

MANUAL PARA EL CULTIVO Y PROCESAMIENTO DE PEPINO DE MAR

Vianys Agudelo Martínez
Wensy Vergara Hernández
Marina Villazón Turizo
Leda Pabón Caro
Adriana Rodríguez Forero



Grupo de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Acuicultura



EDITORIAL

UNIMAGDALENA

MANUAL PARA EL CULTIVO Y PROCESAMIENTO DE PEPINO DE MAR

Autoras: Vianys Agudelo Martínez, Wensy Vergara Hernández, Marina Villazón Turizo, Leda Pabón Caro y Adriana Rodríguez Forero

Edición: Primera - Mayo de 2016. Santa Marta D.T.C.H. - Colombia

ISBN: 978-958-746-075-9

Revisión de Estilo: Sergio Ospina

Diseño Editorial: Luis Felipe Marquez Lora

Impresión: Gente Nueva Editorial Carrera 17 No. 30 - 16. Bogotá D.C. - Colombia

El contenido de esta obra está protegido por las leyes y tratados internacionales en materia de Derecho de Autor. Queda prohibida su reproducción total o parcial por cualquier medio impreso o digital conocido o por conocer. Queda prohibida la comunicación pública por cualquier medio, inclusive a través de redes digitales, sin contar con la previa y expresa autorización de la Universidad del Magdalena.

©EDITORIAL DE LA UNIVERSIDAD DEL MAGDALENA
2016

Las opiniones expresadas en esta obra son responsabilidad del autor.

Catalogación en la fuente - Martha Lucia Ruiz Arango, P.E. Grupo Biblioteca Germán Bula Meyer.

Agudelo Martínez, Vianys; Vergara Hernández, Wensy; Villazón Turizo, Marina; Pabón Caro, Leda; Rodríguez Forero, Adriana

Manual para el cultivo y procesamiento de pepino de mar / Vianys Agudelo Martínez, Wensy Vergara Hernández, Marina Villazón Turizo, Leda Pabón Caro, Adriana Rodríguez Forero. - 1a. ed. -- Santa Marta, Universidad del Magdalena, 2016.

64 p.

Incluye bibliografía

ISBN: 978-958-746-075-9

1. Invertebrados marinos. 2. Invertebrados marinos - Colombia 3. Invertebrados marinos en peligro de extinción - Colombia 4. Pepino de mar II. Título

CDD 594.1 ed 20

Depósito Legal: Se cumplió con la reglamentación existente.

UNIVERSIDAD DEL MAGDALENA

Rector: Ruthber Escorcía Caballero

Vicerrector de Investigación: José Henry Escobar Acosta

Directora de Transferencia de Conocimiento y Propiedad Intelectual: Diana Milena González Gélvez



Servicio de Canje:

canjebiblioteca@unimagdalena.edu.co
biblioteca@unimagdalena.edu.co



Este Manual es un producto del trabajo de investigación que se desprende del proyecto: **“Investigación: Programa de acuicultura sostenible para el departamento del Magdalena. Subproyecto 1. Fase I. Producción de semilla y Procesamiento: Desarrollo de un protocolo para la producción de pepino de mar *Isostichopus badionotus* – Grupo de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Acuicultura”**, cofinanciado por la Gobernación del Magdalena y la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad del Magdalena. Convenio 090/2014-2015.



Agradecimientos:

Las autoras agradecen a las siguientes personas quienes han colaborado para poder llevar a cabo este proyecto: Ing. Yahir Mendoza Vanegas administrador del proyecto y colaborador esencial para el logro de los objetivos impuestos; Sr. Jorge Polo, pescador artesanal sin quien habría sido posible obtener nuestros ejemplares. A los profesores Ruby Corvacho Narváez, Omar Carreño Montoya y Eduardo Cabrera Durán, quienes nos apoyaron y enseñaron todo lo relacionado con el procesamiento de los pepinos de mar. Al Sr. Vicerrector de Investigación, MSc. Jose Henry Escobar Acosta y a todo su equipo de trabajo por el apoyo a lo largo de este estudio. A la Gobernación del Magdalena y al Sr. Supervisor del Convenio 090, Ing. Reinaldo Rosado.





CONTENIDO

PREFACIO.....	11
¿QUÉ ES EL PEPINO DE MAR?.....	13
INTRODUCCIÓN.....	14
¿Qué es el pepino de mar?.....	14
DESCRIPCIÓN GENERAL DE LAS ESPECIES.....	18
Holotúridos.....	18
Descripción general de las especies.....	19
Clasificación Taxonómica.....	19
CAPTURA Y TRANSPORTE DE PEPINOS DE MAR.....	23
Captura, transporte y aclimatación.....	23
Captura.....	23
Transporte.....	24
Aclimatación.....	25
Mantenimiento en laboratorio.....	27
Preparación de dietas y alimentación.....	28
REPRODUCCIÓN.....	31
Reproductores.....	31
Inducción al desove.....	32
Colecta de huevos.....	33
Desarrollo embrionario y larval.....	34
Desarrollo oocitario.....	34
Desarrollo larval.....	37
Alimentación y mantenimiento larval.....	39
Larva doliolaria, inicio del asentamiento.....	40
Desarrollo de juveniles.....	40
Engorde en corrales o pastoreo.....	41
PROCESAMIENTO DE PEPINOS DE MAR.....	43
Procedimiento previo.....	44
Recepción de la materia prima.....	44
Evisceración.....	45
Cocción.....	45
Salado.....	47
Deshidratación.....	47
Empacado.....	48



CULTIVO DE MICROALGAS.....	49
Producción de microalgas.....	50
Formación de biopelícula.....	55
REFERENCIAS.....	57

Tabla de contenido de Figuras

Figura 1. <i>Isostichopus</i> sp. A) Superficie dorsal (bivium); B) Superficie ventral (trivium); C) Morfología interna: 1) tentáculos; 2) orificio bucal; 3) esófago; 4) intestino; 5) gónada; 6) árbol respiratorio; 7) orificio anal; 8) pared corporal.....	15
Figura 2. Juvenil de <i>Isostichopus badionotus</i> Morfotipo I.....	19
Figura 3. Espículas observadas en la piel de <i>I. badionotus</i> . A) C; B) S y C) bastón.....	20
Figura 4. Vista dorsal de individuos de <i>Isostichopus badionotus</i> Morfotipo II.....	21
Figura 5. Espículas en piel, tentáculos y podias de <i>Isostichopus badionotus</i> Morfotipo II. A) Roseta; B) C; C) Bastón; D) Tabla perforada.....	21
Figura 6. Vista dorsal de <i>Isostichopus</i> sp.....	22
Figura 7. Espículas de <i>Isostichopus</i> sp.....	22
Figura 8. Pepino de mar ubicado en su hábitat e identificado por las heces.....	24
Figura 9. A) Colecta en costales y selección; B) Transporte en recipientes plásticos hasta el centro de cultivo.....	25
Figura 10. A) Transporte con agua de mar; B) Transporte en húmedo.....	25
Figura 11. Baño con chorro de agua dulce a los pepinos, luego de su llegada al sitio de cultivo.....	26
Figura 12. A) Toma de muestras de agua; B) Registro de los parámetros fisicoquímicos.....	26
Figura 13. A) Sistema de tanques de cultivo de 250l; B) Pepinos de mar en tanques de 550l.....	27
Figura 14. A) Presencia de heces en los tanques; B) Sifoneo de las heces.....	28
Figura 15. Filtración y secado al sol del sedimento marino.....	28
Figura 16. A) Sedimento marino; B) Macroalgas; C) Microalgas.....	29
Figura 17. Bandejas con las dietas en los tanques de cultivos.....	30
Figura 18. A) Colecta y filtrado de huevos fertilizados, mediante sifoneo con una malla de 60 μm ; B) Lavado y recambio de agua; C) Conteo de huevos fertilizados.....	34

Figura 19. Ovocito fecundado.....	36
Figura 20. Blástula donde se observan segmentaciones y una leve invaginación en el polo animal.....	36
Figura 21. Estado de gástrula.....	37
Figura 22. Auricularia temprana.....	38
Figura 23. Auricularia media.....	38
Figura 24. Auricularia tardía.....	39
Figura 25. Larva doliolaria obtenida en el Laboratorio de Acuicultura del Grupo GIDTA.....	41
Figura 26. Juveniles de <i>Isostichopus badionotus</i> en tanques de engorde.....	42
Figura 27. Engorde de pepinos de mar en tanques de cultivo.....	42
Figura 28. A) Recepción de materia prima en planta; B) Selección de individuos saludables para procesamiento.....	44
Figura 29. Proceso de evisceración de pepinos de mar.....	46
Figura 30. A) Cocción de pepinos de mar; B) Registro de pesos de individuos de pepinos de mar después de la cocción.....	46
Figura 31. Proceso de salado de pepinos de mar durante 48 horas.....	47
Figura 32. A) Proceso de deshidratación del pepino de mar; B) Pepinos deshidratados.....	47
Figura 33. Pepinos de mar deshidratados empacados.....	48
Figura 34. Inoculación de medios con la especie de microalga <i>Chaetoceros</i> sp., empleando el método de cultivo por lotes en cinco etapas: A. Cepas en tubos de ensayo de 15 mL; B Frascos de 100 mL; C. Matraces de 1.000 mL; D. Frascos de 4.000 mL; E. Garrafones de 19.000 mL.....	50
Figura 35. Producción de microalgas en lotes o sistemas batch sin inyección de CO ₂ del grupo GIDTA de la Universidad del Magdalena.....	51
Figura 36. Población de <i>Isochrysis</i> sp. cultivada en el Laboratorio del grupo GIDTA de la Universidad del Magdalena (40x).....	51
Figura 37. Población de <i>Tetraselmis</i> sp. cultivada en el Laboratorio del grupo GIDTA de la Universidad del Magdalena (40x).....	52
Figura 38. Población de <i>Thalassiosira</i> sp. cultivada en el Laboratorio del grupo GIDTA de la Universidad del Magdalena (40x).....	53
Figura 39. Población de <i>Nannochloropsis</i> sp. cultivada en el Laboratorio del grupo GIDTA de la Universidad del Magdalena (40x).....	53
Figura 40. <i>Chaetoceros</i> sp. cultivada en el Laboratorio del grupo GIDTA de la Universidad del Magdalena (40x).....	54
Figura 41. Acuarios de 30 L de capacidad con sus respectivos arreglos de placas de PVC empleados durante la formación de una biopelícula.....	55
Figura 42. Organización de placas de PVC con <i>biofilm microalgal</i>	55
Figura 43. Especies de diatomeas encontradas durante la formación de una biopelícula sobre placas.....	56



Lista de contenido de las Tablas

Tabla 1. Producción de huevos fertilizados de <i>Sostichopus</i> sp. en condiciones de laboratorio.....	35
Tabla 2. Caracterización de las diferentes etapas de cultivo de las microalgas cultivadas en el Laboratorio de Acuicultura de la Universidad del Magdalena. Grupo GDTA.....	56

Lista de contenido de Diagramas

Diagrama 1. Ciclo de vida del pepino de mar en condiciones de laboratorio.....	35
Diagrama 2. Diagrama de proceso para elaboración de pepinos de mar secos y seco-salados.....	45

PREFACIO

Este Manual es un producto del trabajo de investigación que se desprende del proyecto: **“Investigación: Programa de acuicultura sostenible para el departamento del Magdalena. Subproyecto 1. Fase I. Producción de semilla y Procesamiento: Desarrollo de un protocolo para la producción de pepino de mar *Isostichopus badionotus* – Grupo de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Acuicultura”**, cofinanciado por la Gobernación del Magdalena y la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad del Magdalena. Convenio 090/2014-2015.

Este Manual es fruto del trabajo de investigación desarrollado por integrantes del Grupo de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Acuicultura (GIDTA). Durante más de cuatro años, investigadoras del GIDTA hemos estudiado la biología básica, reproductiva, desove, incubación y diversos aspectos de la tecnología del cultivo de especies nativas de pepino de mar, recopilando información nunca antes evaluada. Aunque son un recurso muy valorado por sus propiedades nutricionales y medicinales en el continente asiático, donde desde hace milenios se consumen y desde hace lustros se cultivan con periodicidad y se obtienen cosechas para su consumo como alimento, producto medicinal, farmacéutico y cosmético; en nuestro país y en los países vecinos del continente suramericano, es muy poco lo que se conoce. La idea del estudio sobre este invertebrado marino surgió cuando vivía en La Guajira hace muchos años, y en el municipio de Manaure pude observar cómo numerosos pescadores artesanales extraían los pepinos de la línea costera y los ubicaban en tanques de pintura vacíos. Los animales eran cocinados rápidamente y secados al sol en los techos de hojalata de las casas aledañas a la zona. Los pescadores luego los vendían secos a los intermediarios que tenían contactos con flotas asiáticas que requerían llenar las bodegas en sus barcos para transportarlos luego a Singapur, Taiwán o China, países que ostentan los primeros lugares en cuanto a demanda del valioso producto. Evidentemente, pocas personas en nuestro país sabían de la importancia del recurso a nivel comercial y del elevado

costo que se puede llegar a pagar por un kilo de pepino de mar seco (*bêche de mer*) bien procesado (desde US1\$ hasta US\$250). Mientras allí se compra a esos precios, en nuestras costas vendíamos un kilo de este recurso a menos de un dólar. Cuando empecé a investigar sobre la especie, en internet encontré un “mar” de información relacionada con su comercialización, sus bondades como producto *gourmet*, ofrecido en lujosas fiestas y como producto medicinal, capaz de curar la artritis, disminuir los tumores, retardar el envejecimiento, entre otros. Así mismo, he visto hermosos envases de cremas y cosméticos ofrecidos en finas tiendas de belleza situadas en Corea del Sur, todos estos, productos costosos. Igualmente, es famoso como afrodisíaco. En la actualidad, aunque aún no existe una norma que proteja el recurso, su pesca y comercialización es ilegal en Colombia. No existen planes de manejo, ni se han hecho estudios que indiquen el estado de las poblaciones o si están amenazados por la sobre-explotación o la contaminación de nuestros mares. ¿Qué indica lo anterior? Que si empleamos de manera responsable nuestro recurso, podríamos crear industrias de cultivo, alimenticias, farmacéuticas o cosméticas a partir de un pequeño y extraño animal con unas propiedades estructurales y químicas extraordinarias y desafortunadamente poco conocidas y aprovechadas en nuestro país, un país increíblemente biodiverso. Pero debemos empezar por conocer su biología, las especies habitantes en nuestros mares y sus formas de reproducción. De igual manera, para producir abundante biomasa de manera sostenible debemos evaluar su comportamiento en cautiverio y sus respuestas ante las posibilidades de reproducción y producción controlada; también a futuro, podríamos emprender programas de repoblamiento, si fuera necesario. El presente trabajo muestra avances en el conocimiento básico y aplicado de algunas de las numerosas especies con que cuenta nuestro Caribe colombiano, puntualmente aquellas habitantes de la Bahía del Rodadero, en Santa Marta, con miras a entender su posible rol en la diversificación de la acuicultura marina de nuestro país.

Adriana Rodríguez Forero
Profesor Asociado
Universidad del Magdalena

¿QUÉ ES EL PEPINO DE MAR?

Adriana Rodríguez Forero, PhD



INTRODUCCIÓN

¿QUÉ ES EL PEPINO DE MAR?

Los pepinos de mar, también llamados holoturios, son invertebrados marinos, de forma tubular, que habitan la zona bentónica de los ecosistemas del mundo. Se encuentran dentro de la macrobiota más pobremente estudiada en el mundo. Pertenecen al filo equinodermata, donde también se incluyen erizos de mar, estrellas, ofiuroides, lirios y galletas de mar, entre otros. Hasta el momento, se han descrito aproximadamente 1400 especies a nivel mundial, clasificadas en 6 órdenes y 25 familias, de las cuales aproximadamente 70 tienen importancia comercial (James, 2001; Massin *et al.*, 2009; Purcell, 2010).

Son animales que presentan una forma tubular, musculosa, sin exoesqueleto aparente y sin zona oral (apertura bucal) y aboral (apertura anal) como la que poseen las estrellas o los erizos de mar. Ellos siempre van a distribuirse en el sustrato a través de su superficie ventral, llamada *trivium* y exponiendo su superficie dorsal, llamada *bivium*. Aunque exhiben simetría pentaradial a lo largo de su eje longitudinal, ya que internamente sus órganos y sistemas aparecen en un número múltiplo de 5, a su vez muestran simetría bilateral secundaria, pues externamente su cuerpo alargado da la sensación de tener un solo eje. Una de sus características más importantes es que está compuesto por un gran contenido de colágeno, lo que hace que el animal se pueda estirar o encoger fácilmente, característica que puede constituirse en sistema de defensa ante un potencial depredador (Smiley, 1988; Hamel y Mercier, 1996; Kerr, 2005) (Figura 1).

Se encuentran extensamente distribuidos desde las zonas intermareales hasta las profundidades oceánicas. Son muy lentos en su movimiento. No son selectivos en su alimento, el cual capturan de partículas en suspensión, *detritus* y algas. Desempeñan

un importante papel ecológico en los ecosistemas, habiendo sido catalogados como “bioturbinas”, al remover sedimento, reciclar el *detritus* y a su vez oxigenarlo. También son importantes para determinar la estructura del hábitat para otras especies, y pueden representar una parte sustancial de la biomasa del ecosistema.

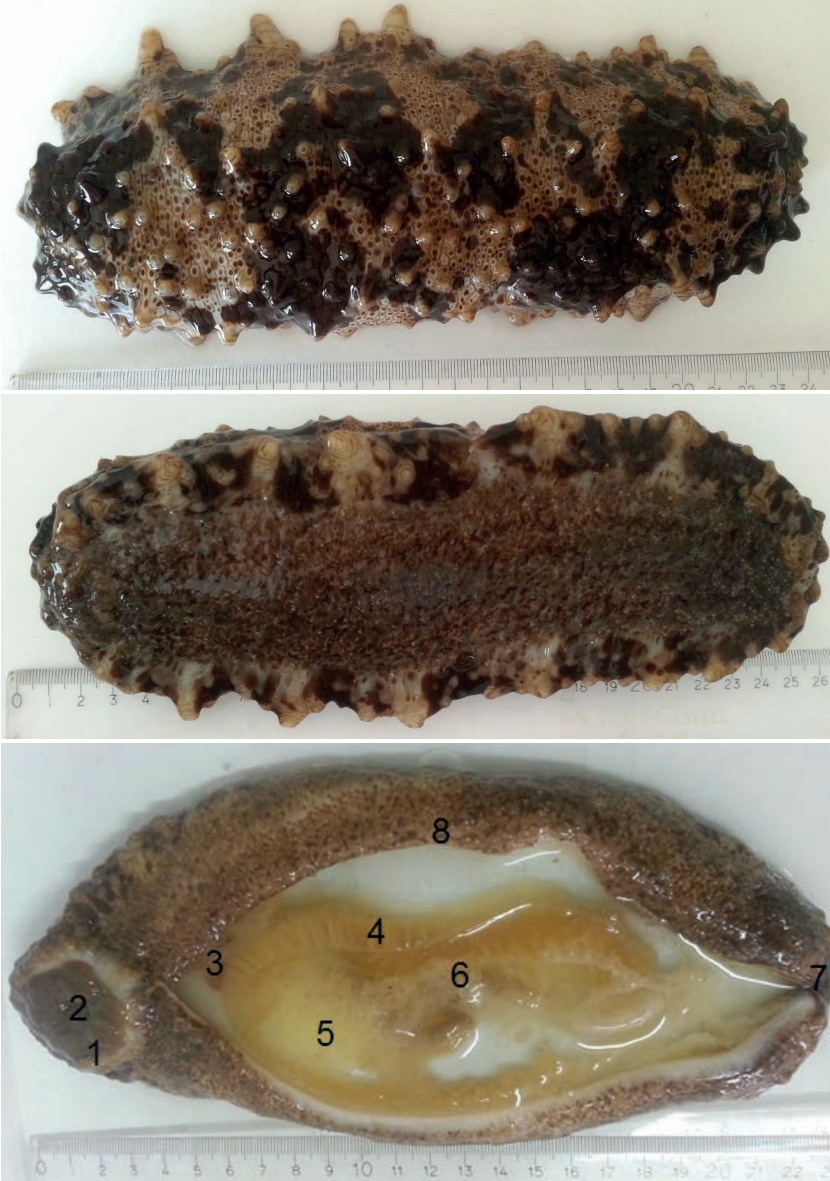


Figura 1. *Isostichopus* sp. A) Superficie dorsal (bivium); B) Superficie ventral (trivium); C) Morfología interna: 1) tentáculos; 2) orificio bucal; 3) esófago; 4) intestino; 5) gónada; 6) árbol respiratorio; 7) orificio anal; 8) pared corporal

Se reproducen por vía asexual y sexual, siendo esta última la más común y presentan sexos separados, no distinguibles a simple vista. Sus larvas tienen una vida planctónica que atraviesa diferentes estadios: auricularia (fase en la que se alimenta), doliolaria (fase lecitotrófica en la que no se alimenta) y fase pentaculata hasta desarrollarse como juvenil, donde se establece su asentamiento. En estado adulto, presentan un comportamiento bentónico. Como sistema defensivo utilizan hilos mucosos pegajosos que proyectan sobre posibles agresores para irritarlos o inhabilitarlos y algunos contienen toxinas (holoturinas). Además, como defensa contra los parásitos, sintetizan una proteína, llamada lectina, la cual inhibe su desarrollo (Sewell *et al.*, 1997; Ramos *et al.*, 2012).

Los asiáticos han comercializado el pepino de mar desde hace más de mil años como producto alimenticio por su alto valor proteico (hasta 50% de su peso húmedo), como tratamiento farmacéutico y médico por sus propiedades curativas y como afrodisíaco, considerándolo como el *ginseng* del mar. Afirman que el consumo diario del pepino evita la consulta al médico, es decir, “los mantiene saludables”. A su vez, al ser considerado un producto *gourmet*, esencialmente consumido en costosas celebraciones (bodas y año nuevo, entre otras), su valor puede oscilar entre uno o mil dólares el kilo lo cual dependerá de la especie y de la calidad del producto procesado.

El producto como alimento está libre de colesterol, presenta una alta concentración de mucopolisacáridos (para la construcción de cartílago), en especial contiene condroitin sulfato, un constituyente que tiene la habilidad de reducir los dolores articulares. Además, contiene saponinos. Estos metabolitos presentan propiedades analgésicas, antiinflamatorias, reducen los dolores debidos a la artritis y a las astralgias y en algunos casos poseen propiedades anticancerígenas, antioxidantes y antialérgicas. En años recientes estudios farmacológicos han mostrado que el pepino de mar contiene mucotina, proteína que podría retardar el envejecimiento, actuar como anti-tumoral y como agente en la coagulación de la sangre. También se ha extraído de este la CEL-III, elemento esencial para bloquear la transmisión del parásito que causa la malaria. Es por este motivo que desde el 2007, por métodos transgénicos, se intenta que los mosquitos y otros huéspedes de parásitos que producen enfermedades peligrosas para el ser humano puedan producir lectina (obtenida por trasplantes de cromosomas del pepino de mar). Está demostrado que la lectina destruye en las vísceras del posible huésped los oocinetos de parásitos microscópicos como los que provocan la malaria.

Su principal forma de comercialización es en presentación seca, a menudo llamada “*bêche-de-mer*”, “*tre pang*” o “*hǎishēn*”, siendo China uno de los países con mayor demanda de este producto. También ha sido incorporado como jugo, sopa y en la industria cosmética como aceites balsámicos, geles, lociones, cremas y jabones faciales. Su comercialización como alimento depende de la calidad de su carne, lo que a su vez depende de su abundancia, su apariencia, textura, olor, color, grosor de la pared del cuerpo y la demanda del mercado mundial. Una vez procesados

y según el plato y la ocasión durante la cual se sirve, al producto se le adjudican diferentes precios. Como se sabe, luego de capturados, los pepinos de mar son eviscerados, hervidos y secados o en algunos casos tostados y los productos son conservados a través de secado, ahumado o de su congelación. A partir de la experiencia de los pescadores nativos del Caribe colombiano, los compradores prefieren comercializar las especies pequeñas (del género *Isostichopus*), pues estas tienen una piel gruesa que valoran mucho mejor en los mercados asiáticos.

Según los datos de la FAO (2012), el comercio internacional aumentó dramáticamente en los años ochenta, alcanzando un volumen global de 10.000 toneladas anuales de pepino de mar seco, haciendo preocupante la recuperación del recurso natural. Se ha encontrado que las poblaciones naturales han disminuido en cantidad debido a la sobre-explotación, e incluso ha habido un decrecimiento en la talla promedio de captura, situación que ha sido más dramática con las especies que presentan mayor valor comercial. Se calcula que existen aproximadamente 400 especies en peligro de extinción, habiendo sido incluidas en la lista roja de la IUCN al menos 16: 9 fueron catalogadas como vulnerables y 7 en peligro. Sin embargo, la explotación ha beneficiado a las comunidades costeras que exportan más de US\$100 millones de “*bêche-de-mer*”, con una producción global de 25.000Tm (Fish stat). Los principales países importadores en el ámbito mundial son Singapur, Taiwán, Malasia, Corea del Sur y China (Conand y Byrne, 1994; Conand, 2006; Toral-Granda *et al.*, 2008).

La necesidad de cubrir las demandas propiciadas por el mercado asiático para la consecución de mayores cantidades de este recurso ha propiciado el impulso del cultivo del pepino de mar como alternativa para restaurar las poblaciones naturales, para ampliar su consumo y disminuir la extracción pesquera. En el ámbito mundial esta práctica se realiza en China, India, Japón, Madagascar, México, Ecuador y Chile, entre otros. Los pepinos de mar en Colombia, en la actualidad, son catalogados como especies hidrobiológicas, por lo cual, éstos no pueden ser comercializados o aprovechados en los mercados nacionales o internacionales. No están protegidos, no existen vedas sobre las numerosas especies, ni regulación clara y existen grandes vacíos de conocimiento sobre la gran variedad de especies que habitan los mares de Colombia. En la actualidad, el Grupo de Investigación y Desarrollo Tecnológico, apoyado por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad del Magdalena, ha venido trabajando en la construcción del paquete tecnológico del cultivo y a través de este Manual, se muestran algunos de los avances obtenidos hasta el momento.

DESCRIPCIÓN GENERAL DE LAS ESPECIES

Ing. Wensy Odalis Vergara Hernández



HOLOTÚRIDOS

El *phylum* Echinodermata comprende aproximadamente 7.000 especies y se encuentra dividido en 5 clases: Asteroidea (estrellas de mar), Ofiuroides (estrellas quebradizas), Equinoidea (erizos de mar), Crinoidea (lirios y plumas de mar) y Holothuroidea (pepinos de mar).

Se clasifican así:

Phylum: Echinodermata

Clase: Holothuridea

Orden: Aspidochiroidea (Grube, 1840)

Familia: Stichopodidae (Haeckel, 1896)

DESCRIPCIÓN GENERAL DE LAS ESPECIES

Clasificación Taxonómica

Clase: Holothuridea

Orden: Aspidochirotida (Grube, 1840)

Familia: Stichopodidae (Haeckel, 1896)

Género: *Isostichopus* (Deichmann, 1958)

Isostichopus badionotus Morfotipo I (Selenka, 1867). Su distribución comprende desde el Atlántico Oriental hasta Brasil con un rango batimétrico entre los 0 y 70 m de profundidad. Habitan fondos arenosos o fangosos, entre corales y rocas (Hendler *et al.*, 1995; Pérez-Ruzafa *et al.*, 2003, Vergara & Rodríguez, 2015).

A nivel morfológico presentan un cuerpo macizo, fusiforme, robusto y verrugoso de coloración variable que va desde beige, pasando por tonos naranja hasta café, con pequeñas manchas irregulares negras o café que ocupan la base de las papilas a lo largo de la superficie dorsal o *bivium*. Por estas manchas café, son mundialmente conocidos como pepinos de chocolate o “*chocolate chips cucumber*” (Hendler *et al.*, 1995; Caycedo, 1978). Ventralmente se encuentran las podias o pies ambulacrales, las cuales se distribuyen en tres hileras. A lo largo de su cuerpo poseen diminutas espículas en forma de S, C, torres, tablas y bastones (Figuras 2 y 3).

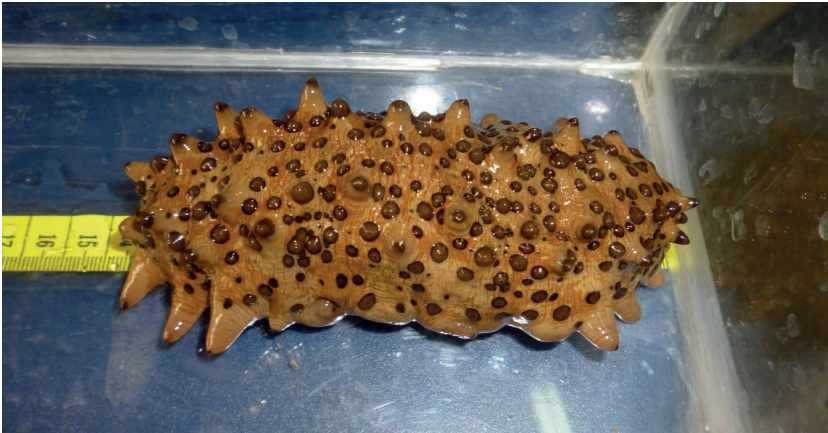


Figura 2. Juvenil de *Isostichopus badionotus* Morfotipo I

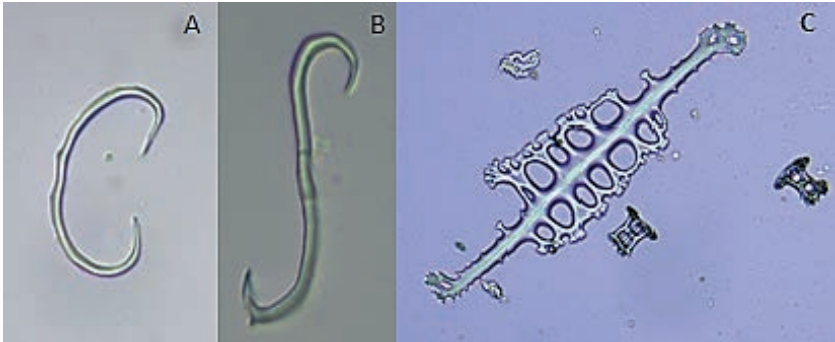


Figura 3. Espículas observadas en la piel de *I. badionotus*. A) C; B) S y C) bastón

Clasificación Taxonómica

Clase: Holothuridea

Orden: Aspidochirotida (Grube, 1840)

Familia: Stichopodidae (Haeckel, 1896)

Género: *Stichopus* (Brandt, 1835)

***Isostichopus badionotus* Morfotipo II.** (Selenka, 1867).

Presenta un cuerpo robusto de color variable, con tonos que van desde el beige, el marrón o verde hasta el mostaza-amarillo y al verde-anaranjado-marrón. Su tamaño es grande comparado con *Isostichopus* sp. e *Isostichopus badionotus* Morfotipo I y su región dorsal o *bivium* es cóncava y su región ventral o *trivium* es plana. Posee numerosas papilas negras con base café y terminaciones amarillas sobre la piel del *bivium*, mientras que su margen ventro-lateral está desprovista de papilas. En su *trivium* se encuentran numerosas podias utilizadas para reptar, las cuales son de coloración café oscuro y están dispuestas en tres filas longitudinales, siendo la del medio más gruesa que las ubicadas en posición lateral (Figura 4).

La boca es ventral y posee 16 a 20 tentáculos; el ano es terminal y no presenta dientes, ni papilas. Contienen espículas en forma de bastones curvos, tablas perforadas, C, y rosetas en la pared dorsal del cuerpo, podias y tentáculos (Figura 5).

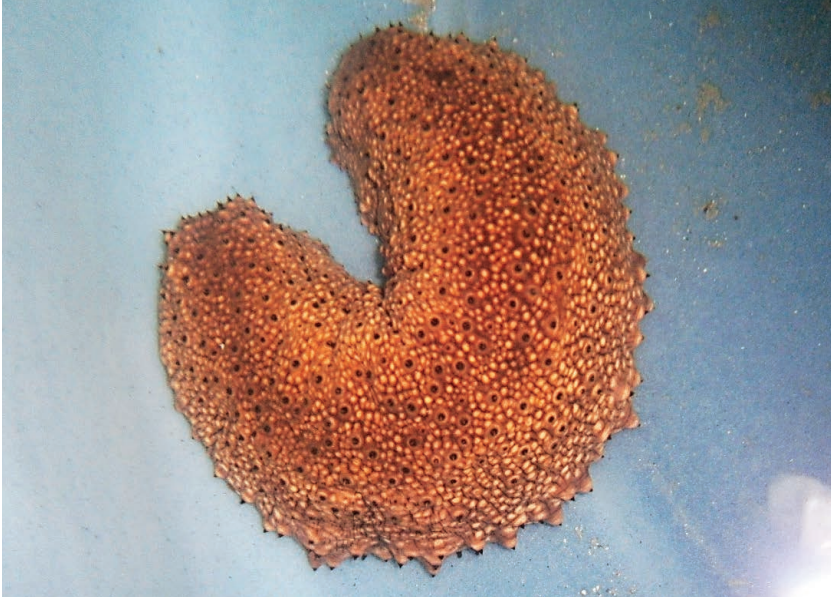


Figura 4. Vista dorsal de individuos de *Isostichopus badionotus* Morfotipo II

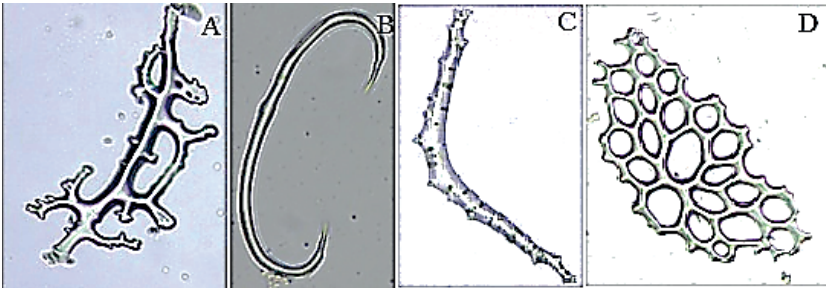


Figura 5. Espículas en piel, tentáculos y podias de *Isostichopus badionotus* Morfotipo II. A) Roseta; B) C; C) Bastón; D) Tabla perforada

Clasificación Taxonómica

Clase: Holothuridea

Orden: Aspidochirotida (Grube, 1840)

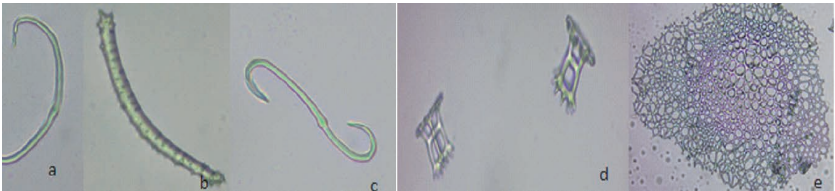
Familia: Stichopodidae (Haeckel, 1896)

Género: *Isostichopus* (Deichmann, 1958)

***Isostichopus* sp.** En la actualidad no está reportado para Colombia (la confirmación de su presencia en el país se está realizando mediante pruebas genéticas en la Universidad del Magdalena, a través del Grupo GIDTA). Habita en fondos rocosos y entre grietas (Figura 6).

Figura 6. Vista dorsal de *Isostichopus* sp.

Tiene un marcado comportamiento nocturno, permaneciendo oculto la mayor parte del día en grietas y saliendo de estas en la noche para alimentarse. Morfológicamente presenta un cuerpo cubierto en su región dorsal por manchas irregulares y grandes y abundantes pínulas contráctiles ubicadas esencialmente a lo largo de los ambulacros dorsales y del margen ventro-lateral del cuerpo. En su *trivium* muestra tres hileras de podias de color beige. Al ser más gruesa la fila central da la apariencia engañosa de tener cuatro filas de podias. Su color es variable desde café oscuro hasta naranja (Figura 7).

Figura 7. Espículas de *Isostichopus* sp.

CAPTURA, TRANSPORTE Y ACLIMATACIÓN

Ing. MSc Wensy Odalis Vergara Hernández
Adriana Rodríguez Forero, PhD



CAPTURA Y TRANSPORTE DE PEPINOS DE MAR

Captura

Los pepinos de mar, dependiendo de la especie y de sus hábitos de vida, pueden ser capturados en arrecifes de coral, bancos de pastos marinos y en fondos arenosos o rocosos (Figura 8). Aquellos que habitan zonas someras son de fácil captura, debido a su carácter léntico y de escaso movimiento y porque éstos animales no tienen mecanismos de defensa que les permita escapar rápidamente de sus depredadores, entre ellos el hombre.

La extracción para especies habitantes de zonas someras, que son las especies que se muestran durante la exposición de este manual, se realiza entre 2 a 15m, mediante buceo autónomo y de forma manual para evitar su maltrato o lesiones en su piel. Para ello, el pescador emplea un equipo de buceo básico que consiste en careta, *snorkel* y aletas. Los pescadores expertos saben cómo capturar a los pepinos, debido a que éstos dejan una huella con sus heces, las cuales indican su presencia en las zonas monitoreadas (Figura 8).



Figura 8. Pepino de mar ubicado en su hábitat e identificado por las huellas (heces)

Transporte

Mientras se procede a su traslado, los pepinos de mar son mantenidos dentro del agua de mar en bolsas plásticas agujereadas para permitir su oxigenación y disminuir las pérdidas debidas al estrés, las cuales les ocasionan evisceraciones, ulceraciones o muerte.

Los animales son transportados en recipientes plásticos de 40l hasta el lugar de cultivo (Figura 9). Durante el proceso no requieren suministro de aireación para trayectos cortos de 30 a 120 minutos. Su transporte se puede hacer con o sin agua de mar. Cuando se transportan con agua de mar, debe haber una proporción de 70%:30% entre el agua de mar y los animales capturados y la temperatura debe mantenerse en un rango de 28°C hasta máximo 31°C. Mientras que cuando se transportan sin agua, el fondo del tanque debe estar cubierto con una toalla o paño bien humedecido (Figura 10). Ambos tipos de transporte son adecuados y permiten la sobrevivencia del 100% de los animales provenientes del medio natural.



Figura 9. A) Colecta en costales y selección; B) Transporte en recipientes plásticos hasta el centro de cultivo



Figura 10. A) Transporte con agua de mar; B) Transporte en húmedo

Aclimatación

El mantenimiento, crecimiento, desarrollo y funcionamiento metabólico de los pepinos de mar está influenciado por una buena aclimatación. Los pepinos de mar son organismos muy sensibles a cambios fisicoquímicos, por tanto, su bienestar está influenciado por la calidad del agua.

A su llegada al lugar del cultivo deben ser sometidos a un tratamiento profiláctico para eliminar la fauna acompañante y futuros patógenos en el sistema de cultivo (Figura 11). Este consiste en baños rápidos con agua dulce. Luego de un par de horas en los tanques, llenados con agua de mar, temperatura de entre 25 a 27°C y aireados constantemente, los individuos depositan las heces, y estas deben ser rápidamente retiradas mediante sifoneo para evitar la contaminación del medio y mantener al máximo las condiciones de calidad del cultivo.



Figura 11. Baño con chorro de agua dulce a los pepinos, luego de su llegada al sitio de cultivo

Para su aclimatación se hace necesario conocer los parámetros fisicoquímicos del agua del sitio de cultivo (temperatura, salinidad, oxígeno y pH). El registro de estos se realiza diariamente mediante un equipo monoparamétrico (Figura 12).



Figura 12. A) Toma de muestras de agua; B) Registro de los parámetros fisicoquímicos

Mantenimiento en laboratorio

Es necesario conocer la especie y su comportamiento. Diariamente se debe revisar cada uno de los tanques de cultivo, cerciorándose que los animales tienen buena apariencia, se alimentan, no presentan ulceraciones o evisceraciones.

Para el engorde de los animales y el mantenimiento de reproductores de pepino de mar se utilizan tanques de 250l y 550l con agua de mar microfiltrada e irradiada con luz ultravioleta (UV), y en los tanques debe haber aireación constante. Diariamente se recambia el 20% del agua del cultivo (Figura 13).



Figura 13. A) Sistema de tanques de cultivo de 250l; B) Pepinos de mar en tanques de 550l

Diariamente se retiran las heces de los tanques con una manguera de plástico de PVC. El sifoneo se realiza para evitar la putrefacción del material fecal y de los restos de alimento que no fueron consumidos. Si existen animales muertos, éstos deben ser retirados del tanque de cultivo. El no hacerlo puede implicar la muerte para los organismos vivos que se encuentran en el mismo recipiente (Figura 14).

Los individuos ulcerados deben ser retirados y confinados en tanques.

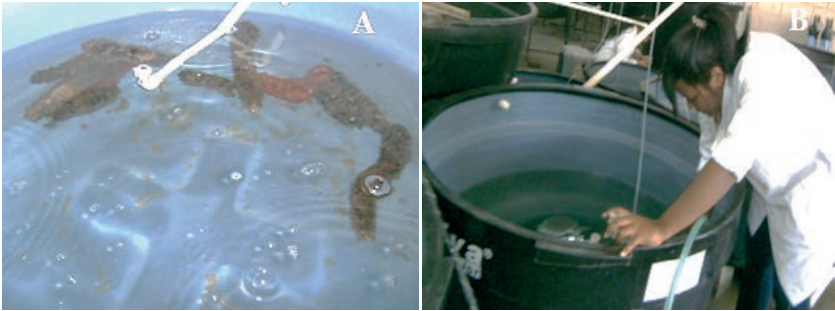


Figura 14. A) Presencia de heces en los tanques; B) Sifoneo de las heces

Preparación de dietas y alimentación

Los hábitos alimenticios son la base más importante para desarrollar las técnicas de cultivo de cualquier especie y en este caso, del pepino de mar. Actualmente en todo el mundo se desarrollan estudios sobre los requerimientos nutricionales, ingredientes y ecología de la alimentación de varias especies de pepinos de mar. Los estudios realizados sobre los requerimientos e ingredientes utilizados (Pawson, 1966; Bakus, 1973; Massin, 1982), sugieren que la suplementación con material bentónico en la dieta puede ser benéfica debido a que es una de sus fuentes de alimentación más importante en condiciones naturales.

Teniendo en cuenta que los pepinos de mar son procesadores de sedimento marino, se deben preparar dietas para su mantenimiento en el laboratorio con el fin de brindar las condiciones óptimas a los individuos.

Para la preparación de las dietas se colecta sedimento marino del medio natural, el cual se somete a un proceso de limpieza que consiste en lavarlo con agua dulce y secarlo al sol. Luego del secado este es cernido con el fin de separar las partículas de mayor tamaño (Figura 15).



Figura 15. Filtración y secado al sol del sedimento marino

Para la elaboración de dietas se utiliza una mezcla de sedimento marino con material vegetal en polvo (macroalgas y microalgas), agregándole una premezcla de minerales y vitaminas (Figura 16).



Figura 16. A) Sedimento marino; B) Macroalgas; C) Microalgas

Las dietas son suministradas cada dos días en bandejas plásticas rectangulares. En cada una depositan 300g. del alimento, cantidad que va a depender de la densidad de animales que se encuentren dentro del cultivo (Figura 17). Las bandejas son retiradas luego de dos o tres días con el fin de evitar que el alimento se pudra dentro del tanque de cultivo. Posteriormente, los restos de alimento son desechados y cada bandeja es incluida en agua con cloro para su desinfección:

Dieta prueba 1: Materia Orgánica + *Algamac* + Mezcla mineral + mezcla vitaminas

Dieta prueba 2: Materia Orgánica + *Spirulina* en polvo + Mezcla mineral + mezcla vitaminas

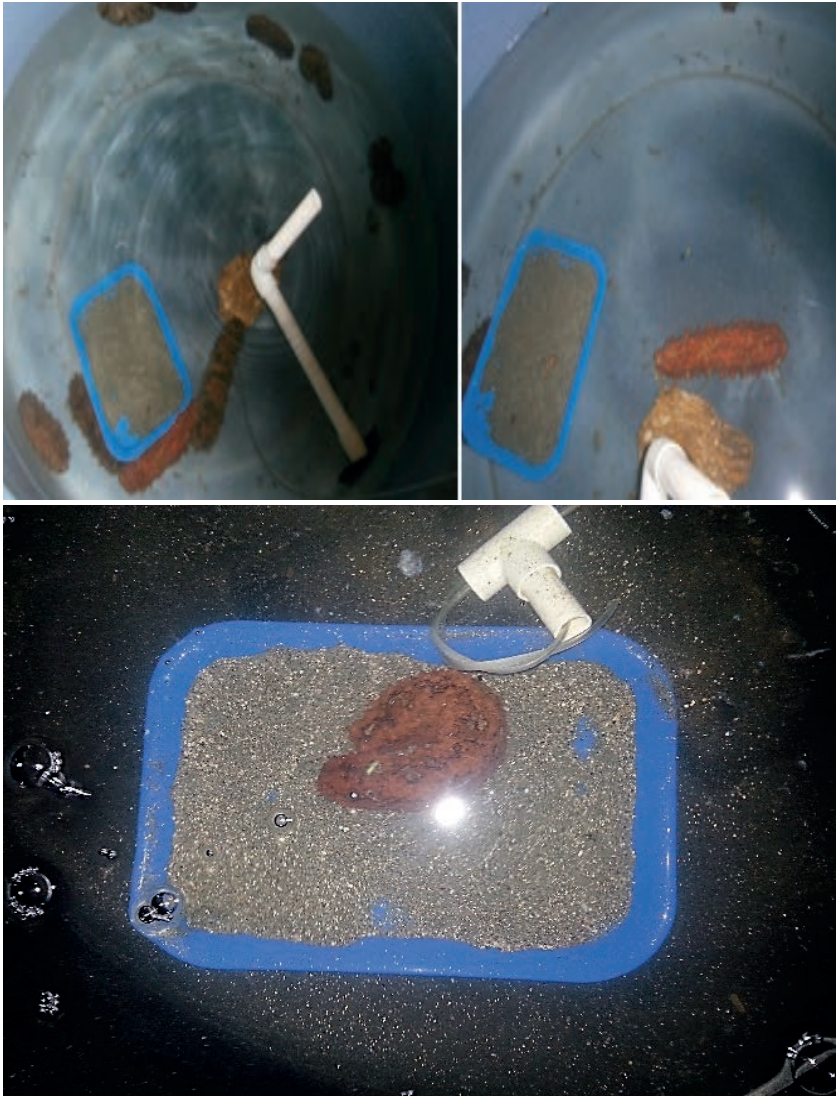


Figura 17. Bandejas con las dietas en los tanques de cultivos

REPRODUCCIÓN

Ing. MSc. Vianys Agudelo Martínez



REPRODUCTORES

La selección de los reproductores debe realizarse teniendo en cuenta el tamaño y época del año. Pese a que se presume que los pepinos de mar tropicales están maduros o aptos para la reproducción durante todo el año, en realidad algunas de las especies existentes en el Caribe colombiano como *Isostichopus sp.*, presentan un ciclo reproductivo anual con una época de desove de cuatro meses durante el segundo periodo de lluvias en esta región.

En general en nuestra zona, los reproductores son muy sensibles a los cambios de temperatura y pH. Durante el acondicionamiento en el laboratorio muestran preferencia a una temperatura promedio de 26°C, pero cuando este parámetro se

incrementa, durante periodos superiores a dos horas se observan modificaciones en su comportamiento y en muchos casos se induce a la evisceración, situación que se debe evitar.

La aclimatación y mantenimiento se puede realizar en tanques plásticos de 550l a razón de 15-20 individuos por tanque. A su vez, la alimentación es uno de los factores indispensables para la reproducción debido a que si existen periodos de ayuno o inanición los individuos inician el proceso de reabsorción de los órganos internos, empezando por las gónadas, lo cual imposibilita los desoves. El suministro de alimento se realiza transcurridos ocho días de la llegada al lugar del cultivo.

INDUCCIÓN AL DESOVE

El conocimiento adquirido sobre las variables ambientales y su interacción con la fisiología reproductiva de los pepinos de mar, ha permitido la implementación de métodos sencillos que simulan las condiciones naturales y optimizan la producción en laboratorio de las diferentes especies de pepinos de mar:

Método de inducción	Citado por:
Estimulación térmica	Tanaka, 1958; Smiley <i>et al.</i> , 1991; Yanagisawa, 1998; Morgan, 2000; Costelloe 1985; Laxminarayana, 2005; Agudo, 2006; Dabbagh y Sedaghat, 2012; James <i>et al.</i> , 1994
Sobredosificación de alimento	Smiley <i>et al.</i> , 1991; Agudo, 2006
Desecación y un chorro de agua fuerte	Laxminarayana, 2005; Agudo, 2006
Estimulación térmica + alimento	Guisado <i>et al.</i> , 2012
Espermiación	Agudo, 2006
Estimulación química (Extracto neural de otros equinodermos como estrellas de mar)	James <i>et al.</i> , 1994; Mercier & Hamel, 2009; Léonet <i>et al.</i> , 2009; Fujiwara <i>et al.</i> , 2010

En la actualidad, los desoves espontáneos en condiciones controladas han sido exitosos en muchos casos; además de estos, también se han implementado otros métodos para la obtención de huevos por medio de inducción con hormonas, inclusión de químicos en el agua, cambio de fotoperíodo, suministro de *blooms* alimenticios y choques térmicos (Tanaka, 1958; Ong Che y Gómez, 1985; Conand y Byrne, 1993; Hamel *et al.*, 1993; Morgan, 2000; Ramofafia *et al.*, 2000; Hamel y Mercier, 2004; Fajardo-León *et al.*, 2008).

Por otro lado, la influencia de las fases lunares es otro factor que se debe tener en cuenta cuando se quiere mejorar los procesos de desove al interior del cultivo. Así, es necesario tener en cuenta el calendario lunar, para asegurar los desoves en

condiciones controladas. La única experiencia reproductiva registrada en Colombia hasta la fecha (Agudelo y Rodríguez, 2015), sugiere que una de las especies de pepino de mar presente en el país está influenciada por la fase lunar, mientras los choques térmicos, *blooms* alimenticios o inducciones químicas no generan ningún efecto (Tabla1).

COLECTA DE HUEVOS

En condiciones de cultivo, los desoves naturales son frecuentes en la época de reproducción de las especies. Por tal motivo, debe tenerse en cuenta este factor biológico con el fin de monitorear en los periodos pico, los posibles desoves, que se dan a partir de la espermiación y de la expulsión de las ovas por parte de los machos y hembras, respectivamente, y su posterior fecundación en la columna de agua. Existen ciertas características en cuanto a cambios morfológicos y de comportamiento de los animales, justo unos días u horas antes del desove, que sólo son conocidos por quienes están a cargo del cultivo y tienen experiencia en la reproducción de estos equinodermos.

Para verificar la presencia de desoves naturales en el sistema de cultivo es necesario tomar una muestra con un recipiente de vidrio (*beaker* o vaso de precipitado), que permita identificar la distribución de los huevos, debido a que una vez éstos son fertilizados, son flotantes y se mantienen en la columna de agua durante la división y posterior metamorfosis; solo los huevos no fertilizados o deteriorados se van al fondo en donde inician su descomposición.

Una vez detectado el desove, se inicia el suave y lento sifoneo o captura de los huevos fertilizados desde el tanque de cultivo. Éstos son filtrados en un tamiz de 60 micras. Se debe cuidar que no haya excesiva manipulación y que éstos no sufran fricción o estrés mientras son trasladados a una incubadora. Luego de ser filtrados se lavan con un flujo suave de agua de mar filtrada, con el fin de eliminar el exceso de esperma y la suciedad (Figura 17).

Durante el periodo inicial es necesario tomar muestras de los huevos cada treinta minutos hasta completar dos horas de vida, con el fin de corroborar el avance de la división celular y la viabilidad de los cigotos, porque se pueden registrar algunos problemas durante la fecundación por poliespermia, causando atresia y altas mortalidades durante el desarrollo larval.

Los huevos colectados son trasladados hasta a incubadora llenada con agua de mar filtrada y esterilizada con un volumen específico; enseguida se toman cinco submuestras de 1 ml y se cuentan al microscopio en una cámara *Bogorov* para estimar la densidad (Figura 18).

A

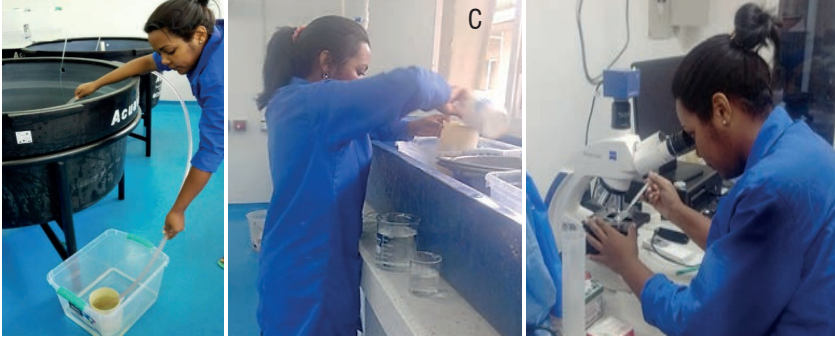


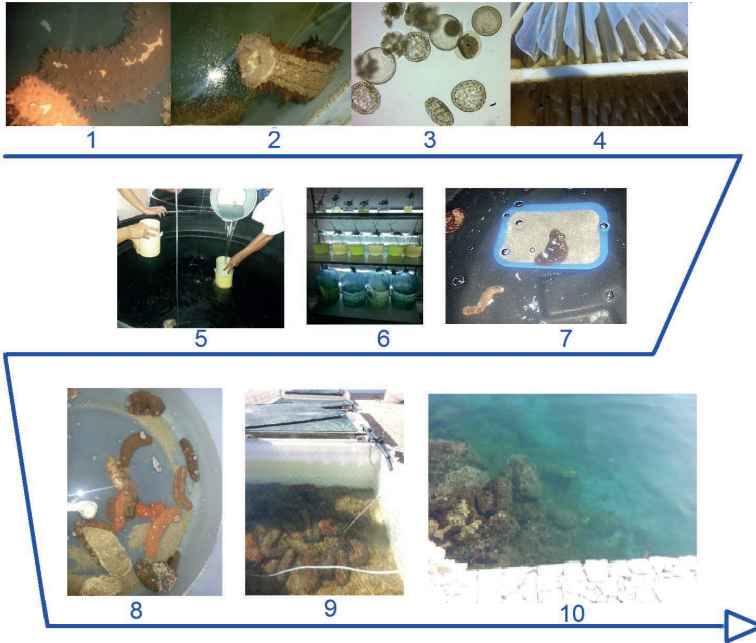
Figura 18. A) Colecta y filtrado de huevos fertilizados, mediante sifoneo con una malla de 60 μm ; B) Lavado y recambio de agua; C) Conteo de huevos fertilizados

DESARROLLO EMBRIONARIO Y LARVAL

Algunas especies de pepino de mar presentan un desarrollo larval directo, es decir que posterior al desarrollo embrionario se genera una larva competente que no requiere de alimentación; pero en el caso particular de las especies pertenecientes al orden Aspirochirotida, se obtienen larvas primarias que requieren de alimentación con el fin de realizar la metamorfosis y acumular reservas lipídicas que serán aprovechadas durante su fase competente (Diagrama 1).

Desarrollo oocitario








Una vez ocurre la fertilización se observa el ovocito fecundado, el cual presenta un tamaño promedio de $154.9 \pm 11.38 \mu\text{m}$, este ovocito es translúcido, de forma redonda y muestra un borde bien definido en su periferia (Figura 19). Luego se presenta la blástula en la que se observan rastros de la segmentación del ovocito. La célula aún presenta forma redondeada y un tamaño promedio de $283.42 \pm 11.02 \mu\text{m}$. Se aprecian algunas segmentaciones y se observa una leve invaginación en el polo animal (Figura 20). En el estado de gástrula el cigoto adquiere una forma ovoide y la invaginación del polo animal es más prominente. Inicialmente esta invaginación es lisa y muy similar al borde del cigoto, pero con el transcurrir del tiempo se proyecta con diferentes ramificaciones al interior del cigoto, constituyendo un tracto rudimentario para el estado larval inicial. Su tamaño promedio es de $315.55 \pm 19.9 \mu\text{m}$ (Figura 21).



1) Reproductores; 2) Desove; 3) Incubación; 4) Asentamiento larvario; 5) Sifoneo y limpieza de ovas; 6) Alimentación para larvas, juveniles y adultos; 7) Alimentación para larvas, juveniles y adultos; 8) Cultivo en tanques en interior; 9) Cultivo en tanques al aire libre y 10) Pastoreo en el mar ("Ranching")

Diagrama 1. Ciclo de vida del pepino de mar en condiciones de laboratorio

Tabla 1. Producción de huevos fertilizados de *Isostichopus* sp. en condiciones de laboratorio

Fase Lunar	Fecha de desove	Huevos fertilizados x 10 ⁶
 Cuarto menguante	Jul-10-2012	1,2
 Nueva	Ago-20-2012	4
 Nueva	Sep-17 -2012	12,3
	Sep-18 -2012	2,1
	Sep-20 -2012	3,3
 Menguante	Oct-10-2012	5,3
 Nueva	Ago- 6 - 2013	2,4
	Ago- 7 - 2013	1,5
	Ago- 8 - 2013	1,7
	Ago- 9 - 2013	1,8
 Nueva	Sep-5-2013	2,1
	Sep-6-2013	1,8
	Sep-7-2013	3,2
 Nueva	Oct-5-2013	3
	Oct-6-2013	1,2
	Oct-7-2013	1,5
TOTAL		48,4

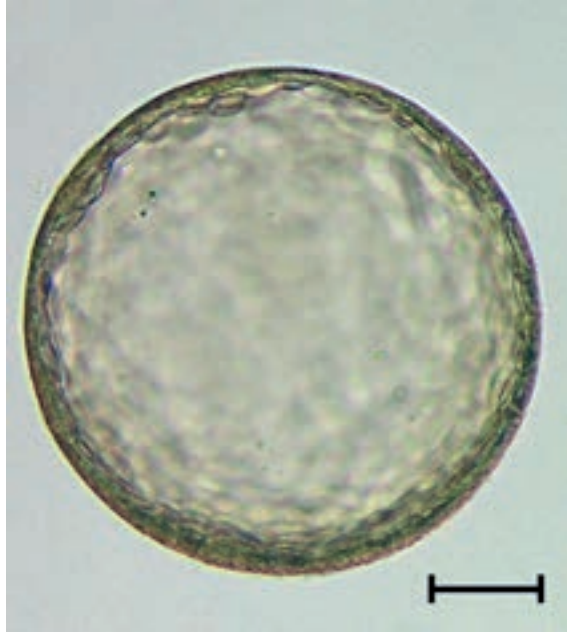


Figura 19. Ovocito fecundado



Figura 20. Blástula donde se observan segmentaciones y una leve invaginación en el polo animal



Figura 21. Estado de gástrula

Desarrollo larval

El estado larval inicial es conocido como auricularia; este estado se ha dividido en tres fases teniendo en cuenta su desarrollo (temprana, media y tardía). Una vez se observa el estado de auricularia temprana se inicia el suministro de alimento.

La larva auricularia temprana es caracterizada por su forma alargada y por la presencia de un pliegue medio a cada lado. En ellas se aprecia claramente un tracto digestivo en desarrollo, diferenciando la boca, el estómago y el intestino. En la parte superior presenta una forma de campana que finaliza en los pliegues laterales, mientras que hacia la parte inferior es plana, presentando en sus extremos dos puntos oscuros los cuales son las primeras espículas. Esta larva tiene un tamaño promedio de $453.85 \pm 13.62 \mu\text{m}$ (Figura 22). Continuando con el desarrollo, se observa que la larva extiende su tamaño y de esta forma aumentan los pliegues laterales y el tracto es más extenso. Su tamaño es de $673.42 \pm 54.18 \mu\text{m}$ (Figura 23). La metamorfosis larval continúa hasta tener una larva de mayor tamaño con tres pliegues laterales bien definidos. Se observa la aparición del axohidrocele (futuro celoma) y la presencia de las gotas lipídicas en cada uno de los pliegues laterales y en la base anterior y posterior de las larvas. De esta manera se identifica una auricularia tardía con un tamaño promedio de $888.79 \pm 106.71 \mu\text{m}$ (Figura 24).



Figura 22. Auricularia temprana



Figura 23. Auricularia media

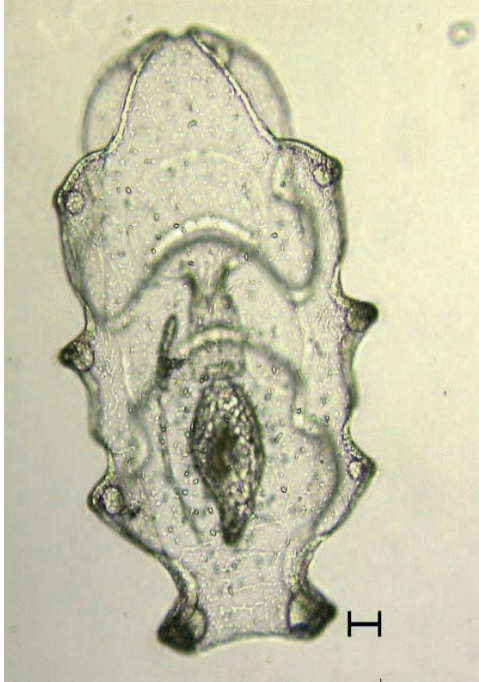


Figura 24. Auricularia tardía

ALIMENTACIÓN Y MANTENIMIENTO LARVAL

La alimentación larval debe iniciarse luego de 24 horas de observar las primeras auricularias tempranas. Durante esta etapa es indispensable garantizar una óptima calidad y cantidad de alimento. Al momento de iniciar la alimentación se sugiere utilizar una densidad de 20000 cel/ml y aumentar esta cantidad de manera secuencial hasta obtener larvas auricularias tardías con una tasa de alimentación de 50000 cel/ml. Es necesario examinar el contenido del intestino de las larvas a fin de corroborar la ingesta del alimento suministrado. Es recomendable utilizar una mezcla de microalgas, que usar una sola especie.

Para el desarrollo de larvas de *Isostichopus* sp. el uso de una dieta adecuada a base de *Isochrysis galbana*, *Pavlova*, *Tetraselmis*, *Chaetoceros calcitrans*, *Thalassiosira weissflogii* y *Thalassiosira pseudonana*, mejora los porcentajes de supervivencia y la tasa de metamorfosis; mientras que para otras especies como *Holothuria scabra* se recomienda el uso de *Chaetoceros muelleri* y *Rhodomonas salina*, en partes iguales o *I. galbana* suministrada durante los primeros días y cuatro o cinco días más tarde, mezclada con *Chaetoceros* sp. (auricularia temprana=20000 cel/ml; auricularia media=40000 cel/ml y auricularia tardía=50000 cel/ml):

- 1 = 0.5 larvas/ml + *Tetraselmis* sp
- 2 = 0.25 larvas/ml + *Tetraselmis* sp
- 3 = 0.5 larvas/ml + *Chaetoceros calcitrans*
- 4 = 0.25 larvas/ml + *Chaetoceros calcitrans*

Por otro lado, la calidad del agua es uno de los factores más importantes durante esta etapa, por lo que se debe realizar un permanente recambio de la misma para asegurar las condiciones del cultivo. Por lo general, el cultivo larval se maneja en sistemas abiertos con flujo de agua constante y permanente, pero en algunas ocasiones la implementación de sistemas de recirculación cerrados es útil cuando se realiza un recambio diario durante el estadio de auricularia temprana y cada dos días durante auricularia media y tardía.

LARVA DOLIOLARIA, INICIO DEL ASENTAMIENTO

La larva doliolaria inicia el proceso de asentamiento con la pérdida de los cilios que están presentes desde el inicio de su desarrollo embrionario, en su periferia. Esto causa que se le dificulte el nado y trate de adherirse a un sustrato. En ese momento se evidencia la presencia de tentáculos bucales y espículas en la dermis y la finalización de la metamorfosis, pues en este estado aparecen los podios ambulacrales (Figura 25).

En esta etapa es necesario utilizar un sustrato favorable que promueva el asentamiento y la metamorfosis en una larva pentacula. Tradicionalmente se han utilizado placas de PVC lisas o currugadas, enriquecidas con *bioflim* microalgales (diatomeas), pero la implementación de medios adicionales, como Algamac 2000 y hojas de pasto marino, ayudan a optimizar este proceso. En caso de no proporcionar las condiciones adecuadas, la larva doliolaria se mantiene nadando en la columna de agua por tiempo indefinido. Durante el periodo de asentamiento se sugiere cubrir los tanques con el fin de limitar la iluminación, porque las larvas doliolarias tienen fototropismo positivo y se mantienen en la superficie, retardando el asentamiento.

DESARROLLO DE JUVENILES

El aumento de tamaño y desarrollo de los podios, tentáculos y papilas dorsales dan origen a los juveniles. Durante la etapa se alimentan utilizando una mezcla de Algamac 2000, microalgas concentradas, pasto marino y sedimento fino. El aprovechamiento de la dieta contribuye al crecimiento de los individuos y genera que estos adopten características de los adultos (Figura 26). Los animales pueden crecer a un tamaño de aproximadamente 8 cm de longitud en 3.5 meses y se han mostrado tasas de supervivencia de los juveniles entre el 30 y el 50%.

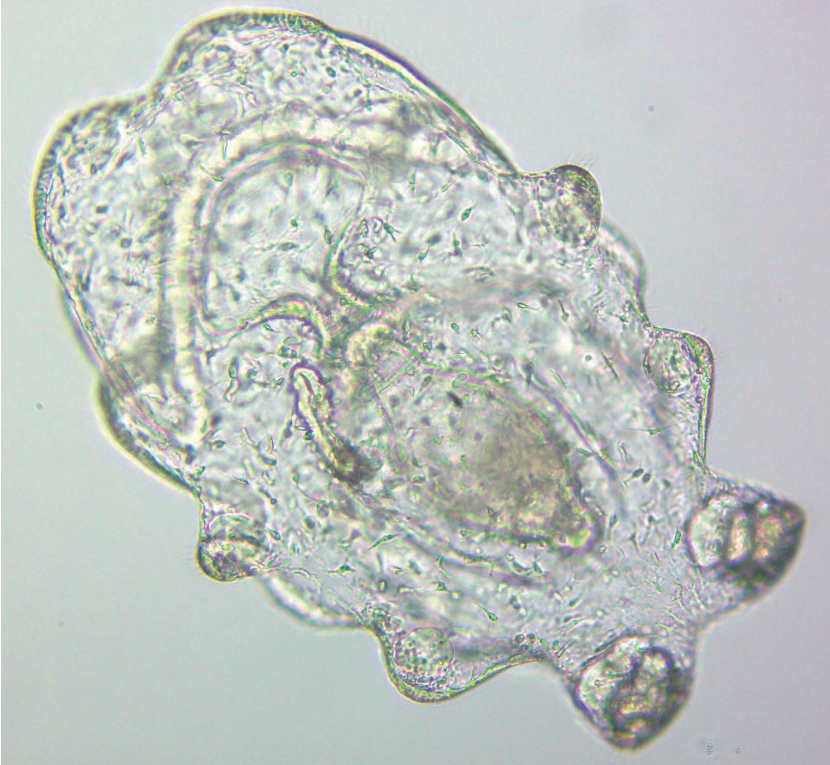


Figura 25. Larva doliolaria obtenida en el Laboratorio de Acuicultura del Grupo GIDTA

ENGORDE EN CORRALES O PASTOREO

El engorde de juveniles es una actividad que se realiza para el obtener las tallas comerciales, por lo que en ese momento se debe proporcionar una alimentación óptima. El pastoreo de pepinos de mar se ha implementado en los países en los cuales ya se tiene todo el paquete tecnológico de producción, como Japón y Australia, entre otros. La experiencia que se ha desarrollado en este tema a través de diversos estudios sugiere que el tipo de sustrato y la zona de siembra son muy importantes en la supervivencia de los juveniles liberados, ya que necesitan protección de los depredadores, esencialmente jaibas y requieren una gran cantidad de alimento natural (Figura 27).



Figura 26. Juveniles de *Isostichopus badionotus* en tanques de engorde

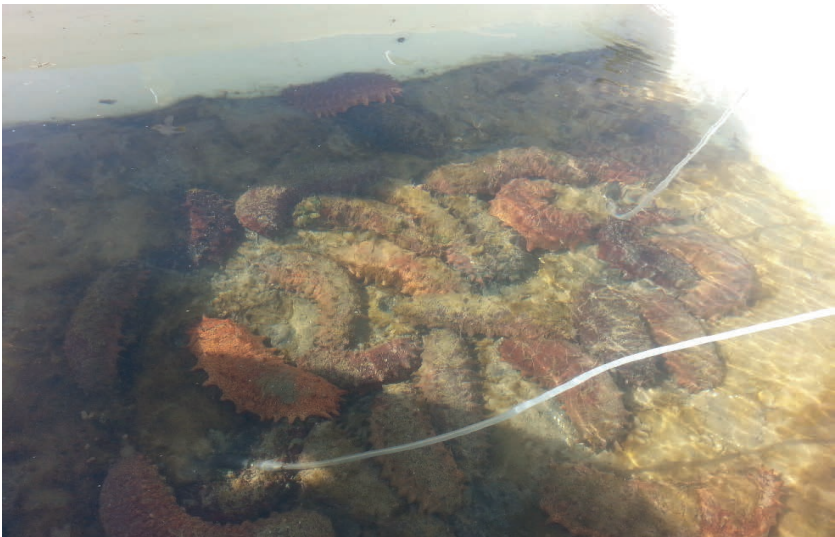


Figura 27. Engorde de pepinos de mar en tanques de cultivo

Se calcula que el periodo de cultivo de pepinos tropicales tiene un promedio de 12 a 14 meses, incluyendo los ciclos de incubación, larvicultura y engorde.

PROCESAMIENTO DE PEPINOS DE MAR

Ing. Marina Luz Villazón Turizo



PROCEDIMIENTO PREVIO

Con el fin de garantizar la inocuidad del producto, los técnicos u operarios de la planta deben tener en cuenta al momento de procesar pepinos de mar:

- Lavarse las manos y brazos con abundante agua y jabón antes de iniciar con el procesamiento
- Usar bata, gorro, tapabocas y guantes limpios
- Evitar el uso de accesorios (pulseras, anillos, relojes entre otros) durante el procesamiento del producto
- También es necesario que la planta o sala de procesos cuente con los siguientes requerimientos previos al procesamiento:
 - Que sea un lugar libre de plagas como insectos y roedores
 - Que cuente con equipos limpios y desinfectados al momento de procesar los alimentos
 - Los utensilios (cuchillos, tablas y tasas) deben estar limpios y organizados al momento de procesar
 - Que cuente con canecas y recipientes para organizar los desechos orgánicos e inorgánicos.

RECEPCIÓN DE LA MATERIA PRIMA

A la llegada de la sala de procesamiento, se verifica la calidad de los ejemplares descartando los que tienen la piel lacerada, ya que al momento de la cocción muestran una apariencia poco agradable. Luego, se drena en lo posible todo el líquido visceral y se procede al pesaje. En la Diagrama 2 se puede apreciar el flujo de actividades para obtener el pepino de mar seco-salado.

Para dar inicio al procesamiento, se utiliza hielo en el agua para mantener en óptimas condiciones la piel y la textura del músculo de los pepinos de mar (Figura 28).

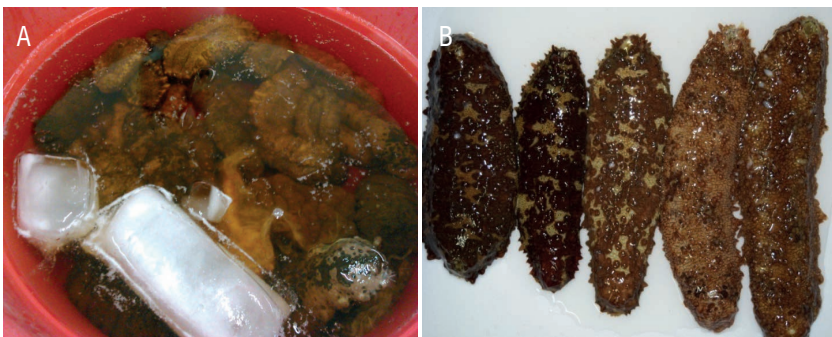


Figura 28. A) Recepción de materia prima en planta; B) Selección de individuos saludables para procesamiento



Diagrama 2. Diagrama de proceso para elaboración de pepinos de mar secos y seco-salados

EVISCERACIÓN

Para la evisceración o extracción de los órganos internos del pepino se hace una incisión de 2 a 4 cm de forma manual cerca a la cavidad bucal, haciendo presión en dirección ano-boca; luego se lava con abundante agua dulce para retirar los residuos de arena e impurezas. A su vez, se registran datos de peso (Figura 29).

COCCIÓN

Debido a que los pepinos de mar no poseen las mismas características al momento de la cocción, estos deben ser clasificados y separados según la especie y el tamaño. Para el caso de *Isostichopus* sp. se ha determinado un tiempo de cocción de 40 minutos y para el caso de *Isostichopus badionotus* Morfotipo II un tiempo aproximado de 60 minutos (Figura 30). Durante la cocción se procede a retirar la espuma de color blanquecina que se forma en la parte superior de la olla.

Si se observa que los pepinos de mar retienen líquido cuando se están cocinando, es necesario hacer un pinchazo con una pequeña aguja para extraerlo. La textura final es de una apariencia cauchosa. Nuevamente durante este proceso se registran datos de peso de los animales.



Figura 29. Proceso de evisceración de pepinos de mar

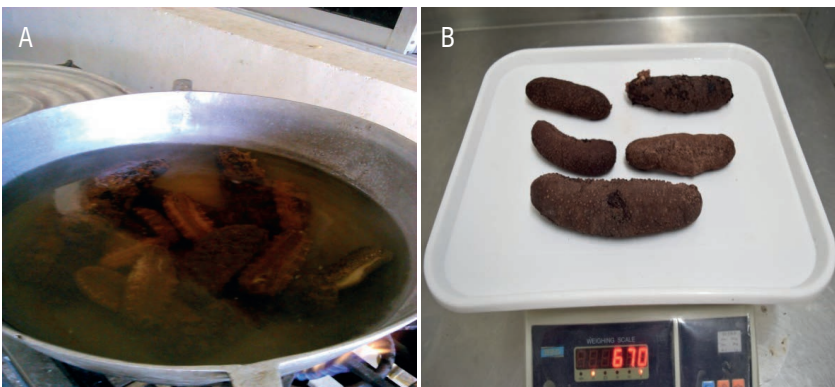


Figura 30. A) Cocción de pepinos de mar; B) Registro de pesos de individuos de pepinos de mar después de la cocción

SALADO

Después de realizar varias pruebas de tiempo de salado y de tipo de salmuera, se ha encontrado que la mejor opción es salar a una proporción de una parte de sal por una parte de pepino de mar. El tiempo de salado no debe ser mayor a 48 horas. El proceso de salado se realiza una vez estén cocidos los pepinos de mar (Figura 31).



Figura 31. Proceso de salado de pepinos de mar durante 48 horas

DESHIDRATACIÓN

El proceso de deshidratación se realiza en un horno con circulación forzada de aire a temperaturas que van desde los 40 hasta los 50° C, obteniéndose pepinos de mar deshidratados en un tiempo aproximado de 55 a 60 horas y con humedades que van desde el 8 hasta el 10% para *Isostichopus* sp. o del 6 hasta el 15% para *Isostichopus badionotus* Morfotipo II (Figura 32).



Figura 32. A) Proceso de deshidratación del pepino de mar; B) Pepinos deshidratados

EMPACADO

Una vez estén deshidratados se procede a su empaque, el cual se debe realizar en bolsas totalmente limpias y secas para sellarse al vacío, y garantizar que el producto pueda ser almacenado por amplios períodos de tiempo (Figura 33).



Figura 33. Pepinos de mar deshidratados empacados

CULTIVO DE MICROALGAS

Ing. Leda Silvana Pabón Caro



PRODUCCIÓN DE MICROALGAS

Las especies de microalgas con que cuenta el Grupo de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Acuicultura (GIDTA), de la Universidad del Magdalena, son producidas en lotes o sistemas *batch* sin inyección de CO₂, empleando el medio F/2 (Guillard, 1974) (Figura 34, Tabla 2).

Semanalmente se efectúan cosechas de especies como: *Isochrysis* sp., *Tetraselmis* sp., *Thalassiosira* sp. y *Nannochloropsis* sp., a una concentración promedio de 216.000, 80.430, 250.000 y 1.720.000 células/mL, respectivamente. Cada lote aporta 15 L por especie, produciéndose así un total de 120 L, los cuales serán empleados para la alimentación de larvas y adultos de pepino de mar (Figura 35).

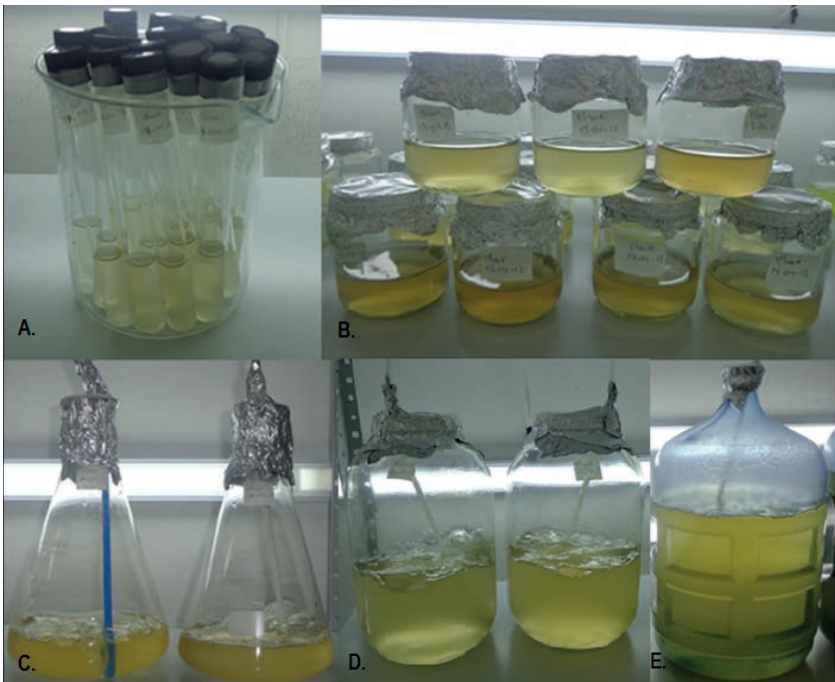


Figura 34. Inoculación de medios con la especie de microalga *Chaetoceros* sp., empleando el método de cultivo por lotes en cinco etapas: A. Cepas en tubos de ensayo de 15 mL; B. Frascos de 100 mL; C. Matraces de 1.000 mL; D. Frascos de 4.000 mL; E. Garrafrones de 19.000 mL.



Figura 35. Producción de microalgas en lotes o sistemas batch sin inyección de CO_2 del grupo GIDTA de la Universidad del Magdalena

Isochrysis galbana

Son células ovoideas con dos flagelos que le proveen movimiento y tamaños entre 3 y 7 μm de diámetro. Poseen haptonema circundado por pequeños relieves. Debido a su tamaño y a que es un flagelado desnudo es fácilmente digerible por los consumidores. Están compuestos de una alta proporción de lípidos y proteínas y poseen un alto contenido de DHA, bajo de EPA y no contiene AA (Figura 36).

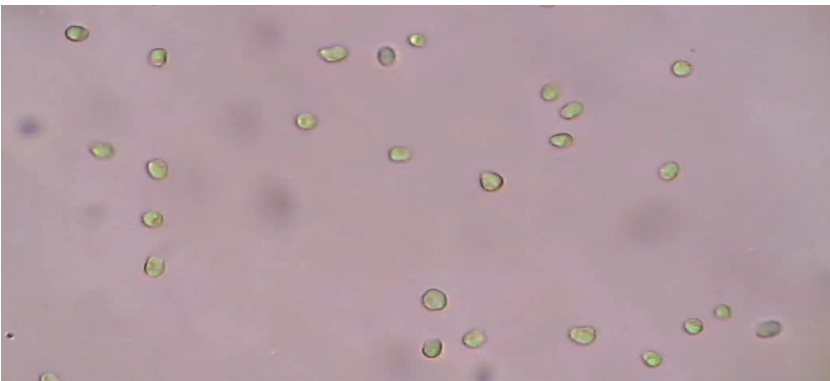


Figura 36. Población de *Isochrysis* sp. cultivada en el Laboratorio del grupo GIDTA de la Universidad del Magdalena (40x)

Tetraselmis chuii

Es un alga de color verde, fusiforme, con cuatro flagelos y longitudes entre 12 y 15 μm . Tienen altos contenidos de proteínas y de EPA, bajos valores de AA y no contiene DHA.

Tetraselmis tetrahele

Es una microalga de color verde brillante fusiforme, con cuatro flagelos polares y longitudes entre 10 y 12 μm .

Tetraselmis suecica

Es una microalga comprimida elipsoidal con el extremo posterior agudo y el anterior con cuatro lóbulos, de color verde brillante fusiforme, con cuatro flagelos polares y longitudinales entre 10 y 16 μm . Su pared celular es delgada, formada principalmente por carbohidratos. Tiene un alto contenido de proteínas, valores intermedios de EPA, valores bajos de AA y no contiene DHA (Figura 37).

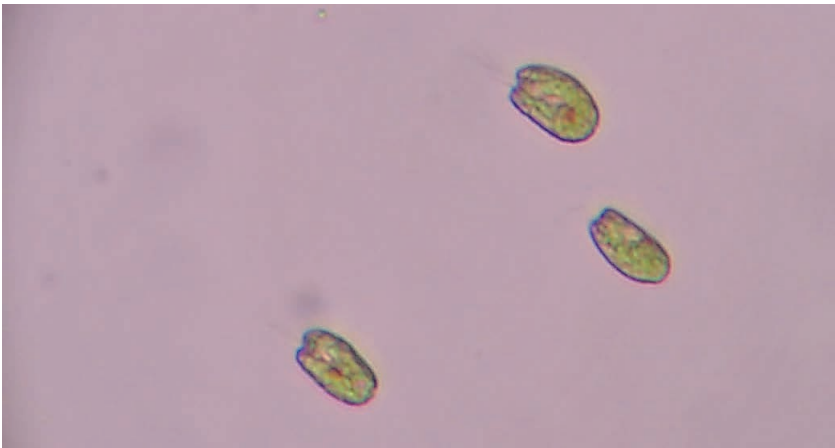


Figura 37. Población de *Tetraselmis* sp. cultivada en el Laboratorio del grupo GIDTA de la Universidad del Magdalena (40x)

***Thalassiosira* sp.**

Diatomeas céntricas que miden aproximadamente entre 4 y 10 μm de largo. Contenidos de lípidos y EPA altos y con valores medios de DHA y AA (Prasad *et al.*, 1993; Sar *et al.*, 2002; Garcia y Odebrecht, 2009) (Figura 38).

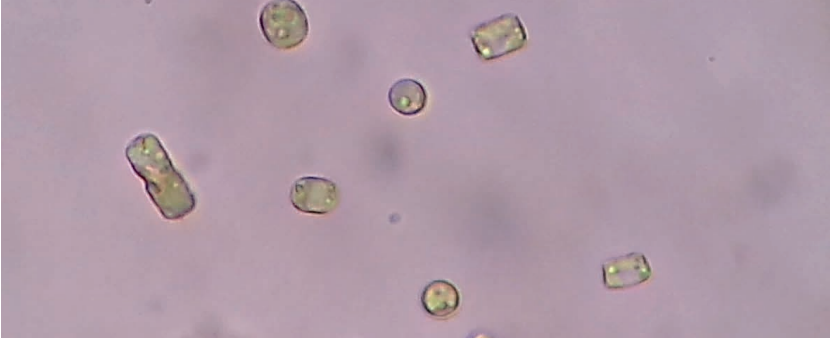


Figura 38. Población de *Thalassiosira* sp. cultivada en el Laboratorio del grupo GIDTA de la Universidad del Magdalena (40x)

***Nannochloropsis* sp.**

Las especies de este género son redondas o elipsoidales y pequeñas, con diámetro entre 2 y 3 μm . **Son de color verde-amarillo**, sin flagelos. Esta especie es euritérmica, eurihalina y fácilmente adaptable a condiciones ambientales diferentes, lo cual es evidenciado por su frecuente dominancia en cultivos al exterior. Contiene un mediano contenido de EPA y no contiene DHA (Figura 39).

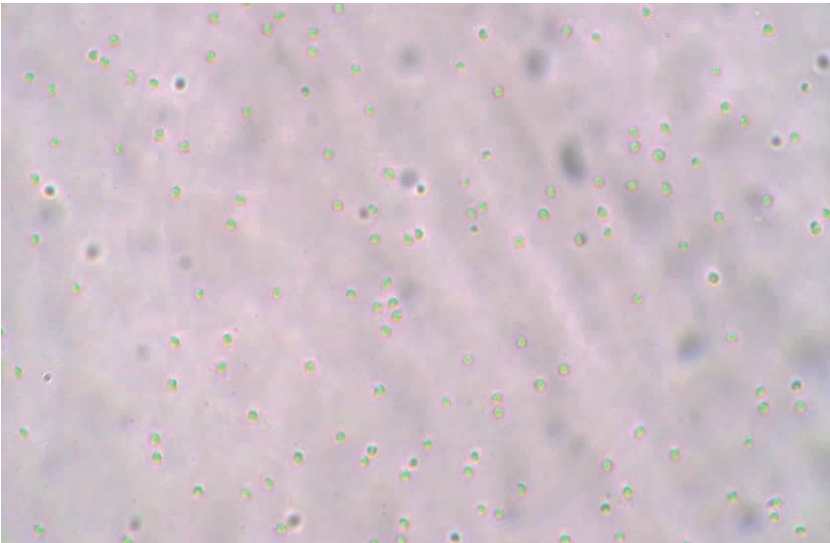


Figura 39. Población de *Nannochloropsis* sp. cultivada en el Laboratorio del grupo GIDTA de la Universidad del Magdalena (40x).

***Chaetoceros muelleri* (= *gracilis*)**

Diatomea céntrica de color café, alargada, su tamaño oscila entre 7 y 10 μm de largo, presenta cuatro setas que surge de las esquinas de las valvas, con poco movimiento. Tiene la composición de lípidos, carbohidratos y lípidos más balanceada. Contiene un mediano contenido de EPA, bajo contenido de DHA y no contiene AA (Bourne *et al.*, 1989; Volkman *et al.*, 1989; Velasco *et al.*, 2008) (Figura 40).

Chaetoceros calcitrans

Diatomeas céntricas con un solo orgánulo intracelular el cual tiene capacidad fotosintética y contiene clorofila (cloroplasto), su tamaño varía entre 3 y 7 μm , tiene 4 setas que surgen de las esquinas de las valvas delgadas y rectas en un ángulo aproximado de 45° con respecto al eje pervalvar. Tiene un contenido balanceado lípidos, carbohidratos y proteínas. Esta microalga contiene alta concentración de ácidos grasos poliinsaturados como son el EPA y el AA (ácido araquidónico), pero tiene baja concentración de DHA. También tiene una alta concentración de ácido ascórbico (Ghezelbash *et al.*, 2008).

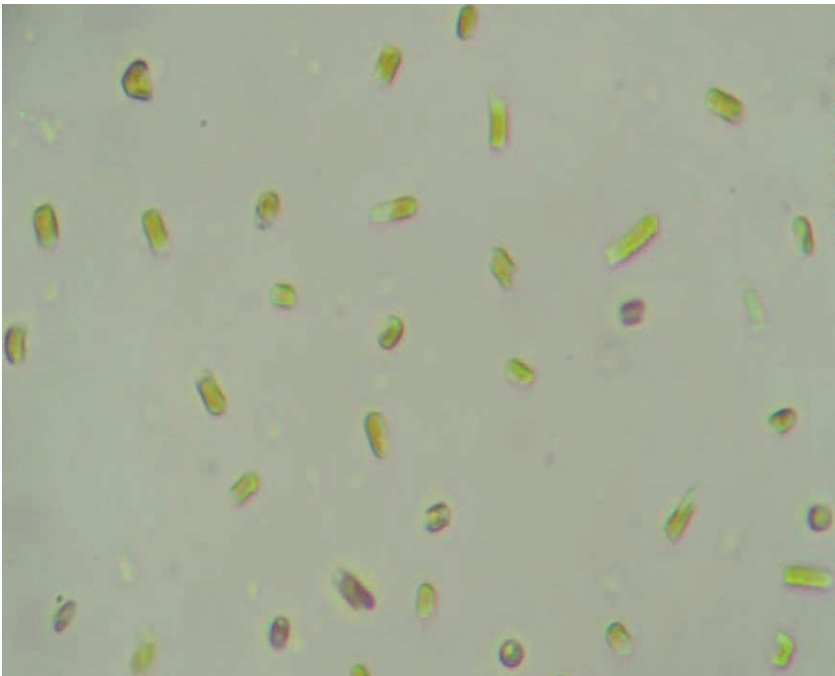


Figura 40. *Chaetoceros* sp. cultivada en el Laboratorio del grupo GIDTA de la Universidad del Magdalena (40x)

FORMACIÓN DE BIOPELÍCULA

Con el objeto de promover la formación de una biopelícula de organismos vivos (bacterias, microalgas y/o protozoos) sobre placas de PVC para el asentamiento o fijación de larvas de pepino de mar, se emplean acuarios de vidrio transparentes de 30 L de capacidad, o tanques cilíndricos, llenados con 15 L de agua de mar microfiltrada (20, 10, 5 y 1 μm), esterilizada con UV, salinidad de 37 UPS, luz (10 h) y temperatura de 27°C. En cada acuario se ubica un arreglo de cuatro placas transparentes lisas de PVC (22 x 26 cm²) (Figura 40), mantenidos con aireación, sin flujo de agua y adición de nutrientes del medio F/2 (Guillard, 1974). La adición de nutrientes debe ser repetida cada 8 días una vez iniciado el cultivo (Figura 42).

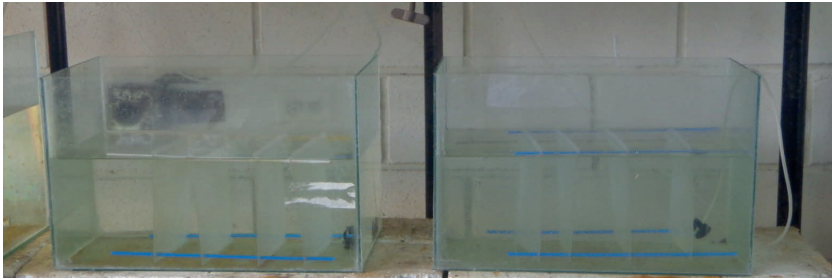


Figura 41. Acuarios de 30 L de capacidad con sus respectivos arreglos de placas de PVC empleados durante la formación de una biopelícula

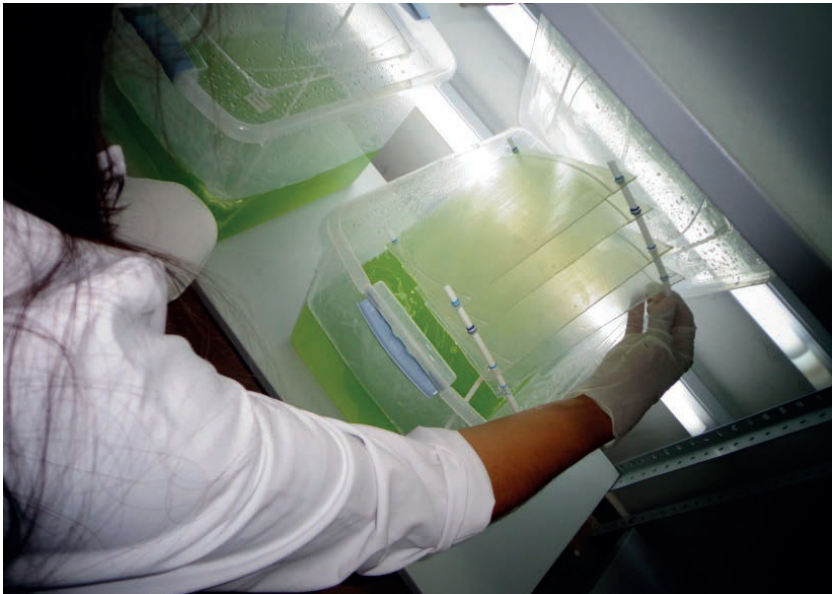


Figura 42. Organización de placas de PVC con *biofilm microalgal*

Transcurridos 12 días de cultivo, se toman frotis de las placas de PVC para observar bajo el microscopio, encontrándose la presencia de varias especies de diatomeas y otros organismos vivos, útiles como alimento de larvas y juveniles (Figura 43).

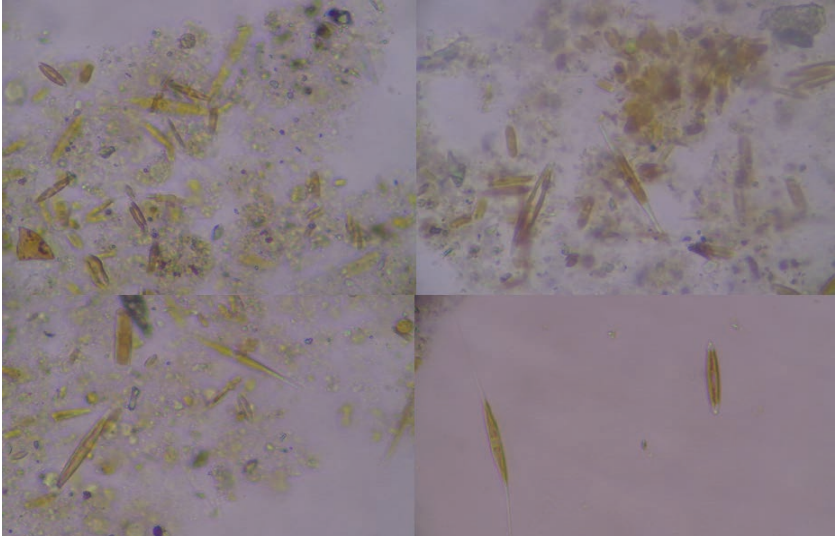


Figura 43. Especies de diatomeas encontradas durante la formación de una biopelícula sobre placas

Tabla 2. Caracterización de las diferentes etapas de cultivo de las microalgas cultivadas en el Laboratorio de Acuicultura de la Universidad del Magdalena. Grupo GDTA

Etapa	Volumen del inóculo (mL)	Volumen total medio + inóculo (mL)	Días de cultivo	Condiciones
Tubos de ensayos (20 mL)	5	10	8-20	f/2 líquido esterilizado con calor (agua de mar microfiltrada, esterilizada con UV), luz, 22 °C, sin inyección de aire comprimido, pero si agitación manual 1 a 2 veces al día.
Erlenmeyer (250 mL)	10	100	8-20	
Erlenmeyer (1.000 mL)	100	500	4-7	f/2 líquido esterilizado con calor (agua de mar microfiltrada y esterilizada con UV), luz, 22 °C, con inyección de aire comprimido.
Frascos de vidrio (4.000 mL)	500	2.500	4-7	f/2 líquido sin esterilizar con calor (cloro 5%), luz, 22°C, inyección de aire comprimido.
Garrafones (20.000 mL)	5.000	15.000	4-7	

REFERENCIAS

- Agudelo, V., & Rodríguez A. (2013). Pepino de mar: Una alternativa para la maricultura en Colombia. *Infopesca Internacional*, 49, 22-26
- Agudelo, V., & Rodríguez, A. (2015). Advances on spontaneous captive breeding and culture conditions of Caribbean Sea cucumber *Stichopus* sp. *SPC Beche-de-mer Information Bulletin*, 50, 50-57.
- Agudo, N. (2006). *Sandfish hatchery techniques*. Secretariat of the Pacific Community.
- Asha, P. S., & Muthiah, P. (2008). Reproductive biology of the commercial sea cucumber *Holothuria spinifera* (Echinodermata: Holothuroidea) from Tuticorin, Tamil Nadu, India. *Aquaculture International*, 16(3), 231-242.
- Bakus, J.G. (1973). The biology and ecology of tropical holothurians. In: OA Jones and R Edeans (eds.) *Biology and Geology of Coral Reefs Vol. II*, Academic Press, New York, USA. pp 326 - 367.
- Battaglione, S. C. (1999). Culture of tropical sea cucumbers for stock restoration and enhancement. *Naga, The ICLARM Quarterly*, 22(4), 4-11.
- Battaglione, S. C., Seymour, J. E., & Ramofafia, C. (1999). Survival and growth of cultured juvenile sea cucumbers, *Holothuria scabra*. *Aquaculture*, 178 (3), 293-322.
- Battaglione, S. C., Seymour, J. E., Ramofafia, C., & Lane, I. (2002). Spawning induction of three tropical sea cucumbers, *Holothuria scabra*, *H. fuscogilva* and *Actinopyga mauritiana*. *Aquaculture*, 207(1), 29-47.
- Bourne, N., Hodgson, C. A., & Whyte, J. N. C. (1989). A manual for scallop culture in British Columbia. Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci. 1694: 1 - 215.
- Bruckner, A.W., Johnson, K.A., & Field, J.D. (2003). Conservation strategies for sea cucumbers: Can a CITES Appendix II listing promote sustainable international trade? *SPC Beche-de-mer Information Bulletin*, 18, 24 - 33.



- Caycedo, I. E. (1978). Holothuroidea (Echinodermata) de aguas someras en la Costa Norte de Colombia. *Instituto Investigaciones Marina Punta Betin*, 10, 149 - 198.
- Chen, J. (2003). Overview of sea cucumber farming and sea ranching practices in China. *SPC beche-de-mer Information Bulletin*, 18, 18-23.
- Conand, C. (1993). Reproductive biology of the holothurians from the major communities of the New Caledonian Lagoon. *Marine Biology*, 116(3), 439-450.
- Conand, C. (2006). Sea cucumber biology, taxonomy, distribution and conservation status. En: Bruckner A.W. (Eds.) *Proceedings of the CITES workshop on the conservation of sea cucumbers in the families Holothuriidae and Stichopodidae*. NOAA Technical Memorandum NMFS-OPR-34, USA. 33-50.
- Conand, C. (2008). Population status, fisheries and trade of sea cucumbers in Africa and Indian Ocean. *Sea cucumbers: a global review of fisheries and trade*, 153-205.
- Conand, C., & Byrne, M. (1993). A review of recent developments in the world sea cucumber fisheries. *Marine Fisheries Review*, 55(4), 1-13.
- Dabbagh, A.R., Sedaghat, M.R. (2012). Breeding and rearing of the sea cucumber *Holothuria scabra* in Iran. *SPC Beche-de-mer Information Bulletin* 32: 49-52.
- Ghezalbash, F., Farboodnia, T., Heidari, R., & Agh, N. (2008). Biochemical effects of different salinities and luminance on green microalgae *Tetraselmis chuii*. *Research Journal of Biological Sciences*, 3 (2): 217 - 221.
- Giraspy, D.A.B., & Ivy, G. (2005). Australia's first commercial sea cucumber culture and sea ranching project in Hervey Bay, Queensland, Australia. *SPC Beche-de-mer Information Bulletin*, 21, 29-31.
- Fajardo-León, M.C., Michel-Guerrero, E., Vélez-Barajas, J.A., Massó-Rojas, J.A., & Singh-Cabanillas J. (1995). Estructura poblacional y ciclo reproductor del pepino de mar *Isostichopus fuscus* (Ludwing 1875) en Santa Rosalía, Baja California Sur, México. *Ciencias Pesqueras*, 11(1), 45-53.
- Fajardo-León, M.C., Suárez-Higuera, M.C.L., del Valle-Manriquez, A., & Hernández-López, A. (2008). Reproductive biology of the sea cucumber *Parastichopus parvimensis* (Echinodermata: Holothuroidea) at Isla Natividad and Bahía Tortugas, Baja California Sur, México. *Ciencias Marinas*, 34(2), 165-177.



FAO, (2010). Manejo de las pesquerías de pepino de mar con un enfoque ecosistémico. FAO Documento Técnico de Pesca y Acuicultura, Roma, Italia. 520, 11 - 19.

Foglietta, L. M., Camejo, M. I., Gallardo, L., & Herrera, F. C. (2004). A maturity index for holothurians exhibiting asynchronous development of gonad tubules. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 303(1), 19-30.

Fujiwara, A., K. Yamano, K. Ohno and M. Yoshikuni, 2010. Spawning induced by cubifrin in the Japanese common sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Fish. Sci.*, 76: 597-801.

Giraspy, D.A.B., & Ivy, G. (2005). Australia's first commercial sea cucumber culture and sea ranching project in Hervey Bay, Queensland, Australia. *SPC Beche-de-mer Information Bulletin*, 21, 29-31.

Guisado C., Carrasco S.A., Díaz-Guisado D., Maltrain R., & Rojas, H. 2012. Embryonic development, larval morphology and juvenile growth of the sea cucumber *Athyonidium chilensis* (Holothuroidea: Dendrochirotida). *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 47(1), 65 - 73.

Hamel, J. F., Himmelman, J.H., & Dufresne, L. (1993). Gametogenesis and spawning of the sea cucumber *Psolus fabricii* (Duben and Koren). *The Biological Bulletin*, 184(2), 125-143.

Hamel, J.F., Conand, C., Pawson, D.L., & Mercier, A. (2001). The sea cucumber *Holothuria scabra* (Holothuroidea: Echinodermata): its biology and exploitation as beche-de-mer. *Advances in Marine Biology*, 41, 129-223.

Hamel, J.F., Hidalgo, R.Y., & Mercier, A. (2003). Larval development and juvenile growth of the Galapagos sea cucumber *Isostichopus fuscus*. *SPC Bêche-de-Mer Information Bulletin*, 18, 3-8.

Hendler, G., Miller, J.E., Pawson D.L & Kier, P.M. (1995). *Sea stars, sea urchins and allies: echinoderms of Florida and the Caribbean*. Smithsonian Institution Press. Washington.USA 390p.

Hu, C., Li, H., Xia, J., Zhang, L., Luo, P., Fan, S., Peng, P., Yang, H., & Wen, J. (2013). Spawning, larval development and juvenile growth of the sea cucumber *Stichopus horrens*. *Aquaculture*, 404, 47-54.

James, D.B. (1996). Culture of sea-cucumber. *CMFRI Bulletin-Artificial reefs and sea farming technologies*, 48, 120-126.

- James, D.B. (2001). Twenty sea cucumbers from seas around India. *Naga, The ICLARM Quarterly*, 24 (1&2), 4-8.
- James, D.B. (2004). Captive breeding of the sea cucumbers *Holothuria scabra* from India. In: *Advances in sea cucumber aquaculture and management (463)t*. A. Lovatelli, C. Conand, S. Purcell, S. Uthicke, J.-F. Hamel and A. Mercier, (Eds.). FAO, Rome, Italia. pp 385.
- Kerr, A.M., Janies, D., Clouse, R.M., Samyn, Y., Kuszak, J., & Kim, J. (2005). Molecular phylogeny of coral-reef sea cucumbers (Holothuroidea: Aspidochirotida) based on 16S mtrDNA sequence. *Marine Biotechnology* 7.
- Laxminarayana A. 2005. Induced spawning and larval rearing of the sea cucumbers, *Bohadschia marmorata* and *Holothuria atra* in Mauritius. SPC Beche-de-mer Information Bulletin 22:48-52.
- Léonet, A., Rasolofonirina R., Wattiez, R., Jangoux, M., & Eeckhaut, I. 2009. A new method to induce oocyte maturation in holothuroids (Echinodermata). *Invertebrate Reproduction and Development*, 53(1):13-21.
- Liu, Y., Dong, S., Tian, X., Wang, F., & Gao, Q. (2010). The effect of different macroalgae on the growth of sea cucumbers (*Apostichopus japonicas*, Selenka). *Aquaculture Research*, 2, 1 - 5.
- Lovatelli A., Conand C., Purcell S., Uthicke S., Hamel J.-F. & Mercier A. (2004). *Advances in sea cucumber aquaculture and management*. FAO Fisheries Technical Paper, 463,425 p. Rome, Italy.
- Massin. C. (1982). Food and feeding mechanisms: Holothuroidea. In. Jangoux, M. & Lawrence. J.M (Ed.), *Echinoderm nutrition* (pp43 - 55) Rotterdam: A. A. Balkema.
- Mercier, A., Battaglione, S. C., & Hamel, J.F. (2000). Periodic movement, recruitment and size-related distribution of the sea cucumber *Holothuria scabra* in Solomon Islands. In *Island, Ocean and Deep-Sea Biology* (pp. 81-100). Springer Netherlands.
- Mercier, A., Hidalgo, R. Y., & Hamel, J.F. (2004). Aquaculture of the Galapagos sea cucumber, *Isostichopus fuscus*. *FAO Fisheries Technical Paper*, 347-358.
- Morgan, A.D. (2000). Aspects of the reproductive cycle of the sea cucumber *Holothuria scabra* (Echinodermata: Holothuroidea). *Bulletin of Marine Science*, 66(1), 47-57.

Ong Che, R.G., & Gómez, E.D. (1985). Reproductive periodicity of *Holothuria scabra* jaeger at Calatagan, Batangas, Philippines. *Asian Marine Biology*, 2, 21-30.

Pérez-Ruzafa, A., Entrambasaguas, L., Marcos, C., Bacallado, J. J., & García-Chartón, J. A. (2003). Spatial relationships of the echinoderm fauna of Cabo Verde islands: A multi-scale approach. *Echinoderm Research 2001. Proceedings of the sixth European Conference on echinoderm research. Sweets y Zeitlinger, Lisse*, 31 - 39.

Pérez-Ruzafa, A., & Marcos, C. (1987). Observaciones sobre la actividad diaria y la ecología de algunas holoturias (Echinodermata: Holothuroidea) litorales. *Anales de Biología*, 12, 79 - 90.

Pérez-Ruzafa, A. (1984). Estudio sistemático, ecológico y biogeográfico de la Clase Holothuroidea en las Islas Canarias (Doctoral dissertation, Tesis de Licenciatura, Universidad de La Laguna, La Laguna, Tenerife).

Pérez-Ruzafa, A., Entrambasaguas, L., Marcos, C., Bacallado, J. J., & García-Chartón, J. A. (2003). Spatial relationships of the echinoderm fauna of Cabo Verde islands: A multi-scale approach. *Echinoderm Research 2001. Proceedings of the Sixth European Conference on Echinoderm Research. Sweets y Zeitlinger, Lisse*, 31 - 39.

Purcell, S.W. (2010). Manejo de las pesquerías de pepino de mar con un enfoque ecosistémico. FAO Documento Técnico de Pesca y Acuicultura. Editado Lovatelli, A.; M. Vasconcellos y Y. Yimin. No. 520. Roma, FAO. 2010. 169p.

Ramofafia, C., Battaglione, S.C., Bell, J.D., & Byrne, M. (2000). Reproductive biology of the commercial sea cucumber *Holothuria fuscogilva* in the Solomon Islands. *Marine Biology*, 136 (6), 1045-1056.

Rodríguez Forero, A., Agudelo Martínez, V.Y., & Vergara Hernández, W.O. (2013). First insight into Colombian Caribbean sea cucumbers and sea cucumber fishery. *Beche-de-Mer Information Bulletin*, 33: 9 - 13. ISSN: 1025-4943.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (2012). Manual de procesamiento y buenas prácticas de manejo de pepino de mar en la Península de Yucatán. Conapesca.gob.mx.

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.

Slater, M.J., Jeffs, A.G., & Carton, A. G. (2009). The use of the waste from green-lipped mussels as a food source for juvenile sea cucumber, *Australostichopus mollis*. *Aquaculture*, 292, 219 – 224.

Slater, M. J., & Jeffs, A. G. (2010). Do benthic sediment characteristics explain the distribution of juveniles of the deposit-feeding sea cucumber *Australostichopus mollis*? *Journal of Sea Research*, 64(3), 241 - 249.

Smiley, S., McEuen, F.S., Chaffee, C. & Krishnan, S. (1991). Echinodermata: Holothuroidea. In: Reproduction of marine invertebrates, echinoderms and lophophorates. Volume VI. A.C. Giese J.S. Pearse y V.B. Pearse (Eds.). p. 663-750. Boxwood Press, Pacific Grove, California, USA.

Tanaka, Y. (1958). Seasonal changes occurring in the gonad of *Stichopus japonicus*. *Bulletin of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University* 9: 29-36.

Toral-Granda, V. (2008). Population status, fisheries and trade of sea cucumbers in Latin America and the Caribbean. *Sea cucumbers. A global review of fisheries and trade. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper*, 516, 213-229.

Toral-Granda, V., Lovatelli, A., & Vasconcellos, M. (eds). *Sea cucumbers. A global review of fisheries and trade. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper*. No. 516. Rome, FAO. 2008. 317 p.

Toral-Granda, M.V., & Martínez, P.C. (2007). Reproductive biology and population structure of the sea cucumber *Isostichopus fuscus* (Ludwig, 1875)(Holothuroidea) in Caamaño, Galápagos Islands, Ecuador. *Marine Biology*, 151(6), 2091-2098.

Velasco, L.A., Carrera, S., & Barros, J. (2008). Producción de microalgas como alimento para pectínidos. En: Velasco, L. A. (ed.) *Biología y cultivo de los pectínidos de interés comercial de Colombia*. Universidad del Magdalena, Santa Marta, Colombia. 31 - 63 p.

Vergara, W., & Rodríguez, A. (2015). "Histología del tubo digestivo de tres especies de pepino de mar *Isostichopus badionotus*, *Isostichopus* sp. y *Stichopus hermanni* (Aspidochirotida: Stichopodidae)". *Revista de Biología Tropical / International Journal of Tropical Biology and Conservation*, 63 (4): 1021-1033. ISSN-0034-7744.

Volkman, J.K., Jeffrey, S.W., Nichols, P.D., Rogers, G.I., & Garland, C.D. (1989). Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 128 (3), 219 - 240.



Wang, R & Cheng, Y. (2004). Breeding and culture of the sea cucumber, *Apostichopus japonicus*, Liao. *FAO Fisheries Technical Paper*, 277-287.

Yanagisawa T. (1998). Aspects of the biology and culture of the sea cucumber. In: De Silva, S.S. (Ed.), *Tropical Mariculture*. Academic Press, London, pp. 292 - 308.

