

## Reproductive aspects of *Octopus hubbsorum* (Cephalopoda: Octopodidae) from Espíritu Santo Island, southern Gulf of California, Mexico

### Aspectos reproductivos de *Octopus hubbsorum* (Cephalopoda: Octopodidae) en la Isla Espíritu Santo, sur del Golfo de California, México

R Pliego-Cárdenas\*, FA García-Domínguez, BP Ceballos-Vázquez, M Villalejo-Fuerte, M Arellano-Martínez

Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional (IPN), Av. IPN s/n, Col. Playa Palo de Santa Rita, apartado postal 592, La Paz, 23096, Baja California Sur, México.

\* Corresponding author. E-mail: rip\_rojo@hotmail.com

**ABSTRACT.** Reproductive aspects (spawning season, size and weight at maturity, and fecundity) of *Octopus hubbsorum* are reported for Espíritu Santo Island, southern Gulf of California (Mexico). A total of 230 octopuses were captured (46% females and 54% males) between June 2006 and June 2007. The sex ratio was not significantly different from 1:1 ( $P > 0.05$ ) except in November, when more males were captured than females. Four sexual maturity stages were established for both sexes: immature, maturing, mature, and prespawning (for females) or spawning (for males). The principal spawning season of *O. hubbsorum* occurred in autumn, when sea surface temperature ranged from 24 to 29 °C. The size and weight at maturity were 390 mm and 445 g, respectively, for males and 490 mm and 680 g, respectively, for females. The mean potential fecundity was 205,144 oocytes per female and the mean relative fecundity was 309 oocytes per gram of female body weight. Maturing females apparently use substances stored in the digestive gland.

**Key words:** *Octopus hubbsorum*, reproductive period, fecundity, gonad development, Gulf of California.

**RESUMEN.** Se reportan los aspectos reproductivos (temporada de desove, la talla y el peso de madurez, y la fecundidad) de *Octopus hubbsorum* para la Isla Espíritu Santo, sur del Golfo de California (México). Se capturó un total de 230 pulpos (46% hembras y 54% machos) entre junio de 2006 y junio de 2007. La proporción sexual no fue significativamente diferente a 1:1 ( $P > 0.05$ ) a excepción de noviembre, cuando se capturaron más machos que hembras. Se establecieron cuatro fases de madurez gonádica para ambos sexos: inmaduro, desarrollo, maduro y predesove (para hembras) o desove (para machos). La principal temporada de desove de *O. hubbsorum* se presentó en otoño, cuando se registró una temperatura superficial del mar entre 24 y 29 °C. La talla y el peso de madurez fue de 390 mm y 445 g, respectivamente, para los machos y de 490 mm y 680 g, respectivamente, para las hembras. La fecundidad potencial promedio fue de 205,144 ovocitos por hembra y la fecundidad relativa promedio fue de 309 ovocitos por gramo de peso corporal de la hembra. Aparentemente las hembras en desarrollo utilizan sustancias provenientes de la glándula digestiva.

**Palabras clave:** *Octopus hubbsorum*, periodo reproductivo, fecundidad, desarrollo gonádico, Golfo de California.

## INTRODUCTION

In Mexico, octopus fisheries represent an important economic resource, especially that of the red octopus, *Octopus maya* Voss and Solis-Ramirez 1966, which is captured along the Atlantic coast. Over 15,000 people benefit directly from this activity and annual profits are about 360 million Mexican pesos (INAPESCA 2008). On the west coast, *Octopus hubbsorum* Berry 1953 represents an important resource. It is the principal octopus species captured by artisanal fishermen in the Mexican Pacific. Its distribution extends from the Gulf of California to the coast of Oaxaca, Mexico (López-Uriarte *et al.* 2005). It is a benthic species that lives in intertidal and subtidal zones to depths of 30 m (López-Uriarte *et al.* 2005). Despite the importance of this species, there is scarce information on its biology, and the reproductive characteristics of *O. hubbsorum* have only

## INTRODUCCIÓN

En México, la pesquería de pulpo representa un recurso económico importante, especialmente la del pulpo rojo, *Octopus maya* Voss y Solis-Ramirez 1966, el cual es capturado en la costa del Atlántico. Más de 15,000 personas se benefician directamente de esta actividad y las ganancias anuales son alrededor de 360 millones de pesos (INAPESCA 2008). En la costa occidental, *Octopus hubbsorum* Berry 1953 representa un recurso importante. Ésta es la principal especie de pulpo que es capturada por pescadores artesanales del Pacífico mexicano. Su distribución comprende desde el Golfo de California hasta las costas de Oaxaca, México (López-Uriarte *et al.* 2005). Es una especie bentónica que habita las zonas intermareal y submareal hasta los 30 m de profundidad (López-Uriarte *et al.* 2005). A pesar de la importancia de esta especie, existen pocos estudios sobre su

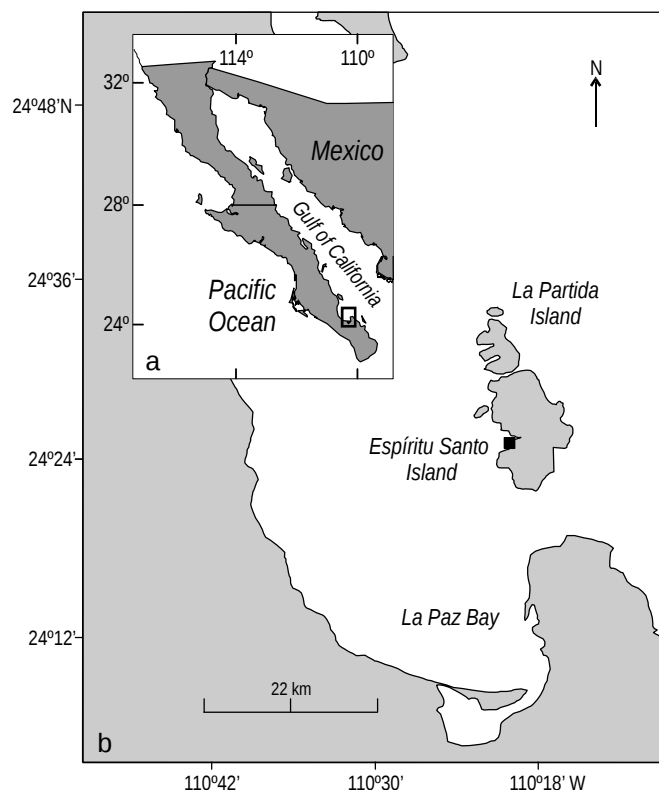
recently been studied (Alejo-Plata *et al.* 2009, López-Uriarte and Ríos-Jara 2009). It has been reported that females spawn throughout the year off the central and southern Pacific coasts of Mexico, but the main reproductive activity occurs in winter/spring (López-Uriarte and Ríos-Jara 2009) and spring (Alejo-Plata *et al.* 2009), respectively.

Fishing and biological information for *O. maya* indicates that this species might be overexploited (Jurado-Molina 2010), even though a management plan and some regulations have been established. However, there are no data or a management plan for *O. hubbsorum*.

The aim of the present study was to examine several aspects of the reproductive cycle of *O. hubbsorum* in the southern Gulf of California, including the gonadal cycle based on histological techniques, the spawning season using the gonadosomatic index and oocyte diameter measurements, the size and weight at maturity, and the sex ratio.

## MATERIAL AND METHODS

Specimens of *O. hubbsorum* were collected monthly off Espíritu Santo Island, southern Gulf of California (fig. 1)



**Figure 1.** (a) Location of Espíritu Santo Island in the Gulf of California (Mexico). (b) Location of the *Octopus hubbsorum* sampling site (black square) off Espíritu Santo Island.

**Figura 1.** (a) Localización de la Isla Espíritu Santo en el Golfo de California. (b) Localización del sitio de muestreo (cuadro negro) de *Octopus hubbsorum* en la Isla Espíritu Santo.

biología y es recientemente cuando se han abordado algunos aspectos reproductivos de *O. hubbsorum* (Alejo-Plata *et al.* 2009, López-Uriarte y Ríos-Jara 2009). Se ha reportado que las hembras desovan todo el año en el Pacífico central y en el Pacífico sur mexicano pero con una actividad reproductiva principal en invierno/primavera (López-Uriarte y Ríos-Jara 2009) y en primavera (Alejo-Plata *et al.* 2009), respectivamente.

Información biológica y pesquera de *O. maya* señala que esta especie podría estar sobreexplotada (Jurado-Molina 2010), a pesar de que existe un plan de manejo y algunas regulaciones. Sin embargo, para *O. hubbsorum* no existen datos ni un plan de manejo.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar varios aspectos del ciclo reproductivo de *O. hubbsorum* en el sur del Golfo de California, como la descripción del ciclo gonádico con base en la técnica histológica, la temporada de desove utilizando el índice gonadosomático y el diámetro de los ovocitos, la talla y el peso de madurez, y la proporción sexual.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los ejemplares de *O. hubbsorum* fueron recolectados mensualmente de junio de 2006 a junio de 2007 frente a la Isla Espíritu Santo, sur del Golfo de California (fig. 1). Los pulpos fueron capturados con gancho y fueron narcotizados y sacrificados adicionando agua dulce al contenedor con los ejemplares. Un total de 230 pulpos (124 machos y 106 hembras) fueron capturados. La longitud total (LT), el peso corporal (PC), el peso de la gónada y el peso de la glándula digestiva fueron tomados de cada ejemplar muerto. Las gónadas se fijaron en formaldehído al 10% y posteriormente una porción de gónada se incluyó en parafina. Se elaboraron cortes de 7  $\mu$ m de grosor y se tiñeron con la técnica hematoxilina-eosina (Humason 1979).

Se establecieron cuatro fases de madurez gonádica para las hembras (inmaduro, desarrollo, maduro y predesove; tabla 1) y cuatro para los machos (inmaduro, desarrollo, maduro y desove; tabla 2), de acuerdo con nuestras observaciones microscópicas y con las descripciones realizadas por Rodríguez-Rúa *et al.* (2005). Adicionalmente, se midió el diámetro de 100 ovocitos elegidos al azar utilizando el programa Sigma Scan Pro (Ver. 5.0, System Software, Inc.) e imágenes digitalizadas de cortes histológicos. Sólo los ovocitos seccionados a través del núcleo fueron seleccionados y marcados individualmente con el puntero y los diámetros mayor y menor fueron medidos automáticamente por el programa. Posteriormente se calculó el promedio entre ambas medidas mensualmente (Grant y Tyler 1983).

Los índices utilizados fueron el índice gonadosomático (IGS) (Silva *et al.* 2002) y el índice de la glándula digestiva (IGD) (Castro *et al.* 1992). Se realizó una correlación simple entre estos dos índices para evidenciar el posible uso de reservas provenientes de la glándula digestiva para el evento reproductivo; esto se hizo únicamente en hembras debido a

between June 2006 and June 2007. The octopuses were captured using a hook and they were narcotized and euthanized adding fresh water to the container with the specimens. A total of 230 octopuses (124 males and 106 females) were sampled. The total length (TL), body weight (BW), gonad weight, and digestive gland weight were measured for each freshly dead specimen. Gonads were fixed in 10% formaldehyde and a portion of gonad was subsequently embedded in paraffin. Seven-micron-thick sections were cut and stained with hematoxylin and eosin (Humason 1979).

Based on our microscopic observations and the descriptions given by Rodríguez-Rúa *et al.* (2005), four gonad development stages were determined for females (immature, maturing, mature, and prespawning; table 1) and four for males (immature, maturing, mature, and spawning; table 2). Additionally, the diameter of 100 oocytes of randomly-selected female octopuses was measured using the Sigma Scan Pro software (Ver. 5.0, System Software, Inc.) and digitized images of histologic sections. Only oocytes sectioned through the nucleus were measured and individually traced with the pointer, and the major- and minor-axis lengths were automatically measured by the software. An average of both

que éstas utilizan la energía para incrementar el tamaño del ovocito mientras que los machos la utilizan para buscar hembras (Wells y Clarke 1996). La temporada de desove fue determinada de acuerdo con los resultados obtenidos de las frecuencias mensuales de las fases gonádicas, los valores promedio mensuales del IGS y el diámetro de los ovocitos.

La talla ( $LT_{50\%}$ ) y peso ( $PC_{50\%}$ ) de madurez se estimaron con un ajuste de la distribución de frecuencias de la longitud y el peso de organismos maduros y en predesove/desove al modelo logístico, según Silva *et al.* (2002):

$$P_i = \frac{1}{1 + \exp[-(\alpha + \beta t_i)]} \quad (1)$$

donde  $P_i$  es la frecuencia de organismos maduros agrupados en clases de 50 mm y 100 g,  $\alpha$  y  $\beta$  son las constantes de regresión y  $LT_{50\%}$  y  $PC_{50\%} = -\alpha/\beta$ .

La fecundidad potencial se estimó a partir de seis ovarios en la etapa de predesove. Se tomaron tres muestras de 0.25 g de cada ovario y se colocaron en un portaobjetos con glicerina. El número de ovocitos fue extrapolado al peso total del ovario para obtener la fecundidad para cada muestra. La

**Table 1.** Stages of gonadal development in *Octopus hubbsorum* females.

**Tabla 1.** Fases de desarrollo gonádico en las hembras de *Octopus hubbsorum*.

| Stage       | Ovary weight (g) | Oocyte diameter (μm) | Characteristics                                                                                                                                                                                                    |
|-------------|------------------|----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Immature    | 0.313 ± 0.283    | 67 ± 16.5            | Many small oogonia and previtellogenic oocytes, with a thin layer of cytoplasm surrounding the nucleus.                                                                                                            |
| Maturing    | 1.15 ± 0.435     | 85 ± 19              | A double layer of follicle cells surrounds the oocytes. The follicle epithelium initiates the oocyte embedding by intensive multiplication of follicular cells. The first production of yolk granules is observed. |
| Mature      | 6.75 ± 3.095     | 143 ± 52             | Follicles are bigger. The folds of the follicles are active in vitellogenesis and formation of the chorion. Many yolk granules are observed.                                                                       |
| Prespawning | 65.21 ± 50.147   | 387 ± 118            | A large oocyte diameter is observed. The cytoplasm is completely filled with yolk granules and it is entirely surrounded by chorion. The folds of the follicles are loosened by the increase of oocyte size.       |

**Table 2.** Stages of gonadal development in *Octopus hubbsorum* males.

**Tabla 2.** Fases de desarrollo gonádico en machos de *Octopus hubbsorum*.

| Stage    | Testis weight (g) | Characteristics                                                                                                                                                                   |
|----------|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Immature | 0.04 ± 0.029      | The seminiferous tubules are small. Spermatogonia are present in the seminiferous tubule walls and few or no spermatozooids are placed in the center of the seminiferous tubules. |
| Maturing | 0.95 ± 0.892      | Abundant spermatogonia, spermatocytes, and spermatids. The seminiferous tubules become enlarged by the presence of sperm in the central lumen.                                    |
| Mature   | 2.30 ± 1.60       | Seminiferous tubules are large. Abundant spermatozoa in the central lumen.                                                                                                        |
| Spawning | 4.00 ± 2.90       | There are evident empty spaces, indicating that spermatozoa have been expelled from the testis and stored in spermatophores.                                                      |

dimensions was then calculated monthly (Grant and Tyler 1983).

The indices used were the gonadosomatic index (GSI) (Silva *et al.* 2002) and the digestive gland index (DGI) (Castro *et al.* 1992). A simple correlation was calculated between both indices to examine whether the energy source for reproduction comes from the digestive gland; however, this was done only in the case of females, as they use energy to increase oocyte size whereas males expend energy seeking mates (Wells and Clarke 1996). The spawning season was determined through the results of monthly frequencies of each gonadal stage, mean GSI values, and oocyte diameters.

The size at maturity ( $TL_{50\%}$ ) and the weight at maturity ( $BW_{50\%}$ ) were estimated by fitting the length and weight frequency distribution of mature and prespawning/spawning individuals to the logistic model, according to Silva *et al.* (2002):

$$P_i = \frac{1}{1 + \exp[-(\alpha + \beta t_i)]} \quad (1)$$

where  $P_i$  is the frequency of fully mature organisms grouped in 50-mm and 100-g classes,  $\alpha$  and  $\beta$  are the regression constants, and  $TL_{50\%}$  and  $BW_{50\%} = -\alpha/\beta$ .

The potential fecundity was calculated from six pre-spawning ovaries. Three subsamples of 0.25 g were taken from each ovary and placed on a microscope slide with glycerin. The number of oocytes was extrapolated to the total ovary weight in order to estimate the fecundity for each subsample. The potential fecundity was obtained from the mean of the three subsamples. The relative fecundity (number of oocytes per gram of female body weight) was also estimated.

The percentage of organisms of each sex during the study period was obtained. The sex ratio was derived and its deviation from the expected 1:1 ratio examined through a chi-square ( $\chi^2$ ) analysis (Sokal and Rohlf 1979). Sea surface temperature was obtained using the Optimal Interpolation Sea Surface Temperature software (Ver. 2.0). A Spearman test was applied to determine whether there was a significant relationship between DGI and GSI (Sokal and Rohlf 1979).

## RESULTS

### Sex ratio

The overall sex ratio was 0.85:1 (female:male) and was not significantly different from 1:1. However, the monthly analysis showed that in November 2006 there were more males than females (0.3:1) ( $\chi^2$ ,  $P < 0.05$ ).

### Gonadal development

Immature females were observed throughout the year, peaking in August 2006 and February 2007. The maximum

fecundidad potencial fue calculada a partir del promedio de las tres muestras. También se estimó la fecundidad relativa (número de ovocitos por gramo de peso corporal de la hembra).

Se obtuvo el porcentaje de organismos de cada sexo durante el periodo de estudio al igual que la proporción sexual. Para establecer si ésta era diferente de 1:1 se empleó la prueba de chi-cuadrada ( $\chi^2$ ) (Sokal y Rohlf 1979). La temperatura superficial del mar se obtuvo con el programa Optimal Interpolation Sea Surface Temperature (Ver. 2.0). Se aplicó la prueba de Spearman para determinar si existía una relación significativa entre el IGD y el IGS (Sokal y Rohlf 1979).

## RESULTADOS

### Proporción sexual

La proporción sexual total fue de 0.85:1 (hembra:macho) y no fue significativamente diferente de 1:1. No obstante, en el análisis mensual se observó que en noviembre de 2006 los machos fueron más abundantes que las hembras (0.3:1) ( $\chi^2$ ,  $P < 0.05$ ).

### Desarrollo gonádico

Durante todo el año se observaron hembras inmaduras con una máxima frecuencia en agosto de 2006 y en febrero de 2007. El mayor porcentaje de hembras en desarrollo y maduras se presentó en diciembre de 2006 y en enero de 2007, respectivamente. Las hembras en predesove únicamente se encontraron de septiembre a diciembre de 2006 y en marzo de 2007 (fig. 2a). No se encontraron hembras en desove en el sitio de estudio.

A diferencia de las hembras, los machos inmaduros fueron poco abundantes y sólo se observaron en tres meses (julio de 2006, abril y mayo de 2007). Los individuos maduros se encontraron a lo largo del año con una alta frecuencia de ocurrencia en marzo de 2007 (fig. 2b).

### Diámetro de los ovocitos

El máximo diámetro promedio de los ovocitos se registró en noviembre de 2006 y en marzo de 2007 (ANOVA,  $P < 0.05$ ), mientras que el mínimo se registró de junio a agosto de 2006 y en febrero y junio de 2007 (ANOVA,  $P < 0.05$ ). El máximo valor promedio registrado fue 161  $\mu\text{m}$  y ocurrió en noviembre de 2006, mientras que el valor mínimo fue 62  $\mu\text{m}$  y se registró en febrero de 2007 (fig. 3).

### Índices

El IGS en hembras mostró dos picos reproductivos principales, uno en septiembre y el otro en diciembre de 2006, con un pico secundario en marzo de 2007 (tabla 3). En los

percentage of maturing and mature females was observed in December 2006 and January 2007, respectively. Prespawning females were only found from September to December 2006 and in March 2007 (fig. 2a). Spawning females were not found at the site.

Unlike females, immature males were not abundant and were caught only in three months (July 2006, April and May 2007). Mature males were present throughout the year, with a high frequency of occurrence in March 2007 (fig. 2b).

### Oocyte diameter

The maximum mean oocyte diameter was recorded in November 2006 and March 2007 (ANOVA,  $P < 0.05$ ), while the minimum was observed from June to August 2006 and in February and June 2007 (ANOVA,  $P < 0.05$ ). The maximum mean value was 161  $\mu\text{m}$  and it was recorded in November 2006, and the minimum was 62  $\mu\text{m}$  in February 2007 (fig. 3).

### Indices

The female GSI showed two main reproductive peaks, one in September and another in December 2006, with a secondary peak in March 2007 (table 3). For males, no clear

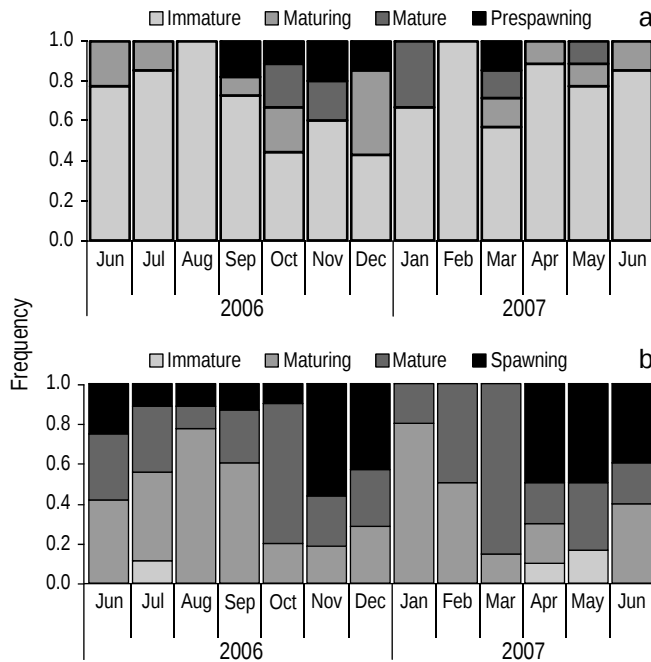
machos no se observó alguna tendencia pero los valores máximos del IGS se registraron en agosto y septiembre de 2006 y en mayo de 2007.

Los resultados del IGD señalan que no existe una temporada en la que los pulpos acumulen reservas en la glándula digestiva, pues a lo largo del año se observó una gran variación del índice; esta tendencia fue similar para ambos sexos. Los meses en que los organismos acumularon una mayor cantidad de reservas en la glándula digestiva fueron septiembre de 2006 y febrero de 2007 (ANOVA,  $P < 0.05$ ; tabla 3). El máximo valor del IGD en hembras se observó en la fase de predesove y el mínimo en la fase de desarrollo (fig. 4). No se encontró relación alguna entre ambos índices ( $r = 0.1056$ ,  $P > 0.05$ ).

Los dos picos principales del IGS se observaron cuando la temperatura superficial del mar fue 24 y 29 °C, respectivamente, y el pico secundario de marzo de 2007 ocurrió a los 20 °C. Los valores máximos del diámetro de los ovocitos se registraron a los 27 °C (noviembre de 2006) y 20 °C (marzo de 2007). De acuerdo con esto, la principal actividad reproductiva sucedió en los meses cálidos (24–29 °C).

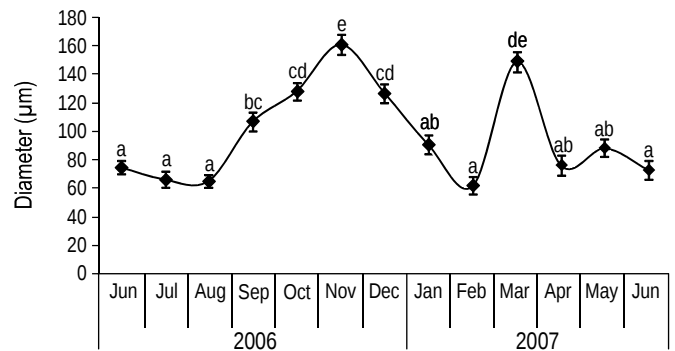
### Talla y peso de madurez

Las hembras maduran a los 490 mm LT, mientras que los machos alcanzan la madurez a los 390 mm. En otras palabras, los machos alcanzan la madurez sexual a menor talla que las hembras. El mismo resultado se obtuvo con el peso de madurez, en el cual las hembras maduran a los 680 g y los machos a los 445 g. Por otro lado, la hembra madura de menor talla midió 380 mm y pesó 380 g, mientras que la talla y el peso del macho maduro más pequeño fue de 267 mm y 90.3 g, respectivamente.



**Figure 2.** Monthly relative frequencies of the stages of gonadal development in (a) females and (b) males of *Octopus hubbsorum* from Espíritu Santo Island, southern Gulf of California.

**Figura 2.** Frecuencias relativas mensuales de las fases de desarrollo gonádico de (a) hembras y (b) machos de *Octopus hubbsorum* en la Isla Espíritu Santo, sur del Golfo de California.



**Figure 3.** Mean diameter of oocytes in *Octopus hubbsorum* collected between June 2006 and June 2007 from Espíritu Santo Island, southern Gulf of California. The letters indicate significant differences. Bars correspond to standard errors.

**Figura 3.** Diámetro promedio de ovocitos de *Octopus hubbsorum* de junio de 2006 a junio de 2007 en la Isla Espíritu Santo, sur del Golfo de California. Las letras indican diferencias significativas. Las barras corresponden al error estándar.

trend was observed. Peak GSI values were observed in August and September 2006, and in May 2007.

The DGI values indicate that reserve build-up in the digestive gland does not take place in any specific season, since a substantial index variation was observed throughout the year; this trend was similar for both sexes. The months when octopuses accumulated most reserves in the digestive gland were September 2006 and February 2007 (ANOVA,  $P < 0.05$ ; table 3). The maximum DGI value for females was observed in the prespawning stage and the minimum in the maturing stage (fig. 4). No correlation between both indices was observed ( $r = 0.1056$ ,  $P > 0.05$ ).

The two GSI peaks occurred when sea surface temperature was 24 and 29 °C, respectively, and the secondary peak in March 2007 occurred at 20 °C. The maximum oocyte diameter was registered at 27 °C (November 2006) and 20 °C (March 2007). According to this, major reproductive activity occurred during the warm months (24–29 °C).

### Size and weight at maturity

Females mature at 490 mm TL while males reach maturity at 390 mm; hence, males attain sexual maturity at smaller sizes than females. The same result was observed for the weight at maturity: females mature at 680 g and males at 445 g. The smallest mature female measured 380 mm and weighed 380 g, while the size and weight of the smallest mature male were 267 mm and 90.3 g, respectively.

### Fecundity

The mean potential fecundity was estimated to be  $205,144 \pm 67,207$  oocytes per female, ranging from 126,626 to 326,922 oocytes per female. The mean relative fecundity was  $309 \pm 91$  oocytes per gram of female body weight.

### DISCUSSION

The difference in the cephalopod sex ratio can be attributed to a combination of factors like migrations associated with the reproductive period, post-reproductive mortality, feeding behavior, sampling strategy, etc. (Silva *et al.* 2002, Rodríguez-Rúa *et al.* 2005, Otero *et al.* 2007). Nevertheless, it is common to find more males than females (Hernández-García *et al.* 2002, Silva *et al.* 2002, Cardoso *et al.* 2004).

The sex ratio of *O. hubbsorum* from Espíritu Santo Island was not significantly different from 1:1 except in November, when more males were captured, coinciding with the reproductive period. The post-reproductive mortality caused by parental care of females could explain the higher abundance of males. Additionally, males are more vulnerable to being caught, given that they are more active in seeking females for mating (Anderson *et al.* 2002, Hernández-García *et al.* 2002).

The results obtained for the GSI, oocyte diameter, and frequency of gonad development indicate that the spawning

### Fecundidad

El promedio de la fecundidad potencial fue de  $205,144 \pm 67,207$  ovocitos por hembra y su intervalo fue de 126,626 a 326,922 ovocitos por hembra. El promedio de la fecundidad relativa fue de  $309 \pm 91$  ovocitos por gramo de peso corporal de hembra.

### DISCUSIÓN

La diferencia en la proporción sexual de los cefalópodos puede ser atribuida a una combinación de varios factores, como migraciones asociadas al periodo reproductivo, mortalidad después del desove, comportamiento alimenticio, estrategia de muestreo, etc. (Silva *et al.* 2002, Rodríguez-Rúa *et al.* 2005, Otero *et al.* 2007). Sin embargo, es común encontrar una mayor proporción de machos que de hembras (Hernández-García *et al.* 2002, Silva *et al.* 2002, Cardoso *et al.* 2004).

La proporción sexual de *O. hubbsorum* en la Isla Espíritu Santo no fue significativamente diferente de 1:1; a excepción de noviembre cuando se capturaron más machos y que coincidió con la época reproductiva. La mortalidad post-reproductiva ocasionada por el cuidado parental de las hembras podría explicar la mayor abundancia de los machos. Adicionalmente, los machos son más vulnerables a ser atrapados por la necesidad de salir en busca de las hembras para aparearse (Anderson *et al.* 2002, Hernández-García *et al.* 2002).

Considerando los resultados obtenidos del IGS, del diámetro de los ovocitos y de las frecuencias de madurez gonádica de las hembras, la temporada de desove de *O. hubbsorum* es en otoño, resultado que difiere con la principal temporada de desove en invierno/primavera reportada para las áreas del Pacífico central y sur de México (Alejo-Plata *et al.* 2009, López-Uriarte y Ríos-Jara 2009). Tal diferencia estacional en el desove de *O. hubbsorum* se puede deber a las distintas condiciones ambientales de cada región. Se sabe que la temperatura es un factor que afecta la reproducción en los octópodos (Van Heukelem 1979, Forsythe y Hanlon 1988). Según nuestros resultados, la principal temporada de desove de *O. hubbsorum* ocurre en coincidencia con las altas temperaturas (24–29°C) en la Isla Espíritu Santo.

Los altos valores del IGS en hembras registrados de septiembre a diciembre y en marzo fueron resultado de la presencia de las hembras en predesove, mientras que los valores más bajos correspondieron a las hembras inmaduras. El diámetro máximo de los ovocitos observado en noviembre fue debido a que había un alto porcentaje de hembras maduras y en predesove. En estas dos fases es cuando el tamaño de los ovocitos se incrementa considerablemente por la acumulación de vitelo en el citoplasma.

Se observó que en marzo ocurrió un evento reproductivo secundario. La estacionalidad reproductiva de los octópodos

**Table 3.** Monthly variation of the gonadosomatic index (GSI) and digestive gland index (DGI) of *Octopus hubbsorum* females.

**Tabla 3.** Variación mensual de los índices gonadosomático (GSI) y de la glándula digestiva (DGI) en hembras de *Octopus hubbsorum*.

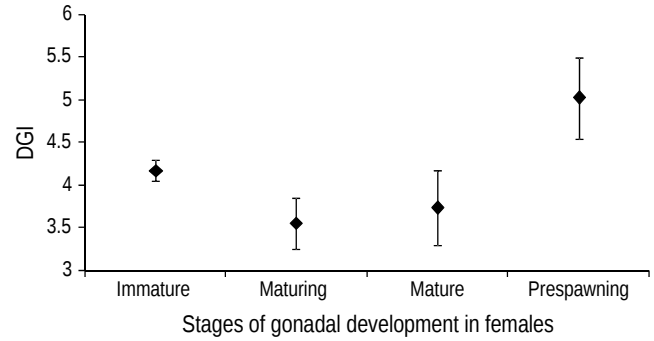
| Month          | GSI  | DGI  |
|----------------|------|------|
| June 2006      | 0.11 | 4.23 |
| July 2006      | 0.10 | 4.28 |
| August 2006    | 0.08 | 3.58 |
| September 2006 | 2.41 | 5.16 |
| October 2006   | 0.83 | 2.94 |
| November 2006  | 1.73 | 4.35 |
| December 2006  | 2.24 | 3.35 |
| January 2007   | 0.48 | 4.70 |
| February 2007  | 0.09 | 5.30 |
| March 2007     | 0.92 | 3.39 |
| April 2007     | 0.13 | 4.25 |
| May 2007       | 0.21 | 4.29 |
| June 2007      | 0.11 | 4.33 |

season of *O. hubbsorum* takes place in autumn. This differs from the main spawning season in winter/spring reported for the central and southern Pacific coasts of Mexico (Alejo-Plata *et al.* 2009, López-Uriarte and Ríos-Jara 2009). This variation in the spawning season could be due to the environmental conditions in each region. Temperature is known to affect reproduction in octopuses (Van Heukelem 1979, Forsythe and Hanlon 1988). According to our results, the main spawning season of *O. hubbsorum* occurs at high temperatures (24–29°C) at Espíritu Santo Island.

The maximum GSI values observed in females from September to December and in March can be attributed to the presence of prespawning females, whereas the minimum values correspond to immature females. The largest oocyte diameters observed in November were due to the high frequency of mature and prespawning females. In these stages, oocytes are bigger than in other phases as a result of yolk accumulation in the cytoplasm.

A secondary reproductive episode was observed in March. The seasonal reproduction of octopods is well documented and a secondary reproductive peak has been reported in some areas (Hernández-García *et al.* 2002, Silva *et al.* 2002, Cardoso *et al.* 2004, Rodríguez-Rúa *et al.* 2005, Katsanevakis and Verriopoulos 2006). This secondary event is likely irregular and dependent on environmental variations in the study area (Katsanevakis and Verriopoulos 2006, Otero *et al.* 2007), or it could be due to a delay in maturation of some individuals in the population or the existence of two cohorts.

Oocyte maturation in *O. hubbsorum* was asynchronous in the first development stages and in the last stage no germinal epithelium was observed, similar to *Octopus mimus* Gould



**Figure 4.** Variation of the digestive gland index (DGI) relative to the stage of gonadal development in *Octopus hubbsorum* females from Espíritu Santo Island, southern Gulf of California.

**Figura 4.** Variación del índice de la glándula digestiva (DGI) respecto al estado de desarrollo gonádico en hembras de *Octopus hubbsorum* de la Isla Espíritu Santo, sur del Golfo de California.

está bien documentada y en algunos sitios se ha señalado la ocurrencia de un segundo pico reproductivo (Hernández-García *et al.* 2002, Silva *et al.* 2002, Cardoso *et al.* 2004, Rodríguez-Rúa *et al.* 2005, Katsanevakis y Verriopoulos 2006). Sin embargo, puede ser que el segundo periodo sea irregular y dependiente de las variaciones ambientales de la zona de estudio (Katsanevakis y Verriopoulos 2006, Otero *et al.* 2007), o que se trate de un desfase en la maduración de una porción de la población o de la existencia de dos cohortes.

La maduración de los ovocitos en *O. hubbsorum* fue asincrónica en las primeras etapas de desarrollo y en la última fase no se observó epitelio germinal, de manera similar a lo observado en *Octopus mimus* Gould 1852 (Olivares *et al.* 2001, Zamora y Olivares 2004), lo que indica que *O. hubbsorum* no puede reproducirse por una segunda ocasión.

El ciclo reproductivo de los moluscos marinos está fuertemente relacionado con el almacenamiento de nutrientes, los ciclos de utilización y los parámetros ambientales, tales como la temperatura del agua y la disponibilidad del alimento (Giese 1969, Gabbott 1975, Bayne 1976). La gametogénesis es un proceso que requiere energía y la forma de obtenerla difiere entre especies (Park *et al.* 2001). En este sentido, algunos pulpos y bivalvos marinos utilizan la energía recién ingerida, mientras que otros emplean la energía de los sustratos almacenados en varios órganos y tejidos (glándula digestiva, músculo aductor o manto) que es proporcionada por la alimentación antes de su gametogénesis (para revisiones ver Gabbott 1975, Bayne 1976, O'Dor y Wells 1978, Barber y Blake 1991, Rosa *et al.* 2004, Otero *et al.* 2007). Se sabe que la glándula digestiva de los moluscos es responsable del almacenamiento de los nutrientes y de la transferencia del alimento asimilado a los tejidos corporales, y que la iniciación de la fase de crecimiento del ovocito es dependiente de la acumulación y del envío de las reservas de nutrientes desde

1852 (Olivares *et al.* 2001, Zamora and Olivares 2004), which indicates that *O. hubbsorum* cannot reproduce a second time.

The reproductive cycle of marine mollusks is strongly related to nutrient storage and utilization cycles, and to environmental parameters such as water temperature and food availability (Giese 1969, Gabbott 1975, Bayne 1976). Gametogenesis is a process that requires energy, and the way to obtain energy differs among species (Park *et al.* 2001). Some octopuses and marine bivalves use the recently ingested energy, while others use the energy of substrates stored in various organs and tissues (digestive gland, adductor muscle, or mantle) through feeding prior to gametogenesis (for reviews see Gabbott 1975, Bayne 1976, O'Dor and Wells 1978, Barber and Blake 1991, Rosa *et al.* 2004, Otero *et al.* 2007). It is known that the mollusk digestive gland is responsible for nutrient storage and transfer of assimilated food to body tissues, and that the initiation of the oocyte growth phase is dependent upon the accumulation and transfer of nutrient reserves from the digestive gland to the gonad (Sastry and Blake 1971, Gabbott and Bayne 1973, Vassallo 1973, Barber and Blake 1983, Pazos *et al.* 1997, Lodeiros *et al.* 2001).

Although not expected in semelparous species, cephalopod reproduction may involve direct costs, described as "drain of resources from somatic to gametic tissues" (Sibly and Calow 1986). In *Todarodes pacificus* Steenstrup 1880, *O. vulgaris* Cuvier 1797, and *O. mimus*, it seems that final maturation is partially reached at the expense of the body muscle and the digestive gland (Hamabe 1963, O'Dor and Wells 1978, Cortez *et al.* 1995).

In this study, the decrease in DGI values for maturing individuals compared with immature ones was in agreement with this transfer of energy and nutrients to the gonad for ripening in *O. hubbsorum*. Octopuses seemingly use resources stored in the digestive gland; this may be because females invest energy principally to increase oocyte size (Otero *et al.* 2007). On the other hand, the considerable increase in the DGI values for prespawning individuals may be explained by the fact that octopuses also use the resources stored in these tissues for maintenance during and after spawning, when females stop feeding (Cortez *et al.* 1995, Anderson *et al.* 2002, Zamora and Olivares 2004). However, the lack of spawning and postspawning females did not allow checking the decrease of DGI in the last stages. Moreover, using energy derived from food for reproduction rather than body reserves will make the individual more susceptible to recent environmental conditions (Ho *et al.* 2004).

*Octopus hubbsorum* males mature earlier than females, a condition frequently shown by octopuses (Hernández-García *et al.* 2002, Silva *et al.* 2002, Rodríguez-Rúa *et al.* 2005, Otero *et al.* 2007, Alejo-Plata *et al.* 2009, López-Uriarte and Ríos-Jara 2009). The size at maturity registered for both sexes was similar to that reported for specimens collected from the central Mexican Pacific coast, but that was not the

la glándula digestiva hacia la gónada (Sastry y Blake 1971, Gabbott y Bayne 1973, Vassallo 1973, Barber y Blake 1983, Pazos *et al.* 1997, Lodeiros *et al.* 2001).

Aunque no se espera en especies semélparas, la reproducción en cefalópodos puede involucrar costos directos que han sido descritos como "una fuga de recursos del tejido somático hacia el tejido gamético" (Sibly y Calow 1986). En *Todarodes pacificus* Steenstrup 1880, *O. vulgaris* Cuvier 1797 y *O. mimus* existe evidencia de que la maduración final parece ser parcialmente alcanzada a expensas del músculo y la glándula digestiva (Hamabe 1963, O'Dor y Wells 1978, Cortez *et al.* 1995).

En este estudio, el decremento de los valores del IGD en individuos en desarrollo en comparación con los inmaduros, estuvo acorde con esta transferencia de energía y de nutrientes a la gónada para la maduración de *O. hubbsorum*. Aparentemente los pulpos utilizan los recursos almacenados en la glándula digestiva, lo cual puede deberse a que las hembras invierten energía principalmente para incrementar el tamaño del ovocito (Otero *et al.* 2007). Por otro lado, el incremento considerable del IGD en las hembras en predesove puede ser explicado por el hecho de que los pulpos también utilizan los recursos almacenados en esos tejidos para el mantenimiento durante y después del desove, cuando las hembras dejan de alimentarse (Cortez *et al.* 1995, Anderson *et al.* 2002, Zamora y Olivares 2004). Sin embargo, la carencia de organismos en desove y postdesove no permitió comprobar el decremento del IGD en las últimas etapas. Aún más, el uso de energía para la reproducción proveniente de la comida en lugar de las reservas corporales hará al individuo más susceptible a las condiciones ambientales (Ho *et al.* 2004).

Los machos de *O. hubbsorum* maduran antes que las hembras, condición que es frecuente en los octópodos (Hernández-García *et al.* 2002, Silva *et al.* 2002, Rodríguez-Rúa *et al.* 2005, Otero *et al.* 2007, Alejo-Plata *et al.* 2009, López-Uriarte y Ríos-Jara 2009). La talla de madurez de *O. hubbsorum* registrada para ambos sexos fue similar a la reportada para el Pacífico central mexicano, pero no fue el mismo caso del peso de madurez, debido a que los organismos fueron más pesados en esa área (López-Uriarte y Ríos-Jara 2009).

La fecundidad de *O. hubbsorum* en la Isla Espíritu Santo fue ligeramente diferente a la reportada para la costa del Pacífico central mexicano (62,470 a 424,546 ovocitos por hembra; López-Uriarte y Ríos-Jara 2009) y coincide con la reportada para otras especies de *Octopus* como *O. mimus* (60,000 a 20,000 ovocitos por hembra; Warnke 1999) y *O. vulgaris* (100,000 a 500,000 ovocitos por hembra; Mangold 1983).

## AGRADECIMIENTOS

El presente estudio fue financiado por el Instituto Politécnico Nacional (IPN, México). Se agradece al IPN (Programa Institucional de Formación de Investigadores) y al

case for weight at maturity, as organisms were heavier in that area (López-Urriarte and Ríos-Jara 2009).

In *O. hubbsorum* from Espíritu Santo Island, female fecundity differed slightly compared with that reported for specimens from the central Mexican Pacific coast (62,470 to 424,546 oocytes per female; López-Urriarte and Ríos-Jara 2009), but coincides with that reported for related *Octopus* species, such as *O. mimus* (60,000 to 200,000 oocytes per individual; Warnke 1999) and *O. vulgaris* (100,000 to 500,000 oocytes per individual; Mangold 1983).

## ACKNOWLEDGEMENTS

This study was funded by the National Polytechnic Institute (IPN, Mexico). R Pliego-Cárdenas acknowledges receipt of scholarships from IPN (Programa Institucional de Formación de Investigadores) and the Mexican Council for Science and Technology. We thank the Comisión de Operación y Fomento de Actividades Académicas, EDI, and SNI for the fellowships granted to M Villalejo-Fuerte, M Arellano-Martínez, BP Ceballos-Vázquez, and FA García-Domínguez. We also thank ME Sánchez-Salazar for her assistance in editing the English version of the manuscript.

## REFERENCES

- Alejo-Plata MC, Gómez-Márquez JL, Ramos-Carrillo S, Herrera-Galindo JE. 2009. Reproducción, dieta y pesquería del pulpo *Octopus (Octopus) hubbsorum* (Mollusca, Cephalopoda) en la costa de Oaxaca, México. *Rev. Biol. Trop.* 57: 63–78.
- Anderson RC, Wood JB, Byrne RA. 2002. Octopus senescence: The beginning of the end. *J. Appl. Anim. Welfare Sci.* 5: 275–283.
- Barber BJ, Blake NJ. 1983. Growth and reproduction of the bay scallop, *Argopecten irradians* (Lamarck), at its southern distributional limit. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 66: 247–256.
- Barber BJ, Blake NJ. 1991. Reproductive physiology. In: Shumway SE (ed.), *Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture*. Elsevier, Amsterdam, pp. 377–409.
- Bayne BL. 1976. Aspects of reproduction in bivalve molluscs. In: Wiley LM (ed.), *Estuarine Processes*. Academic Press, New York, pp. 432–448.
- Cardoso F, Villegas P, Estrella C. 2004. Observaciones sobre la biología de *Octopus mimus* (Cephalopoda: Octopoda) en la costa peruana. *Rev. Peru. Biol.* 11: 45–50.
- Castro BG, Garrido JL, Sotelo CG. 1992. Changes in composition of digestive gland and mantle muscle of the cuttlefish *Sepia officinalis* during starvation. *Mar. Biol.* 114: 11–20.
- Cortez T, Castro BG, Guerra A. 1995. Reproduction and condition of female *Octopus mimus* (Mollusca: Cephalopoda). *Mar. Biol.* 123: 505–510.
- Forsythe JW, Hanlon RT. 1988. Effect of temperature on laboratory growth, reproduction and life span of *Octopus bimaculoides*. *Mar. Biol.* 98: 369–379.
- Gabbott PA. 1975. Storage cycles in marine bivalve molluscs: A hypothesis concerning the relationship between glycogen metabolism and gametogenesis. In: Barnes H (ed.), *Ninth European Marine Biology Symposium*. Aberdeen Univ. Press, Aberdeen, pp. 191–211.
- Gabbott PA, Bayne BL. 1973. Biochemical effects of temperature and nutritive stress on *Mytilus edulis* L. *J. Mar. Biol. Assoc.* 53: 269–286.
- Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología la beca otorgada a R Pliego-Cárdenas, así como a la Comisión de Operación y Fomento de Actividades Académicas, EDI y SNI las becas otorgadas a M Villalejo-Fuerte, M Arellano-Martínez, BP Ceballos-Vázquez y FA García-Domínguez. Se agradece a ME Sánchez-Salazar su ayuda para la edición de la versión en inglés del manuscrito.
- Giese AC. 1969. A new approach to the biochemical composition of the mollusk body. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 7: 175–229.
- Grant A, Tyler PA. 1983. The analysis of data in studies of invertebrate reproduction. II. The analysis of oocyte size/frequency data, and comparison of different types of data. *Int. J. Invertebr. Rep.* 6: 271–283.
- Hamabe M. 1963. Exhaustion process of the genital organs of common squid, *Ommastrephes sloani pacificus*. *Bull. Japan Sea Reg. Fish. Res. Lab.* 11: 53–64.
- Hernández-García V, Hernández-López JL, Castro-Hernández JJ. 2002. On the reproduction of *Octopus vulgaris* of the coast of the Canary Islands. *Fish. Res.* 57: 197–203.
- Ho JD, Moltschaniwskyj NJ, Carter CG. 2004. The effect of variability in growth on somatic condition and reproductive status in the southern calamari *Sepioteuthis australis*. *Mar. Freshwat. Res.* 55: 421–428.
- Humason GL. 1979. *Animal Tissue Techniques*. WH Freeman and Co., San Francisco, 661 pp.
- INAPESCA. 2008. Evaluación de la población de pulpo (*Octopus maya*) en la península de Yucatán 2008. Documento interno, Instituto Nacional de Pesca, México. [Http://www.inp.sagarpa.gob.mx/Dictamenes/Dictamenes.html](http://www.inp.sagarpa.gob.mx/Dictamenes/Dictamenes.html).
- Jurado-Molina J. 2010. A Bayesian framework with implementation error to improve the management of the red octopus (*Octopus maya*) fishery off the Yucatán Peninsula. *Cienc. Mar.* 36: 1–14.
- Katsanevakis S, Verriopoulos G. 2006. Seasonal population dynamics of *Octopus vulgaris* in the eastern Mediterranean. *J. Mar. Sci.* 63: 151–160.
- Lodeiros CJ, Rengel JJ, Guderley H, Nusetti OA, Himmelman JH. 2001. Biochemical composition and energy allocation in the tropical scallop *Lyropecten (Nodipecten) nodosus* during the months leading up to and following the development of gonads. *Aquaculture* 199: 63–72.
- López-Urriarte E, Ríos-Jara E. 2009. Reproductive biology of *Octopus hubbsorum* (Mollusca: Cephalopoda) along the central Mexican Pacific coast. *Bull. Mar. Sci.* 84: 109–121.
- López-Urriarte E, Ríos-Jara E, Pérez-Peña M. 2005. Range extension for *Octopus hubbsorum* Berry, 1953 (Cephalopoda, Octopodidae) on the Mexican Pacific Coast. *Bull. Mar. Sci.* 77: 171–179.
- Mangold K. 1983. Reproduction. In: Boyle PR (ed.), *Cephalopod life cycles*. Vol. I. Academic Press, London, pp. 335–364.
- O'Dor RK, Wells MJ. 1978. Reproduction versus somatic growth: Hormonal control in *Octopus vulgaris*. *J. Exp. Biol.* 77: 15–31.
- Olivares A, Zamora M, Portilla P, Zúñiga O. 2001. Estudio histológico de la ovogénesis y maduración ovárica en *Octopus mimus* (Cephalopoda: Octopodidae) de la II región de Chile. *Estud. Oceanol.* 20: 13–22.
- Otero J, González AF, Sieiro MP, Guerra A. 2007. Reproductive and energy allocation of *Octopus vulgaris* in Galician waters, NE Atlantic. *Fish. Res.* 85: 122–129.
- Park MS, Kang CK, Lee PY. 2001. Reproductive cycle and biochemical composition of the ark shell *Scapharca broughtonii*

- (Schrenck) in a southern coastal bay of Korea. J. Shellfish Res. 20: 177–184.
- Pazos AJ, Román G, Acosta CO, Abad M, Sánchez JL. 1997. Seasonal changes in condition and biochemical composition of the scallop *Pecten maximus* L. from suspended culture in the Ria de Arousa (Galicia, NW Spain) in relation to environmental conditions J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 211: 169–193.
- Rodríguez-Rúa A, Pozuelo I, Prado MA, Gómez MJ, Bruzón MA. 2005. The gametogenic cycle of *Octopus vulgaris* (Mollusca: Cephalopoda) as observed on the Atlantic coast of Andalusia (south of Spain). Mar. Biol. 147: 927–933.
- Rosa R, Costa PR, Nunes ML. 2004. Effect of sexual maturation on the tissue biochemical composition of *Octopus vulgaris* and *O. defilippi* (Mollusca: Cephalopoda). Mar. Biol. 145: 563–574.
- Sastry AN, Blake NJ. 1971. Regulation of gonad development in the bay scallop, *Aequipecten irradians* Lamarck. Biol. Bull. 149: 274–283.
- Sibly RM, Calow P. 1986. Physiological Ecology of Animals. Blackwell Scientific Publ., Oxford, 190 pp.
- Silva L, Sobrino I, Ramos F. 2002. Reproductive biology of the common octopus, *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 (Cephalopoda: Octopodidae), in the Gulf of Cadiz (SW Spain). Bull. Mar. Sci. 71: 837–850.
- Sokal R, Rohlf F. 1979. Biometría. Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica. H Blume Ed., Madrid, 832 pp.
- Van Heukelem WF. 1979. Environmental control of reproduction and life span in *Octopus*: An hypothesis. In: Stancyk SE (ed.), Reproductive Ecology of Marine Invertebrates. Univ. Carolina Press, Columbia, pp. 123–133.
- Vassallo MT. 1973. Lipid storage and transfer in the scallop *Chlamys hericia* Gould. Comp. Biochem. Physiol. 44A: 1169–1175.
- Warnke K. 1999. Observations on the embryonic development of *Octopus mimus* (Mollusca: Cephalopoda) from northern Chile. Veliger 42: 211–217.
- Wells MJ, Clarke A. 1996. Energetics: The costs of living and reproducing for an individual cephalopod. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B 351: 1083–1104.
- Zamora CM, Olivares PA. 2004. Variaciones bioquímicas e histológicas asociadas al evento reproductivo de la hembra de *Octopus mimus* (Mollusca: Cephalopoda). Int. J. Morphol. 22: 207–216.

Received March 2010;  
accepted October 2010.