proporción sexual poblacional de 1:1.

El desarrollo gonádico para ambos sexos se lleva a cabo en cinco fases (reposo, desarrollo, madurez, liberación de gametos y post liberación).

Además, el desarrollo de las gónadas es sincrónico en hembras y asincrónico en machos.

Así mismo, *O. aethiops* presentó reproducción continua durante el periodo de estudio en la bahía.

Con base en lo anterior, se establece que la actividad reproductiva de *O. aethiops* no está influenciada por las fases lunares, pudiendo haber otros factores regulando dicha actividad.

9. RECOMENDACIONES

Hacer estudios de ecología poblacional de la especie para determinar el estado de la población en la Bahía de La Paz. Así como analizar la estructura de tallas y estimar la talla de primera madurez.

Estimar la relación talla-peso para determinar la estructura de edades, con lo cual se incrementaría el conocimiento sobre esta especie.

Realizar un monitoreo durante un ciclo lunar (aproximadamente 28 días) en los meses de verano para determinar en qué intensidades de luz ocurre la frecuencia de liberación de gametos máxima, ya que no es necesario recolectar al individuo completo para extraer algunos folículos gonádicos y determinar la fase de desarrollo gonádico.

Realizar análisis bioquímicos para determinar el contenido de lípidos y proteínas en las diferentes fases de desarrollo gonádico y establecer el origen de la energía requerida para completar el desarrollo gonádico.

10. REFERENCIAS

- Aizenberg, J., A. Tkachenko, S. Weiner, L. Addadi & G. Hendler. 2001. Calcitic microlenses as part of the photoreceptor system in brittlestars. *Nature*. Vol. 412: 819–822
- Aguilar-Duarte, C. 2011. Comparación del patron reproductivo entre *Ophiocoma alexandri* y *Ophiocoma aethiops* (Echinodermata: Ophiuroidea) y su relación con las variables ambientales temperatura, luminosidad, horas de luz, pluviosidad, clorofilas y salinidad. Tesis de Maestría. Universidad del Mar, Puerto Ángel, Oaxaca. 41 p
- Babcock, R., C. Mundy, J. Keesing & J. Oliver. 1992. Predictable and unpredictable spawning events: *in situ* behavioural data from free-spawning coral reef invertebrates. *Invertebr. Reprod. Dev.*, 22(1-3): 213-228

- Bailey, R. 2008. Reproduction in animals: sexual reproduction. Consultado el 08 de Agosto del 2016 en: <http://biology.about.com/od/basicgenetics/a/aa062708a.htm>
- Balart, E.F., J.L. Castro-Aguirre, D. Auriolos-Gamboa, F. García-Rodríguez & C. Villavicencio-Garayzar. 1995. Adiciones a la ictiofauna de Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. *Hidrobiológica*, 5(01-02): 79-85
- Bandaranayake, W.M. 2006. The nature and role of pigments of marine invertebrates. *Nat. Prod. Rep.*, 23: 223-255
- Bartol-Hernández, J.A., J.F. García-Santos & J. de Santiago-Guervos. 1992. Estudios filológicos homenaje a Eugenio de Bustos Tovar. Ediciones Universidad de Salamanca. Salamanca, España. 987 p
- Benavides-Serrato, M. & T.D. O'Hara. 2008. A new species in the *Ophiocoma erinaceus* complex from the South-west Pacific Ocean (Echinodermata: Ophiuroidea: Ophiocomidae). *Mem. Mus. Vic.*, 65: 51-56
- Benítez-Villalobos, F., C. Aguilar-Duarte & O.H. Avila-Poveda. 2012. Reproductive biology of *Ophiocoma aethiops* and *O. alexandri* (Echinodermata: Ophiuroidea) from Estacahuite Bay, Oaxaca, Mexico. *Aquat. Biol.*, 17: 119-128
- Birkeland, C. 1989. The influence of echinoderms on coral reef communities. Pp: 1-79 *In* Jangoux M & J.M. Lawrence (eds). Echinoderm Studies. Balkema, Rotterdam, Netherlands.
- Brusca, R.C. & G.J. Brusca. 2003. Invertebrates. 2a ed. Sinauer Associates. U.S.A. 936 p
- Byrne, M. 1989. Ultrastructure of the ovary and oogenesis in the ovoviviparous ophiuroid *Ophiolepis paucispina* (Echinodermata). *Biol. Bull.*, 176: 79-95
- Cardinali, D.P, J.J. Jordá-Catalá & E.J. Sánchez-Barceló. 1994. Introducción a la cronobiología: fisiología de los ritmos biológicos. Universidad de Cantabria: Caja Cantabria, D.L. España. 158 p
- Ceballos-Vázquez, B.P. 1993. Biología reproductiva del "conejo" *Caulolatilus affinis*, Gil 1865 (Pisces:Branchiostegidae), en el Canal Cerralvo, B.C.S., México. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-IPN. La Paz, Baja California Sur. 72 p

- Cintra-Buenrostro, C.E., M.S. Foster & K.H. Meldahl. 2002. Response of nearshore marine assemblages in Pleistocene and modern rhodolith beds in the southwestern Gulf of California, México. *Palaeogeogr., Palaeoclimatol., Palaeoecol.*, 183: 299-320
- Coppard, S.E. & A.C. Campbell. 2005. Lunar periodicities of diadematid echinoids breeding in Fiji. *Coral Reefs*, 24: 324-332
- Curtis, H., N.S. Barnes, A. Schnek & A. Massarini. 2008. Biología. 7a ed. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. 1160 p
- Dambach, M. 1969. Die Reaktion der Chromatophoren des Seeigels *Centrostephanus longispinus* auf Licht. *Z. vergl. Physiologie.*, 64: 400-406
- Dan, K. & H. Kubota. 1960. Data on the spawning of *Comanthus japonica* between 1937 and 1955. *Embryologia*, 5: 21-37
- De la Lanza-Espino, G., C. Cáceres-Martínez, S. Adame-Martínez & S. Hernández-Pulido. 1999. Diccionario de hidrología y ciencias afines. Plaza y Valdes Editores. 286 p
- Drummond, A.E. 1995. Reproduction of the sea urchins *Echinometra mathaei* and *Diadema savigni* on the South African Eastern coast. *Mar. Freshwater Res.*, 46(4): 751-755
- Falkner, I. & M. Byrne. 2003. Reproduction of *Ophiactis resiliens* (Echinodermata: Ophiuroidea) in New South Wales with observations on recruitment. *Mar. Biol.*, 143: 459-466
- Falkner, I., S. Barbosa & M. Byrne. 2013. Reproductive biology of four ophiocomid ophiuroids in tropical and temperate Australia-reproductive cycle and oogenic strategies in species with different modes of development. *Invertebr. Reprod. Dev.*, 57(3): 189-199
- Fanjul de Moles, M.L. & M. Hiriart-Urdanivia (eds). 2008. Biología funcional de los animales II: Una neurofisiología comparada. México. Siglo veintiuno editores. 365 p
- Figuerola, M., D. Matos-Caraballo & W. Torres. 1998. Maturation and reproductive seasonality of four reef fish species in Puerto Rico. *Proc. 50th Gulf Caribb. Fish. Inst.*: 938-968

- Fox, H.M. 1924. Lunar Periodicity in Reproduction. *Proc. Roy. Soc. Lond.*, 95: 523-550
- García, E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. 5a ed. UNAM, México, 91 p
- Gaudette, J., R.A. Wahle & J.H. Himmelman. 2006. Spawning events in small and large populations of the green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* as recorded using fertilization assays. *Limnol. Oceanogr.*, 51(3): 1485-1496
- Giese, A.C. & J.S. Pearse. 1974. I. Introduction: General principles. Pp: 1-49 *In* Giese, A.C. & J.S. Pearse (eds.). *Reproduction of Marine Invertebrates*, Academic Press, New York.
- Glynn, P.W., S.B. Colley, C.M. Eakin, D.B. Smith, J. Cortes, N.J. Gassman, H. Guzman, J.B. Del Rosario & J.S. Feingold. 1994. Reef coral reproduction in the eastern Pacific: Costa Rica, Panama and Galapagos Islands (Ecuador). II. Poritidae. *Mar. Biol. (Berl.)*, 118: 191-208
- Glynn, P.W., J.H. Ting, J.L. Maté & H.M. Guzmán. 2000. Reef coral reproduction in the eastern Pacific: Costa Rica, Panamá and Galápagos Islands (Ecuador). IV. Agariciidae, recruitment and recovery of *Pavona varians* and *Pavona* sp. a. *Mar. Biol.*, 136: 785-805
- Gómez-Daglio, L.E. 2003. Sistemática de los balanomorfos de la región sur de la península de Baja California, México. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional, La Paz, BCS. 90 p
- Grange, L.J., P.A. Tyler, L.I.S. Peck & N. Cornelius. 2004. Long-term interannual cycles of the gametogenic ecology of the Antarctic brittle star *Ophionotus victoriae*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 278: 141–155
- Granja-Fernández, R., M.D. Herrero-Pérezrul, R.A. López-Pérez, L. Hernández, F.A. Rodríguez-Zaragoza, R.W. Jones & R. Pineda-López. 2014. Ophiuroidea (Echinodermata) from coral reefs in the Mexican Pacific, *ZooKeys*, 406: 101-145
- Granja-Fernández, R., M.D. Herrero-Pérezrul, A. López-Pérez, A. Hernández-Morales & P.D. Rangel-Solís. 2015. A literatura review of the Ophiuroidea

- (Echinodermata) from the Pacific coast of Mexico. *Rev. Biol. Trop.*, 63(2): 37-47
- Harrison, P.L. 2011. Sexual reproduction of Scleractinian Corals. Pp: 59-85 *In* Dubinsky, Z. y N. Stambler (eds). Coral reefs: An ecosystem in transition. Springer, Berlin.
- Hendler, G. 1979. Reproductive periodicity of ophiuroids (Echinodermata: Ophiuroidea) on the Atlantic and Pacific coasts of Panama. Pp: 145-156 *In* Stancyk, S.E. (ed). Reproductive Ecology of Marine Invertebrates. University of South Carolina Press, Columbia, South Carolina.
- Hendler, G. 1991. Echinodermata: Ophiuroidea. Pp: 355-511 *In* Giese, A.C., J.S. Pearse & V.B. Pearse (eds). Reproduction of Marine Invertebrates: Echinoderms and Lophophorates. Boxwood Press, Pacific Grove, California.
- Hendler, G. & M. Byrne. 1987. Fine structure of the dorsal arm plate of *Ophiocoma wendti*: Evidence for a photoreceptor system (Echinodermata, Ophiuroidea). *Zoomorphology*, 107: 261-272
- Hendler, G. & B.S. Littman. 1986. The ploys of sex: relationships among the mode of reproduction, body size and habitats of coral-reef brittlestars. *Coral Reefs*, 5: 31-42
- Humason, G. 1979. Animal Tissue Techniques. 4a ed. W.H. Freeman & Co. USA. 692 p
- Iliffe, T.M. & J.S. Pearse. 1982. Annual and lunar reproductive rhythms of the sea urchin, *Diadema antillarum* (Philippi) in Bermuda. *Int. J. Invertebr. Reprod.*, 5:139-148
- Jáuregui-Rincón, J. & N.A. Chávez-Vela. 2006. Glosario de Biotecnología. Universidad Autónoma de Aguascalientes. Aguascalientes, México. 213 p
- Jiménez-Illescas, A. R., Obeso-Niebla, M. & D. Salas-León. 1997. Oceanografía física de la bahía de La Paz. Pp: 31-41. En: Urbán R. J. y M. Ramírez (Eds). La Bahía de La Paz, Investigación y Conservación, UABCS, CICIMAR, SCRIPPS INST. OCEAN. La Paz B.C.S. 345 p

- Kennedy, B. & J.S. Pearse. 1975. Lunar synchronization of the monthly reproductive rhythm in the sea urchin *Centrostephanus coronatus* Verrill. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 17: 323-331
- Kobayashi, N. 1967. Spawning periodicity of sea urchins at Seto. I. *Mespilia globulus*. *Publ. Seto Mar. Biol. Lab.*, 14 (5): 403-414.
- Kubota, H. 1980. Synchronization of spawning in the crinoid, *Comanthus japonica*. Pp: 69-74. In Clark, W.H. y T.S. Adams (eds.). Advances in invertebrate reproduction. *Elsevier North Holland*. New York.
- Kubota, T. 2000. Reproduction in the Apodid Sea Cucumber *Patinapta ooplax*: Semilunar Spawning Cycle and Sex Change. *Zool. Sci.*, 17: 75-81
- Kubota, T. & M. Tomari. 1998. Reproduction in the apodid sea cucumber *Polycheira rufescens*: semilunar spawning rhythm and sex change. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 78: 249-267
- Lamare M.D. & B.G. Stewart. 1998. Mass spawning by the sea urchin *Evechinus chloroticus* (Echinodermata: Echinoidea) in a New Zealand fiord. *Mar. Biol.*, 132: 135-140
- Lessios, H.A. 1984. Possible prezygotic reproductive isolation in sea urchins separated by the Isthmus of Panama. *Evolution*, 38: 1144-1148
- Lessios, H.A. 1991. Presence and absence of monthly reproductive rhythms among eight Caribbean echinoids off the coast of Panama. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 153: 27-47
- McClintock, J.B. & S.A. Watts. 1990. The effects of photoperiod on gametogenesis in the tropical sea urchin *Eucidaris tribuloides* (Lamarck) (Echinodermata: Echinoidea). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 139: 175-184
- Maluf, L. 1988. Composition and distribution of the Central Eastern Pacific echinoderms. Nat. Hist. Mus. LA County, USA. *Tech. Rep.*, 2: 1-242
- Martínez-Flores, G., R. Cervantes-Duarte & E. González-Rodríguez. 2006. Análisis de temperatura superficial del mar en la Bahía de La Paz, Baja California Sur. *Nat.Des.*, 4(2): 26-34

- Martínez-López, A., R. Cervantes-Duarte, A. Reyes-Salinas & J.E. Valdez-Holguín. 2001. Cambio estacional de clorofila *a* en la Bahía de La Paz, B.C.S., México. *Hidrobiológica*, 11: 45-52
- Mladenov P.V. & R.H. Emson. 1984. Divide and broadcast: sexual reproduction in the West Indian brittle star *Ophiocomella ophiactoides* and its relationship to fissiparity. *Mar. Biol.*, 81: 273-282
- Montuy-Gómez, D. 2008. Dinámica poblacional de *Holothuria kefersteini* (Echinodermata: Holothuroidea) en Punta Galeras, B.C.S., México. Tesis de Licenciatura. UABCS, México. 58 p
- Munar, J. 1984. Anomalías en la simetría de los Asteroidea (Echinodermata). Casos observados en aguas de Mallorca. *Boll. Soc. Hist. Nat. Balears*, 28: 59-66
- Numata, H. & B. Helm. 2014. Annual, Lunar, and Tidal Clocks: Patterns and Mechanisms of Nature's Enigmatic Rhythms. Springer, Tokyo. 360 p
- Obeso-Nieblas, M. 2003. Variabilidad espacio-temporal de las condiciones oceanográficas de la Bahía de La Paz, B.C.S., México. Tesis Doctoral. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-IPN, La Paz, Baja California Sur. 337 p
- Obeso-Nieblas, M., B. Shirasago, L. Sánchez-Velasco & J.H. Gaviño-Rodríguez. 2004. Hydrographic variability in Bahia de La Paz, BCS, Mexico, during the 1997-1998 El Niño. *Deep-Sea Research II.*, 51: 689-710.
- Obeso-Nieblas, M., B. Shirasago-Germán, J. Gaviño-Rodríguez, E. Pérez-Lezama, H. Obeso-Huerta & A. Jiménez-Illescas. 2008. Variabilidad hidrográfica en Bahía de La Paz, Golfo de California, México (1995-2005). *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.*, 43 (3): 559-567
- Pearse, J.S. 1972. A monthly reproductive rhythm in the diadematid sea urchin *Centrostephanus coronatus* Verrill. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* Vol. 8: 167-186
- Pearse, J.S. 1990. Lunar reproductive rhythms in marine invertebrates: maximizing fertilization. *Adv. Invertebr. Reprod.*, 5: 311-316
- Policansky, D. 1982. Sex change in plants and animals. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 13: 471-495

- Raible, F., K. Tessmar-Raible, E. Arboleda, T. Kaller, P. Bork, D. Arendt & M.I. Arnone. 2006. Opsins and clusters of sensory G-protein-coupled receptors in the sea urchin genome. *Dev. Biol.*, 300: 461-475
- Ross, M.H. & W. Pawlina. 2008. *Histología: Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular*. 5a ed. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. 992 p
- Sadava, D., G. Heller, G. Orians, W. Purves & D. Hillis. 2009. *Vida: La ciencia de la biología*. 8a ed. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España. 1376 p
- Sarmiento, F.O. 2000. *Diccionario de ecología: paisajes, conservación y desarrollo sustentable para Latinoamérica*. Editorial Abya Yala. Georgia, EUA. 226 p
- Selvakumaraswamy, P. & M. Byrne. 1995. Reproductive cycle of two populations of *Ophionereis schayeri* (Ophiuroidea) in New South Wales. *Mar. Biol.*, 124: 85-97
- Sentís-Hernández, M. 2008. Relaciones interespecíficas entre *Diadema antillarum* (Echinodermata: Diadematidae) y otros invertebrados a lo largo del ciclo lunar. *An. Univ. Etol.*, 2: 62-70
- SHOA. 2002. *Glosario de Marea y Corrientes*. 3a ed. Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada. Valparaíso, Chile. 59 p
- Smiley, S. 1988. The dynamics of oogenesis and the annual ovarian cycle of *Stichopus californicus* (Echinodermata: Holothuroidea). *Biol. Bull.*, 175: 79-93
- Smith, J.E. 1940. The reproductive system and associated organs of the brittle star *Ophiothrix fragilis*. *Q. J. Microsc. Sci.*, 82: 267-310
- SNIEG. 2015. Norma Técnica para el Registro de Nombres Geográficos Continentales e Insulares con fines Estadísticos y Geográficos. Sistema Nacional de Información Estadística y Geográfica. Consultado el 19 de Octubre del 2016 en www.snieg.mx/contenidos/espanol/Normatividad/Normatividad_Vigente/Archivos_NV/ACUERDO_NT_Registro_de_nombres_Geograficos.pdf
- Sokal, R.R. & F.J. Rohlf. 1979. *Biometría: principio y métodos estadísticos en la investigación biológica*. H Blume Ediciones. Madrid. 832 p

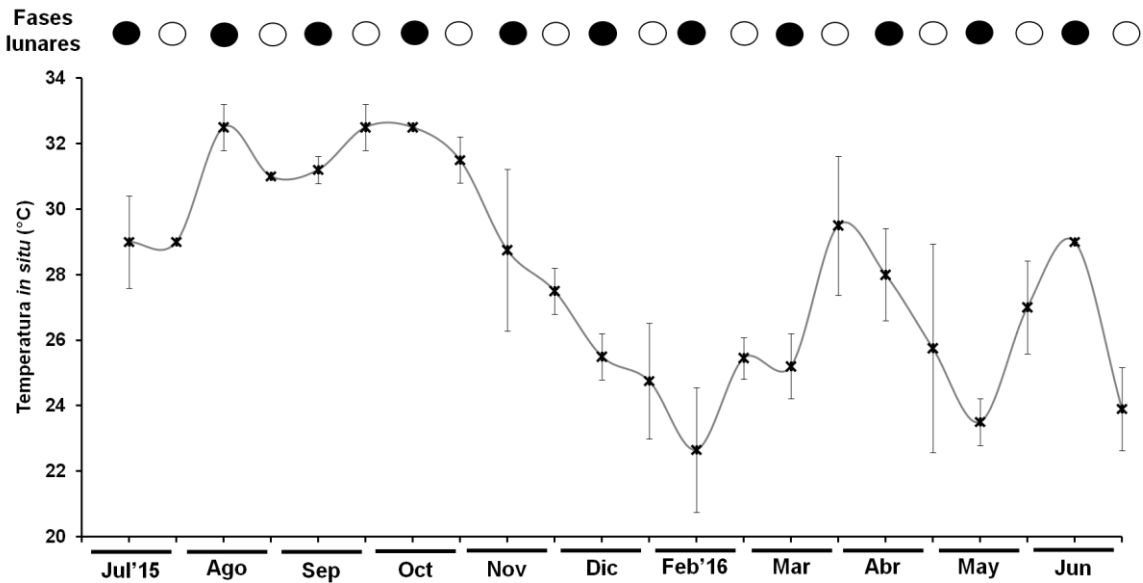
- Soong, K., D. Chang & S.M. Chao. 2005. Presence of spawn-inducing pheromones in two brittle stars (Echinodermata: Ophiuroidea). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 292: 195-201
- Soong, K., Lin, Y., Chao, S. & D. Chang. 2009. Spawning time of two shallow-water brittle stars. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 376: 165-171
- Thorson, G. 1950. Reproductive and larval ecology of marine bottom invertebrates. *Biol. Rev.*, 25: 1-45
- Tominaga, H., Nakamura, S. & M. Komatsu. 2004. Reproduction and development of the conspicuously dimorphic brittlestar *Ophiodaphne formata* (Ophiuroidea). *Biol. Bull.*, 206: 25-34
- Yoshida, M. 1952. Some observations on the maturation of the sea urchin *Diadema setosum*. *Annotnes. Zool. Jap.*, 25: 265-271
- Zar, J.H. 2010. Biostatistical analysis. 5a ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey. 944 p

11. ANEXOS

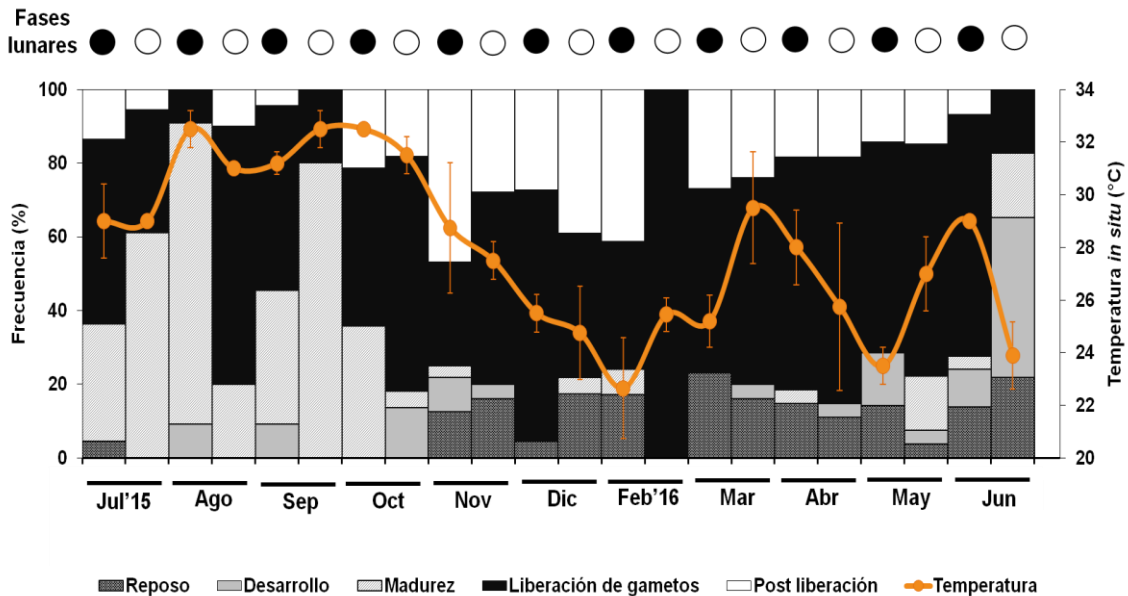
Anexo I. Frecuencia de aparición de machos y hembras de *Ophiocoma aethiops* y valores de χ^2 en cada luna nueva (LN) y luna llena (LL), considerando una proporción sexual 1:1.

	Machos	Hembras	Total	χ^2
LN jul'15	13	9	22	2.95
LL jul	9	11	20	0.81
LN ago	5	13	18	18.87*
LL ago	5	5	10	0.01
LN sep	13	11	24	0.54
LL sep	4	5	9	1.02
LN oct	9	9	18	0.01
LL oct	10	13	24	1.50
LN nov	16	16	32	0.01
LL nov	10	15	25	3.61
LN dic	7	15	23	11.60*
LL dic	12	12	24	0.01
LN feb'16	21	11	33	8.68*
LL feb	1	3	4	24.01*
LN mar	16	11	27	3.07
LL mar	14	13	27	0.07
LN abr	17	12	29	2.64
LL abr	12	16	28	1.77
LN may	10	18	28	7.60*
LL may	19	8	27	15.79*
LN jun	9	20	29	13.64*
LL jun	12	15	27	1.02
Total	244	261	508	0.07

Anexo II. Variación de la temperatura del mar *in situ* durante el período de muestreo. Luna nueva (●) y luna llena (○).



Anexo III. Ciclo reproductivo de *Ophiocoma aethiops* relacionado con la variación de la temperatura del mar *in situ*.



Anexo IV.

Cabe mencionar que durante los muestreos se recolectaron un individuo con seis brazos (Fig. 1A) y dos individuos con un juvenil de otra especie, perteneciente al género *Ophiomastix*, dentro de ellos; dichos juveniles se observaron entre los ciegos pilóricos impidiendo el desarrollo de la gónada. En el Pacífico oriental ninguno de los dos eventos ha sido reportado, aunque la relación existente entre ofiueros de los géneros *Ophiocoma* y *Ophiomastix* ha sido documentada en el Pacífico occidental, principalmente en la costa de Japón (Hendler *et al.*, 1999).



Figura 1A. Vista aboral (izquierda) y oral (derecha) del individuo de *Ophiocoma aethiops* con seis brazos (Fotos: Cynthia Méndez). Barra de escala= 1 cm.

Referencia: Hendler, G., M.J. Grygier, E. Maldonado & J. Denton. 1999. Babysitting brittle stars: heterospecific symbiosis between ophiuroids (Echinodermata). *Inv. Biol.*, 118(2): 190-201