

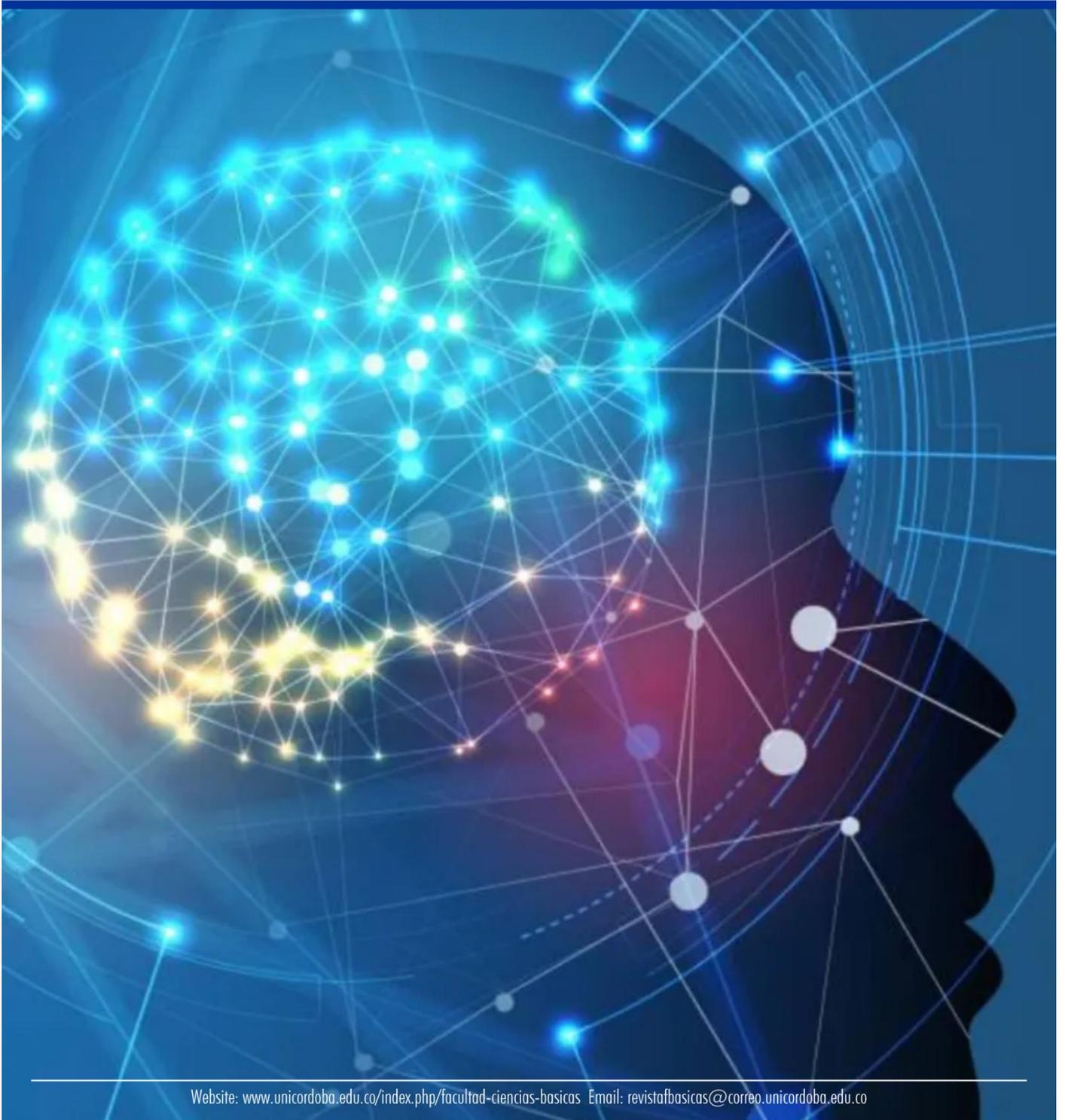


UNIVERSIDAD DE
CÓRDOBA



RFCB Revista Facultad de Ciencias Básicas

Volumen 1- Edición digital N°001 ISSN: 2805-7821



Website: www.unicordoba.edu.co/index.php/facultad-ciencias-basicas Email: revistabasicas@correo.unicordoba.edu.co

Uso y partición de nicho ecológico por la avifauna en árboles de *Ficus* (Rosales: Moraceae) en paisajes ganaderos de Córdoba, Colombia

Use and partition of ecological niche by birdlife in *Ficus* trees (Rosales: Moraceae) in livestock landscapes of Córdoba, Colombia

Yulisa M. NAVARRO G^{1*} y Jesús BALLESTEROS C¹

¹Universidad de Córdoba - Colombia, Facultad de Ciencias Básicas, Grupo de Investigación Biodiversidad, Departamento de Biología, *E-mail: ynavarrogandia@correo.unicordoba.edu.co; ORCID: 0000-0002-5204-836X.; E-mail: jballesteros@correo.unicordoba.edu.co; ORCID: 000-0002-4369-8408

Recibido: agosto 20 de 2021

Aceptado: octubre 24 de 2021

Publicado: noviembre 19 de 2021

Abstract

Extensive livestock farming produces changes in land use, generating a matrix of grasslands with few scattered trees, which negatively affects biodiversity. The objective of the work was to determine the use that birds give to the trees of the genus *Ficus* in livestock landscapes, and how the species share the niche. Five *Ficus* trees separated 300 meters from each other were selected, and all bird species that interacted with *Ficus*, types of use, vertical stratification were recorded. 77 species and 8 types of use were recorded, being "Percha" and "fruit consumption" the most frequent. 63 species of birds were recorded in the upper stratum, 40 in the middle stratum and 45 in the lower stratum of the trees, with greater abundance in the middle stratum. The results indicate that the *Ficus* trees scattered in the pastures represent an important resource for the birds, which seem to present spatial partition of the niche, with the presence of exclusive species in the different tree strata. It is concluded that *Ficus* sp., Which, due to its asynchronous provision of fruits, represents a key resource for many species of resident and migratory birds, as well as offering insects, roost and refuge sites, which favors the conservation of the diversity of birds in these heavily transformed landscapes.

Key words: Birdlife; niche spatial partition; *Ficus*; extensive livestock farming

Resumen

La ganadería extensiva produce cambios de uso del suelo, generando una matriz de pastizales con pocos árboles dispersos, lo cual afecta negativamente la biodiversidad. El objetivo del trabajo fue determinar el uso que las aves dan a los árboles del género *Ficus* en paisajes ganaderos, y cómo las especies se reparten el nicho. Se seleccionaron 5 árboles de *Ficus* separados 300 metros entre sí, y se registró todas las especies de aves que interactuaron con *Ficus*, tipos de uso, estratificación vertical. Se registraron 77 especies y 8 tipos de uso, siendo "Percha" y "consumo de frutos" los más frecuentes. Se registró 63 especies de aves en el estrato alto, 40 en el estrato medio y 45 en el estrato bajo de los árboles, con mayor abundancia en el estrato medio. Los resultados indican que los árboles de *Ficus* dispersos en los potreros, representan un importante recurso para las aves, las cuales parecen presentar partición espacial del nicho, con presencia de especies exclusivas en los diferentes estratos de los árboles. Se concluye que *Ficus* sp., que por su provisión asincrónica de frutos representa un recurso clave para muchas especies de aves residentes y migratorias, así como de oferta insectos, sitios de percha y refugio, lo cual favorece la conservación de la diversidad de aves en estos paisajes fuertemente transformados.

Palabras clave: Avifauna; partición espacial de nicho; *Ficus*; ganadería extensiva.

INTRODUCCIÓN

doi:

El establecimiento de sistemas de ganadería extensiva y áreas de cultivo han tenido un impacto negativo en la vegetación natural por la acelerada pérdida y degradación de la cobertura vegetal, y pérdida de biodiversidad a diferentes escalas espacio-temporales, que en la mayoría de los casos son irreversibles (Cuevas et al., 2010). Esta transformación del paisaje, explotación insostenible de los suelos, y alteración del hábitat natural en áreas de bosque seco tropical (bs-T), son causas de cambio climático y procesos de extinción de especies (Ministerio del Medio Ambiente, 2016). La ganadería en Latinoamérica considera que los árboles no son importantes o muy poco productivos, por lo que son escasos en los potreros (Murgueitio & Calle, 1998), una condición en paisaje agropecuarios que incrementa el aislamiento de parches de vegetación cada vez más pequeños (Renjifo, 2001), con efecto sobre la biodiversidad. Estudios han encontrado que la riqueza de especies de aves residentes en bosque conservados y conectados es 2-4 veces mayor que la registrada en potreros, y las aves migratorias son 1,5 veces más diversas en bosque (Saab & Petit, 1992).

La diversidad de aves varía mucho dependiendo de las coberturas arbóreas, por lo que se esperaba que, en áreas con una configuración más compleja, la diversidad de especies de aves sea mayor. En áreas de coberturas arbóreas menores como sucede en potreros de ganadería extensiva con pocos árboles dispersos, presentan mayor riqueza de especies de aves generalistas, que se adaptan mejor a áreas intervenidas, comparado con áreas de bosques aislados bien conservados, donde la diversidad de especies es menor y más dependientes de la calidad del hábitat; pero, si estas áreas son intervenidas, probablemente estas especies desaparezcan (Cárdenas et al., 2003; Cerezo et al., 2009). Así que, las especies generalistas con capacidad para tolerar y sobrevivir en paisajes modificados, probablemente sean las que perduren en el sistema.

La oferta de recursos alimenticios para las aves en pastizales tiende a ser muy baja, y aún más en áreas donde se implementan sistemas de ganadería extensiva tradicional (Fernández, 2003), como es el caso de la mayor parte del departamento de Córdoba, en

ambientes de bs-T donde la prevalencia de árboles tiende a ser muy baja y con objetivos claros (sombra para el ganado y/o leña), dominando especies de gramíneas y especies arbóreas que han sustituido a la vegetación nativa como el *Ficus* spp., convirtiéndose en alta proporción en la única oferta de alimento, refugio y sitios de anidación disponibles, por lo que se esperaba que la riqueza y abundancia de aves esté fuertemente relacionadas a estas especies arbóreas (Bojorges-Baños & López-Mata, 2006).

En paisajes agropecuarios, pocos estudios relacionan la fenología de plantas con la diversidad de organismos presentes y cómo estas especies de plantas pueden influir en la provisión de recursos a la fauna silvestre. Mejorar las condiciones del hábitat en paisajes ganaderos que promuevan la utilización de árboles que oferten diferentes tipos de recursos, podría salvaguardar los procesos de adaptación de algunas especies (Hanson et al., 2020; Moritz, 2020; Sgrò et al., 2011). En esta investigación se genera información sobre la diversidad y abundancia del ensamblaje de aves asociada a los árboles de *Ficus* en paisajes de ganadería extensiva del Caribe colombiano, especialmente durante la época seca cuando escasean los recursos. El conocimiento generado facilita el diseño de estrategias de conservación en agroecosistemas que busquen la sostenibilidad en la producción y disminución de los impactos negativos a la biodiversidad (Raes et al., 2018).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio. El estudio se realizó en un área de ganadería extensiva en un zonobioma tropical alternohídrico localizado en municipio de Sahagún (Córdoba, Colombia), en las coordenadas 8°55'53.6"N y 75°31'39.5"W, a 75 m de altitud, con temperatura promedio anual de 27°C y una precipitación media anual de 1200 mm. El paisaje está dominado pastizales de ganadería extensiva con pastos naturales con pequeñas áreas de cultivo y especies arbóreas de Matarratón (*Gliricidia sepium*), Jobo (*Spondias mombin*) y *Ficus* sp. dispersos en los potreros y cercas vivas.

Métodos. Se seleccionaron cinco puntos de muestreo georreferenciados y separados a una distancia mínima de 300 m entre sí, para evitar el recuento de individuos (Ralph et al., 1996). En cada punto de muestreo se seleccionó un árbol de *Ficus*, bajo el criterio que los árboles tuvieran un tamaño similar y que hubiera representación de las diferentes condiciones del ambiente circundante, así: (1) árbol de *Ficus* cerca de una plantación de Teca (*Tectona grandis*) y cultivos de ñame (*Dioscorea alata*) y yuca (*Manihot esculenta*); (2) árbol de *Ficus* en área con árboles de Guácimo (*Guazuma ulmifolia*) y Uvero (*Coccoloba uvifera*); (3) árbol de *Ficus* cerca de un cultivo de arroz al lado de un rastrojo bajo y potreros con cerca viva con árboles de Jobo (*Spondias mombin*) y Matarraton (*Gliricidia sepium*), con a un arroyo con agua estancada por sectores y un delgado bosque galería; (4) árbol de *Ficus* solitario en potrero abierto y algunas plantas de Corozo (*Bactris guineensis*) en la vecindad, y represa de agua con matorral, que en temporada seca es la única fuente de agua disponible en el potrero; y (5) árbol de *Ficus* en una cerca viva que divide dos potreros, cerca de una represa de agua. Los árboles evaluados fueron estratificados verticalmente en secciones alto, medio, y bajo, siguiendo las recomendaciones de MacArthur (1958).

Durante 11 meses continuos (2019-2020), se realizaron observaciones de 06:00 a 10:00 horas, y de 16:00 a 18:00 horas, a una distancia de 10 m de cada árbol por 20 minutos, utilizando binoculares 10x42x. Se registró información de fecha de muestreo, hora, número del árbol, el estrato vertical del árbol donde se observó el ave, y uso que le daba cada especie al árbol de *Ficus* (Tabla 1). Las especies fueron identificadas con ayuda de la *guía de aves de Colombia* (Ayerbe 2018). Cada árbol se muestreo con un esfuerzo de muestreo de 250 veces o repeticiones.

Tabla 1. Usos que las aves le dan a los árboles del género *Ficus* en Sahagún, Córdoba.

| USO | CARACTERISTICAS |
|-------------------|---------------------------------------|
| Consumo de frutos | Se alimentan de frutos del Ficus |
| Perchar, posarse | Se perchaba para posarse o acicalarse |

| | |
|-------------------------------------|---|
| Perchar consumo de alimento externo | Se posan en ramas y vuelan para atrapar la presa, o traen alimento de otro sitio y comen posados en el <i>Ficus</i> . |
| Consumo de insectos de corteza | Picotean fuertemente arrancando pedazos de corteza y extrayendo insectos. |
| Consumo de insectos de follaje | Realizan saltos y vuelos cortos entre el árbol y escarban entre el follaje para buscar insectos. |
| Toma de material para nido | Toma de materiales para ir a realizar nidos en otro lugar. |
| Anidando | Nido ya formado y empollando en el <i>Ficus</i> . |
| Formación de nido | Traen material de otro sitio para formar nido en el árbol de <i>Ficus</i> . |

Análisis de datos. Se calculó el número de especies encontradas en cada árbol del género *Ficus* y la abundancia (# individuos). Se realizó una curva de acumulación de especies para comprobar la representatividad del muestreo y ver qué tanto de las especies esperadas se reportaron haciendo uso de los árboles del género *Ficus*. Se realizó un análisis de ANOVA para determinar si existía diferencia significativa en la abundancia y riqueza entre los estratos alto, medio y bajo del árbol. Para comparar los árboles y determinar si existía diferencias significativas en relación con la diversidad de aves, debido a que los datos no tenían una distribución normal se realizó una prueba de Kruskal Wallis. Se realizaron tablas de frecuencia para determinar la riqueza y abundancia para cada uso, árbol, y estrato. Se realizó un análisis de conglomerado con el fin de encontrar el grado de asocio de las especies a cada uno de estos usos, y así poder identificar gremios ecológicos según el uso que hacen de los recursos que ofrece los árboles del género *Ficus*. Análisis de correspondencia nos indica el grado de correspondencia entre uso y estrato arbóreo, y los usos los gremios ecológicos identificados. El diagrama de Venn permite determinar las especies exclusivas para cada estrato y las especies compartidas.

RESULTADOS

Se registraron en total de 1567 individuos distribuidos en 77 especies de aves, que corresponden al 74,7% de todas las especies de aves reportadas para la zona (Tabla 2). La curva de acumulación de especies indica un 97.1% de representatividad del muestreo, respecto a las especies esperadas según los estimadores de Chao1. Los usos más frecuentes de los árboles de *Ficus* por parte de las aves silvestres fueron el consumo de insectos y sitio de percha (Tabla 3).

Tabla 2. Lista taxonómica de especies de aves por familia y abundancia que usaron los árboles del género *Ficus* en sistema ganadero en áreas de bs-T en Sahagún, Córdoba, Colombia.

| Abundancia | Especies |
|------------|---------------------------------|
| 7 | <i>Rupornis magnirostris</i> |
| 1 | <i>Buteogallus meridionalis</i> |
| 1 | <i>Cyanocorax affinis</i> |
| 2 | <i>Chloroceryle amazona</i> |
| 9 | <i>Butorides striata</i> |
| 5 | <i>Tigrisoma lineatum</i> |
| 2 | <i>Bubulcus ibis</i> |
| 2 | <i>Egretta thula</i> |
| 1 | <i>Ardea alba</i> |
| 25 | <i>Hypnelus ruficollis</i> |
| 1 | <i>Nyctidromus albicollis</i> |
| 9 | <i>Piranga rubra</i> |
| 4 | <i>Pheucticus ludovicianus</i> |
| 1 | <i>Spiza americana</i> |
| 10 | <i>Coragyps atratus</i> |
| 5 | <i>Cathartes aura</i> |
| 1 | <i>Vanellus chilensis</i> |
| 50 | <i>Columbina talpacoti</i> |
| 20 | <i>Zenaida auriculata</i> |

| Abundancia | Especies |
|------------|---------------------------------|
| 12 | <i>Leptotila verreauxi</i> |
| 6 | <i>Columbina squammata</i> |
| 2 | <i>Patagioenas cayennensis</i> |
| 18 | <i>Crotophaga ani</i> |
| 1 | <i>crotophaga sulcirostris</i> |
| 1 | <i>Piaya cayana</i> |
| 8 | <i>Milvago chimachima</i> |
| 1 | <i>Falco sparverius</i> |
| 11 | <i>Euphonia trinitatis</i> |
| 1 | <i>Euphonia laniirostris</i> |
| 1 | <i>Euphonia minuta</i> |
| 17 | <i>Furnarius leucopus</i> |
| 7 | <i>Dendroplex picus</i> |
| 6 | <i>Certhiaxis cinnamomeus</i> |
| 3 | <i>Galbula ruficauda</i> |
| 1 | <i>Progne tapera</i> |
| 25 | <i>Icterus nigrogularis</i> |
| 16 | <i>Icterus galbula</i> |
| 3 | <i>Jacana jacana</i> |
| 12 | <i>Setophaga petechia</i> |
| 1 | <i>Setophaga castanea</i> |
| 56 | <i>Melanerpes rubricapillus</i> |
| 4 | <i>Dryocopus lineatus</i> |
| 3 | <i>Campephilus melanoleucos</i> |
| 43 | <i>Brotogeris jugularis</i> |
| 14 | <i>Eupsittula pertinax</i> |
| 3 | <i>Forpus conspicillatus</i> |
| 2 | <i>Porphyrio martinica</i> |
| 33 | <i>Sakesphorus canadensis</i> |

| Abundancia | Especies |
|------------|-----------------------------------|
| 104 | <i>Thraupis episcopus</i> |
| 36 | <i>Saltator coerulescens</i> |
| 14 | <i>Volatinia jacarina</i> |
| 12 | <i>Thraupis palmarum</i> |
| 8 | <i>Coereba flaveola</i> |
| 6 | <i>Sicalis flaveola</i> |
| 4 | <i>Nemosia pileata</i> |
| 1 | <i>Conirostrum leucogenys</i> |
| 1 | <i>Pachyramphus cinnamomeus</i> |
| 5 | <i>Lepidopiga goudoti</i> |
| 4 | <i>Amazilia tzacalt</i> |
| 3 | <i>Anthracothorax nigricollis</i> |
| 46 | <i>Campylorhynchus griseus</i> |
| 4 | <i>Troglodytes aedon</i> |
| 3 | <i>Campylorhynchus zonatus</i> |
| 3 | <i>Campylorhynchus nuchalis</i> |
| 38 | <i>Turdus grayi</i> |
| 1 | <i>Attila spadiceus</i> |
| 112 | <i>Tyrannus melancholicus</i> |
| 29 | <i>Pitangus sulphuratus</i> |
| 26 | <i>Myiozetetes cayanensis</i> |
| 25 | <i>Todirostrum cinereum</i> |
| 19 | <i>Myiozetetes similis</i> |
| 14 | <i>Tyrannus savana</i> |
| 13 | <i>Elaenia flavogaster</i> |
| 9 | <i>Pitangus lictor</i> |
| 3 | <i>Myiodynastes maculatus</i> |
| 2 | <i>Myiarchus panamensis</i> |
| 2 | <i>Cyclarhis gujanensis</i> |

Tabla 3. Frecuencia de usos que las aves le dan a los árboles del género *Ficus*, en un sistema de ganadería extensiva en la localidad de Sahagún, Córdoba.

| USOS | # individuos | Riqueza sp. | Índice de diversidad de Shannon |
|-------------------------------------|--------------|-------------|---------------------------------|
| Anidando | 5 | 1 | 0 |
| Formación de nido | 14 | 2 | 0,41 |
| Toma de materiales para nido | 17 | 3 | 0,58 |
| Consumo de insecto en el follaje | 37 | 13 | 2,16 |
| Consumo de insectos en la corteza | 92 | 18 | 2,36 |
| Perchar consumo de alimento externo | 144 | 12 | 1,49 |
| Percha | 487 | 65 | 3,7 |
| Consumo de fruto | 771 | 51 | 2,95 |
| Total | 1567 | 77 | - |

En cuanto a bipartición vertical del nicho en los árboles de *Ficus*, se registró una mayor riqueza de especies de aves en el estrato alto (63), seguido por el estrato bajo (45) y el estrato medio con 40 especies (Tabla 4). Valores de riqueza y abundancia de las especies presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los estratos del árbol (Fisher $p < 0.05$); sin embargo, el índice de Shannon presentó valores similares entre el estrato alto y medio. Para el estrato alto, se registró nueve especies exclusivas, para el estrato medio 17 especies y para el estrato bajo solo cuatro especies fueron exclusivas, todas de hábitos acuáticos (Figura 1), con diferencias significativas en la riqueza de especies entre los cinco tipos de árboles muestreados (Figura 2). Los árboles con mayor riqueza de especies y mayor número de individuos estaban asociados a la plantación de Teca y a una represa de agua o jaguey.

Tabla 4. Riqueza y diversidad de aves asociadas a los estratos de los árboles del género *Ficus*. Letras diferentes indican diferencias significativas (LSD Fisher $p < 0.05$)

| ESTRATO | Riqueza promedio | Abundancia promedio | Riqueza total | Abundancia total | riqueza de diversidad de Shannon |
|--------------------|------------------|---------------------|---------------|------------------|----------------------------------|
| Medio | 20,77 a | 69,62 a | 40 | 905 | 3,25 |
| Bajo | 9,85 b | 31,85 b | 45 | 414 | 2,68 |
| Alto | 9,69 b | 19,08 b | 63 | 248 | 3,25 |
| LSD Fisher p-valor | <0.0001 | <0.0001 | | | |

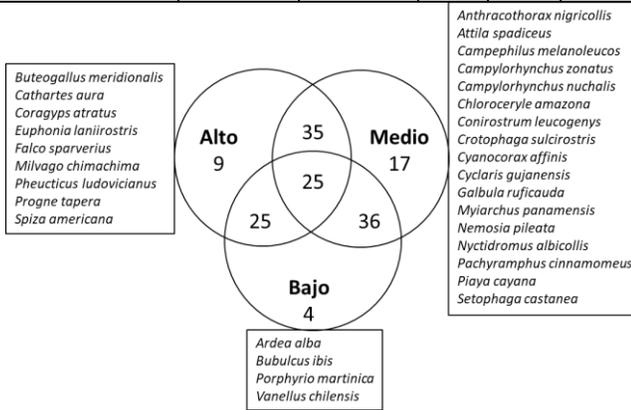


Figura 1. Riqueza de especies de aves compartidas, y especies exclusivas de los estratos alto, medio y bajo en los árboles de *Ficus* en Sahagún, Córdoba, Colombia.

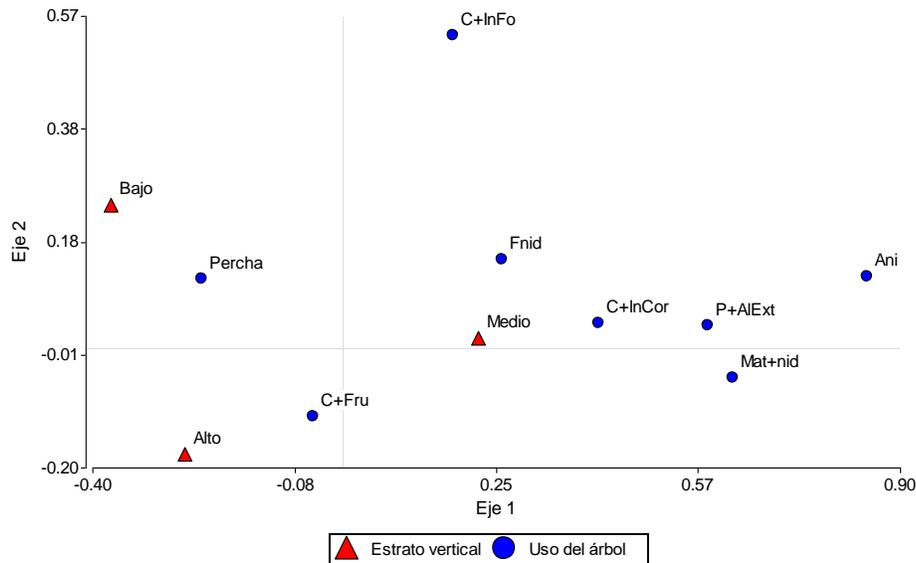


Figura 2. Análisis de correspondencia de uso de las especies según el estrato en los árboles del género *Ficus* en Sahagún, Córdoba, Colombia.

El análisis de conglomerados agrupó las especies en cuatro gremios ecológicos teniendo en cuenta los usos que le daban a los árboles de *Ficus* en el sistema

estudiado (Figura 3). El gremio uno (G1) estuvo conformado por 38 especies, seguido del gremio cuatro (G4) con 26 especies, el gremio G3 con 6 especies y el

gremio G2 con 6 especies. El G1 estuvo más relacionado con las especies que hacen uso del árbol de *Ficus* como percha y consumo de frutos, la cual a su vez es una los usos de mayor frecuencia, y se relacionan más con los estratos alto y bajo del árbol. El gremio G4 estuvo directamente relacionado al uso para

percha entre los estratos medio y bajo, mientras que el G3 y G2 estuvieron más relacionados con usos de consumo de insectos tanto en la corteza como en el follaje del árbol, a su vez algunas de las especies del G1 también se relacionan con el consumo de frutos.

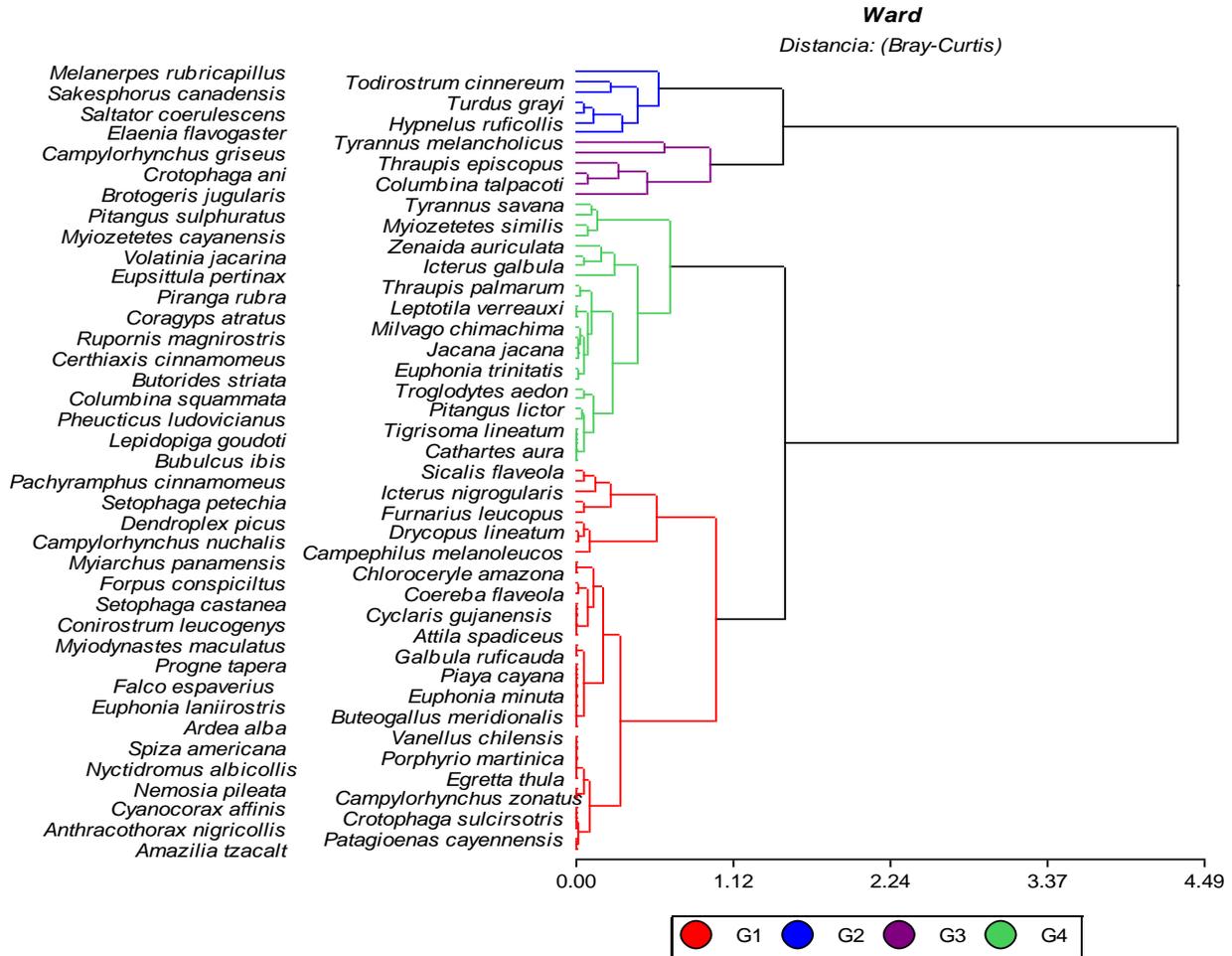


Figura 3. Conglomerado de especies de aves según los usos que le dan a los árboles del género *Ficus* en Sahagún, Córdoba.

DISCUSIÓN

El mayor uso de los árboles de *Ficus* por parte de las especies de aves como “Percha”, podría indicar que, debido a la escasez de plantas arbóreas en los potreros, los árboles del género *Ficus* se tornan importantes para la avifauna como refugio y sitio de descanso, especialmente por parte de las aves migratorias. El mayor uso registrado fue “Consumo de frutos” y el

segundo con mayor riqueza de especies demuestra que los árboles de *Ficus* se convierten en el más importante recurso alimenticio para las aves (Niles, 2015).

Mayor riqueza y abundancia de las especies de aves se registró consumiendo insectos en la corteza de los árboles, más que en el follaje, debido a que en algunos muestreos los árboles tenía muy pocas hojas o no tenían, lo que posiblemente evitaba que los insectos

doi:

estuvieran presentes, la arquitectura del follaje (morfología, número y distribución de las hojas a lo largo de las ramas y su distribución vertical) puede afectar de manera notable el comportamiento de forrajeo de las aves (Chavarría, 2017).

Las especies *Tyrannus melancholicus*, *Tyrannus savana*, *Pitangus sulphuratus* son generalmente insectívoros diurnos, y su organización social se basa en parejas territoriales o en pequeños grupos, fueron los más comunes debido a sus maniobras de forrajeo de captura de insectos al vuelo (Fitzpatrick, 1980). Algunos autores afirman que los insectívoros con este tipo de comportamiento tienden a usar diferentes alturas o estratos en un árbol (Society & Monographs, 2011); sin embargo, en este estudio se encontró que para este uso tuvo una mayor tendencia en el estrato medio. Solo *Brotogetis jugularis* se registró anidando, quizás por ser un árbol tan visitado, podría ser fácil la depredación de los huevos o pichones.

Tres especies tomaron materiales para nidos, principalmente de nidos abandonados que estaban aún en las ramas sobresalientes de los árboles. Solo dos especies se registraron construyendo nidos, *Campylorhynchus griseus* traía materiales de otros sitios para adecuar el nido; y *Tyrannus melancholicus*, no concluyó la formación del nido, al tercer día del muestreo desistió la construcción del nido y solo utilizaba el árbol para perchar.

En el estrato Alto de los árboles, se reportó una mayor riqueza de aves asociadas, con baja abundancia y tuvo nueve especies exclusivas, que se distribuyeron entre rapaces y migratorios. Resultados similares fueron encontrados en otra investigación que afirma que las rapaces se ubican en los estratos altos para posarse y poder vocalizar, además de tener una mejor visión del paisaje (Rivera-Rivera et al., 2012). El estrato bajo fue el segundo con mayor riqueza y abundancia de aves, pero se reportó menor número de especies exclusivas, que solo fueron observadas en el árbol asociado a la represa, todas de hábitos acuáticos, y la represa claramente influyó mucho en la diversidad de aves con hábitats acuáticos, y que usaron el árbol solo como percha.

El estrato medio reportó la más baja riqueza de especies, pero con mayor abundancia y número de especies exclusivas, lo que podría deberse a que es la parte del árbol con mayor follaje, donde tienen mayor posibilidad de refugiarse y evitar la depredación mientras se alimentan o perchan; aunque la especie más frecuente *Tyrannus melancholicus* que se perchaba en los extremos de las ramas, volaba para atrapar insectos en el aire. La variación de la composición de especies entre estratos, sugiere una partición espacial del nicho ecológico. Los árboles con mayor riqueza de especies y abundancia estuvieron asociados a la plantación de Teca y a la represa. La diversidad de especies parece estar asociada a la heterogeneidad del paisaje (estructura y composición); es decir, entre mayor sea la heterogeneidad del hábitat mayor será el número de especies (Rivera-Rivera et al., 2012).

Teniendo en cuenta el uso que las aves le dan a los árboles de *Ficus*, análisis de conglomerados indica cuatro gremios (Figura 3), que se relacionan con el tipo de uso por parte de la avifauna. Y el análisis de correspondencia entre los estratos del árbol y diferentes usos, indica que existe una tendencia de preferencia por el estrato medio, coincidiendo también que es el estrato con mayor abundancia de individuos; mientras que el estrato bajo se asoció más al uso como percha y consumo de insecto de corteza. El análisis de correspondencia entre uso y gremio ecológico muestra la agrupación de las especies teniendo en cuenta el tipo de uso, así como el consumo de fruto estuvo asociado con todos los gremios ecológicos.

Los resultados indican la gran importancia de los árboles del género *Ficus* para el ensamblaje de especies de aves residentes y migratorias en paisajes de ganadería extensiva donde las especies arbóreas son escasas, afectando las especies que requieren de una mejor calidad del hábitat. Por tanto, la siembra de árboles de *Ficus* puede ser una estrategia clave y de gran importancia ecológica para el mantenimiento y conservación de la diversidad de la avifauna, especialmente en los sistemas de ganadería extensiva en áreas de bosque seco tropical en la región Caribe colombiana, donde se presenta escasa vegetación y recursos alimenticios durante la época seca del año.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bojorges-Baños, J. C., & López-Mata, L. (2006). Asociación de la riqueza y diversidad de especies de aves y estructura de la vegetación en una selva mediana subperennifolia en el centro de Veracruz, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 77(2), 235–249.
- Cárdenas, G., Harvey, C. A., Ibrahim, M. A., & Finegan, B. (2003). Diversidad y riqueza de aves en diferentes hábitats en un paisaje fragmentado en Cañas, Costa Rica. *Agroforestería en las Américas*.
- Cepeda González, M. F., Escalona Segura, G., Montero Muñoz, J. L., Méndez González, M. E., Pozo, C., & Hernández Betancourt, S. F. (2011). Composición de especies de aves en potreros de matrices de origen antropogénico y mixto en la Reserva de la Biosfera Ría Lagartos, Yucatán, México. *Brenesia*, (75–76), 37–48.
- Cerezo, A., Robbins, Ch., & Dowell, B. (2009). Uso de hábitats modificados por aves dependientes de bosque tropical en la región caribeña de Guatemala. *Revista de Biología Tropical*, 57 (1-2), 401-419.
- Chavarría, F. (2017). Disponibilidad de alimento y aspectos del comportamiento de forrajeo en *Pyrocephalus rubinus* y *Tyrannus vociferans* en el Parque Ecológico de Xochimilco.
- Cuevas, M., Garrido, A., Perez, J., & Iura, D. (2010). Procesos de cambio de uso de suelo y degradación de la vegetación natural. *Las Cuencas Hidrográficas de México. Diagnóstico y Priorización*, 96–103. Retrieved from <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/639/procesos.pdf>
- Fernández. (2003). *Ecología para la agricultura*.
- Fitzpatrick, J. W. (1980). Foraging Behavior of Neotropical Tyrant Flycatchers. *The Condor*, 82(1), 43–57. <https://doi.org/10.2307/1366784>
- Hanson, JO, Rhodes, JR, Butchart, SHM et al. Conservación global de nichos de especies. *Nature* 580, 232–234 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2138-7>
- Lambert, F. R., & Marshall, A. G. (1991). Keystone characteristics of bird dispersed Ficus in a Malaysian lowland rain forest. *Journal of Ecology*, 79(3), 793–809.
- Lynch, J. F. (1989). Distribution of Overwintering Nearctic Migrants in the Yucatan Peninsula, I: General Patterns of Occurrence. *The Condor*, 91(3), 515. <https://doi.org/10.2307/1368104>
- MacArthur. (1958). Population Ecology of Some Warblers of Northeastern Coniferous Forests. *Population Ecology*, 39(4), 599–619.
- Ministerio del Medio Ambiente. (2016). Política Nacional de Biodiversidad - República de Colombia. 34.
- Moritz, C. (2002). Estrategias para proteger la diversidad biológica y los procesos evolutivos que la sustentan. *Biología sistemática*, 51 (2), 238-254.
- Murgueitio, E., & Calle, Z. (1998). Diversidad biológica en sistemas de ganadería bovina en Colombia. *Fao, (Murgueitio, E. & Calle, Z. 1998. Diversidad Biológica En Sistemas De Ganadería Bovina En Colombia. En: Conferencia Electrónica De La Fao Sobre Agroforestería Para La Producción Animal En Latinoamérica), 27–46.*
- Niles, H. (2015). Ficus sp . y la frugivoría : Una investigación sobre un recurso importante para las aves en el bosque nublado occidental del Ecuador. 2132, 1-22Niles, H. (2015). Ficus sp . y la frugivoría :
- Raes, L., Nello, T., Nájera, M., Chacón, O., Meza Prado, K., & Sanchún, A. (2018). Análisis económico de acciones para la restauración de paisajes en El Salvador. In *Análisis económico de acciones para la restauración de paisajes en El Salvador*. <https://doi.org/10.2305/iucn.ch.2018.01.es>
- Ralph, C. J., Geupel, G. R., Pyle, P., Martin, T. E., DeSante, D. F., & Milá, B. (1996). *Manual de métodos de campo para el monitoreo de aves terrestres*. Albany, California: Pacific Southwest Research Station, Forest Service, U.S. Department of Agriculture.
- Renjifo, L. M. (2001). Effect of natural and anthropogenic landscape matrices on the abundance of subandean bird species. *Ecological Applications*, 11(1), 14–31.
- Rivera-Rivera, E., Enríquez, P. L., Flamenco-Sandoval, A., & Rangel-Salazar, J. L. (2012). Ocupación y abundancia de aves rapaces nocturnas (Strigidae) en la Reserva de la Biosfera Selva El Ocote, Chiapas, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 83(3), 742–752. <https://doi.org/10.7550/rmb.21364>
- Robbins, C. S., Sauer, J. R., Greenberg, R. S., & Droege, S. (1989). Population declines in North American birds that migrate to the neotropics. *Proceedings - National Academy of Sciences, USA*, 86(19), 7658–7662. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.19.7658>
- Saab, V. A., & Petit, D. R. (1992). Impact of Pasture Development on Winter Bird Communities in Belize, Central America. *The Condor*, 94(1), 66–71. <https://doi.org/10.2307/1368796>
- Sgrò, CM, Lowe, AJ y Hoffmann, AA (2011). Construyendo resiliencia evolutiva para conservar la biodiversidad bajo el cambio climático. *Aplicaciones evolutivas*, 4 (2), 326-337.
- Smith, TB, Kinnison, MT, Strauss, SY, Fuller, TL y Carroll, SP (2014). Evolución prescriptiva para conservar y gestionar la

doi:

biodiversidad. Revisión anual de ecología, evolución y sistemática, 45, 1-22.

Society, E., & Monographs, E. (2011). Comparative Dietary Ecology of Sympatric, Insectivorous Neotropical Flycatchers Author: Thomas W. Sherry, Published by: Ecological Society of America Stable URL: <http://www.jstor.org/stable/1942500> . comparative dietary ecology of sympatric, ins. America, 54(3), 313–338.

Evaluation of methanolic extracts from two species of gracilaria (Rodophyta) as antibacterial agents

Evaluación de extractos metanólicos de dos especies de *gracilaria* (Rodophyta) como agentes antibacterianos

Martha J. MOGOLLÓN, A^{1*}, Julieth GONZÁLEZ, R¹., Alexandra MONTALVO, B¹., Carolina ARANGO, R¹., y Adriana VALLEJO, I².

¹Universidad de Córdoba – Colombia, Facultad de Ciencias Básicas, Departamento de Biología, *E-mail: mmogollon@correo.unicordoba.edu.co ORCID: 0000-0003-30700385; E-mail: juliethg76@gmail.com ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9692-5240>; E-mail: alexandra.m.b-08@hotmail.com ORCID: <https://orcid.org/0002-8440-6643>; E-mail: carolinaarango@correo.unicordoba.edu.co ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7895-6238>.

²Universidad de Córdoba – Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Programa de Acuicultura, E-mail: avallejo@correo.unicordoba.edu.co ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5183-3369>

Recibido: septiembre 30 de 2021

Aceptado: noviembre 10 de 2021

Publicado: noviembre 19 de 2021

Abstract

The antibacterial activity of methanol extracts of *G. blodgettii* and *G. damaecornis* (Rhodophyta) collected in the sector Punta Bello municipality of San Antero-Córdoba, this activity was estimated taking into account the collection period of macroalgae, the reproductive cycle and different dilutions: 5120, 2560, 1280, 640, 320, 160, 80, 40 ppm (parts per million), it was used bacteria strains *E. coli* (ATCC 25923) and *S. aureus* (ATCC 25922) following the agar diffusion method using sensidiscs (Bauer et al., 1966). The results show that both undiluted extracts obtained from the algae collected in the different sampling periods, showed inhibition in the growth of *E. coli* and *S. aureus* strains. The algal extracts on bacterial strain *S. aureus* showed a positive response to high dilution, unlike bacterial strain *E. coli* that do not show inhibitory activity in the other dilution. The predominant phase corresponds to tetrasporofito stadium. This constitutes the research first local report in relation to the antibacterial activity of the methanol extracts of *G. blodgettii* y *G. damaecornis* in *E. coli* y *S. aureus*.

Keywords: Macroalgae; Bacterium; Seasonality; Antimicrobial activity, Tetrasporophytic.

Resumen

Se evaluó la actividad antibacteriana de dos extractos metanólicos de *Gracilaria blodgettii* y *Gracilaria damaecornis* (Rodophyta) colectadas en el sector Punta Bello municipio de San Antero-Córdoba. Esta actividad se estimó teniendo en cuenta el periodo de colecta, el ciclo reproductivo de las macroalgas y diferentes diluciones de los extractos: 5120, 2560, 1280, 640, 320, 160, 80, 40 ppm (partes por millón); se utilizaron las cepas bacterianas *Escherichia coli* (ATCC 25923) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25922) siguiendo el método de difusión en agar empleando sensidiscos (Bauer et al., 1966). En los resultados se observó que ambos extractos sin diluir obtenidos de las algas colectadas en los diferentes periodos de muestreos, mostraron inhibición en el crecimiento de la cepas *E. coli* y *S. aureus*. Los extractos algales sobre la cepa bacteriana *S. aureus* ejercieron una respuesta positiva a una mayor dilución, a diferencia de la cepa bacteriana *E. coli*, que no presentó actividad inhibitoria en las demás diluciones; la fase de vida que predominó corresponde a la fase tetrasporofítica. Esta investigación constituye el primer reporte local en relación a la actividad antibacteriana de los extractos metanólicos de *G. blodgettii* y *G. damaecornis* sobre *E. coli* y *S. aureus*.

Palabras claves: Macroalgas; Bacterias; Estacionalidad; Actividad antimicrobiana, Tetrasporofítica.

INTRODUCCIÓN

El estudio de la diversidad marina como fuentes de productos biológicos y como modelo para la producción de drogas, ha derivado en un amplio número de revisiones, muchas de las cuales consideran a las algas como uno de los principales grupos productores de compuestos bioactivos. Estos compuestos, están formados por una amplia gama de metabolitos secundarios cada uno con una función específica dentro de su medio, atribuyéndoles entre otras, la defensa química contra herbívoros marinos (Amsler, 2008).

En los últimos años, las investigaciones de los productos naturales activos extraídos de las macroalgas han sido esenciales para comprender las formas en que estos organismos interaccionan con su entorno, siendo *Gracilaria* uno de los géneros que abarca el mayor número de especies identificadas como fuente potencial de productos antibacterianos, caracterizado por biosintetizar metabolitos que actúan como agentes de protección y se convierte en elementos fundamentales para la supervivencia (Plaza et al., 2009).

Los productos naturales algales han demostrado actividad antimicrobiana, antiviral, antioxidante, citotóxica, antiinflamatoria, antiépifítica, entre otras (Andrade et al., 2013), es por ello, que la actividad antibiótica de algas marinas es causa de interés farmacológico hoy en día, ya que la aparición de cepas bacterianas resistentes a los antibióticos convencionales ha aumentado el número de infecciones difíciles de tratar, debido a que éstas presentan ventajas evolutivas como el alto recambio generacional, adquisición de genes de resistencia y presión selectiva (Eom et al., 2012), causando efectos negativos en la salud de los hospederos, por la capacidad de mutación y adaptación a las condiciones ambientales (Rawani et al., 2011; Haeker y Kaper, 2002).

Entre los estudios que resaltan la actividad biológica de las algas marinas, figuran los realizados por Rawani et al. (2011) quienes evaluaron el potencial de la bioactividad de las algas *Ulva reticulata*, *Caulerpa occidentalis*, *Cladophora socialis*, *Dictyota ciliolata*, y

Gracilaria dendroides, colectadas del mar Rojo en aguas costeras de Jeddah, Arabia Saudita, utilizando etanol para el extracto, cloroformo, éter de petróleo y agua; valoraron la actividad antibacteriana en cepas de *Escherichia coli* ATCC 25322, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Entre otras investigaciones, Coronado et al. (2015) determinaron la actividad antibacteriana de extractos de *Laurencia dendroidea*, colectadas en el litoral rocoso de playa Parguito, Isla de Margarita, utilizando solventes de diferentes polaridades y su efecto sobre cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Su estudio evidenció que *L. dendroidea*, al igual que otras especies de algas, presentaron compuestos con propiedades antibacterianas, registrando que *Escherichia coli* fue más sensible a los solventes puros, pero no observaron inhibición en el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa*. Osuna et al. (2016) han evaluado la composición química y actividad antimicrobiana de extractos de *Gracilaria vermiculophylla* sobre *Vibrio parahaemolyticus*, utilizando acetona y metanol, y difusión en disco, utilizando 10, 30 y 50 µL de los extractos en los sensibilizadores; se determinó que el volumen de 50 µL, con ambos extractos presentaron los halos de inhibición más altos

En Colombia, los estudios sobre los compuestos aislados de algas con actividad antibacteriana son escasos, aun cuando existe una amplia diversidad de estos organismos en las costas colombianas, sin embargo, la amplia información sobre la estructura de estas comunidades macroalgales asociadas al litoral rocoso, demuestran una perspectiva en la diversidad solo en estudios taxonómicos dejando a un lado el marco de la bioprospección. No existen investigaciones que reporten y demuestren la actividad antibacteriana de extractos metanólicos de *G. blodgettii* y *G. damaecornis*, colectadas en las costas del departamento de Córdoba, por lo que el objetivo de esta investigación se centra en evaluar el efecto antibacteriano de los extractos metanólicos de *G. blodgettii* y *G. damaecornis*, colectadas en el sector Punta Bello, Córdoba-Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación fue de tipo retrospectivo y experimental. Las algas fueron colectadas en el sector Punta Bello del municipio de San Antero departamento de Córdoba (Figura 1), ubicado sobre las coordenadas geográficas 75° 32' 21" Oeste y 9° 25' 2" Norte, temperaturas que presentando temperaturas entre 27°C y 29°C (Kelsy y Vargas, 2006), con precipitación promedio anual de 1,255 mm (Corredor y Amaya, 1993).

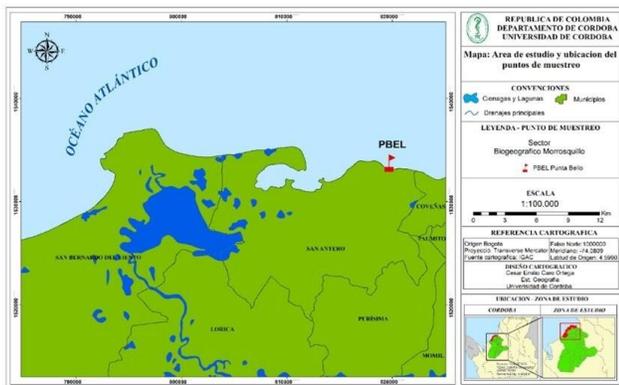


Figura 1. Ubicación cartográfica del sitio de estudio (1: 1.000). Fuente: Instituto Geográfico Agustín Codazzi IGAC

Los puntos de colectas a lo largo y ancho de la plataforma somera sumergida fueron completamente aleatorios abarcando periodos secos y de lluvias. Se trazaron transectos perpendiculares con cuadrantes de 50 x 25 cm para delimitar la zona y realizar una colecta ordenada con una profundidad de 1 metro (Crothers, 1976). Las muestras algales extraídas se sometieron a una limpieza manual de la arena y la fauna acompañante (Vlachos et al., 1996). Para la identificación del ciclo reproductivo de las algas se realizaron cortes longitudinales y transversales (Megías et al., 2016), permitiendo su descripción a partir de observaciones microscópicas a 40X; se verificó su taxonomía consultando la data-base de algas, así como su reporte para Colombia y guías taxonómicas (Marín y Peña, 2008; Brito y Silva, 2004).

El procesamiento del material colectado en campo se realizó en el Laboratorio de Química de Productos Naturales (PRONAT) de la Universidad de Córdoba. Las muestras separadas por periodo de colecta y ciclo

reproductivo, se secaron a temperatura ambiente durante 48 horas (Vlachos et al., 1996). Las algas secas se cortaron en trozos finos, se almacenaron en frascos de vidrio por cada especie y se le adicionó metanol al 96% durante una semana para la posterior concentración y remoción del mismo en un rotaevaporador a presión reducida y a temperatura de 50°C; los extractos fueron envasados por varios días a -20 °C hasta la evaporación total del solvente (Muñoz, 2010).

La actividad antibacteriana se evaluó utilizando las cepas Gram negativa *E. coli* de referencia ATCC 25923, y Gram positiva *S. aureus* ATCC 25922 donadas por el Instituto de Investigación Biológicas del Trópico. Los microorganismos se replicaron en caldo BHI cada 8 días y las cepas originales se conservaron a una temperatura de -20°C en medio BHI con 30% (v/v) de glicerol y 0,6% de agar. Se utilizó agar Mueller-Hinton (Merck KGaA 64271, Darmstadt, Germany) y caldo infusión cerebro corazón (BHI) (Merck KGaA 64271, Darmstadt, Germany) como medios de cultivo.

Para la preparación y estandarización del inóculo, se tomaron de 3 a 5 colonias de un cultivo axénico teniendo en cuenta la fase exponencial de crecimiento bacteriano, se sembraron en 9 ml de caldo BHI y se incubaron a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 18 horas. Tras la incubación, se realizaron diluciones seriadas de la suspensión bacteriana (inóculo), midiendo la densidad óptica de cada dilución a 630 nm en un espectrofotómetro, hasta alcanzar una absorbancia comprendida entre 0.08 y 0.13 (Valgas et al., 2007; Cona, 2002). Dicha absorbancia equivale a 1.5×10^8 UFC/ml, que corresponde a una de turbidez de 0,5 en la escala de MacFarland (Alvés et al., 2011).

La actividad antibacteriana de los extractos fue evaluada siguiendo el método de difusión agar empleando sensibilizadores (Bauer et al, 1966). Luego, de estandarizar el inóculo bacteriano, a cada caja de petri con 25ml de agar Mueller-Hinton, se le adicionó 50µL de la suspensión bacteriana, se realizó siembra masiva de la bacteria y de manera equidistante se colocaron discos de papel filtro Whatman N°3 de 6 mm diámetro impregnados durante 24 horas con 20 µl de los

extractos algales sin diluir y a diferentes diluciones: 5120, 2560, 1280, 640, 320, 160, 80 y 40 ppm sobre el agar; se depositaron discos de un antibiótico comercial con una dosis de Cloranfenicol como control positivo y para el control negativo se emplearon discos impregnados con metanol al 96% (Bauer et al, 1966).

Los cultivos fueron incubados a 36 ± 1 °C y al cabo de 24 horas se midió el diámetro de las zonas de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de los discos y como evidencias se tomaron registros fotográficos.

Se realizó análisis de varianza bifactorial, con tres réplicas de cada ensayo ($n=3$). Los resultados se expresaron como medias y \pm desviación estándar. El análisis estadístico se realizó teniendo en cuenta los supuestos de normalidad (Shapiro-Wilk) y una prueba de varianza (test de Bartlett) para determinar si existían diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos; se realizó un ANOVA para analizar las diferencias entre cada uno de los períodos de muestreo. Se utilizaron los software Statgraphic Centurion Version XVII, XLSTAT versión 2019.2.

RESULTADOS

Los extractos de *Gracilaria damaecornis* presentaron una mayor actividad inhibitoria que los de *G. blodgettii* sobre la cepa bacteriana *Escherichia coli*, especialmente con los obtenidos de las muestras colectadas en los meses de octubre y noviembre (período de lluvias), presentando valores que fueron cercanos al control positivo, tal como se aprecian en la Figura 2a.

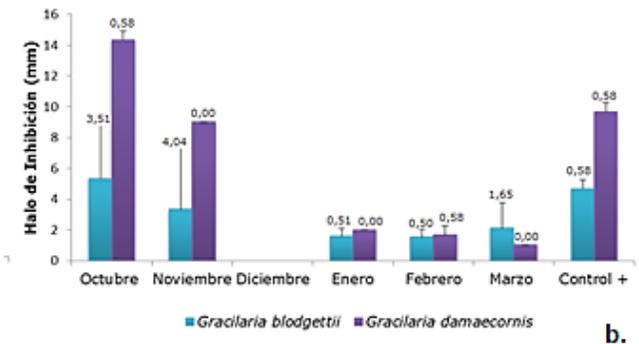
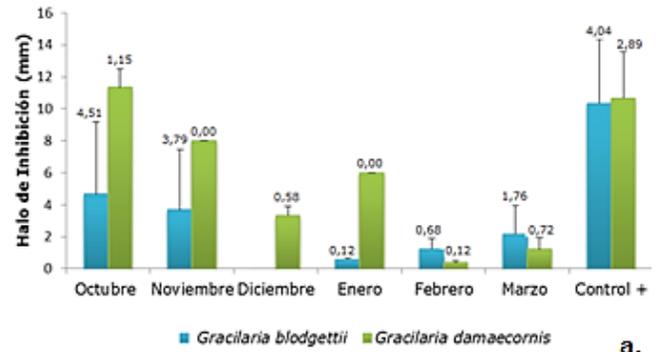


Figura 2. a Actividad inhibitoria (mm) de *G. blodgettii* y *G. damaecornis* sobre *E. coli*. b Actividad inhibitoria en (mm) de *G. blodgettii* y *G. damaecornis* sobre *S. aureus*.

Es de resaltar, que en ambas especies los extractos que registraron mayor actividad inhibitoria correspondieron a los obtenidos durante los meses asociados al periodo de lluvia, sin embargo, el extracto de *G. damaecornis* obtenido de las muestras colectadas en enero (época seca) presentó el mayor efecto de inhibición.

El análisis de varianza (ANOVA) indicó diferencias significativas (p valor=0,01) entre la actividad inhibitoria del extracto de cada una de las especies de *Gracilaria* en los diferentes períodos hidrológicos sobre *E. coli*, mientras que el test de Bartlett (P valor=0,08) no demostró diferencias significativas en cuanto a la actividad inhibitoria sobre este microorganismo.

Para el caso de la cepa bacteriana *S. aureus*, los resultados mostraron mayor actividad inhibitoria del

extracto de *G. damaecornis*, contrario a lo evidenciado con *E. coli*, registrándose valores por encima del control positivo (Figura 2b).

El análisis de varianza demostró diferencias significativas de la actividad inhibitoria entre los períodos de muestreo en ambas especies algales (p valor=0,01). El test de Bartlett, indicó que existieron diferencias significativas (p valor=0,02) con respecto a la actividad inhibitoria sobre la cepa *S. aureus*.

Los ensayos de actividad antibacteriana de los extractos metanólicos de *G. blodgettii* y *G. damaecornis* fueron evaluados a diluciones de 5120, 2560, 1280, 640, 320, 160, 80 y 40 ppm. Las pruebas no demostraron actividad inhibitoria frente a la cepa bacteriana *E. coli*; sin embargo, sí se evidenció actividad inhibitoria de dichos extractos sobre la cepa bacteriana *S. aureus* con una tendencia de menor actividad al disminuir la dilución del extracto (320, 160, 80 y 40 ppm) (Tabla 1 y Figura 3). Es de resaltar que, sobre esta cepa, los extractos metanólicos de *G. blodgettii* y *G. damaecornis* sin diluir, obtenidos durante todos los períodos hidrológicos presentaron inhibición en el crecimiento bacteriano.

Tabla 1. Valores promedio de los halos de inhibición a diferentes diluciones de los extractos metanólicos de *G. blodgettii* (*G.b*) y *G. damaecornis* (*G.d*) y extractos sin diluir (P) sobre *E.coli* y *S.aureus*.

| | | Diluciones en (ppm) | | | | | | | | |
|-----------------|-------|---------------------|------|------|-----|-----|-----|-----|----|-------|
| | MESES | 5120 | 2560 | 1280 | 640 | 320 | 160 | 80 | 40 | P |
| <i>E. coli</i> | OCT | - | - | - | - | - | - | - | - | 4,67 |
| | NOV | - | - | - | - | - | - | - | - | 3,67 |
| | DIC | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,00 |
| | ENE | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,57 |
| | FEB | - | - | - | - | - | - | - | - | 1,23 |
| | MAR | - | - | - | - | - | - | - | - | 2,17 |
| <i>G.d</i> | | | | | | | | | | |
| | | Diluciones en (ppm) | | | | | | | | |
| | MESES | 5120 | 2560 | 1280 | 640 | 320 | 160 | 80 | 40 | P |
| <i>E. coli</i> | OCT | - | - | - | - | - | - | - | - | 11,33 |
| | NOV | - | - | - | - | - | - | - | - | 8,00 |
| | DIC | - | - | - | - | - | - | - | - | 3,33 |
| | ENE | - | - | - | - | - | - | - | - | 6,00 |
| | FEB | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,37 |
| | MAR | - | - | - | - | - | - | - | - | 1,20 |
| <i>G.b</i> | | | | | | | | | | |
| | | Diluciones en (ppm) | | | | | | | | |
| | MESES | 5120 | 2560 | 1280 | 640 | 320 | 160 | 80 | 40 | P |
| <i>S.aureus</i> | OCT | 1,5 | - | 1,3 | 2 | - | 1,5 | 1,7 | 2 | 5,33 |
| | NOV | 1 | 0,3 | - | - | - | - | - | - | 3,33 |
| | DIC | 1,3 | 1,9 | 0,5 | 0,6 | - | - | - | - | 0,00 |
| | ENE | 2 | 0,5 | 3 | - | - | - | - | - | 1,57 |
| | FEB | 1,5 | 1 | 0,5 | 1 | - | - | - | - | 1,53 |
| | MAR | 1,5 | 1,3 | 0,2 | - | - | - | - | - | 2,10 |
| <i>G.d</i> | | | | | | | | | | |
| | | Diluciones en (ppm) | | | | | | | | |
| | MESES | 5120 | 2560 | 1280 | 640 | 320 | 160 | 80 | 40 | P |
| <i>S.aureus</i> | OCT | 1 | 0,5 | 0,3 | - | - | - | - | - | 14,33 |
| | NOV | 4 | 4,5 | - | - | - | - | - | - | 3,67 |
| | DIC | 2 | 3 | 0,5 | 0,6 | - | - | - | - | 0,00 |
| | ENE | 2 | 0,5 | 3 | - | - | - | - | - | 0,57 |
| | FEB | 1 | - | 2,5 | 1 | - | 0,5 | - | - | 1,23 |
| | MAR | 1,5 | 1,3 | 0,2 | - | - | - | - | - | 2,17 |

| | |
|------------|---------------------|
| <i>G.b</i> | Diluciones en (ppm) |
|------------|---------------------|

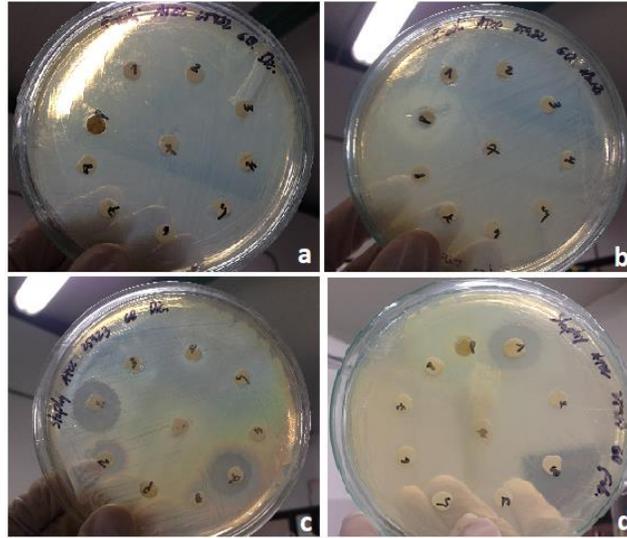


Figura 3. a y b Actividad antibacteriana de *G. blodgettii* (*G.b*) y *G. damaecornis* (*G.d*) sobre *E.coli*: 1: 5120ppm, 2:2560ppm, 3:1280ppm, 4:640ppm, 5:320ppm, 6:160ppm, 7:80ppm, 8: 40ppm, P: extracto sin diluir **c y d** Actividad antibacteriana de *G. blodgettii* y *G. damaecornis* sobre *S. aureus* en periodo seco y de lluvia; control negativo (x).

Características morfológicas e histológicas y ciclo de vida de *G. blodgettii* y *G. damaecornis*. En la Figura 4, se observan tetrasporangios en forma ovalada

distribuidos en la zona apical y basal, con talos de vida libre y ramificación filamentososa irregular.



Figura 4. Morfología externa de **a** *G. damaecornis* y **b** *G. blodgettii*. T: Tetrasporangios.

Se observaron células medulares, corticales rodeadas de células parenquimáticas y filamentos gonimoblásticos y los estadios del ciclo de vida (Figura 5 y 6).

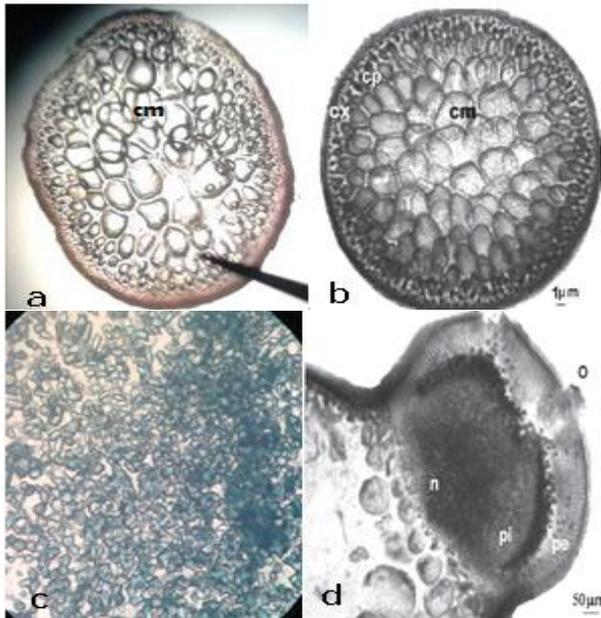


Figura 5. Morfología interna de **a** Corte transversal del talo: CM células medulares, C células corticales *G. blodgettii* **b** Imagen bibliográfica corte transversal en sección media del talo vegetativo, donde se destaca células medulares (cm), rodeadas por células parenquimáticas (cp) y el córtex (cx) (13) **c** Filamentos del gonimoblasto en la zona superior, con azul de toluidina y **d** Imagen bibliográfica corte en micrótomos de rotación de cistocarpo maduro con ostiolo (o) en área distal para salida de carposporas núcleo del cistocarpo (n) (Brito y Silva, 2004).

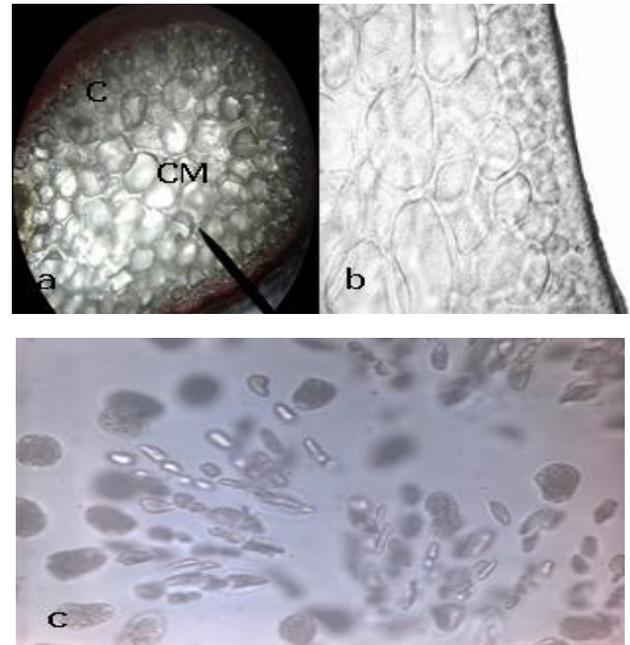


Figura 6. **a** Corte transversal del talo: CM células medulares, C células corticales de *G. damaecornis* **b** Imagen bibliográfica sección media del talo vegetativo (Megías et al., 2016) y **c** Filamento del gonimoblasto con cistocarpo maduros.

Los céspedes algales en los cuales se realizaron las colectas del material biológico para la obtención de los extractos, registraron algas en estadios reproductivo y vegetativo siendo el estadio dominante el tetrasporofítico, en particular durante el período correspondiente a mayor precipitación (octubre, noviembre y diciembre); la dominancia de este estadio coincide con la mayor actividad de inhibición bacteriana registrada de los extractos obtenidos de ambas especies.

DISCUSIÓN

En cuanto a la actividad de los extractos *G. blodgettii* y *G. damaecornis*, se observó respuesta inhibitoria sobre *E. coli* y *S. aureus*, sin embargo, se muestran diferencias de esta actividad durante el ciclo hidrológico. Punta Bello, es una zona en la cual existen períodos hidrológicos claramente establecidos, que traen consigo cambios en las variables físicas y químicas de la zona costera y por tanto incidencia en los procesos fisiológicos de los organismos que allí se

encuentran incluyendo las algas, las cuales responden morfológica y fisiológicamente a factores como el hábitat, la temporalidad y los diferentes estadios de desarrollo (Vergara, 2013; Payyavula et al., 2012; Figueiredo et al., 2008).

La baja actividad inhibitoria presentada en la época seca y mareas bajas, se asocia a la exposición a periodos prolongados de los rayos solares de manera directa, generando estrés en dichos organismos. Esto trae como consecuencia, que las algas centren sus procesos en la producción de pigmentos accesorios, entre los que se destacan la ficobiliproteína, ficoeritrina y corragenano, evitando la inhibición de la actividad fotosintética (Balboa et al., 2013), mientras que, para la época de altas precipitaciones y mareas altas, se presentó mayor actividad inhibitoria coincidiendo con la mayor cobertura algal. Este poder inhibitorio puede ser el resultado del aumento de metabolitos secundarios, los cuales hacen parte de sus rutas metabólicas normales y que se sintetizan dependiendo de las condiciones externas, tales como, ataques a patógenos, predadores, cambios térmicos o lumínicos, deficiencias nutricionales o presencia de otros organismos (Fernando et al., 2016).

En el caso de los ensayos a diferentes diluciones de los extractos metanólicos de *G. blodgettii* y *G. damaecornis* sobre el crecimiento bacteriano de *E. coli*, la no incidencia de los extractos sobre el crecimiento de este microorganismo se puede atribuir a la presencia de una pared celular compuesta de polisacáridos, así como también a los mecanismos de resistencia que estas poseen (Choi et al., 2010). No es de descartar, que la naturaleza química del alga tenga una incidencia en la actividad inhibitoria, por lo que existe la posibilidad de un efecto inhibitorio a diluciones superiores a 5120 ppm.

Las diferencias que presentaron los extractos de las macroalgas sobre *S. aureus*, se asocian a la presencia de una pared celular simple en las bacterias Gram positivas, mostrándola susceptible a la acción de estos extractos (Pérez et al., 2016). Diversas investigaciones señalan que este evento se atribuye al efecto de los compuestos que hay en el extracto y no a un constituyente en particular (Flores et al., 2007.). Otros

aspectos que se tienen en cuenta, están relacionados con los productos bioactivos de cada especie, la presencia de más de un compuesto activo, la concentración de estos en cada extracto y las diferentes masas molares de las sustancias o efectos antagónicos y sinérgicos (Campos et al., 1988).

Los resultados inhibitorios obtenidos en este ensayo coinciden con otras investigaciones donde se ha trabajado con el género (*Gracilaria*), como los de Chiheb et al. (2009) en *G. chilensis* y Adaikalaraj et al. (2012) en *G. verrucosa* y *G. ferugosoni*, sin embargo, en estos se registran mayor actividad inhibitoria, relacionado posiblemente con factores como los metabolitos que presenta cada especie, el hábitat, estacionalidad y a los procesos de extracción.

El estadio tetrasporofito es la fase dominante en los bancos naturales de *G. blodgettii* y *G. damaecornis*, este evento es reportado para otras especies del género *Gracilaria* como *G. dominguensis* y *G. gracilis* (Brito y Silva, 2004). Se observó que la mayor esporulación ocurrió a partir de fragmentos de talos gametangiales (cistocárpicos), los cuales dan origen a algas tetraspóricas, esto podría ser una explicación al predominio de dicha fase, como también puede estar relacionada con la ploidía celular, puesto que las células diploides se supone que son más tolerantes que las haploides a las variaciones ambientales sobre las otras fases de vida (Megías et al., 2016). Con relación a la reproducción, cabe anotar que las macroalgas inician su etapa reproductiva al alcanzar una talla mínima, pero también, esta etapa es el resultado de los cambios en los factores ambientales que satisfacen los requerimientos fisiológicos de la reproducción, o del uso de disparadores ambientales y factores bióticos que coordinan ese proceso. Además, la salinidad, la temperatura, la irradiación solar, así como el suministro de nutrientes, han sido señalados como los principales factores que influyen en el desarrollo del ciclo de vida de las algas marinas, indicando que la temperatura es el factor determinante para la germinación de las esporas, aunque estos factores influyen en la rapidez del subsecuente desarrollo de las mismas y en la composición química de los extractos (Espinoza, 2005). Lo anterior sugiere que, este estadio puede tener

una estrecha y directa relación en la actividad inhibitoria de los extractos macroalgales.

CONCLUSIONES

Los extractos metanólicos de *G. blodgettii* y *G. damaecornis*, son una fuente potencial importante de compuestos bioactivos, presentando una actividad inhibitoria sobre las cepas bacterianas ensayadas, con mayor efecto inhibitorio del extracto metanólicos de *G. damaecornis*, sobre *S. aureus*, evidenciando así, variaciones en la actividad antibacteriana de los extractos según el periodo hidrológico, siendo coincidente la mayor actividad de inhibición bacteriana con el dominio del estadio tetrasporofítico.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad de Córdoba por abrirnos las puertas y permitirnos realizar nuestros estudios, así mismo, reconocemos el apoyo valioso del Laboratorio de Ciencias Biológicas del Trópico – Sede Berastegui, Laboratorio de Sanidad y Calidad de Agua – programa de Acuicultura, Laboratorio de Productos Naturales – programa de Química, Laboratorio de Genética – programa de Biología, Almacén de reactivos- departamento de Biología y por ultimo agradecemos a la Universidad del Valle, Cali-Colombia, por recibirnos y apotar a este trabajo de investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adaikalaraj, G., Johnson, M., Raja, D., Janakiraman, N. y Badu, A. (2012). Antibacterial potential of selected red seaweed from Manapad coastal areas, Thoothukudi, Tamil Nadu, India. *Asia Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2 (2): S1077-S1080.
- Alvés, E., Guzmán, D., Figueroa, J., Tello, J. y De Olivera, D. (2011). Caracterización antimicrobiana y fisicoquímica de propóleos de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) de la región andina Colombiana. *Acta Biol. Colomb.* 16 (1): 175-184.
- Amsler, D. (2008). *Algal sensory chemical ecology*. In: Amsler D. (Ed). *Algal Chemical Ecology*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 313.
- Andrade, P., Barbosa, M., Matos, R., Lopes, G., Vinholes, J., Mougá, T. y Valentão, P. (2013). Valuable compounds in macroalgae extract. *Food Chem.* 138: 1819-1828
- Balboa, E., Conde, E., Moure, A., Falque, E. y Dominguez, H. (2013). In vitro antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. *Food Chem.* 138: 1764-1785
- Bauer, A., Kirby, W., Sherris, I. y Tork, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by standardized disk method. *Amer. J. Clin. Pathol.* 45(4): 493-496. En Hernández, M. y Troccoli, L. 2008. Actividad antibacteriana y antimicótica de *Spirobranchus giganteus* (Serpulidae: Polychaeta) de Guayacan, península de Araya, estado Sucre, Venezuela. *Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente*, 20 (3): 284.
- Brito, L y Silva, S. (2004). Fases reproductivas de *Gracilaria damaecornis* J. Agardh (GRACILARIACEAE: RHODOPHYTA). [Tesis de postgrado], Universidad de Oriente, Venezuela. 43 (1y2): 33-36.
- Campos-Takaki, M., Diu, M., Koenig, M. y Pereira, F. (1988). Screening of marine algae from Brazilian northeastern coast for antimicrobial activity. *Bot. Mar.* 31(5):375-377. En: Coronado, W., González, V., Lorelys y D'Armas, H. 2015. Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana preliminar de los extractos de la macroalga *Laurencia dendroidea*, J. Agardh, 1841 (Rhodomelaceae: Rhodophyta). *Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente*, vol. 27 (1): 62-64.
- Chiheb, I., Riadi, H., Martínez, J., DomínguezSeglar, J., Gómez, J., Bouziane, H. y Kadiri, M. (2009). Screening of antibacterial activity in marine green and brown macroalgae from the coast of Morocco. *African Journal of Biotechnology* 8(7): 1258-1262.
- Choi, J.G., Kang, O.H., Brice, O.O., Lee, Y.S., Chae, H.S., Oh, Y.C., Sohn, D.H., Park, H., Choi, H.G., Kim, S.G., Shin, D.W., Kwon, D.Y. (2010). Antibacterial activity of *Ecklonia cava* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. *Foodborne Pathog. Dis.* 7(4):435-441.
- Cona, E. (2002). Condiciones para un buen estudio de susceptibilidad mediante test de difusión en agar. *Rev Chil Infect*, 19 (2): S 77-81.
- Coronado, W., González, V., Lorelys y D'Armas, H. 2015. Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana preliminar de los extractos de la macroalga *Laurencia dendroidea*, J. Agardh, 1841 (Rhodomelaceae: Rhodophyta). *Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente*, 27 (1): 61-66
- Corredor, F y Amaya, F. (1993). *Ecología marina del Golfo de Morrosquillo*. Universidad Nacional de Colombia. En Vergara, L. 2013. *Caracterización morfológica y análisis bromatológico de dos especies de algas del género Gracilaria, asociadas al litoral rocoso en punta Bolívar, departamento de Córdoba*.

[Tesis de pregrado], Universidad de Córdoba.-Montería. Pág 20-21.

Crothers, J. (1976). On the distribution of some common animals along the rocky shores of West Somerset. *Field. Stud.* 4 (3): 369-389. En Uraren, E. 2014. Protocolo de muestreo, análisis y evaluación de macroalgas en masas de agua de transición. Código: tw_macroalgas_ura_v_1.0. Pág 1-7.

Eom, S.H., Y.M. Kim, S.K. Kim. 2012. Antimicrobial effect of phlorotannins from marine brown algae. *Food Chem. Toxicol.*50:3251–3255.

Espinoza, J. (2005). Fenología de macroalgas marinas. Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Universidad Autónoma de Baja California. *Hidrobiológica* 15 (1): 109-122. Pág 1-14.

Fernando, S., Kim, M., Kwang-Tae, S., Jeong, Y. y You-Jin, J. (2016). Antioxidant activity of marine algal polyphenolic compounds: a mechanistic approach. *J. Med. Food* 19 (7):1–14.

Figueiredo, C., Barroso, J., Pedro, L. y Scheffer, J. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal* 23(4): 213-226.

Flores, M., Armas, H. y Herrera, H. (2007). Identificación de algunos constituyentes químicos de las hojas de *Chromolaena laevigata* mediante cromatografía de gas-espectrometría de masas. *Ciencia*, 15 (3): 421-432.

Freile, Y. y Murano, E. (2005). Agars From three species of *Gracillaria* (Rodophyta) from Yucatan Peninsula. *Bioresource Technology*, 96 (2): 295-202.

Haeker, J. y Kaper, J. (Eds.) (2002). *Pathogenicity islands and the evolution of pathogenic microbes*. Springer-Verlag Berlín Heidelberg, Germany.

Kelsy, E y Vargas, I. (2006). *Distribución espacio temporal de las comunidades macroalgales asociadas al litoral rocoso desde Punta Bolívar hasta sector Cálao departamento de Córdoba Caribe Colombiano* [Tesis de pregrado], Universidad de Córdoba. Montería. Pág 13-14.

Marín, H. y Peña, E. (2008). Características histológicas de las fases reproductivas del alga roja *Gracilaria blodgettii* (Gracilariaceae). *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* 35 (135): 125-132.

Megías, M., Molist, P. y Pomba, M. (2016). *Atlas de histología vegetal y animal: Tinción*. Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud. Facultad de Biología. Universidad de Vigo.Colombia. Pág 1-24.

Muñoz, M. (2010). Potencial farmacológico de algas marinas de Baja California Sur, México. [Tesis de pregrado], Instituto politécnico nacional centro interdisciplinario de ciencias marinas (CICIMAR). La Paz. Pág 22-23.

Osuna, P., Miranda, A., Rivas, M., Esquer, E., García, D. y Buitimea, R. (2016). Composición química y actividad antimicrobiana de extractos de macroalga *Gracilaria vermiculophylla* sobre *Vibrio parahaemolyticus*. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*. XVIII (2): 27-31

Payyavula, R., Navarre, D., Kuhl, J., Pantoja, A. y Pillai, S. (2012). Differential effects of environment on potato phenylpropanoid and carotenoid expression. *BMC Biology*. 12 (1): 39-56.

Pérez, M., Falqué, E. y Domínguez, H. (2016). Antimicrobial action of compounds from marine seaweed. *Mar. Drugs*.14:52 doi: 10.3390/md14030052.

Plaza, M., Santoyo, S., Jaime, L., García-Blairsy G., Herrero, M., Senoráns, F. e Ibáñez, E. (2009). Screening for bioactive compounds from algae. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 51(2): 450-455.

Rawani, A., Pal, S. y Chandra, G. (2011). Evaluation of antimicrobial properties of four plant extracts against human pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. Pág 71-75.

Valgas, C., Machado, S., Smania, E. y Smania, A. (2007). Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38: 369-380.

Vergara, L. (2013). Caracterización morfológica y análisis bromatológico de dos especies de algas del género *Gracilaria*, asociadas al litoral rocoso en Punta Bolívar, departamento de Córdoba. [Tesis de pregrado], Universidad de Córdoba. Montería. Pág 20-21.

Vlachos, V., Critchley, A. y Von Holy, A. (1996). Establishment of protocol for testing antimicrobial activity in southern African macroalgae. *Microbes*. 88: 115-123. En: Magallanes, C., Córdova, C. y Orozco, R. 2003. Actividad antibacteriana de extractos etanólicos de macroalgas marinas de la costa central del Perú. Facultad de Ciencias Biológicas UNMSM. *Rev. Perú. biol.* 10(2): 125- 132.

Some aspects of reproductive biology of *Holothuria grisea* (Aspidochirotida: Holothuriidae) at Cispatá bay, Colombia

Algunos aspectos de la biología reproductiva de *Holothuria grisea* (Aspidochirotida: Holothuriidae) en la bahía de Cispatá, Colombia

Carlos A. NISPERUZA P^{1*}, Juan B. YEPES E^{1.}, y Jorge A. QUIRÓS R^{2.}

¹Universidad de Córdoba - Colombia, Facultad de Ciencias Básicas, Grupo de Biotecnología, Departamento de Química y Biología. *E-mail: carlosnisperuzap@correo.unicordoba.edu.co ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2312-4677> ; E-mail: jyepes@correo.unicordoba.edu.co ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1336-4623>

²Universidad de Córdoba – Colombia, Grupo de Investigación Química de los Productos Naturales: PRONAT. E-mail: jquiros@correo.unicordoba.edu.co ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2618-3282>

Recibido: agosto 4 de 2021

Aceptado: octubre 13 de 2021

Publicado: noviembre 19 de 2021

Abstract

Holothuria grisea is a species distributed throughout the Caribbean and which been illegally extracted in Colombia, which is further aggravated by the ignorance of its biology and ecology. This study evaluated some aspects of the reproductive biology of *H. grisea* at Cispatá Bay from organisms collected between April and November 2015. The gonadal index and the determination of the gametogenic stages were calculated based on classical histological methods. In the present study, 80 individuals were analyzed, of which 47.5% were males, 45% females and 7.5% did not present gonadal tissue. Microscopic and histological observations made it possible to identify three gonadal stages for the species: growth, maturity and post-spawning. It was evidenced that this dioecious holothuroid has a 1: 1 sex ratio, with a continuous reproduction cycle presenting three reproductive peaks in the eight months studied. Finally, the length of the first gonadal maturity for the species was 13.5 cm. The information obtained in this work could be of great use in the future from the point of view of the sustainability of this resource and the implementation of practical management programs.

Keyword: Echinoderms; histology; Gonadosomatic index; reproduction

Resumen

Holothuria grisea es una especie que se distribuye a lo largo del Caribe y la cual ha sido extraída ilegalmente en Colombia, lo que se agrava aún más por el desconocimiento de su biología y ecología. Este estudio, evaluó algunos aspectos de la biología reproductiva de *H. grisea* en la Bahía de Cispatá, a partir de organismos recolectados entre abril y noviembre de 2015. Se calculó el índice gonadal y la determinación de los estadios gametogénicos con base en métodos histológicos clásicos. En el presente estudio, fueron analizados 80 individuos, de los cuales el 47.5% fueron machos, 45% hembras y el 7.5% no presentaron tejido gonadal. Las observaciones microscópicas e histológicas permitieron identificar tres estadios gonadales para la especie: crecimiento, madurez y post-desove. Se evidenció que este holotúrido dioico presenta una proporción sexual 1:1, con un ciclo de reproducción continuo presentando tres picos reproductivos en los ocho meses estudiados. Por último, la talla de primera madurez gonadal para la especie fue 13.5 cm. La información obtenida en este trabajo podría ser de gran utilidad a futuro desde el punto de vista de la sostenibilidad de este recurso y de la implementación de programas prácticos de gestión.

Palabras clave: Equinodermos; histología; índice gonadosomático; reproducción

INTRODUCCIÓN

El phylum Echinodermata está comprendido por invertebrados estrictamente marinos distribuidos en cinco clases, de las cuales Holothuroidea representa el 90% de la biomasa del fondo marino considerándose

como uno de los grupos más dominantes (De Leo et al., 2010).

Los holotúridos realizan importantes funciones ecológicas en los ecosistemas marinos como la bioturbación del sedimento e influyen en el reciclado

de nutrientes (Purcell et al., 2013). Además de su importancia ecológica, representan un importante recurso pesquero exportado principalmente a países asiáticos, lo cual ha fomentado la creación de nuevas pesquerías en todo el mundo (Eriksson et al., 2015). La demanda de este recurso ha provocado una sobreexplotación, la cual se ha expandido a otras regiones, como Isla Galápagos, Chile, Rusia y el Caribe. En el caso específico del Caribe colombiano, en algunas localidades los pepinos de mar han sido capturados ilegalmente sin ningún tipo de regulación y vendidos por pescadores artesanales a precios insignificantes (Puentes et al., 2014; Acosta et al., 2021). A pesar de esta problemática, en Colombia existe un vacío de información sobre la biología y pesquería de estos organismos, por lo tanto, hay un gran potencial para la investigación en diversas áreas relacionadas (Forero et al., 2013).

Holothuria grisea es una especie de pepino de mar del orden Aspidochirotida, que habita en pastos marinos, pero se le puede encontrar en arrecifes y fondos blandos a bajas profundidades (Pawson et al., 2010). Este holotúrido es catalogado como un recurso hidrobiológico con potencial pesquero, y pese a que no constituye en la actualidad un recurso comercial, se han registrado extracciones ilegales y confiscamientos en algunos lugares del Caribe colombiano (Benavides-Serrato, 2006). Para el caso de la bahía de Cispatá, los pescadores artesanales mencionan que en la década de los 90 hubo una extracción insostenible de esta misma

especie (E. A. Díaz, comunicación personal, 12 de abril, 2014; Nisperuza-Pérez et al., 2018).

Por otra parte, estudiar la historia de vida de organismos bentónicos es clave para el entender la importancia de las especies a nivel individual en el funcionamiento del ecosistema, así como para reconocer su susceptibilidad a las distintas actividades antrópicas (Rijnsdorp et al., 2018). En el caso de especies con potencial pesquero, la biología reproductiva es fundamental para su buena gestión. Así mismo, conocer las características reproductivas pueden ayudar a restaurar y mejorar las poblaciones naturales, procesos esenciales para los programas de cría y acuicultura (Wang et al., 2015). El objetivo del presente trabajo es evaluar la biología reproductiva de *H. grisea* en la bahía de Cispatá a partir de la determinación de estadios de madurez gonadal, talla de primera madurez gonadal, proporción sexual y ciclo reproductivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo a partir de organismos recolectados, desde abril a noviembre de 2015 en el sector La Ahumadera (9° 24'44.90" N y 75° 47'43.73" W) (Fig. 1), ubicada en la zona de uso sostenible de la bahía de Cispatá y la cual cuenta con una extensión de 1.08 km² en donde predomina un sustrato fango-arenoso colonizado principalmente por esponjas y praderas de *Thalassia testudinum* Banks ex König,

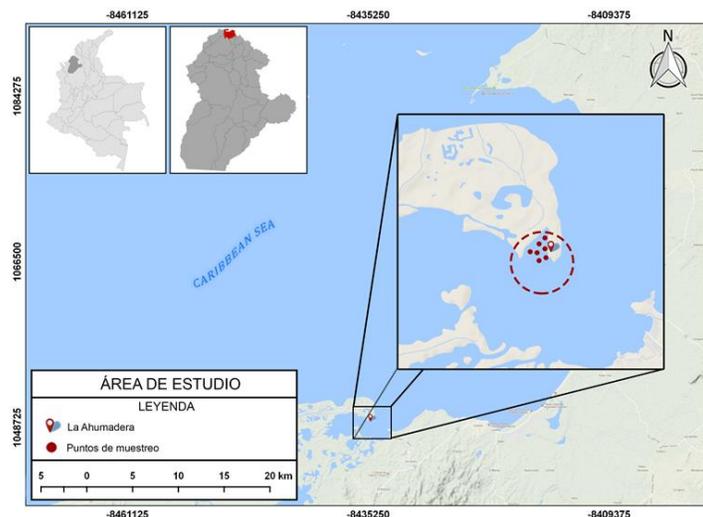


Figura 1. Localización del sector La Ahumadera en la Bahía de Cispatá, Colombia.

Mensualmente, se recolectaron 10 individuos de *H. grisea*, los cuales fueron empacados en bolsas herméticas y relajados con sal epsom (Solís-Marín y Mata-Pérez, 1999). Posteriormente se almacenaron en neveras de icopor y transportaron al laboratorio de Histopatología de la Universidad de Córdoba. La determinación de la longitud total de los organismos se realizó con una cinta métrica. Para la disección y extracción de la gónada, se hizo un corte con una cuchilla siguiendo el plano sagital en la división dorso-ventral. Luego de ser extraída la gónada se procedió a determinar el peso de los organismos eviscerados y de la gónada con una balanza analítica (Precisa, XT 220A).

Cada gónada fue fijada en formalina al 4% (en agua de mar) durante 24 horas, posteriormente se cambiaron a alcohol al 70% para su preservación. Se escogió el túbulo más representativo de la gónada y se tomaron tres fragmentos del tejido de aproximadamente 1 a 2 cm, luego se colocaron dentro de casetes histológicos para seguir con la técnica de inclusión. Después de tener los tejidos emparafinados, se trasladaron al Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) del municipio de Cereté, en donde se hicieron cortes longitudinales (3.5 μ m de espesor) a los túbulos utilizando un micrótopo de rotación manual. Los cortes se tiñeron mediante el método Hematoxilina-Eosina y los montajes se realizaron con bálsamo de Canadá.

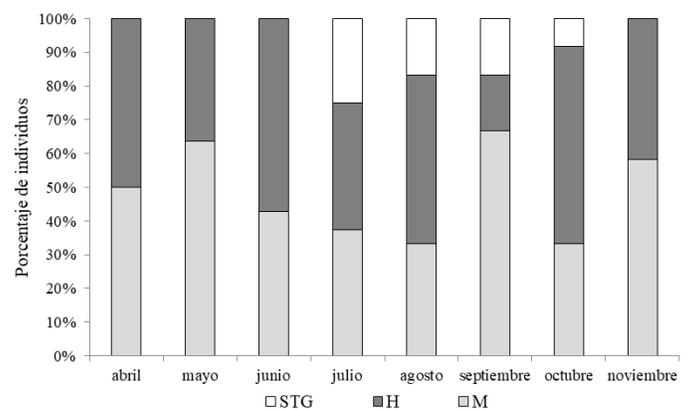
Las placas fueron observadas en un microscopio óptico Carlz Zeiss stemi 2000 a un aumento de 4x, 10x y 40x con el fin determinar el sexo de cada uno de los organismos. Las imágenes fueron procesadas en un Software analizador de imágenes (Carl Zeiss Axiovision 4,3). Las fases de desarrollo gonádico se establecieron con base en escalas de madurez sexual usualmente descritas para holotúridos (Rasoloforina et al., 2005; Fajardo-León et al., 2008; Keshavarz et al.,

2012). Para la asignación de las escalas de maduración se tuvieron en cuenta las características celulares distintivas del núcleo, citoplasma, la pared del epitelio folicular y el germinal (Asha y Muthiat, 2008; Venâncio et al., 2021).

Se procedió a determinar la proporción sexual de la especie aplicando la prueba χ^2 de bondad de ajuste, y se compararon los valores observados y esperados en la frecuencia de ocurrencia para hembras y machos utilizando el programa XLSTAT 7.5.2. Para brindar una base al manejo pesquero de la especie, se estimó longitud mínima de la primera madurez sexual (L_{50}), para ello se utilizaron las frecuencias acumuladas relativas del 50% de los individuos maduros (Saborido-Rey, 2004). Por otro lado, el índice gonadosomático (IG) se determinó a partir de la ecuación utilizada por Santos et al. (2017).

$$IG = (P_{gon} / P_{evis}) * 100.$$

Dónde: P_{gon} es el peso gonadal y P_{evis} corresponde al



peso del organismo eviscerado.

RESULTADOS

Se recolectaron un total de 80 individuos de *H. grisea*, 38 machos (47.5%), 36 hembras (45%) y seis individuos sin tejido gonadal (7.5%), estos últimos

fueron registrados en los meses de julio, agosto, septiembre y octubre (Fig. 2). El mayor número de machos se encontraron en los meses de mayo y septiembre, y en el caso de las hembras en junio y octubre (Fig. 2). La prueba de bondad de ajustes de X^2 no mostró diferencias estadísticamente significativas en la proporción sexual 1:1 ($X^2 = 0.13$; $gl=1$; Alfa= 0.05).

Figura 2. Porcentaje de individuos machos (M), hembras (H) y sin tejido gonadal (STG) registrados en el sector La Ahumadera, bahía de Cispatá.

Con base en las características histológicas se observaron y describieron tres estadios de desarrollo gonadal para ambos sexos: crecimiento (I), maduración (II) y post-desove (III). El estadio que más se presentó fue el de maduración en 36 individuos, seguido del estadio de crecimiento y por último post-desove con 20 y 18 individuos respectivamente. A continuación, se detallan las características para cada estadio en ambos sexos.

Estadio I (Crecimiento): En ambos sexos se evidencian algunos fagocitos nutritivos dispersos en el lumen. En las hembras, los ovocitos tempranos y previtelogénicos presentan forma irregular y se encuentran adheridos al epitelio germinal; algunos ovocitos vitelogénicos solitarios están en el centro del lumen junto con fagocitos nutritivos (Fig. 3A). En los machos, los espermatocitos primarios y las espermatogonias se encontraron próximos al epitelio

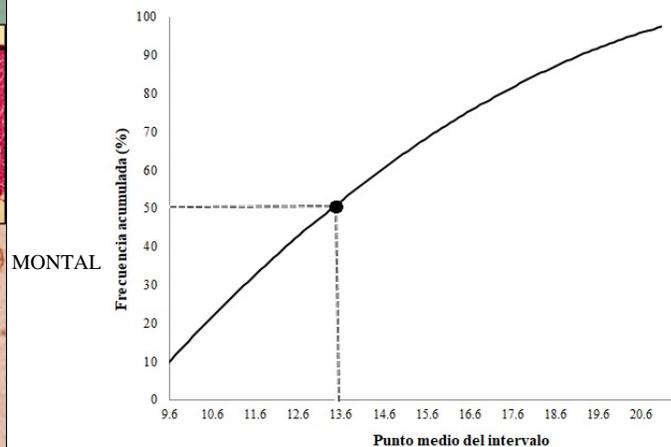
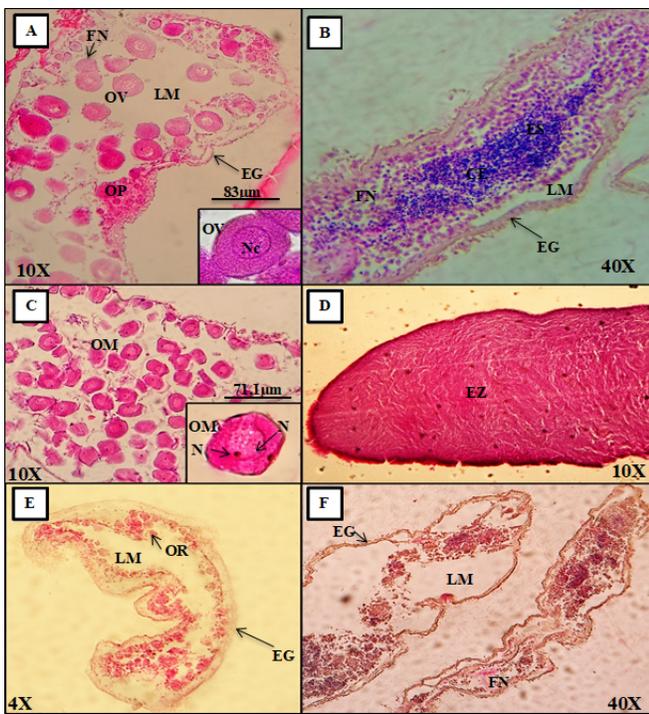
germinal y en el caso de los espermatozoides, formaron agregaciones en la parte central del lumen (Fig. 3B).

Figura 3. Estados de madurez gonadal para hembras y machos en individuos colectados de *H. grisea* en la bahía de Cispatá, **a)** Hembra en crecimiento, **b)** Macho en crecimiento, **c)** Hembra en madurez, **d)** Macho maduro, **e)** Hembra en post-desove, **f)** Macho en post-desove. Abreviaturas: **FN:** Fagocitos nutritivos; **LM:** Lumen; **EG:** Epitelio germinal; **OP:** Ovocito previtelogénico; **OV:** Ovocito vitelogénico; **OM:** Ovocito maduro; **OR:** Ovocito remanente; **NC:** Núcleo; **NL:** Nucléolo **CE:** Columna de espermatocitos; **ES:** Espermatogonias; **EZ:** Espermatozoides.

Estadio II (Maduración): Este estadio, se caracterizó porque el lumen se encuentra lleno de gametos maduros y hay ausencia de fagocitos nutritivos (Fig. 3 C-D). Los ovocitos en las hembras presentan forma poligonal provista de gránulos corticales en la superficie y el nucléolo es claramente apreciado. En el caso de los machos, todo el lumen está ocupado por espermatozoides.

Estadio III (Post-desove): se observan relictos o residuos de gametos acompañados de fagocitos nutritivos dispersos en el lumen (Fig. 3 E-F). En las hembras, el epitelio germinal es grueso y acompañado de ovocitos remanentes. En los machos, hay espermatozoides dispersos en el lumen, pero en menor concentración que en el estadio II.

En cuanto a la talla de los individuos colectados, esta varió entre 6.5 y 23 cm con un promedio de $\bar{X}=14.5 \pm DE=3.8$ cm, los machos presentaron una mayor longitud promedio que las hembras, pero estas diferencias no fueron significativas al contrastar las medias mediante la prueba t student ($P\text{-valor} > 0.05$). El individuo más pequeño en estadio II presentó una talla de 9.6 cm. La talla en donde el 50% de los individuos se encontraba en estadio de maduración o talla mínima



de la primera madurez sexual (L_{50}) de *H. grisea* en la bahía de Cispatá fue de 13.5 cm (Fig.4).

Figura 4. Probabilidad de madurez sexual con base en la longitud corporal de *Holothuria grisea* en la bahía de Cispatá.

En cuanto al índice gonadosomático, este presentó una tendencia similar en ambos sexos. Los valores del IG en machos vario de 0.05 a 3.9 y en el caso de las hembras, en un intervalo entre 0.12 a 4.05. La prueba t-Student evidenció que no se presentaron diferencias estadísticamente significativas en los valores del IG entre machos y hembras (P -valor > 0.05).

El IG para ambos sexos presentó un pico en el mes abril, posteriormente decreció considerablemente en mayo y junio, presentando los menores valores en este último mes, aumentando sus valores en julio, en donde los machos alcanzaron el valor máximo del IG ($\bar{X}=3.9 \pm SE=0.89$), nuevamente hubo una disminución en el mes de agosto y un ligero aumento para el mes de septiembre, posteriormente se evidenció otro pico para el mes de octubre, en donde las hembras alcanzaron el valor del IG más alto (4.05 ± 0.1), para el último mes de muestreo se presencié nuevamente una disminución considerable del IG para ambos sexos (Fig. 5).

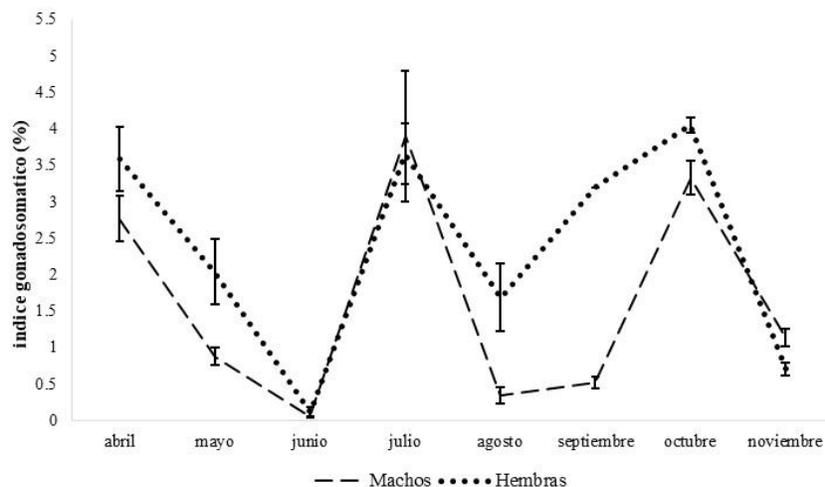


Figura 5. Promedio mensual por sexos del índice gonadosomático y sus errores estándares.

Al realizar una comparación e integración de la información obtenida a partir de la caracterización del desarrollo gonádico y las variaciones del IG, se pudo observar una tendencia similar y cercanamente relacionada durante los meses de abril y julio, pero se evidenció un comportamiento disímil en el mes de noviembre, en el cual se registró el mayor número de individuos maduros, pero no se presentó un pico del IG en este mes sino en el mes de octubre, por lo que el tercer pico reproductivo de la especie puede presentarse entre estos dos meses.

DISCUSIÓN

En este estudio se confirma que *H. grisea* es una especie gonocórica que no presenta dimorfismo sexual externo. En el caso de la proporción sexual estimada, el resultado obtenido coincide con lo reportado por Bueno et al. (2015) y Leite-Castro et al. (2016) para la misma especie en Brasil, así como también, para otras especies de la familia Holothuriidae, como *H. floridana* (Ramos-Miranda et al., 2017), *H. mexicana* (Rogers et al., 2018) y *H. forskali* (Ballesteros et al., 2021). La proporción sexual 1:1 es característica de especies con reproducción sexual y parece ser una estrategia de asignación de recursos para un suministro adecuado de gametos, maximizando el éxito de la fertilización (Kahng et al., 2011). Esta proporción es aparentemente es una característica conservativa del phylum Echinodermata, ya que se ha observado en otras clases con reproducción sexual, como Asteroidea (Cossi et al., 2015; Pérez et al., 2017), Ophiuroidea (Benítez-Villalobos et al., 2012; Tominaga y Komatsu, 2013) y Echinoidea (Sindic y Ayub, 2019; Elakkeri et al., 2021).

Los estadios de madurez gonadal para *H. grisea* identificados en este trabajo, se ajustan a los documentados por Bueno et al. (2015) y son fácilmente diferenciables por la forma y presencia de células. La presencia asidua de individuos maduros durante el periodo de muestreo puede suponer un patrón de reproducción poblacional continuo para la especie en la bahía de Cispatá. Este modelo reproductivo se ha documentado para un número creciente de especies principalmente las que se encuentran a lo largo del

ecuador o a grandes profundidades, presentando individuos maduros a lo largo de todo el año (Ortiz, 2011).

La ausencia de gónadas en individuos pequeños puede atribuirse a que aún no hubieran alcanzado la primera madurez sexual (Ortiz, 2011), y en individuos de mayor longitud a un posible proceso de reabsorción de túbulos (López et al., 2010). Este modelo de reabsorción gonadal se ha registrado en otras especies de la familia Holothuriidae como *Holothuria fuscogilva*, *H. scabra* y *Actinopyga mauritiana* (Ramofafia y Byrne, 2001) y es producto de la degradación de todos los gametos que no fueron liberados, con el fin de reutilizar esta energía y dando como resultado la degeneración de la gónada.

Teniendo en cuenta que *H. grisea* ha sido foco de explotación ilegal en la bahía de Cispatá y en algunas zonas del Caribe colombiano, se hizo necesario, ante un posible aprovechamiento sostenible de este recurso, estimar la talla de primera madurez de la especie para el área de estudio, ya que esta es necesaria en la gestión de los límites de captura (Conand, 2008). La justificación biológica de esta medida está relacionada con maximizar el rendimiento por recluta, de tal forma que se permita a los individuos desovar antes de la cosecha, además de una razón económica, ya que individuos más grandes ordenan un mejor precio que los individuos pequeños. El valor del L_{50} obtenido en esta investigación indica que la especie se reproduce cuando tiene tallas intermedias e incluso pequeñas, lo cual es típico de especies poco longevas (López et al., 2010). Este resultado se ajusta a lo documentado en algunos congéneres como *H. floridana* (Ramos-Miranda et al., 2012) y *H. poli* (Slimane-Tamacha et al., 2019); pero difieren de *H. arguinensis* (Marquet et al., 2017) y *Holothuria (Microthele)* sp. (Cahuzac et al., 2019), cuyas tallas de primera madurez sexual están por encima de 20 cm.

El método del índice gonadal, se utiliza a menudo como una medida de la condición reproductiva en invertebrados, basado en la suposición de que la proporción de tamaño de las partes del cuerpo del animal varía poco con los cambios en el tamaño del

animal (Gonor, 1972). Los mayores valores de este índice en las hembras, puede atribuirse a que los ovarios poseen ovocitos cuyos volúmenes son mayores en comparación con los espermatozoides, los cuales, a pesar de estar en mayor cantidad en la gónada, ocupan un menor volumen (Gutiérrez, 2011).

Al comparar los resultados histológicos con el IG se pudo evidenciar tres picos reproductivos de *H. grisea* en el periodo estudiado, los cuales se presentaron en épocas climáticas distintas. Leite-Castro et al. (2016) manifiesta que esta especie, por su distribución intermareal ha evolucionado para ajustar su ciclo reproductivo a la fluctuación de los factores ambientales.

CONCLUSIONES

Según los resultados encontrados se concluye que los aspectos reproductivos de *H. grisea* estudiados en la bahía de Cispatá, se ajustan a los de muchas especies de holotúridos tropicales, siendo una especie dioica, con una proporción sexual 1:1. Las observaciones histológicas permitieron identificar tres estadios de madurez gonadal para ambos sexos. La especie presenta un ciclo de reproducción continuo, con tres picos reproductivos en los ocho meses estudiados y en cuanto al tamaño mínimo de madurez gonadal este fue de 13.5 cm. Los parámetros calculados en esta investigación pueden ser útiles ante una posible utilización sostenible de este recurso, sin embargo, proponemos una investigación más extensa, que abarque de dos a tres años de observación, para así establecer el patrón completo de reproducción de *H. grisea* además de realizar estudios de desove y fecundidad bajo condiciones controladas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad de Córdoba por el financiamiento de este trabajo, a la Asociación de Caimaneros de San Antero (ASOCAIMAN) por su ayuda en la fase de campo. Agradecemos al personal de los laboratorios de Histopatología y Microscopia de la Universidad de Córdoba por su asesoría técnica en la realización de los cortes histológicos y observación de las muestras.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acosta, E. J., Rodríguez-Forero, A., Werding, B. y Kunzmann, A. (2021). Ecological and reproductive characteristics of holothuroids *Isostichopus badionotus* and *Isostichopus* sp. in Colombia. *PLoS one*, 16(2): e0247158.

Asha, P. y Muthiat, P. (2008). Reproductive Biology of the commercial sea cucumber *Holothuria spinifera* (Echinodermata: Holothuroidea) from Tuticorin, Tamil Nadu, India. *Aquaculture International*, 16:231-242. <https://doi.org/10.1007/s10499-007-9140-z>

Ballesteros, T., Tubío, A., Rodríguez, R., Hernández, A., Costas, D. y Troncoso, J. (2021). Reproductive cycle of the sea cucumber *Holothuria forskali* (Holothuroidea: Holothuriidae) in the Ría de Vigo (NW of Spain). *Revista de Biología Tropical*, 69(1): 101-117. <https://doi.org/10.15517/rbt.v69isuppl.1.46331>

Benavides-Serrato, M. (2006). Taxonomic list of the shallow water echinoderms of Puerto Rico with new information for La Parguera (Tesis de Maestría, Universidad de Puerto Rico). <https://scholar.uprm.edu/handle/20.500.11801/591>

Benítez-Villalobos, F., Aguilar-Duarte, C. y Ávila-Poveda, O. (2012). Reproductive biology of *Ophiocoma aethiops* and *O. alexandri* (Echinodermata: Ophiuroidea) from Estacahuite Bay, Oaxaca, Mexico. *Aquatic Biology*, 17(2): 119-128. <https://doi.org/10.3354/ab00467>

Borges, M., Yokoyama, L. y Amaral, A. (2009). Gametogenic cycle of *Ophioderma januarii*, a common Ophiodermatidae (Echinodermata: Ophiuroidea) in southeastern Brazil. *Zoologia (Curitiba)*, 26(1): 118-126. <https://doi.org/10.1590/S1984-46702009000100018>

Bueno, M., García-Tavares, Y., Di-Domenico, M. y Borges, M. (2015). Gametogenesis and weight change of body organs of the sea cucumber *Holothuria (Halodeima) grisea* (Aspidochirotrida: Holothuriidae) in Southern Brazil. *Revista de Biología Tropical*, 63(2): 285-296. <http://dx.doi.org/10.15517/rbt.v63i2.23163>

Cahuzac, S., Conand, C., Govinden, R., Ebrahim, A., Marie, S. y Léopold, M. (2019). Size at sexual maturity of the flower teatfish *Holothuria (Microthele)* sp. in the Seychelles. *SPC Bêche-de-mer Information Bulletin*, 39: 19-26.

Conand, C. (2008). Population status, fisheries and trade of sea cucumbers in Africa and the Indian Ocean. In V. Toral-Granda, A. Lovatelli and M. Vasconcellos (eds). *Sea cucumbers. A global review of fisheries and trade*. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. No. 516. Rome, FAO. pp. 143-193.

Cossi, P., Boy, C., Giménez, J. y Pérez, A. (2015). Reproductive biology and energy allocation of the sea star *Cosmasterias*

lurida (Echinodermata: Asteroidea) from the Beagle Channel, Tierra del Fuego, Argentina. *Polar Biology*, 38(9):1321-1333. <https://doi.org/10.1007/s00300-015-1696-x>

De Leo, F.C., Smith, C.R., Rowden, A.A., Bowden, D.A. y Clark, M.R. (2010). Submarine canyons: hotspots of benthic biomass and productivity in the deep sea. *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences*, 277(1695): 2783-2792. <https://doi.org/10.1098/rspb.2010.0462>

Elakkermi, M., Mezali, K. y Soualili, D. L. (2021). Interpopulation variability of the reproductive cycle of *Arbacia lixula* (Echinodermata: Echinoidea) in the Mostaganem shallow-water area (south-western Mediterranean). *Regional Studies in Marine Science*, 45:101810. <https://doi.org/10.1016/j.risma.2021.101810>

Eriksson, H., de la Torre-Castro, M., Purcell, SW et al. (2015). Lessons for resource conservation from two contrasting small-scale fisheries. *AMBIO*, 44: 204-213. <https://doi.org/10.1007/s13280-014-0552-5>

Fajardo-León, M., Suárez-Higuera, M., Del Valle-Manríquez, A. y Hernández-López, A. (2008). Biología reproductiva del pepino de mar *Parastichopus parvimensis* (Echinodermata: Holothuroidea) de Isla Natividad y Bahía Tortugas, Baja California Sur, México. *Ciencias Marinas*, 34 (2): 165-177.

Forero, A. R., Hernández, W. V. y Martínez, V. A. (2013). First insight into Colombian Caribbean sea cucumbers and sea cucumber fishery. *SPC Beche-de-Mer Information Bulletin*, 33: 9-13.

Gutiérrez, I. (2011). *Biología reproductiva de Holothuria (Stauropoda) fuscocinerea Jaeger, 1833 (Echinodermata: Holothuroidea) en Bahía La entrega, Oaxaca. México (Tesis de pregrado, Universidad del mar)*. <http://rediberoamericanaequinodermos.com/wp-content/uploads/2015/09/Gutierrez-Mendez-2011-Rep-Holothuria-fuscocinerea-Oaxaca-UMAR-Lic.pdf>

Gonor, J. J. (1972). Gonad growth in the sea urchin, *Strongylocentrotus purpuratus* (Stimpson) (Echinodermata: Echinoidea) and the assumptions of gonad index methods. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 10: 89-103. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(72\)90095-0](https://doi.org/10.1016/0022-0981(72)90095-0)

Kahng, S., Benayahu, Y. y Lasker, H. (2011). Sexual reproduction in octocorals. *Marine Ecology Progress Series*, 443: 265-283. <https://doi.org/10.3354/meps09414>

Keshavarz, M., Mohammadikia, D., Dabbagh, A. y Kamrani, E. (2012). Reproductive biology of the sea cucumber for successful breeding: a review. *Journal Animal Production Advances*, 2(2):208-213.

Leite-Castro, L., De-Souza, J., Salmito-Vanderley., Nunes, J., Hamel, J. y Mercier, A. (2016). Reproductive biology of the sea

cucumber *Holothuria grisea* in Brazil: importance of social and environmental factors in breeding coordination. *Marine Biology*, 163(3): 1-13. <https://doi.org/10.1007/s00227-016-2842-x>

López, J., Herrero Pérezrul, D., Reyes Bonilla, H., García-Domínguez, H. y Turrubiates, M. (2010). *Reproductive cycle of Holothuria (Selenkothuria) lubrica Selenka, 1867 (Echinodermata: Holothuroidea) in Bahía de La Paz, México*. Echinoderms: Durham - Proceedings of the 12th International Echinoderm Conference.

Mariante, F., Lemos, G., Eutrópio, F. y Gomes, L. (2009). Reproductive biology of *Echinometra lucunter* (Echinodermata: Echinoidea) in Praia da Costa, Vila Velha, Espírito Santo. *Zoologia (Curitiba)*, 26(4): 641-646. <https://doi.org/10.1590/S1984-46702009000400008>

Marquet, N., Conand, C., Power, D. M., Canário, A. V. y González-Wangüemert, M. (2017). Sea cucumbers, *Holothuria arguinensis* and *H. mammata*, from the southern Iberian Peninsula: variation in reproductive activity between populations from different habitats. *Fisheries Research*, 191: 120-130.

Nisperuza-Pérez, C. A., Padilla Cantero, J. y Quirós-Rodríguez, J. A. (2018). Densidad poblacional y estructura de talla del pepino de mar *Holothuria (Halodeima) grisea* (Aspidochirotida: Holothuriidae) en aguas someras del sur del golfo de Morrosquillo, Caribe Colombiano. *Revista de Biología Tropical*, 66(2): 776-787. <http://dx.doi.org/10.15517/rbt.v66i2.33408>

Ortiz, E. (2011). *Biología reproductiva del pepino de mar Holothuria (Selenkothuria) glaberrima Selenka, 1867 Santa Marta, Colombia (Tesis de maestría, Universidad Nacional de Colombia)*. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/10888>

Pawson, D. L., Pawson, D. J. y King, R. A. (2010). A taxonomic guide to the Echinodermata of the South Atlantic Bight, USA: 1. Sea cucumbers (Echinodermata: Holothuroidea). *Zootaxa*, 2449: 1-48. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.2449.1.1>

Pérez, A. F., Fraysse, C. P., Boy, C. C., Epherra, L. y Calcagno, J. Á. (2017). Reproductive biology and energetics of the brooding sea star *Anasterias antarctica* (Echinodermata: Asteroidea) in the Beagle Channel, Tierra del Fuego, Argentina. *Revista de Biología Tropical*, 65(1): S221-S232. <https://doi.org/10.15517/RBT.V65I1-1.31690>

Puentes, V., Escobar, F., Polo, C. y Alonso, J. (2014). Estado de los Principales Recursos Pesqueros de Colombia- 2014. Serie Recursos Pesqueros de Colombia – AUNAP: Oficina de Generación del Conocimiento y la Información, Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca. <https://www.aunap.gov.co/wp-content/uploads/2016/05/ESTADO-DE-PRINCIPALES-RECURSOS-PESQUEROS-EN-COLOMBIA-2014-version-digital.pdf>

Purcell, S.W., Mercier, A., Conand, C., Hamel, J.F., Toral-Granda, M.V., Lovatelli, A. y Uthicke, S. (2013). Sea cucumber fisheries: global analysis of stocks, management measures and drivers of overfishing. *Fish and Fisheries*, 14(1): 34–59. <https://doi.org/10.1111/j.1467-2979.2011.00443.x>

Quirós-Rodríguez, J. (2015). Equinodermos en fondos someros del sector La Ahumadera, Bahía de Cispatá, Córdoba, Caribe colombiano. *Acta Biológica Colombiana*, 20 (1):101-108. <http://dx.doi.org/10.15446/abc.v20n1.42529>

Ramofafia, C. y Byrne, M. 2001. Assessment of the ‘tubule recruitment model’ in three tropical Aspidochirote holothurians. *SPC Beche-de-Mer Information Bulletin*, 15:13-16.

Ramos-Miranda, J., del Río-Rodríguez, R., Flores-Hernández, D., Rojas-González, RI, Gómez-Solano, M., Cu-Escamilla, AD., Gómez-Criollo, F., Sosa-López, A., Torres-Rojas, Y. y Juárez-Camargo, P. (2017). Reproductive cycle of the sea cucumber *Holothuria floridana* in the littorals of Campeche, Mexico. *Fisheries Science*, 83 (5), 699-714. <https://doi.org/10.1007/s12562-017-1100-6>

Ramos, J., Flores, D., Flores, E., Pech, D., Soto, J.L., Solís, F., Ayala, L., Del Río, R., Rendón, J., Pacheco, M., Can, F., Duarte, A. y Aguilar, F. (2012). El pepino de mar (*H. floridana*) en las costas de Campeche. Informe final de investigación. FOMIX-Campeche-CONACYT; Secretaría de Medio Ambiente y Aprovechamiento Sustentable, Gobierno del Estado de Campeche. pp. 1-79.

Rasoloforina, R., Vaitilingon, D., Eeckhaut, I. y Jangoux, M. (2005). Reproductive cycle of edible echinoderms from the southwestern Indian Ocean, western Indian Ocean. *Journal of Marine Science*, 4(1): 61-75. <https://doi.org/10.4314/wiojms.v4i1.28473>

Rijnsdorp, A.D., Bolam, S. G., García, C., Hiddink, J. G., Hitzon, N.T., van Denderen, P.D. y van Kooten, T. (2018). Estimating sensitivity of sea-bed habitats to disturbance by bottom trawling based on the longevity of benthic fauna. *Ecological Applications*, 28: 1302-1312. <https://doi.org/10.1002/eap.1731>

Rogers, A., Hamel, J. F. y Mercier, A. (2018). Population structure and reproductive cycle of the commercial sea cucumber *Holothuria mexicana* (Echinodermata: Holothuroidea) in Belize. *Revista de Biología Tropical*, 66(4), 1629-1648. <http://dx.doi.org/10.15517/rbt.v66i4.32551>.

[Saborido-Rey, F. \(2004\). Ecología de la reproducción y potencial reproductivo en las poblaciones de peces marinos. Curso de doctorado 2002-2004, Instituto de Investigaciones Marinas \(CSIC\), Universidad de Vigo, España. pp. 1-71.](#)

Santos, R., Dias, S., Tecelão, C., Pedrosa, R. y Pombo, A. (2017). Reproductive biological characteristics and fatty acid

profile of *Holothuria mammata* (Grube, 1840). *SPC Beche-de-mer Information Bulletin*, 37: 58-64.

Siddique, S. y Ayub, Z. (2019). Reproduction of the Sea Urchin *Echinometra mathaei* (Echinoidea: Echinodermata) Found on Buleji, Rocky Coast, Pakistan, North Arabian Sea. *Thalassas*, 35: 551–560. <https://doi.org/10.1007/s41208-019-0125-2>

Slimane-Tamacha, F., Soualili, D. L. y Mezali, K. (2019). Reproductive biology of *Holothuria (Roweothuria) poli* (Holothuroidea: Echinodermata) from Oran Bay, Algeria. *SPC Beche-de-mer Information Bulletin*, 39: 47-53.

Solís-Marín, F. y Mata-Pérez, E. (1999). Taxonomía de Equinodermos. ICMYL-UNAM. CONACYT, ECOSUR, México, 78 Pág.

Tehranifard, A., Uryan, S., Vosoghi, G. y Faterry, S. (2006). Reproductive cycle of *Stichopus hermanni* from Kish Island, Iran. *SPC Beche de mer Information Bulletin*, 24: 22-27.

Tominaga, H. y Komatsu, M. (2013). Reproductive behaviors of the sexually dimorphic brittle star *Ophiodaphne formata* (Koehler, 1905) (Echinodermata: Ophiuroidea). *Zoological science*, 30(7): 519-524.

Venâncio, E., Félix, P. M., Brito, A. C., Sousa, J., e Silva, F. A., Simões, T et al. (2021). Do broodstock diets influence viability and larval development of *Holothuria mammata*?. *Aquaculture*, 536: 736431.

Wang, Q., Zhang, T., Hamel, J.F. y Mercier, A. (2015). *Reproductive biology. In: Hamel, J.-F., Mercier, A., Yang, H. (Eds.), The Sea Cucumber Apostichopus japonicus: History, Biology and Aquaculture. Elsevier, USA, pp. 87–100.*