



Universitat
de les Illes Balears

TRABAJO DE FIN DE GRADO

EVALUACIÓN DE DIFERENTES MÉTODOS DE MARCAJE DE HOLOTURIAS Y SU USO EN EL ESTUDIO DEMOGRÁFICO

Adrià Jiménez Llobera

Grado de Biología

Facultad de Ciencias

Año Académico 2020-21

EVALUACIÓN DE DIFERENTES MÉTODOS DE MARCAJE DE HOLOTURIAS Y SU USO EN EL ESTUDIO DEMOGRÁFICO

Adrià Jiménez Llobera

Trabajo de Fin de Grado

Facultad de Biología

Universidad de las Illes Balears

Año Académico 2020-21

Palabras clave del trabajo:

H. tubulosa, fotoidentificación, T-tag, chip, estudio demográfico, índice de crecimiento, Portals Vells, especie bioindicadora.

Antonia Salomando Martí

Se autoriza a la Universidad a incluir este trabajo en el Repositorio Institucional para su consulta con acceso abierto y difusión en línea, con finalidades exclusivamente académicas y de investigación	Autor		Tutor	
	SI	NO	SI	NO

Índice:

● Resumen.....	6
● Introducción.....	8
● Material y métodos	17
○ Descripción del área de estudio.....	17
○ Descripción del desarrollo del estudio.....	19
○ Cuantificación de materia orgánica del sedimento.....	21
○ Tratamientos de los datos.....	22
○ Análisi estadístico.....	24
● Resultados.....	24
○ Porcentaje de marcajes.....	24
○ Estudio de la población mediante el método Jolly - Seber.....	26
○ Índice de crecimiento específico.....	27
○ Distribución de los individuos durante los muestreos.....	28
○ Cuantificación de materia orgánica en el sedimento.....	29
● Discusión.....	29
● Conclusiones.....	32
● Agradecimientos.....	33
● Referencias.....	33

Resumen:

La diversidad de nuestras costas depende en gran parte de su explotación y los efectos antrópicos que sufren. La presencia de especies bioindicadoras podría dar información sobre la calidad ambiental de la zona y la presión antrópica que pueda presenciar. Por esa razón, se buscan métodos de marcajes idóneos para este tipo de individuos y poder estudiar su población. En este estudio, se escoge un equinodermo bentónico, *Holothuria tubulosa*, al cual se le aplica el método de marcaje por fotoidentificación, chip y etiqueta T-tag, para su estudio demográfico (método Jolly-Seber) en la zona de Portals Vells. Los resultados reflejan cómo el marcaje mediante etiqueta T-tag de doble anclaje es más efectiva para el estudio de estos organismos, idóneo para investigaciones de corto plazo. En el caso del marcaje mediante chip, se obtuvieron muy pocas recapturas, debido a que posiblemente el punto de inserción del chip y los movimientos internos del animal facilitarían la pérdida de este. El método por fotoidentificación no resultó útil, ya que los organismos eran muy homogéneos y el reflejo de la luz en su piel dificultaban la identificación. En cuanto a la población que se halla en la zona de Portals Vells, es una población que ha ido fluctuando a lo largo del estudio, entre intervalos medios de 296 a 4958 individuos. Cuya población juvenil presentan índices de crecimiento mayores con respecto a los individuos adultos, y su distribución dependerá de la época reproductiva, donde los organismos adultos y maduros sexualmente se desplazan a zonas profundas y los organismos más jóvenes se distribuyen en zonas menos profundas para desarrollarse.

Resum:

La diversitat de les nostres costes depèn en gran part de la seva explotació i els efectes antròpics que sofreixen. La presència d'espècies bioindicadores podria donar informació sobre la qualitat ambiental de la zona i la pressió antròpica que pugui presenciar. Per aquesta raó, es busquen mètodes de marcatges idonis per a aquesta mena d'individus i poder estudiar la seva població. En aquest estudi, es tria un equinoderm bentònic, *Holothuria tubulosa*, al qual se li aplica el mètode de marcatge per fotoidentificació, xip i etiqueta T-tag, per al seu estudi demogràfic (mètode Jolly-Seber) en la zona de Portals Vells. Els resultats reflecteixen com el marcatge mitjançant etiqueta T-tag de doble ancoratge és més efectiva per a l'estudi d'aquests organismes, idoni per a recerques de curt termini. En el cas del marctge mitjançant xip, es van obtenir molt poques recaptures, pel fet que possiblement el punt d'inserció del xip i els moviments interns de l'animal facilitaven la pèrdua d'aquest. El mètode per fotoidentificació no va resultar útil, ja que els organismes

eren molt homogenis i el reflex de la llum en la seva pell dificultaven la identificació. Quant a la població que es troba en la zona de Portals Vells, és una població que ha anat fluctuant al llarg de l'estudi, entre intervals mitjans de 296 a 4958 individus. La població juvenil del qual presenten índexs de creixement majors respecte als individus adults, i la seva distribució dependrà de l'època reproductiva, on els organisme adults i madurs sexualment es desplacen a zones profundes i els organismes més joves es distribueixen en zones menys profundes per a desenvolupar-se.

Abstract:

The diversity of our coasts depends largely on their exploitation and the anthropic effects they suffer. The presence of bioindicator species could give information about the environmental quality of the area and the anthropic pressure it may witness. For this reason, ideal marking methods are sought for this type of individuals and to be able to study their population. In this study, a benthic echinoderm, *Holothuria tubulosa*, is chosen, to which the method of marking by photoidentification, chip and T-tag is applied, for its demographic study (Jolly-Seber method) in the area of Portals Vells. The results reflect how marking by double-anchor T-tag is more effective for the study of these organisms, ideal for short-term research. In the case of chip marking, very few recaptures were obtained, because possibly the insertion point of the chip and the internal movements of the animal facilitated the loss of this. The photoidentification method was not useful, since the organisms were very homogeneous and the reflection of light on their skin made identification difficult. As for the population found in the area of Portals Vells, it is a population that has been fluctuating throughout the study, between average intervals of 296 to 4958 individuals. Whose juvenile population has higher growth rates with respect to adult individuals, and its distribution will depend on the reproductive season, where adult and sexually mature organisms move to deep areas and younger organisms are distributed in shallower areas to develop.

Introducción

Para las investigaciones de la vida salvaje, normalmente se requiere de un marcaje o un etiquetado individual de los organismos de una comunidad (Walker et al., 2012; Petso et al., 2022). El marcaje tiene como fin la recolección de información sobre el comportamiento, la reproducción, el uso de recursos, la supervivencia, el área en la cual se encuentran distribuidos y la calidad sanitaria en la que se encuentran (Walker et al., 2012; Petso et al., 2022). Los diferentes métodos de marcaje que existen, van a depender del tiempo de duración de la investigación y de cuál sea el menos invasivo para el individuo. Según el tiempo de duración del experimento pueden ser métodos de marcaje a largo plazo, los cuales predominan métodos como marcas sobre el pelaje, etiquetas codificadas implantadas, recorte de dedos o aletas (aunque este no se realiza a día de hoy); o pueden ser métodos de marcaje a corto plazo, como por ejemplo elastómeros, tintes para el pelaje e instrumentos electrónicos pegados en la superficie del animal (Walker et al., 2012). Por otro lado se pueden clasificar según sean invasivas (aquellas que pueden intervenir o modificar el comportamiento y las expectativas de vida del individuo), como pueden ser marcas en la piel por abrasión y amputación de miembros, o no invasivas (donde pueden sufrir una alteración en su comportamiento en el momento de aplicarlo o no, sin llegar a modificarlo permanente) como puede ser la fotoidentificación, el anillado, decoloración del plumaje o pelo, entre otros (Guerrero and Manteca, 2000; Elgue, 2019).

Los datos que se pueden obtener a partir de los individuos marcados son muy importantes para las investigaciones de carácter aplicado, pero el etiquetaje, dependiendo de la mano que la aplique, puede afectar negativamente a los resultados (Walker et al., 2012). Quien realice la técnica de etiquetado, siempre debe tener en cuenta cuál puede ser el mejor para ser utilizado en una especie en concreto, considerando si puede afectar al comportamiento del animal, si puede perturbar la tasa de supervivencia o mortalidad o incrementar su tasa de captura, por esa razón la información de dicho marcaje sería incorrecta.

Nuestros océanos y mares conforman tres cuartas partes de la composición de nuestro planeta, por ello es de necesario el estudio de estos. Las investigaciones de nuestros océanos se enfocan en su composición química, las fuerzas físicas que hay ejercidas sobre ella, los efectos que conlleva la presencia humana y sus actividades, y la ecología y diversidad que albergan. Por ello, una buena manera de obtener mayor información, es a partir de los organismos que los habitan, mediante diferentes tipos de metodologías y

llevando a cabo una monitorización de los individuos. Ejemplos de marcaje en organismos marinos, como puede ser con *Chrysaora hysoscella* a partir de un G5 TDR (“time-depth recorded”) para la investigación de sus movimientos verticales en las columnas de agua (Hays et al., 2007); en *Carcharodon carcharias* a partir de PAT tags (“pop-up archival satellite transmitting”) y fotoidentificación para el estudio de la dinámica espacial del tiburón blanco y su etiología (Bonfil, 2005); en *Caretta caretta* a través de la implantación en encima del caparazón un etiquetado visual y una pequeña radio que transmite unas ondas vía satélite para poder guardar los patrones de movimiento del animal (Nagelkerken et al., 2003); en *Coscinasterias muricata* se les inserta una etiqueta de carpeta (“archival tag”) o realizan tinciones en su superficie, con el objetivo de dar información sobre sus movimientos y migraciones, comportamientos y fisiología del animal (Miles et al., 2009). Todos estos métodos se caracterizan por ser marcajes no invasivos si se aplican correctamente, ya que no afectan al comportamiento ni a la fisiología del animal, por lo que no darían datos incorrectos sobre los parámetros que se quisieran observar.

El marcaje en holoturias, se encuentra en un periodo en auge, donde se están averiguando cuales son los mejores métodos de marcaje más aptos para el estudio de estos individuos. Los cohombros marinos son muy valorados en la gastronomía oriental, consumidos desde la Dinastía Ming (1368 - 1644 a.C) hasta nuestros días (Chen, 2003). Considerados un manjar de alta etiqueta y beneficioso para la salud humana, por su alto contenido en proteína y baja cantidad de grasas (Chen, 2003; Sicuro and Levine, 2011). Por otro lado, son aprovechados para la elaboración de extracto de pepino de mar usado en la industria farmacéutica, nutracéutica y productos cosméticos (Sicuro and Levine, 2011; Hamel and Mercier, 2008). Ecológicamente (figura 1), contribuyen a la acumulación de biomasa comunitaria, y sus comportamientos y biología tienen efectos importantes en los procesos físico-químicos de los ecosistemas de fondos blandos y arrecifes (Purcell et al., 2016). Cada especie es diferente, por lo tanto su ecología y comportamiento difieren entre ellos, llevándolos a cumplir roles distintos en los ecosistemas marinos.

Los cinco roles más importantes a los que contribuyen estos individuos (figura 3) son el buen estado de salud de los sedimentos mediante la bioturbación (mezcla y agitación de los sedimentos que conlleva efectos físico-químicos sobre la permeabilidad de los sedimentos, cambios en la composición de partículas de los sedimentos superiores, en las tasa de remineralización y flujo de nutrientes inorgánicos, entre otros) (Reise, 2002; Lohrer et al., 2004) produciendo esa limpieza de la arena; el reciclaje de los nutrientes mediante la

digestión de compuestos nitrogenados y en conversión de los componentes orgánicos a componentes inorgánicos, los cuales pueden ser reabsorbidos por los productores primarios como fuente de nutrientes (Purcell et al., 2016); influencia en la química del agua del ecosistema, incrementando la alcalinidad del agua a través de sus procesos digestivos y liberando amonio, aumentando la capacidad de amortiguación de las corrientes circundantes y la mejora de la capacidad de los organismos de arrecife para su calcificación (Purcell et al., 2016); refuerza la biodiversidad mediante asociaciones simbióticas, distribuidos entre parásitos, comensalistas y mutualistas (Parmentier and Michel, 2013); y formando vías de transferencia de energía en las diferentes cadenas alimentarias, transfiriendo energía desde las microalgas hasta los niveles más altos de la cadena trófica, como depredadores bentónicos y bentopelágicos (Purcell et al., 2016).

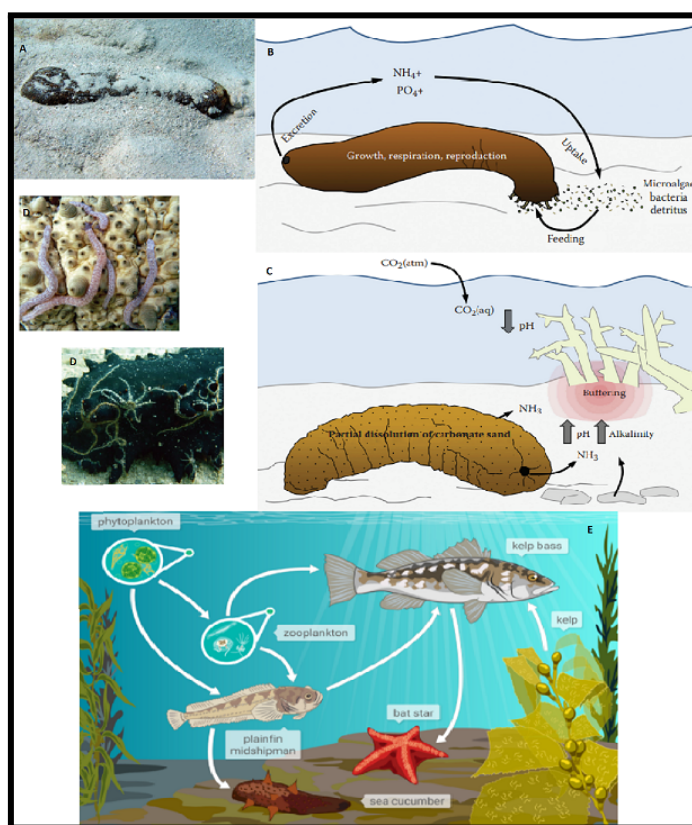


Figura 1: Principales roles ecológicos de las holoturias en los ecosistemas marinos. (A) Bioturbación y limpieza de los sedimentos. (B) Reciclaje de los nutrientes. (C) Cambios en la alcalinidad del agua. (D) Relaciones simbióticas. (E) Transferencia de energía a través de las cadenas tróficas. (Purcell et al., 2016)

Por último, los organismos bentónicos tienen la capacidad de acumulación de metales pesados provenientes de las aguas circundantes y de los propios sedimentos en los que habitan. Se ha reportado como *Holothuria tubulosa*, *Holothuria polii* y *Holothuria floridana*

son dos especies bioindicadoras del estado del ecosistema muy efectivas, para estudios de monitoreo de contaminación (Turk et al., 2016; Storelli et al., 2001; Marrugo et al., 2020), ya que no son capaces de regular de manera fisiológica sus niveles de estos materiales. Aunque todavía debe haber más estudios sobre el comportamiento de estos metales pesados en estos individuos. En otro estudio, se ha visto en *Holothuria forskali* que el análisis de la composición de los ácidos grasos ha demostrado ser un indicador de estrés y salud del ecosistema, debido a una respuesta bioquímica a la exposición y acumulación de contaminantes en organismos marinos (Rabeh et al., 2021). Lugares con gran abundancia de estos organismos indican la presencia de grandes cantidades de materia orgánica, por lo tanto, una baja calidad ambiental (Ballesteros and Llobet, 2019).

La clase Holothuroidea (figura 2), conocida comúnmente como pepinos de mar o cohombros, es un miembro significativo de la comunidad de invertebrados bentónicos que se mueven lentamente y viven en contacto o enterrados en los sedimentos de los principales mares y océanos del mundo (Purcell et al., 2016; Sicuro, 2011; Marrugo et al., 2020). Viven recostadas en el sustrato, por lo que tienen una cara anterior/oral y una cara posterior/aboral. Poseen una boca con o sin tentáculos, los cuales se encuentran alrededor de este. Se alimentan del sustrato, partículas en suspensión o depredan otros organismos. Dichos individuos poseen árboles respiratorios asociados al intestino (este rasgo sólo se encuentra en las holoturias) utilizados para el intercambio gaseoso. Las puntas que sobresalen del cuerpo son los ejes, donde encontramos el aparato ambulacral, diferenciando el área del trivio (encargado de la movilidad del organismo) y del bivio (pies ambulacrales ausentes o modificados en papilas sensoriales) (Pérez et al., 2014). Aunque tienen una simetría bilateral, conservan una simetría pentarradial. Conservan un sistema nervioso radial, al igual que las estrellas de mar, pero esas extensiones se encuentran en el interior del cuerpo. Constituidos por un esqueleto interno muy reducido, formando unas placas microscópicas, que contribuyen al aumento de la turgencia del tegumento, permitiendo la movilidad del individuo por contracciones y extensiones cuerpo. Pueden presentar o no los denominados tubos de Cuvier, que son unos filamentos blancos y enganchosos que se encuentran en el recto del animal

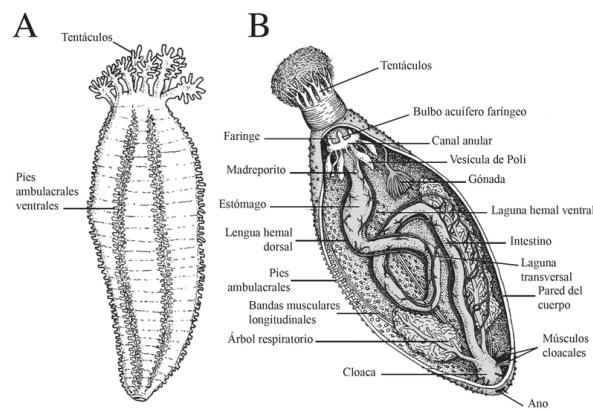


Figura 2: Holothuroidea. (A) Anatomía externa. (B) Anatomía interna. (Pérez et al., 2014)

La mayoría de las especies son gonocóricas o dioicas, en las que encontramos macho y hembras por separado (Sicuro and Levine, 2011; Purcell, 2010; Perez et al., 2014), pero también se hallan especies hermafroditas. Algunas sufren una inversión de género, desarrollando diferentes estrategias reproductivas (Sicuro and Levine, 2011). La mayoría de las especies dioicas no es posible distinguir a que sexo pertenecen por su apariencia externa, pero la población generalmente presenta un ratio sexual de 1:1 (Purcell, 2010). Son los únicos equinodermos que presentan una única gónada (Perez et al., 2014). Generalmente, presentan una fecundación externa, liberando los gametos en una columna de agua y desarrollándose, de manera indirecta, una larva (figura 3), denominada auricularia (Purcell, 2010; Sicuro and Levine, 2011; Perez et al., 2014). Dicha larva se encuentra durante varias semanas en la columna de agua hasta llegar al estado larval final, para posteriormente asentarse en un tipo de sustrato (Purcell, 2010). La fecundación será exitosa dependiendo de las condiciones ambientales, como la temperatura, el fotoperiodo, los “blooms” de fitoplancton o los ciclos lunares (Kazanidis et al., 2014). Los ciclos reproductivos son variables entre las especies, como el número desoves y los diferentes periodos de estos, la retención de las larvas en unas bolsa o en el interior del celoma hasta que terminan de desarrollarse, entre otros (Sicuro and Levine, 2011; Purcell, 2010; Perez et al., 2014). Además de la reproducción sexual, algunas especies tienen la capacidad de reproducirse asexualmente a partir de la división de los cuerpos, la cual se denomina fisión transversal (Purcell, 2010).

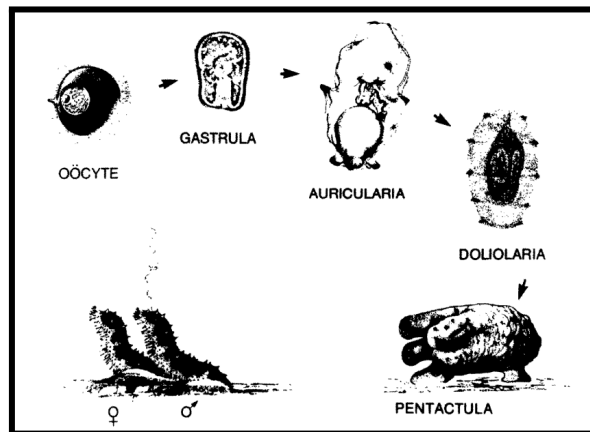


Figura 3: Desove y desarrollo a través del asentamiento de la larva y su metamorfosis de *Parastichopus californicus* (Cameron and Fankboner, 1989)

Holothurioidea alberga en unas 500 especies. A día de hoy, en el mar Mediterraneo se han encontrado 47 especies, las cuales pertenecen a cinco órdenes y a once familias (Riedl, 1983, Sicuro and Levine, 2011). En el caso de las Islas Baleares encontramos podemos encontrar especies como *Holothuria poli*, *Parastichopus regalis* y *Synaptula reciprocans*, entre otras. En las zonas de costas del archipiélago, es frecuente encontrarse *Holothuria tubulosa*, *Holothuria sanctori* y *Holothuria forskali* (Ballesteros and Llobet, 2019).

Holothuria tubulosa (*H. tubulosa*), más conocida como cohombro de mar pardo, tiene una amplia distribución en el Mar Mediterraneo y océano Atlántico (Brava, 2005; Kazanidis et al., 2010; Dereli et al., 2016; Kazanidis et al., 2014). *H. tubulosa* es un detritívoro epibióntico selectivo el cual ingiere sedimentos superficiales, detritos no vivos y microorganismos asociados; además, representa una gran parte de la macrofauna bentónica en todo el Mediterráneo (Warnau et al., 2006; Günay et al., 2015; Kazanidis et al., 2010; Dereli et al., 2016). Pueden hallarse en sustratos rocosos, sedimentos blandos (como arenas o barros arenosos) y bosques de fanerógamas (*Posidonia oceanica*) a profundidades de entre 5 a 100 m (Günay et al., 2015; Brava, 2005; Riedl, 1983; Warnau et al., 2006; Kazanidis et al., 2010; Dereli et al., 2016; Kazanidis et al., 2014). Este organismo presenta una piel robusta, con un color violáceo pardo a rojo pardusco y una parte inferior más clara (figura 4), aunque se pueden hallar especímenes de colores más claros y con pieles más finas (Riedl, 1983). El tamaño de su cuerpo puede llegar a alcanzar los 35 cm de longitud y un ancho de 8 cm (Brava, 2005). Poseen unos podios dorsales que normalmente se encuentran transformados en papilas oscuras que continúan hacia un filamento terminal. y un esqueleto con osículos, mayoritariamente ovals, con 5-6 pares de orificio y una superficie abrupta. Carecen de túbulos de Cuvier (Riedl, 1983).

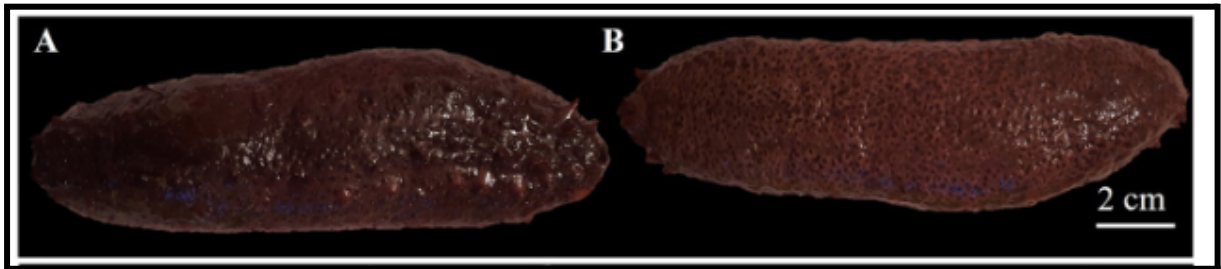


Figura 4: Morfología externa de *Holothuria tubulosa*. A) Superficie dorsal. B) Superficie ventral. (Mezali et al., 2021)

H. tubulosa es una especie gonocórica con un dimorfismo sexual no externo, el cual se puede determinar a partir de la apariencia y del color de las gónadas sexuales, teniendo un índice sexual de 1:1, aproximadamente (Kazanidis et al., 2010; Dereli et al., 2016; Brava, 2005). Cuando llega la época de desove, realizan migraciones a finales de verano en aguas poco profundas, donde se mantienen erguidas, liberando sus células sexuales (figura 5) (Riedl, 1983; Brava, 2005). Siguen el ciclo de vida pre-auricularia (auricularia temprana, media y tardía) y metamorfosis posterior en la etapa de doliolaria, seguido por las etapas juveniles y adultas (Günay et al., 2015; Brava, 2005). Los organismo juveniles destacan por tener un peso inferior a los 30 gramos y teniendo una temperatura óptima de crecimiento entre los 20 - 25 °C (Günay et al., 2015).



Figura 5: Individuo macho de *Holothuria tubulosa* durante el proceso de desove (Brava, 2005).

Holothuria sanctori (*H. sanctori*), popularmente conocido como comhombro de mar negro, distribuido por la cuenca del Mediterraneo y en el oceano Atlántico adjacente, incluyendo los archipiélagos canários, de las Azores y los de Madeira (Navarro et al., 2013a). *H. sanctori* es

un organismo detritófago el cual se alimenta filtrando arena y fangos, extrayendo todos los nutrientes que pueda encontrar en ellos (Navarro et al., 2013b). Se caracteriza por ser una especie que se halla en las zonas del infralitoral y circalitoral y ser una especie con actividad nocturna, por lo que es muy común encontrarlos en estratos rocosos con oquedades, grietas y huecos, incluso bosques de fanerógamas, a profundidades hasta los 80 m (Navarro et al., 2013a; Navarro et al., 2013b; Ocaña and Pérez-Ruzafa, 2004). *H. sanctori* (figura 6) presenta un cuerpo alargado y cilíndrico, llegando a medir 30 cm de longitud y 6 cm de diámetro, con una coloración marrón oscura, extendida en función de si los anillos de color blanco-amarillento que rodean las bases de las papilas son amplios (Ocaña and Pérez-Ruzafa, 2004). En cuanto a la coloración, puede haber cambios muy marcados por tener un carácter marcadamente críptico (Navarro et al., 2013b). En la zona dorsal, se encuentran numerosos tubérculos cónicos que terminan en una papila puntiaguda; y en la zona ventral, dispones de una gran cantidad de pies ambulacrales (Ocaña and Pérez-Ruzafa, 2004). Presenta entre 20 a 22 tentáculos bucales y túbulos de Cuvier (figura 7), los cuales son expulsados al sentirse amenazados, llegando a contener toxinas (Ocaña and Pérez-Ruzafa, 2004). *H. sanctori* es una especie gonocórica que presenta dimorfismo sexual, al igual que *H. tubulosa*, con un índice sexual poblacional de 1:1, aproximadamente. El ciclo reproductivo es anual, donde el desove tiene su inicio en primavera, verano y a finales de verano (suele coincidir con el aumento de la temperatura del mar) (Mezali et al., 2014).

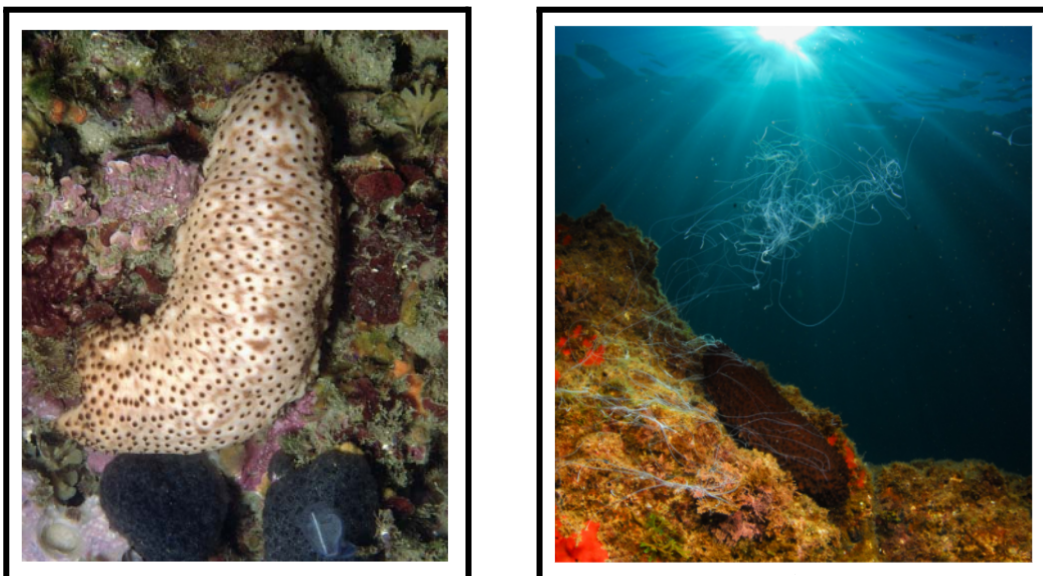


Figura 6 y 7 : Morfología externa de *Holothuria sanctori* (Fotografía de la izquierda)(Ocaña and Pérez-Ruzafa, 2004); expulsión de los túbulos de Cuvier de *Holothuria sanctori* en presencia de alguna amenaza (Fotografía de la derecha)(Fotógrafo: José Luís Alcaide).

Holothuria forskali (*H. forskali*), más conocido como cohombro de mar negro, se encuentra distribuido por gran parte del Mediterráneo y parte del océano Atlántico (Laguerre et al., 2020; Tuwo and Conand, 1992; Santos et al., 2016). *H. forskali* es un organismo detritófago bentónico que se alimenta a base de la filtración de los sedimentos, obteniendo de él materia orgánica y microorganismos de los suelos donde habitan (Laguerre et al., 2020; Sousa et al., 2021; MacDonald et al., 2013). Habita zonas del mediolitoral e infralitoral, frecuentando fondos arenosos con fangos y fondos con sustratos duros, aunque se han podido hallar en praderas marinas, a profundidades de entre los 3 a 100 m (Riedl, 1983; Laguerre et al., 2020; Santos et al., 2016; Tuwo and Conand, 1992). Organismo que se caracteriza por su piel espesa, maleable y viscosa el cual se descompone en jirones, con un color negro centellante a verde oscuro por fluorescencia (figura 8) (Riedl, 1983; Tuwo and Conand, 1992). Las dimensiones longitudinales que puede llegar a alcanzar el individuo es hasta los 25 cm, presencia de túbulos de Cuvier que son expulsados, en caso de ser amenazados, y de tentáculos sensoriales (Riedl, 1983; Laguerre et al., 2020; Tuwo and Conand, 1992). En el dorso del animal, se encuentran siete hileras de papilas cónicas rodeadas por una placa terminal pertenecientes a los podios, de color blanquecino; además de presentar un esqueleto cutáneo diseminado en placas pequeñas que poseen cuatro agujeros (Riedl, 1983). Especie gonocórica que presenta un ciclo reproductivo anual, a partir de una fecundación externa simultánea por ambos sexos, en posición erecta (Laguerre et al., 2020). No hay un dimorfismo sexual y el índice sexual es 1:1, 1:3 o 2:3, dependiendo de la presión pesquera (Santos et al., 2016). El desarrollo embrionario es holoblástico, con una primera fase larval (auricularia), pasando por la forma pentácula y, posteriormente, metamorfosis hacia organismo juvenil (Laguerre et al., 2020).



Figura 8: Morfología externa de *Holothuria forskali* (Fotógrafo: Roberto Pillon)

La población de estos individuos se ve afectada gravemente por el incremento de las presiones pesqueras, para su comercialización en los mercados asiáticos (Sicuro, 2011). En España se está viendo los efectos negativos, donde más de 10 compañías se encargan de la exportación de *H. tubulosa*, *H. sanctori*, *H. forskali*, entre otros (González and Dominguez, 2016). Como consecuencia a estas presiones pesqueras, se produce una disminución en la variabilidad genética, disminuyendo drásticamente las poblaciones de las especies mencionadas (Domínguez - Godino, 2016, Purcell et al., 2012). Incluso, el excesivo tráfico naval intensifica los derrames de petróleo impactando negativamente en las poblaciones de holoturias, sino que a todo el ecosistema (Hamel and Mercier, 2008). Por otro lado, los cohombros de mar son la presa de gran abastecimiento de depredadores, como es el caso de algunas estrellas, cangrejos, gasterópodos marinos, algunas especies de peces, tortugas y mamíferos marinos (Purcell, 2010). Otra amenaza que se presenta es la competencia interespecífica entre especies de holoturias por compartir recursos, habiendo modificaciones en las distribuciones poblacionales (Belbachir and Mezali, 2020).

El objetivo que tiene el presente estudio es averiguar cuál de los métodos de marcaje escogidos (fotoidentificación, chip y T-tag) son aptos para ser utilizados en estudios demográficos en holoturias, con el fin de obtener más información sobre sus características y su ecología con otros individuos y el ambiente que los rodea, para plantear investigaciones sobre el estado de los ecosistemas y su uso biotecnológico.

Material y métodos:

Descripción del área de estudio:

El estudio se llevó a cabo en la cala de "Portals Vells" en el término municipal de Calviá, en la costa noroeste de la isla de Mallorca (39°28'18.79"N, 2°28'19.63"E). Declarado como Área Natural de Especial Interés (ANEI). Además, forma parte de la "Xarxa Natura 2000", como Zona de Especial de Protección para las Aves (ZEPA) y un Lugar de Interés Comunitario (LIC), por la Comisión de las Comunidades Europeas. En cuanto a los aspectos litológicos, es una zona compuesta por calizas olíticas, estromatolíticas, calcarenitas y arrecife. La zona de estudio presenta estructuras litológicas pertenecientes al Mioceno superior (Tortniense-Messiense). Se trata de una zona donde las aguas superficiales pertenecen a una zona de costa de sedimentación profunda y es hay presencia regular de *Posidonia oceanica* (Decret 25/2018 conservació Posidonia).

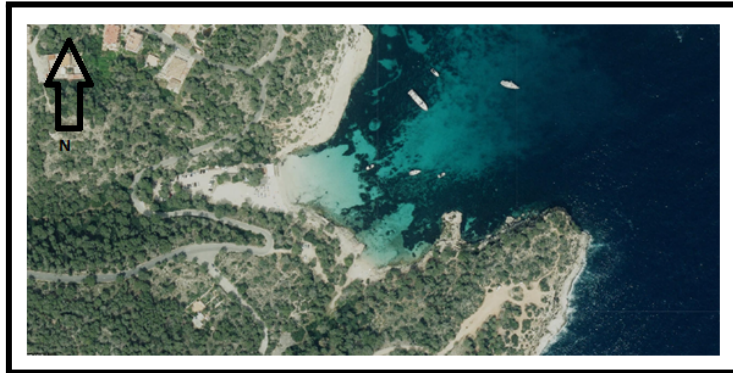


Figura 9: Mapa de la zona de Portals Vells, Calvia. Escala 1:2000 aprox. (IDEIB)

La zona de estudio es una pequeña cala en “Portals Vells” (39,4720608 °; 2,5219037 °) con un área de 2449,6 m²; presencia de una gran número de *Holothuria tubulosa* (figura 10).



Figura 10: Mapa de la zona de estudio en Portals Vells con presencia de *Holothuria tubulosa*. Escala 1:500 aprox. (IDEIB)



Figura 11: Zona de muestreo de Portals Vells.

Descripción del desarrollo del estudio:

Los muestreos se repartieron en 7 salidas, en las que dos personas se encargaban de realizar la captura de los animales y devolverlos al lugar donde se encontraban anteriormente, y una persona que se encargaba de tomar medidas y aplicar el marcaje. En primer lugar, los encargados de realizar las capturas, disponían de un neopreno con un equipo de “snorkel”. Una vez capturados los individuos, se trasladaban los individuos en las cuencas de agua (figura 12), donde el agua mantenía la temperatura, se les retiraba toda la materia orgánica que pudieran llevar adherida en el cuerpo y, consecutivamente, fueron pesados a partir de una báscula electrónica de gran precisión (figura 13). No se tomaron medidas de la longitud del cuerpo del animal, ya que estos, cuando se encuentran en momentos de estrés, tienen la tendencia de contraer su cuerpo, por lo tanto, no hubieran sido datos fiables.



Figura 12: Poza donde se depositan las holoturias capturadas. **Figura 13:** Pesaje de los individuos.

Posteriormente se procedió a realizar los distintos marcajes. En caso de realizarlo por fotoidentificación, se secaban con un trapo para evitar brillos que pudieran afectar a la fotografía del animal y se tomaron fotos de la parte ventral del individuo (n=25); por otro lado, los métodos por chip (n=25) y T-tag (n=487). Los T-tags (TBF Fine Anchor T-Bar Tag) consisten en un tipo de etiqueta, donde un extremo se encuentra el código del individuo marcado, y en el otro extremo se encuentra un filamento de plástico en forma de “T”, evitando de esta manera que la etiqueta no se desprenda del cuerpo del animal. Estas etiquetas fueron aplicadas gracias a la pistola aplicadora (TBF Tag Aplicator), con la que se insertaba la aguja para introducir el extremo en forma de “T” en la zona superior izquierda de la cara dorsal del individuo (figura 14 y 15). En el caso de los chips (Felixcan Animal ID), primeramente se pasaba el lector para ver si funcionaba; una vez comprobado, mediante el “blister” (inyector), se insertaba el transpondedor en la zona superior izquierda de la cara dorsal del individuo. Los datos eran tomados a partir de un hoja de registro donde se

anotaban las coordenadas UTM (“Universal Transverse Mercator”), la fecha y lugar de la captura, especie capturada, peso, presencia de heridas/malformaciones e información complementaria (figura 16). Una vez marcados, fueron devueltos al mar.

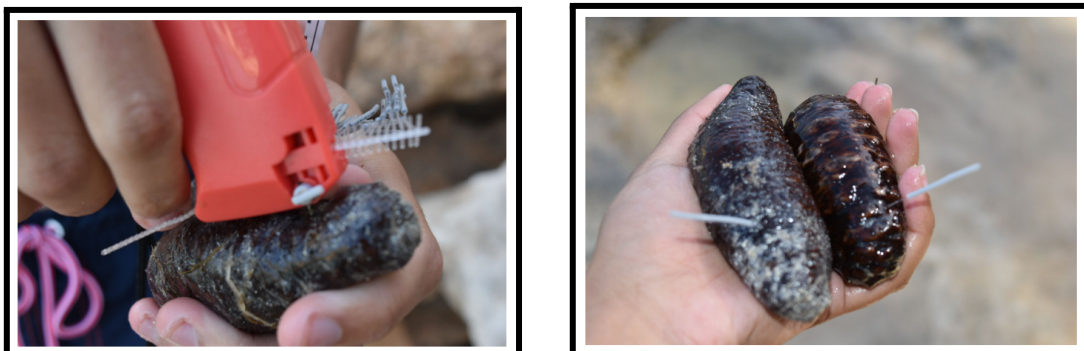


Figura 14: Marcaje de *Holothuria tubulosa* a partir del T-tag Figura 15: Resultado del marcaje mediante el T-tag.

HOJA DE REGISTRO DE HOLOTURIAS EN LAS ISLAS BALEARES		
Persona responsable del estudio: Adrià Jiménez Llobera		
Fecha captura:	Localidad de la captura	
UTM (1x1):	Ubicación:	E N
Taxon al que pertenece el animal: (Elegir el espécimen encontrado)		
<input type="checkbox"/> <i>H. tubulosa</i> <input type="checkbox"/> <i>H. forskali</i> <input type="checkbox"/> <i>H. sanctari</i>		
Dades morfològiques i identificatives		
Sexo	Peso	Malformaciones o dañado: SI / NO
Marcaje y Código de identificación		
Foto: SI / NO	Código Chip	Código T-tag
Habitat y otra información del ambiente, etc.		
<div style="border: 1px solid black; height: 40px;"></div>		

Figura 16: Hoja de registro.

Después de la primera salida de muestreo, antes de la toma de datos, se pasaban todos los individuos por el lector de chip, por si se encontraban individuos marcados por chip (figura 17).



Figura 17: Trabajo de campo, utilización del detector del transpondedor en holoturias y marcaje con T-tag.

Cuantificación de materia orgánica del sedimento:

Para la cuantificación de materia orgánica se hizo a partir del método de ignición (Dean, 1974; Lanza, 1980). De las 4 muestras de sedimentos recogidas (figura 18 y 19), se vaciaron en otro recipiente y se dejaron en la estufa durante 24 horas a 100°C. Pasadas las 24 horas, se pesaron y se pusieron en pequeños recipientes de cerámica (teniendo 3 sub-réplicas de cada muestra). Posteriormente, las muestras fueron introducidas en la incineradora a 550°C durante 2 horas. Una vez transcurrido ese tiempo, las muestras fueron sacadas de la incineradora, reposaron hasta recuperar la temperatura ambiente y se pesó su contenido. El peso de las cenizas nos dió una idea de la cantidad de minerales que contenían las muestras, por lo tanto, para conocer el contenido de materia orgánica en las muestras era la diferencia entre el peso seco inicial y el peso de las cenizas.



Figuras 18 y 19: Extracción de muestras de sedimento de la zona de muestreo.

Tratamientos de los datos:

Al encontrarnos en el mar, la zona de muestreo es una zona abierta donde se incorporan y retiran los individuos, por lo que es un flujo continuo. Nos encontramos ante una población abierta, por lo tanto se va a requerir el método de estudio de Jolly - Seber de captura y recaptura (Sutherland. 2004; Schwarz and Arnason, 2009). Este método, aparte de indicarnos las entradas y salidas de los individuos, nos brinda información sobre los ingresos de la población (organismos inmigrantes y nacimientos) y las tasas de supervivencia de la población (migraciones y mortalidad) (Sutherland. 2004; Schwarz and Arnason, 2009). Para este tipo de método el marcaje debe ser igual para todos los individuos, un marcaje que no altere las tasas de supervivencia del individuo a estudiar, y al tratarse de una población abierta, la migración es permanente. Los parámetros que se utilizan son:

- i = número del muestreo
- n_i = número total de animales capturados en el muestreo "i"
- R_i = número de animales liberados después del muestreo "i"
- m_i = número de animales del muestreo "i" que llevan marcas de capturas anteriores
- m_{hi} = número de animales del muestreo "i" que fueron capturados más recientemente en el muestreo "h"
- r_h = número de animales que fueron liberados en el muestro "h" y, posteriormente, fueron recapturados (suma de las filas)
- z_i = número de animales capturados antes y después del muestreo "i", pero tampoco del propio muestreo "i" (z_i es la suma de todos los m_{hi} que caen en columnas a la derecha de la columna "i" y todas las filas por encima de la fila "i")

Parámetros de estimación:

- \check{N}_i = tamaño de la población en el momento de la muestra i

$$\frac{M_i(n_i + 1)}{m_i + 1}$$

- M_i = número de animales marcados en la población en el momento de la toma de la muestra i (pero sin incluir los animales recién marcados en la muestra i)

$$\frac{m_i + (R_i + 1)z_i}{r_i + 1}$$

- ϕ_i = proporción de la población que sobrevive (y permanece en el área de estudio) desde el muestreo i hasta la muestra $i + 1$

$$\frac{M_{i+1}}{M_i - m_i + R_i}$$

Para los límites de confianza para \check{N}_i :

- Calcular una transformación de cada \check{N}_i y el error estándar de la transformación

$$T_i = \log_e \check{N}_i + 0.5 \log_e [0.5 - 3 n_i / 8 \check{N}_i]$$

$$s_{Ti} = \sqrt{\left(\frac{M_i - m_i + R_i + 1}{M_i + 1} \right) \left(\frac{1}{r_i + 1} - \frac{1}{R_i + 1} \right) + \frac{1}{m_i + 1} - \frac{1}{n_i + 1}}$$

- Calcular el límite de confianza de T_i y sus exponentes

$$T_{iL} = T_i - 1.65 s_{Ti} \quad W_{iL} = e^{T_{iL}}$$

$$T_{iU} = T_i + 2.45 s_{Ti} \quad W_{iU} = e^{T_{iU}}$$

- Límite de confianza al 95%

$$\left\{ \frac{(4W_{iL} + n_i)^2}{16W_{iL}} \mid \frac{(4W_{iU} + n_i)^2}{16W_{iU}} \right\}$$

Por último, se averigua el índice de crecimiento específico (SGR) para observar como se va comportando el individuo a lo largo de los meses, mediante las capturas y recapturas que se hagan en los muestreos (Günay et al., 2015).

$$SGR (\% d - 1) = \frac{\ln W_f - \ln W_i}{t} * 100$$

donde W_i y W_f son el peso húmedo inicial y final de la holoturia, que se mide en gramos; t es el tiempo transcurrido desde que fue por primera vez capturado, que se mide en días.

Análisi estadístico:

Para el estudio de la población de *H. tubulosa* se realizará un test de bondad de ajuste que proviene del método Jolly - Seber (Sutherland. 2004; Schwarz and Arnason, 2009). Para la observación de la variación de pesos en los diferentes meses en los que se realizan los muestreos, se hace un ANOVA de 1 vía para la comparación entre los muestreos. Para la averiguación de cuál es el método de marcaje más efectivo realizando una tabla de contingencia de 2 x 2 y aplicando el test chi-cuadrado de Pearson. Por último, para el análisis de los índices de crecimiento de los organismos, se realiza una ANOVA de una vía para la comparación entre los grupos de diferentes rangos de edad.

Resultados:

Porcentaje de marcajes :

Desde el muestreo 1 hasta el muestreo 7, se pudieron capturar unos 584 individuos, de los cuales 25 de ellos fueron marcados por chip y 487 fueron marcados mediante T-tag. El método de marcaje por fotoidentificación, no se encuentra reflejado en los resultados, debido a que cuando se utilizó en el primer muestreo se observó como los rayos de luz que incidían sobre la piel del organismo, se reflejaban, dando una imagen en malas condiciones, por lo que no se volvió a utilizar en todo el estudio. Del total de individuos que se marcaron, fueron recapturados 93 individuos a lo largo de esos siete muestreos realizados, marcados mediante chip o T-tag. En el muestreo 2 se capturaron 97 individuos, de los cuales 5 eran marcados por T-tag y 2 por chip; en el muestreo 3 se capturaron 92 de los cuales no hubo ninguna recaptura; en el muestreo 4, de 83 individuos capturados, 7 se encontraban marcados mediante T-tag; en el muestreo 5, de 120 individuos capturados, 46 se encontraban marcados por T-tag y 2 por chip; en el muestreo 6, se capturaron 129 individuos, de los cuales 8 fueron marcados mediante T-tag; y en el último muestreo, se capturaron 113 individuos, de los cuales 32 se encontraban marcados por T-tag (gráfico 1).

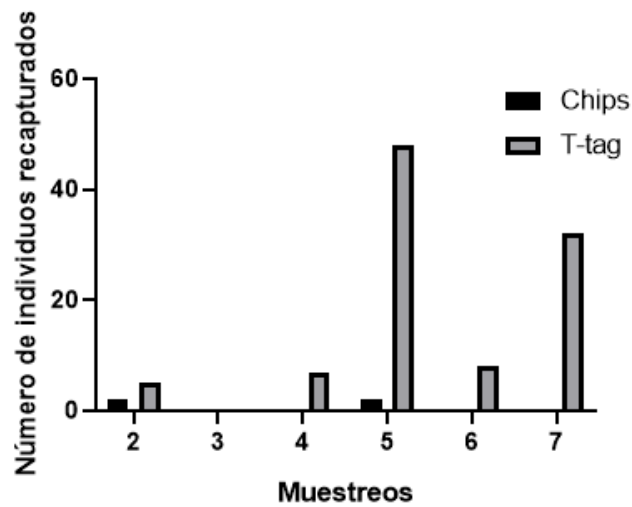


Gráfico 1: Recapturas obtenidas en cada muestreo mediante los métodos de chip y T-tag.
 día

Se observó que hay un mayor porcentaje de individuos recapturados marcados por el método T-tag que por chip, teniendo en cuenta el número de capturas realizadas en un mismo día de muestreo (gráfico 2). En cuanto al cómputo total de marcajes realizados a través de los distintos muestreos realizados, se halló que a pesar de haber mayor cantidad de T-tag aplicados, el porcentaje de recapturas con chip es de 16% y un 19% con T-tag (gráfico 3). Una vez aplicado el análisis estadístico, sale un p-valor de 2.2e-16, indicando que los resultados son estadísticamente significativos.

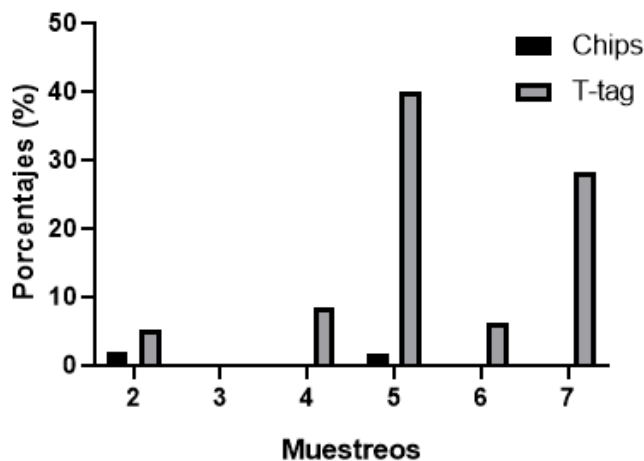


Gráfico 2: Porcentajes de las recapturas obtenidas en cada muestreo mediante los métodos de chip y T-tag, con respecto al total de individuos capturados el mismo día del muestreo: Capturas: (2) 97 individuos, (3) 92 individuos, (4) 83 individuos, (5) 120 individuos, (6) 129 individuos y (7) 113 individuos.

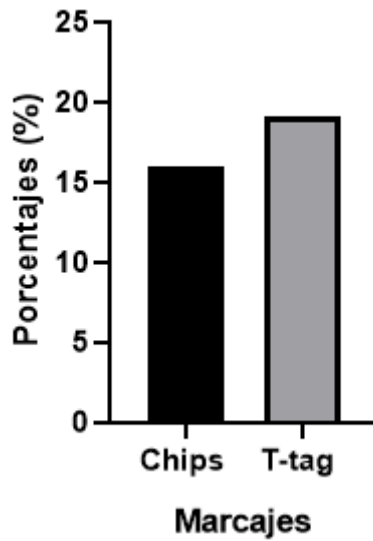


Gráfico 3: Porcentajes de las recapturas obtenidas al final del estudio mediante los métodos de chip y T-tag, con respecto al total de individuos marcados. Marcajes: 25 chips y 487 T-tags.

Estudio de la población mediante el método Jolly - Seber:

Para el cálculo de parámetros como \check{N}_i , M_i y ϕ_i (tabla 2), necesario realizar la tabla 1 con todos los datos registrados de los diferentes muestreos realizados.

i	1	2	3	4	5	6	7
ni	50	97	92	83	120	129	113
Ri	50	97	92	83	120	129	113

h							rh	zi
1	5	0	0	2	0	0	7	
2		0	2	1	1	2	6	
3			5	26	1	3	35	
4				19	4	2	25	
5					2	3	5	
6						22	22	

mi	5	0	7	48	8	32
	5	0	7	48	8	32

Tabla 1: Tabla del modelo de Jolly - Seber para la estimación de poblaciones abiertas en *H. tubulosa*.

Se puede ver, como en el muestreo 2, la estimación de la población era de 469 individuos; en el muestreo 3 se estimó que había una población de 1922 individuos; en el muestreo 4, hubo una población estimada de 1224 individuos; en el muestreo 5, la estimación baja a 667 individuos; y en el muestreo 6, se estimó que había 821 individuos (tabla 2)

Parámetros estimados					
M2	28,714286	\hat{N}_2	469	ϕ_2	0,1712032
M3	20,666667	\hat{N}_3	1922	ϕ_3	1,0347064
M4	116,57692	\hat{N}_4	1224,0577	ϕ_4	1,4029026
M5	270,16667	\hat{N}_5	667,14626	ϕ_5	0,1662043
M6	56,869565	\hat{N}_6	821,44928		

Tabla 2: Parámetros estimados para el estudio demográfico de la población de *H. tubulosa*.

Mediante los parámetros de la tabla 2, se pueden estimar cuales son los límites del número de individuos que podemos encontrar en la zona de Portals Vells, en el momento de cada muestreo (tabla 3). En el muestreo 2, se estima que la población se pueden encontrar de 131 a 2362 individuos; en el muestreo 3, entre 288 a 17040; en el muestreo 4, entre 471 a 2210, en el muestreo 5, entre 269 a 1418; y finalmente, en el muestreo 6, entre 322 a 1759 (tabla 3).

Límites de confianza									
\hat{N}_2		\hat{N}_3		\hat{N}_4		\hat{N}_5		\hat{N}_6	
T_i	S_{T_i}	T_i	S_{T_i}	T_i	S_{T_i}	T_i	S_{T_i}	T_i	S_{T_i}
5,6986	0,8359	7,1963	1,0385	6,713	0,3955	6,084	0,4611	6,3018	0,4626
T_{i1}	W_{i1}	T_{i1}	W_{i1}	T_{i1}	W_{i1}	T_{i1}	W_{i1}	T_{i1}	W_{i1}
4,319365	75,140899	5,482775	240,51321	6,060425	428,55754	5,323185	205,03588	5,53851	254,29881
T_{i2}	W_{i2}	T_{i2}	W_{i2}	T_{i2}	W_{i2}	T_{i2}	W_{i2}	T_{i2}	W_{i2}
7,746555	2313,5884	9,740625	16994,159	7,681975	2168,8991	7,213695	1357,9005	7,43517	1694,5458
Rangos de confianza al 95%									
\hat{N}_2		\hat{N}_3		\hat{N}_4		\hat{N}_5		\hat{N}_6	
131,46703	2362,3425	288,71267	17040,191	471,06221	2210,5976	269,42536	1418,5632	322,88873	1759,6595

Tabla 3: Estimación de los límites poblacionales de confianza al 95% en el estudio demográfico de la población de *H. tubulosa* de Portals Vells.

Índice de crecimiento específico:

En cuanto al índice de crecimiento de estos individuos, se observó que a cuanto mayor tamaño del organismo, es decir, cuanto menos joven sea el individuo, el índice de crecimiento va disminuyendo, e incluso, tener índices de crecimiento negativo (disminución del tamaño corporal) (gráfico 4). Una vez aplicado ANOVA de 1 vía de Kruskal - Wallis, sale un p-valor de $4.101e-11$, indicando que los resultados son estadísticamente significativos. Posteriormente, se hizo un post-hoc para ver entre qué grupos los resultados son estadísticamente significativos (tabla 4).

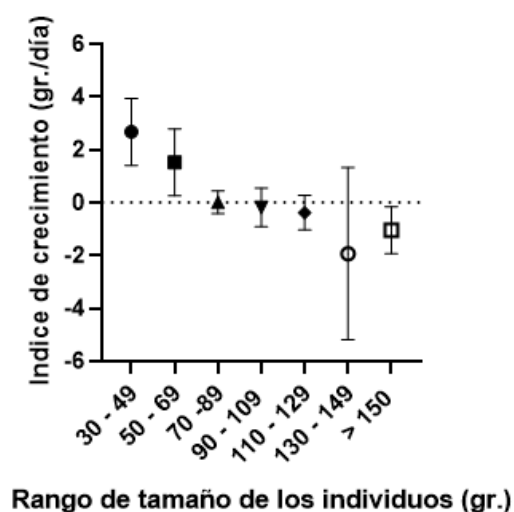


Gráfico 4: Representación del índice de crecimiento de los individuos más jóvenes hasta los individuos más viejos.

		Comparison of x by group (Bonferroni)					
Col	Mean-						
Row	Mean	A	B	C	D	E	F
B	1.219581 1.0000						
C	4.396388 0.0001*	3.406509 0.0069*					
D	5.008298 0.0000*	4.041843 0.0006*	0.531242 1.0000				
E	5.400315 0.0000*	4.508317 0.0001*	1.259198 1.0000	0.786708 1.0000			
F	4.082488 0.0005*	3.400971 0.0071*	1.309793 1.0000	1.000731 1.0000	0.482278 1.0000		
G	4.411644 0.0001*	3.738568 0.0019*	1.645598 1.0000	1.339955 1.0000	0.811433 1.0000	0.263911 1.0000	

Tabla 4: Post-hoc Dunn (no paramétrico) entre los grupos de los diferentes tamaños. (A) 30 - 49 gr, (B) 50 - 69 gr, (C) 70 - 89 gr, (D) 90 - 109 gr, (E) 110 - 129 gr, (F) 130 - 149 gr y (G) > 150 gr.

Distribución de los individuos durante los muestreos:

Por otro lado, se observó que la media de pesos de los individuos capturados en cada muestreo iba variando (gráfico 5). En el muestreo 1 se vió que el peso medio de los individuos rondaba los 115 gr; en el muestreo 2 hay un leve ascenso, subiendo a 116 gr; en el muestreo 3, el peso disminuye hasta los 105 gr; en el muestreo 4, el peso medio de los individuos disminuye hasta los 47 gr; en el muestro 5, sube hasta los 102 gr; en el muestreo 6, vuelve a disminuir hasta los 71 gr; y finalmente, en el muestreo 7, encontramos un media

de pesos de 103 gr. Una vez aplicado ANOVA de 1 vía Welch, sale un p-valor inferior a 0.0001, indicando que los resultados son estadísticamente significativos.

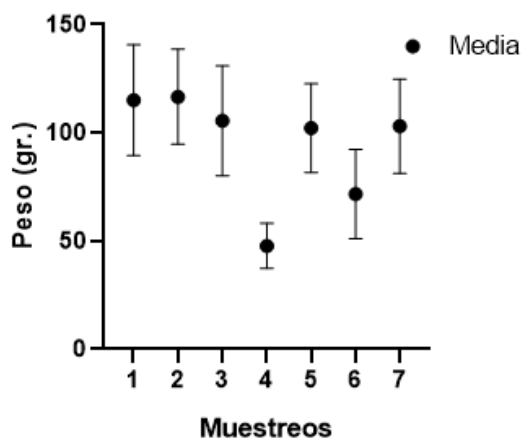


Gráfico 5: Medias y desviaciones típicas de los pesos observados de la población en los distintos muestreos realizados.

Cuantificación de materia orgánica en el sedimento:

En cuanto a los gramos de materia orgánica que encontramos en la zona de muestreo de Portals Vells, encontramos entre un 1.37% a 3.4% de materia orgánica en las muestras de sedimento encontradas (tabla 5).

Muestras	Peso crisol (gr.)	Peso crisol + muestra (gr.)	Peso ceniza + crisol (gr.)	M.O (gr.)	Gramos de muestra	% MO
1.1	17,158	36,044	35,784	0,26	18,886	1,37668114
1.2	16,476	33,729	33,458	0,271	17,253	1,57074132
1.3	16,712	34,447	34,175	0,272	17,735	1,53369044
2.1	17,868	30,154	29,841	0,313	12,286	2,54761517
2.2	15,656	28,032	27,695	0,337	12,376	2,72301228
2.3	14,807	28,136	27,778	0,358	13,329	2,68587291
3.1	16,858	27,306	26,96	0,346	10,448	3,31163859
3.2	15,954	29,669	29,202	0,467	13,715	3,40503099
3.3	16,574	30,711	30,252	0,459	14,137	3,24679918
4.1	17,084	33,151	32,636	0,515	16,067	3,20532769
4.2	17,63	33,1	32,603	0,497	15,47	3,21266968
4.3	16,838	33,4	32,884	0,516	16,562	3,11556575

Tabla 5: Porcentaje de contenido de materia orgánica en las muestras de sedimento..

Discusión:

La averiguación de métodos de marcaje no invasivos que permita no interferir en la vida de los organismos marcados, proporciona datos más fiables a la hora de realizar cualquier tipo de estudio. En el caso de *Holothuria scabra*, se llevaron a cabo marcajes como T-tag, implantes de elastómeros, etiquetas de alambre y fluorocromos (tetraciclina y calceína), donde se vió que los marcajes mediante T-tag y elastómeros, con individuos en juveniles de

criadero son inadecuado; todo lo contrario con los individuos marcados con las etiquetas de alambre y fluorocromos, siendo mejores para estudios de más duración (Purcell et al., 2006). En el caso de *Holothuria grisea*, fueron marcadas por dos tipos de marcajes, por transpondedor (chip) y T-tag (marcaje externo), y cuyos resultados se observó que a la semana 9 del estudio se perdieron el 100% de los individuos marcados por transpondedor; caso contrario al T-tag con un 90% de individuos, pero que a la larga disminuyó el número hasta no encontrarse ningún individuo a la semana 17 (Rodríguez et al., 2016). En el caso de *Cucumaria frondosa*, en un estudio de 140 días, se observó que las inyecciones de tinte fluorescente (80% individuos seguían marcados) y las etiquetas T-tag (65% individuos seguían marcados) de un solo anclaje fueron exitosos; aunque las etiquetas T-tag de doble anclaje, debido a la relajación de los músculos y el movimiento del animal pudieron haber sido expulsados (Kirshenbaum et al., 2006). En el caso de *Parastichopus californicus*, se marcaron con 6 tipos de etiquetas, en los que el éxito de retención estuvieron las etiquetas T-tag de un solo anclaje y las de alambre codificado, donde a las 16 semanas del estudio se conservaron un 70% y un 60% respectivamente, y 40% y 30 % a las 32 semanas. El problema fue que durante 24 horas se observó que el marcaje afectó a su comportamiento, haciendo que se desplazaran 4.2 metros (en el caso de los controles fue de 1.8 metros) (Cieciel, Pyper and Eckert, 2009). En el caso del estudio presente, se observó como los marcajes mediante etiqueta T-tag de doble anclaje prevalecieron durante más tiempo que los transpondedores, ya que se obtuvieron muchas más recapturas. Con respecto a la fotoidentificación, no fué nada exitoso debido a que la piel reflejaba los rayos del sol, imposibilitando la identificación.

La población de *H. tubulosa* presenta individuos juveniles y maduros que presentan diferentes índices de crecimiento, que se puede relacionar con las ganancias o pérdidas de peso. Se ha observado cómo el crecimiento de los individuos juveniles de *H. tubulosa* era favorecido por encontrarse en temperaturas óptimas, entre 20 - 25 °C; por otro lado temperaturas por encima y por debajo del óptimo, se pudieron observar como los índices de crecimiento de estos fueron inferiores, e incluso negativos (Brava, 2005; Günay et al., 2015). Por otro lado, también se pudo comprobar cómo las tasas de crecimiento de los individuos juveniles de *Apostichopus japonicus* se veían afectados significativamente por el contenido de proteínas y valores lipídicos en sus dietas (Seo and Lee, 2011; Sun et al., 2004). A partir de otras investigaciones, se ha podido averiguar cómo individuos de *Apostichopus japonicus* pueden tener 4 fases a lo largo de su ciclo anual, como la fase activa (individuo se encuentra activo), profase de estivación (consumición de alimentos

disminuye), fase de estivación profunda (individuo completamente inactivo) y fase de reversión (recuperación de la actividad previo a la estivación)(Choe, 1963; Gao et al., 2009; Bao et al., 2010). Estas fases se encuentran controladas por la temperatura de la zona donde habitan los individuos y, por lo tanto, la hace fluctuar el índice de crecimiento de los individuos. Una vez llegados a la madurez, en *Stichopus chloronotus*, se presenció cómo aumentó 10 gramos en un periodo de un año, por lo que se determinó que su crecimiento se puede llegar a ralentizar, o incluso reducir en el caso de *Holothuria whitmaei* y *Holothuria fuscogilva* en ciertos periodos de su ciclo (Uthicke,1994; Franklin, 1980; Uthicke, Welch y Benzie, 2004; Reichenbach, 1999). Junto con la temperatura y el alimento, otro efecto que hacen fluctuar los índices de crecimiento es la salinidad, ya que son individuos estenohalinos con ausencia de grandes tejidos epidérmicos que pueden interactuar con las condiciones de su entorno y algunos órganos diferenciales pueden proporcionar osmorregulación (Tolón, 2017). La pérdida de peso y los índices de crecimiento negativos se observaron en *Holothuria poli* en grupos de salinidad de 30 y 45 ppt a 15°C, aunque la pérdida de peso fue mayor *Holothuria tubulosa*, los cuales sufren un estrés a nivel molecular y celular, produciendo de esta manera cambios fisiológicos que causan la pérdida de peso por afectar a sus funciones corporales (Tolón, 2017). Finalmente se llegó a la conclusión de que ambas especies el nivel óptimo de salinidad era a 38 ppt a 15°C. En otras investigaciones, se pudo observar como *Holothuria scabra* en su ciclo reproductivo, el peso corporal aumento de enero a junio debido al aumento del índice de de gónadas de peso eviscerado y, posteriormente, disminuyó durante los meses de junio y noviembre, debido al cierre de su ciclo reproductivo debido al desove (Morgan, 2000). En nuestro estudio se observa, cómo los individuos más jóvenes presentan mayores índices de crecimiento, disminuyendo progresivamente a medida que se van volviendo individuos más longevos. Otra posibilidad a los índices de crecimiento vistos en los organismos más longevos, pueden ser debidos a los cambios en su entorno que les haya podido afectar con una reducción en su peso.

La distribución de los pepinos de mar se ve muy regido por el alimento y la época reproductiva. Investigaciones anteriores, observaron la distribución de *Holothuria fuscogilva* en lechos de pastos marinos, lagunas de islas y fondo de lagunas, en Maldivas (Reichenbach, 1999). El resultado de dicha investigación fue que *Holothuria fuscogilva* parecía reclutarse en los lechos de pastos marinos poco profundos (donde había gran presencia de alimento) y, más tarde, emigran hacia zonas más profundas a medida que se acerca a la madurez sexual, donde termina de madurar y se reproduce (Reichenbach,

1999). Igual ocurre en el mar Adriático con *Holothuria tubulosa*, donde la variabilidad del índice gonadosomático coincide con la variabilidad de la temperatura superficial del mar y el desarrollo de las gónadas que parece estar inducido en el calentamiento de las masas de agua y proceden a la migración de los individuos a zonas más profundas (Kazandis et al., 2010). En nuestro estudio se ha podido observar como en los dos primeros muestreos se ha mantenido ligeramente la media de pesos de los individuos hasta el tercer muestreo, donde se ve una tendencia bajista de los pesos. Posiblemente esa tendencia fuera debida al inicio de la migración de los organismos más maduros y la entrada de organismos más juveniles de las zonas más profundas. En el cuarto muestreo se vió la media de pesos más baja de todo el estudio, indicando la migración de la mayoría de individuos adultos hacia la zonas más profundas. Más adelante se ve un crecimiento de los organismos que entraron en la población del anterior muestreo. En el sexto muestreo que se realizó, volvió a disminuir la media, posiblemente fuera por la migración total de los organismo adultos hacia la zona profunda. Finalmente, en el séptimo muestreo se vuelve a encontrar la misma media de pesos referente al crecimiento de los organismo juveniles.

En cuanto a la cuantificación de materia orgánica en el sedimento en la zona de Baleares no se tienen datos publicados sobre ello. La zona donde se realiza el muestreo está compuesta por una arena de fragmentación fina cuyo contenido en materia orgánica debería ser 6.7% y se encuentra entre un 1.4% a 3.4%.

Conclusiones:

Finalmente podemos concluir que de los marcajes utilizados en *Holothuria tubulosa*, el que ha funcionado mejor y el que mejor ha aguantado durante este estudio es el etiquetado T-tag. En estudios previos, se aconseja el uso de este tipo de marcaje en investigaciones de corto plazo.

En cuanto a la población de *Holothuria tubulosa* que encontramos en la zona de Portals Vells, ha ido fluctuando a lo largo del estudio, al igual que los límites de confianza estimados, debido a que se trata de una población abierta influenciado por el contenido de materia orgánica, corrientes, época reproductiva, entre otras razones. Los índices de crecimiento, se observa que son mayores en los organismos más juveniles y va descendiendo a medida que los individuos se van convirtiendo en adultos y madurando sexualmente. Respecto a la variación de pesos en los distintos muestreos, se puede

observar cómo se van distribuyendo los individuos a lo largo del estudio, pudiendo ver las entradas y salidas de los individuos dentro de la población.

El conocimiento de la biología y ecología de *Holothuria tubulosa* es muy interesante para la utilización de este, para el estudio de la concentración de contaminantes de origen antrópico que pueden condicionar la calidad ambiental de las zonas donde estén los organismos, ya que estos tienen límites de tolerancia más altos.

Agradecimientos:

El estudio que se ha llevado a cabo ha sido gracias a la ayuda del Dr. Samuel Pinya, Antonia Solomando y colaboradores. También quisiera hacer una gran mención a mi familia por haberme acompañado en todo este camino que ha sido el grado de Biología, al igual que mis compañeros y mis amigos más íntimos..

Bibliografía:

Ballesteros E, Llobet T. 2019. La vida marina del mar Mediterraneo, Gallocanta ediciones.144pp. Barcelona, España.

Bao J, Dong S, Tian X, Wang F, Gao Q, Dong Y. 2010. Metabolic Rates and Biochemical Compositions of *Apostichopus japonicus* tissue during Periods of inactivity. *Chinese journal of Oceanology and Limnology* **28**: 218-223.

Belbachir N, Mezali K. 2020. Interspecific competition and invasive capacity of *Holothuria* (*Roweothuria*) *arguinesis*: Does its diet represent a danger for native mediterranean species?. *Vie et Milieu-Life and Environment* **70**: 311-314.

Bonfil R. 2005. Transoceanic Migration, Spatial Dynamics, and Population Linkages of White Sharks. *Science* **310**: 100–103.

Chen J. 2003. Overview of sea cucumber farming and sea ranching practices in China. *SPC Beche-de mer Information Bulletins* **18**: 18–23.

Choe S. 1963. Study of sea cucumber: morphology, ecology and propagation of sea cucumber. *Kaibundou Publishing House, Tokyo, Japan*, 219 pp

Cieciel K, Pyper BJ, Eckert GL. 2009. Tag retention and effects of tagging on movement of the giant red sea cucumber *Parastichopus californicus*. *North American Journal of Fisheries Management* **29**(2): 288-294.

Dean WE. 1974. Determination of carbonate and organic matter in calcareous sediments and sedimentary rocks by loss on ignition; comparison with other methods. *Journal of Sedimentary Research* **44**(1): 242-248.

Dereli H, Çulha ST, Çulha M, Özalp BH, Tekinay AA. 2016. Reproduction and population structure of the sea cucumber *Holothuria tubulosa* in the Dardanelles Strait. *Turkey Mediterranean Marine Science* **17**(1): 47.

Dominguez-Godino JA., Aydin M, Wanguemert M. 2016. Profitability of the new target sea cucumber species from Mediterranean and NE Atlantic: *Holothuria polii*, *H. mammata*, *H. tubulosa* and *H. arguinensis*. *Frontier in Marine Science*. Conference Abstract: International Meeting on Marine Research.

Elgue E. 2019. Métodos alternativos para el estudio de anfibios en campo: fotoidentificación. *Experimentación con animales no tradicionales en Uruguay* **92**.

Franklin SE. 1980. The reproductive biology and some aspects of the population ecology of the holothurians *Holothuria leucospilota* (Brandt) and *Stichopus chloronotus* (Brandt). [Ph.D. thesis] University of Sydney, Sydney.

Gao F, Yang H, Xu Q, Wang F, Liu G. 2009. Effect of water temperature on digestive enzyme activity and gut mass in sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka), with special reference to aestivation. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology* **27**(4): 714-722.

González MW, Domínguez JG. 2016. Sea cucumbers as new marine resource in Europe. *Frontiers in Marine Science* **3**.

Guerrero J, Manteca X. 2000. Directrices de aspectos éticos y de bienestar animal en la utilización de fauna salvaje en procedimientos científicos. *Miscel·lània zoològica*, 129-142 pp.

Günay D, Emiroğlu D, Tolon M, Özden O, Sayğılı H. 2015. Growth and survival rate of juvenile sea cucumbers (*Holothuria tubulosa*, Gmelin, 1788) at various temperatures. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **15**.

Hamel JF, Mercier A. 2008. Population status, fisheries and trade of sea cucumbers in temperate areas of the Northern Hemisphere. Sea cucumbers. A global review of fisheries and trade. *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper* **516**(2008): 257-291.

Hays GC, Doyle TK, Houghton JDR, Lilley MKS, Metcalfe JD, Righton D. 2007. Diving behaviour of jellyfish equipped with electronic tags. *Journal of Plankton Research* **30**(3), 325–331.

Infraestructura de Dades Espacials de les Illes Balears (IDEIB). (2022, 18 junio). Mapes IDEIB. <https://ideib.caib.es/visor/#>.

Cameron JL, Fankboner PV. 1989. Reproductive biology of the commercial sea cucumber *Parastichopus californicus* (Stimpson)(Echinodermata: Holothuroidea). II. Observations on the ecology of development, recruitment, and the juvenile life stage. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **127**(1): 43-67.

Kazanidis G, Antoniadou C, Lolas A, Neofitou N, Vafidis D, Chintiroglou C, Neofitou C. 2010. Population dynamics and reproduction of *Holothuria tubulosa* (Holothuroidea: Echinodermata) in the Aegean Sea. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **90**: 895-901.

Kazanidis G, Lolas A, Vafidis D. 2014. Reproductive cycle of the traditionally exploited sea cucumber *Holothuria tubulosa* (Holothuroidea: Aspidochirotida) in Pagasitikos Gulf, western Aegean Sea, Greece. *Turkish Journal of Zoology* **38**: 306–315.

- Kirshenbaum S, Feindel S, Chen Y. 2006. A study of tagging methods for the sea cucumber *Cucumaria frondosa* in the waters off Maine. *Fishery Bulletin* **104**: 299–302.
- Laguerre H, Raymond G, Plan P, Améziane N, Bailly X, Le Chevalier P. 2020. First description of embryonic and larval development, juvenile growth of the black sea-cucumber *Holothuria forskali* (Echinodermata: Holothuroidea), a new species for aquaculture in the north-eastern Atlantic. *Aquaculture*.
- Lanza E. 1980. Materia orgánica en una laguna de la costa de Sinaloa, México: (I) : cuantificación total. *Boletim do Instituto Oceanográfico* **29**(2):217–222.
- Lohrer AM, Thrush SF, Gibbs MM. 2004. Bioturbators enhance ecosystem function through complex biogeochemical interactions. *Nature* **431**: 1092–1095.
- Storelli MM, Storelli A, Marcotrigiano GO. 2001. Heavy metals in the aquatic environment of the Southern Adriatic Sea, Italy. *Macroalgae, sediments and benthic species* **26**(7-8): 0–509.
- MacDonald CL, Stead SM, Slater MJ. 2013. Consumption and remediation of European Seabass (*Dicentrarchus labrax*) waste by the sea cucumber *Holothuria forskali*. *Aquaculture international* **21**(6): 1279-1290.
- Marrugo JN, Pinedo JH, Marrugo SM, Navarro EF, Diez S. 2020. Sea Cucumber as Bioindicator of Trace Metal Pollution in Coastal Sediments. *Biological Trace Element Research*.
- Mezali K, Soualili DL, Neghli L, Conand C. 2014. Reproductive cycle of the sea cucumber *Holothuria* (platyperona) *sanctori* (holothuroidea: Echinodermata) in the southwestern Mediterranean Sea. Interpopulation variability. *Invertebrate Reproduction and Development* **58** (3): 179–189.
- Mezali K, Thandar AS, Khodja I. 2021. On the taxonomic status of *Holothuria* (Holothuria) *tubulosa* (ss) from the Algerian coast with the description of a new Mediterranean species, *Holothuria* (Holothuria) *algeriensis* n. sp.(Echinodermata: Holothuroidea: Holothuriidae). *Zootaxa* **4981**(1): 89-106.
- Miles DL, Tracey C, Chris C, Murray C. 2009. Archival electronic tagging of a predatory sea star — Testing a new technique to study movement at the individual level. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **373**(1), 1–10.
- Lamare MD, Channon T, Cornelisen C, Clarke M. 2009. Archival electronic tagging of a predatory sea star—testing a new technique to study movement at the individual level. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **373**(1): 1-10.
- Morgan AD. 2000. Aspects of the reproductive cycle of the sea cucumber *Holothuria scabra* (Echinodermata: Holothuroidea). *Bulletin of Marine Science* **66**(1): 47-57.
- Nagelkerken I, Pors LPJJ, Hoetjes P. 2003. Swimming behaviour and dispersal patterns of headstarted loggerhead turtles *Caretta caretta*. *Aquatic Ecology* **37**(2): 183-190.
- Navarro PG, García-Sanz S, Barrio JM, Tuya F. 2013a. Feeding and movement patterns of the sea cucumber *Holothuria sanctori*. *Marine Biology* **160**(11): 2957-2966.
- Navarro PG, García-Sanz S, Barrio JM, Tuya F. 2013b. Patrones de abundancia y talla de *Holothuria sanctori*, *Holothuria mammata* y *Holothuria arguinensis* (Echinodermata:

Holoturoidea) en la isla de Gran Canaria, Atlántico oriental. *Revista Biología Marina Oceanografía*.

Ocaña A, Pérez-Ruzafa A. 2004. Los equinodermos de las costas andaluzas. *Acta Granatense* **3**: 83-136.

Brava C. 2005. Spawning of *Holothuria tubulosa* (Holothurioidea, Echinodermata) in the Alboran Sea (Mediterranean Sea). *Zoologia Baetica* **16**: 147–150.

Parmentier E, Michel L. 2013. Boundary lines in symbiosis forms. *Symbiosis* **60**: 1–5.

Pérez A, Gil D, Rubilar T. 2014. Echinodermata. In book: Los Invertebrados Marinos (pp.295-316). Edition: 1. Chapter: Echinodermata. Publisher: Vázquez Mazzini. Editors: Javier Calcagno

Petso T, Jamisola RS, Mpoeleng D. 2022. Review on methods used for wildlife species and individual identification. *European Journal Wildlife Research* **68**(3).

Purcell SW. 2010. Managing sea cucumber fisheries with an ecosystem approach (Lovatelli, A., M. Vasconcellos, and Y. Yimin, Eds.). *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper* 520. Rome: FAO, 157 pp. .

Purcell SW, Blockmans BF, Nash WJ. 2006. Efficacy of chemical markers and physical tags for large-scale release of an exploited holothurian. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **334**(2): 283-293.

Purcell SW, Conand C, Uthicke S, Byrne M. 2016. Ecological roles of exploited sea cucumbers. *Oceanography and marine biology*, 375-394. .

Purcell SW, Hair CA, Mills DJ. 2012. Sea cucumber culture, farming and sea ranching in the tropics: Progress, problems and opportunities. *Aquaculture* **368**: 68-81.

Rabeh I, Telahigue K, Hajji T, Fouzai C, El Cafsi M, Soudani N. 2021. Changes in fatty acid profile of *Holothuria forskali* muscle following acute mercury exposure. *Grasas y Aceites*, **72**(3): e425-e425.

Reichenbach N. 1999. Ecology and fishery biology of *Holothuria fuscogilva* (Echinodermata: Holothuroidea) in the Maldives, Indian Ocean. *Bulletin of marine Science* **64**(1): 103-114.

Reise K. 2002. Sediment mediated species interactions in coastal waters. *Journal of Sea Research* **48**: 127–141.

Riedl R. 1983. Fauna y flora del Mar Mediterráneo: Una Guía Sistemática para Biólogos y Naturalistas. *Ediciones Omega. SA, Barcelona*.

Rodríguez RB, López JM, Sabat AM. 2016. Effectiveness of two tagging devices in the sea cucumber *Holothuria* (*Halodeima*) *grisea*. *Marine and Freshwater Research* **68**(3): 563-567.

Santos R, Dias S, Pinteus S, Silva J, Alves C, Tecelao C, Pedrosa R, Pombo A. 2016. Sea cucumber *Holothuria forskali*, a new resource for aquaculture?. Reproductive biology and nutraceutical approach. *Aquaculture Research* **47**(7): 2307-2323.

Schwarz CJ, Arnason AN. 2009. Jolly-Seber models in MARK. *MARK: a gentle introduction* (eds. E. Cooch & G. White) *Program, 8th edn*.

- Seo JY, Shin IS, Lee SM. 2011. Effect of various protein sources in formulated diets on the growth and body composition of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka). *Aquaculture Research* **42**: 623-627.
- Sicuro B, Levine J. (2011). Sea Cucumber in the Mediterranean: A Potential Species for Aquaculture in the Mediterranean. *Reviews in Fisheries Science* **19**(3): 299–304.
- Sousa J, Félix PM, Brito AC, Venâncio E, Azevedo FA, Simões T, Pombo A. 2021. The effects of stocking density on physiological traits in *Holothuria forskali* broodstock. *Aquaculture Research* **52**(4): 1548-1560.
- Sun H, Liang M, Yan J, Chen B. 2004. Nutrient requirements and growth of the sea cucumber, *Apostichopus japonicus*. In: A. Lovatelli, C. Conand, S. Purcell, S. Uthicke, J.-F. Hamel and A. Mercier (Ed), *Advances in sea Cucumber Aquaculture and Management*, FAO, Rome: 327-331.
- Sutherland WJ. (Ed.). (2004). *Ecological census techniques: a handbook*. Cambridge University Press. 336pp. Cambridge, UK.
- Tolón T. 2017. Effect of salinity on growth and survival of the juvenile sea cucumbers *Holothuria tubulosa* (Gmelin, 1788) and *Holothuria poli* (Delle Chiaje, 1923). *FEB-Fresenius Environmental Bulletin* **26**(6): 3930-3935.
- Turk SC, Dereli H, Karaduman FR, Culha M. 2016. Assessment of trace metal contamination in the sea cucumber (*Holothuria tubulosa*) and sediments from the Dardanelles Strait (Turkey). *Environmental Science and Pollution Research* **23**(12): 11584–11597.
- Tuwo A, Conand C. 1992. Reproductive biology of the holothurian *Holothuria forskali* (Echinodermata). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **72**(4): 745-758.
- Uthicke S. 1994. Distribution patterns and growth of two reef holothurians, *Holothuria atra* and *Stichopus chloronotus*. In: David D., Guille A., Feral J.P., Roux M. (eds). *Echinoderms through time. Proceedings of the Eighth International Echinoderm Conference*. A.A. Balkema, Rotterdam,. 569–576pp.
- Uthicke S, Welch D, Benzie JAH. 2004. Slow growth and lack of recovery in overfished holothurians on the Great Barrier Reef: evidence from DNA fingerprints and repeated large-scale surveys. *Conservation Biology* **18**: 1395–1404.
- Walker KA, Trites AW, Haulena M, Weary DM. 2012. A review of the effects of different marking and tagging techniques on marine mammals. *Wildlife Research* **39**(1): 15–.
- Warnau M, Dutrieux S, Ledent G, Rodriguez AM, Baena Y, Dubois P. 2006. Heavy metals in the sea cucumber *Holothuria tubulosa* (Echinodermata) from the Mediterranean *Posidonia Oceanica* ecosystem: Body compartment, seasonal, geographical and bathymetric. *Industrial and Environmental Biotechnology* **1**: 268–285.