

Biotempo (Lima)



<https://revistas.urp.edu.pe/index.php/Biotempo>

ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

REPRODUCTIVE HISTOLOGY OF THREE SPECIES OF POLYPLACOPHORA (MOLLUSCA) FROM WAIKIKI AND LA PAMPILLA BEACHES, LIMA, PERÚ


HISTOLOGÍA REPRODUCTIVA DE TRES ESPECIES DE POLYPLACOPHORA (MOLLUSCA) PROCEDENTES DE LAS PLAYAS WAIKIKI Y LA PAMPILLA, LIMA, PERÚ


Miguel Dávila-Robles^{1*}; Luz Meza-Yance¹ & Jeanfranco Rivas-Narrea¹

¹ Laboratorio de Microscopía (LA 76) - Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Ricardo Palma (URP), Lima, Perú.

* Corresponding author: miguel.davila@urp.edu.pe

Miguel Dávila-Robles:  <https://orcid.org/0000-0002-7429-4836>

Luz Meza-Yance:  <https://orcid.org/0000-0003-4864-5708>

Jeanfranco Rivas-Narrea:  <https://orcid.org/0000-0002-2105-1988>

ABSTRACT

The “Chitons” are marine inhabitants that are geographically distributed from Ecuador to Chile. Their value as bioindicators and biological controllers is highlighted since they feed on algae and colonial animals. This study aims to describe the gonadal histology of females and males of *Chiton granosus* (Frembly, 1827), *Enoplochiton niger* (Barnes, 1824), and *Acanthopleura echinata* (Barnes, 1824) by recognizing oogenesis and spermatogenesis. The gonad was extracted from five individuals for each species by dissecting the dorsal area of the body and the Histological Technique with Hematoxylin-Eosin (H-E) staining was applied. The common structures identified in females and males are germ tissue and gonadal wall. About oogenesis, the following were observed: oogonia, in contact with the germ tissue; previtellogenic oocytes with a highly vacuolated or granulous cytoplasm presenting an acidophilic stain and the vitellogenic oocytes arranged towards the lumen of the gonad. On the other hand, in spermatogenesis, spermatogonia are spherical and arranged in germ tissue; primary spermatocytes, are amorphous; Secondary spermatocytes and spermatids are grouped and far from the germinal tissue. Finally, the sperm were located in the lumen of the gonad while maintaining the triangular shape and a developed tail. In conclusion, in the three species of chitons, it was identified the five cellular phases of oogenesis and spermatogenesis, due to the shape, size, and characteristic coloration of each cell group.

Keywords: Chitons – gonad – oogenesis – spermatogenesis

RESUMEN

Los “quitones” son habitantes marinos que se distribuyen geográficamente desde Ecuador hasta Chile. Se destaca su valor como bioindicadores y controladores biológicos, puesto que, se alimentan de algas y de animales coloniales. El objetivo



del presente trabajo consiste en describir la histología gonadal de hembras y machos de *Chiton granosus* (Frembly, 1827), *Enoplochiton niger* (Barnes, 1824) y *Acanthopleura echinata* (Barnes, 1824) mediante el reconocimiento de la ovogénesis y la espermatogénesis. Se realizó la extracción de la gónada a cinco individuos por cada especie mediante la disección de la zona dorsal del cuerpo y se aplicó la Técnica Histológica con tinción de Hematoxilina-Eosina (H-E). Las estructuras en común identificadas en hembras y machos son: el tejido germinal y la pared gonadal. En relación a la ovogénesis se apreciaron: las ovogonias, en contacto con el tejido germinal; los ovocitos previtelogénicos con un citoplasma muy vacuolado o granuloso presentando una tinción acidófila y los ovocitos vitelogénicos dispuestos hacia el lumen de la gónada. Por otra parte, en la espermatogénesis, las espermatogonias son esféricas y dispuestas en el tejido germinal; los espermatocitos primarios, amorfos; los espermatocitos secundarios y las espermatidas se encuentran agrupados y alejados del tejido germinal. Por último, los espermatozoides se ubicaron en el lumen de la gónada manteniendo la forma triangular y una cola desarrollada. En conclusión, en las tres especies de quitones se identificaron las cinco fases celulares de la ovogénesis y de la espermatogénesis, ello debido a la forma, tamaño y coloración característica de cada grupo celular.

Palabras clave: Espermatogénesis – gónada – ovogénesis – quitones

INTRODUCCIÓN

La clase Polyplacophora constituye una de las ocho clases del phylum Mollusca, siendo representadas por 914 especies registradas oficialmente, y por lo general son conocidas como “quitones” (Schwabe, 2005). Se caracterizan por poseer una concha calcárea con forma de óvalo dorsoventralmente aplanada, la cual, se dispone por ocho placas imbricadas que brindan protección de la exposición a los depredadores, olas y otras fuentes de daños (Valencia-Cayetano, 2020). Cabe resaltar que, son animales marinos de poca actividad; su motilidad y alimentación aumentan únicamente en las noches durante la marea baja (Glynn, 1970).

Los quitones se distribuyen geográficamente, en el Sur de América, desde el pueblo de Ayangue-Ecuador (Suarez, 2019) hasta el Estrecho de Magallanes-Chile (Paredes, 2018). Estos moluscos son organismos de sustratos duros encontrándose en los litorales sobre rocas, escombros y fragmentos de conchas; y en las profundidades marinas debajo de bloques de coral y/o en la vegetación (Lyons & Moretzsohn, 2009). Además, se destaca su valor como bioindicadores y controladores biológicos, puesto que, las especies litorales se alimentan de algas y las especies de aguas profundas, de diversos tipos de animales coloniales (corales) (Abadía, 2015).

Son individuos gonocoristas, algunos hermafroditas, con presencia de un dimorfismo sexual a nivel orgánico (Haszprunar, 2020). Poseen una sola gónada media, situada enfrente de la cavidad pericárdica y la fecundación

se lleva a cabo en el agua o dentro del surco paleal de la hembra (Reyes, 2000). En el aspecto histológico, la génesis de los gametos masculinos y femeninos se caracteriza por poseer fases distintas. La ovogénesis inicia en el tejido germinal junto al repliegue del tejido conectivo que se dirige hacia el centro de la gónada; en dicho tejido, los ovocitos previtelogénicos y vitelogénicos se forman por meiosis de células diploides del tejido conectivo (Vélez-Arellano *et al.*, 2014). Por otro lado, los machos presentan espermatogonias, espermatocitos y espermatidas que crecen a lo largo de los cordones sexuales hacia el lumen de la gónada (Vélez-Arellano *et al.*, 2020).

Dentro de las especies litorales estudiadas, *Acanthopleura echinata* (Barnes, 1824) y *Enoplochiton niger* (Barnes, 1824) poseen un valor comercial debido a su consumo local directo e indirecto en el Perú (Carbajal-Enzian *et al.*, 2018). De manera similar, *Chiton granosus* (Frembly, 1827) posee un valor comercial en Chile (Osorio, 2002). Por otro lado, en Sudamérica, las investigaciones en histología reproductiva de quitones destacan en evaluaciones comparativas del ciclo reproductivo de distintas especies (Brito *et al.*, 2020), en descripciones de la estructura gonadal y morfología de gametos (Gaymer *et al.*, 2004) y especificaciones generales reproductivas (Sanhueza & Ibañez, 2016).

Por tanto, el propósito del presente trabajo consiste en describir la histología gonadal de hembras y machos del *C. granosus*, *E. niger* y *A. echinata* mediante el reconocimiento de la ovogénesis y la espermatogénesis.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta

La colecta de *C. granosus* se realizó en la playa La Pampilla ($12^{\circ}7'26,98''S$ y $77^{\circ}2'29,71''W$), mientras que, *E. niger* y *A. echinata* (Fig. 1) en la Playa Waikiki ($12^{\circ}7'36,04''S$ y $77^{\circ}2'18,96''W$), Lima, Perú. Para la identificación

morfológica se hizo uso de las Guías de Zagal & Hermosilla (2001) y Carbajal-Enzian *et al.* (2018). Se recolectaron 10 individuos de cada especie de manera independiente al sexo, los cuales fueron trasladados en un cooler con contenido de agua de mar y un oxigenador hasta el Laboratorio de Microscopía de la Universidad Ricardo Palma, Lima Perú.

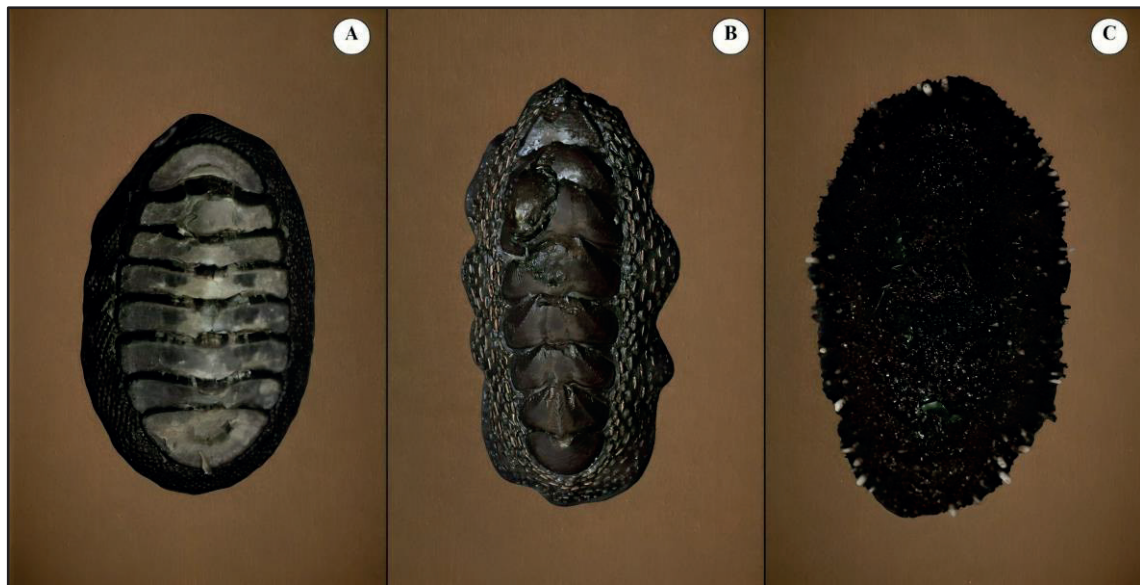


Figura 1. *Chiton granosus* (A), *Enoplochiton niger* (B) y *Acanthopleura echinata* (C). Fotografías realizadas por Gonzalo Mejía.

Proceso de relajación

Este proceso se basó en el protocolo de relajación establecido por Abadía (2015), el cual indica que el porcentaje de agua marina y agua dulce con etanol debe poseer una concentración de 50:50 en el volumen final. El proceso se inició con el traslado de los quitones del “cooler” a un recipiente hermético con 3000 mL de agua marina. Posteriormente, se agregó 200 mL de agua dulce y 100 mL de etanol al 10% cada 10 min durante 1 h y 40 min, obteniéndose un volumen final de 6000 mL y cumpliendo la proporción indicada.

Proceso histológico

Las muestras de estudio se obtuvieron mediante la disección de la zona dorsal del cuerpo de los quitones. En primer lugar, se extrajeron las ocho placas dorsales para dejar al descubierto la musculatura. En ésta se realizó un corte en forma de “U” para su despliegue y posterior exposición de la gónada. En segundo lugar, se diferenciaron a los individuos machos y hembras por la coloración del órgano a salmón o verde olivo, respectivamente. Por último, se seleccionaron las gónadas mejor conservadas

obteniendo cinco de cada especie, 1 femenina y 4 masculinas, las cuales se extrajeron y trasladaron individualmente a un vial con Formol al 10%, se fijaron por tres días, y se aplicó la Técnica Histológica con tinción de Hematoxilina-Eosina (H-E).

Observación en el microscopio

Para la observación individual de las láminas se empleó un microscopio óptico con cámara incorporada de la marca Leica y, para la toma de fotos de un campo visual por objetivo (10x, 40x y 100x), el Software Lasez. Se realizó la diferenciación histológica entre hembras y machos de acuerdo a la ovogénesis y espermatogénesis.

Aspectos éticos: Los autores indican que se siguieron todos los procedimientos éticos estándares del país.

RESULTADOS

Las estructuras en común que fueron observadas en hembras y machos son: el tejido germinal y la pared

gonadal (Fig. 2) las cuales poseen una estrecha unión. El tejido germinal se dispone, en ambos sexos, al lumen de la gónada, mientras que la pared gonadal es aquella que la recubre; ambas estructuras están conectadas por las invaginaciones que presentan ambas gónadas.

Ovogénesis

Como primera fase se aprecian las ovogonias que se encuentran en contacto con el tejido germinal con un tamaño reducido y presentando un núcleo y nucleolo en algunas de estas. En cuanto a los ovocitos previtelogénicos, los ovocitos primarios presentan un tamaño mayor que las ovogonias y un citoplasma muy vacuolado con núcleo y nucleolo muy notorios. Se observan los ovocitos secundarios con un citoplasma con pocas o sin vacuolas, ya que pasan a ser granuloso con una coloración ligeramente acidófila (Fig. 3).

Con respecto a los ovocitos vitelogénicos, los ovocitos con folículos se disponen hacia el lumen de la gónada, éstas

presentan una capa de células foliculares que rodean al ovocito con el núcleo y nucleolo muy desarrollados. Por último, los ovocitos maduros, se encuentran en el lumen de la gónada y presentan células foliculares desarrolladas las cuales se observan como una proyección del propio citoplasma deformado, dichas prolongaciones forman el casco del ovocito maduro teniendo un ápice en forma de tridente (Fig. 4).

Espermatogénesis

Se aprecian las espermatogonias con forma esférica y dispuestas en el tejido germinal. Los espermatocitos primarios son amorfos; los espermatocitos secundarios, con forma esférica, y las espermátidas, con forma triangular, se encuentran agrupados y alejados del tejido germinal. Por último, los espermatozoides se encuentran en el lumen de la gónada manteniendo la forma triangular en la cabeza y una cola desarrollada (Fig. 5).

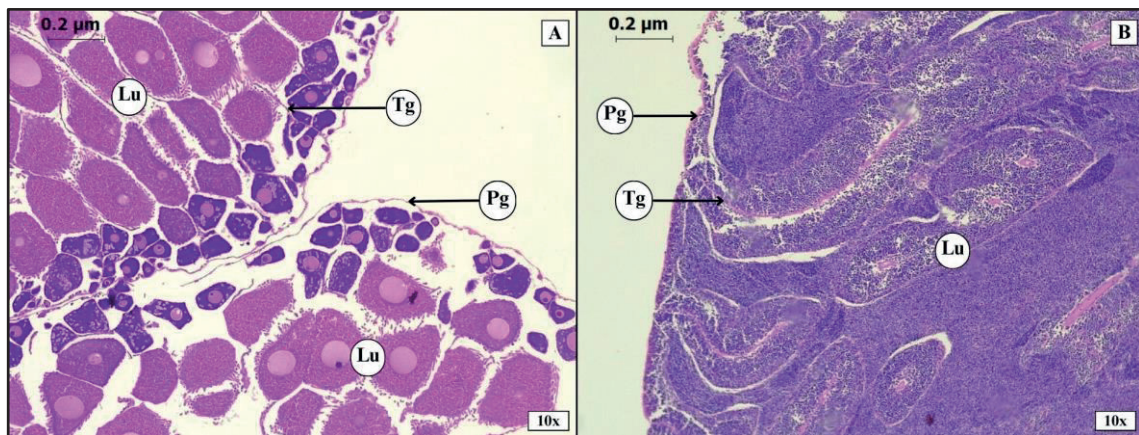


Figura 2. Tejido Germinal (Tg), Pared Gonadal (Pg) y Lumen (Lu) de la especie *Enoplochiton niger* hembra (A) y macho (B). Tinción Hematoxilina-Eosina (H-E).

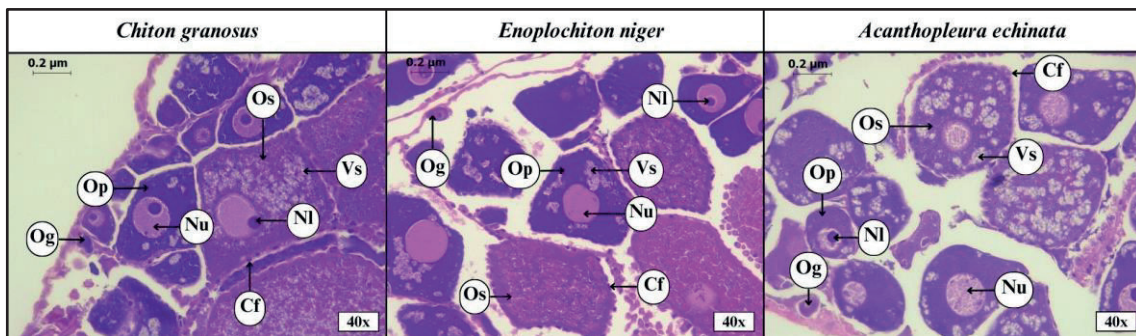


Figura 3. Ovogonia y ovocitos previtelogénicos. Ovogonias (Og), núcleo (Nu), nucleolo (Nl), ovocitos Primarios (Op), vacuolas (Vs) y ovocitos Secundarios (Os) de tres especies de poliplacóforos. Tinción Hematoxilina-Eosina (H-E).

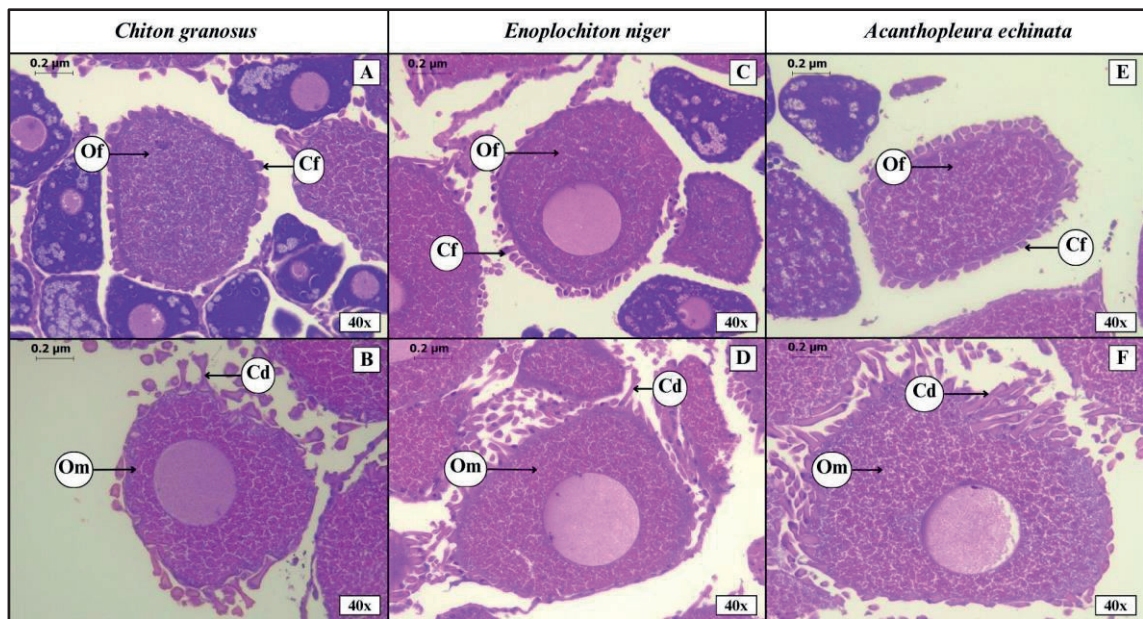


Figura 4. Ovocitos vitelogénicos. A, C y E: ovocitos con folículos (Of), B, D y F: ovocitos maduros (Om); células foliculares (Cf) y células foliculares desarrolladas (Cd) de tres especies de poliplacóforos. Tinción Hematoxilina-Eosina (H-E).

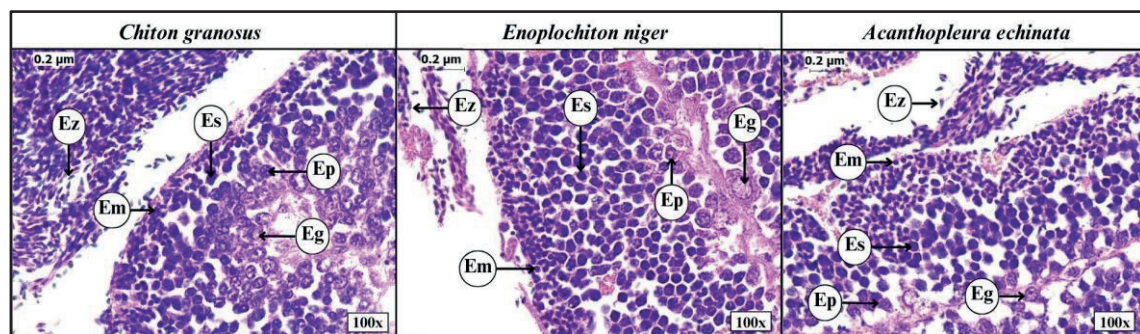


Figura 5. Espermatogénesis. Espermatogonias (Eg), espermatocitos primarios (Ep), espermatocitos secundarios (Es), espermátidas (Em), y espermatozoides (Ez) de tres especies de poliplacóforos. Tinción Hematoxilina-Eosina (H-E).

DISCUSIÓN

En relación a la ovogénesis, las ovogonias se visualizan junto a los tejidos germinales de la gónada, según Abadía (2015) el posicionamiento de éstas se debe a que las células germinales primordiales se encuentran en el epitelio germinal, siendo las encargadas de desarrollar las ovogonias. Asimismo, se aprecia que la coloración adquirida por estas células, es de carácter basófilo, lo cual también es afirmado por Sotil (2004) quien las caracteriza con la presencia de un citoplasma básico y homogéneo con una coloración azul-morada.

Posteriormente, se puede diferenciar los ovocitos primarios y secundarios (previtelogénicos), Vélez-Arellano (2012) menciona que dichos ovocitos poseen una tinción basófila, contienen una gran cantidad de vacuolas y presentan células foliculares; no obstante, en los resultados obtenidos, se aprecia que los ovocitos secundarios presentan un citoplasma granuloso y con poca presencia de vacuolas. Ello también fue observado en *Rhysoplax tulipa* (Quoy & Gaimard, 1835) por Buckland-Nicks & Reunov (2009), quienes señalan que las vacuolas desarrolladas en el citoplasma del ovocito son liberadas a la superficie por exocitosis creando espacios intercelulares entre el ovocito y las células foliculares, que posteriormente, producirán las proyecciones del ovocito.

Por otro lado, se pueden apreciar los ovocitos vitelogénicos con tinción acidófila, con poca o nula presencia de vacuolas y proyecciones de las células foliculares, tales proyecciones también fueron identificadas en el *Chiton virgulatus* (Sowerby, 1840) por Vélez-Arellano *et al.* (2014), quienes señalan que, cuando los ovocitos se encuentran maduros, las proyecciones citoplasmáticas incrementan su longitud y adquieren forma de tridente que denota el inicio del desarrollo de la cáscara del ovocito; asimismo menciona que la poca presencia de vacuolas se debe a la presencia de plaquetas vitelinas de diversas formas y tamaños que se desarrollan a medida que el ovocito madura.

En cuanto a la espermatogénesis, Velez-Arellano *et al.* (2020) describen la presencia de numerosas espermatogonias, espermatocitos y espermatidas en desarrollo a lo largo de los cordones sexuales hacia la luz de la gónada, donde se pueden encontrar algunos espermatozoides. En complemento, Vélez-Arellano (2012) caracteriza a las espermatogonias como células con un núcleo grande y esférico con gránulos de heterocromatina que se encuentran en el nucleoplasma con abundantes mitocondrias. Estas fueron observadas en el epitelio germinal con dichas características, empero sin la identificación de mitocondrias.

Además, Avila-Proveda & Abadia-Chanona (2013) mencionan que los espermatocitos (primarios y secundarios) y espermatidas se encuentran alrededor de las paredes gonadales formando grupos, ello se aprecia en los resultados obtenidos, puesto que dichas fases celulares se encuentran dispuestas alrededor de la pared gonadal desarrollándose sobre tejido germinal. Asimismo, resalta que los espermatocitos secundarios poseen una coloración basófila prominente en comparación a los espermatocitos primarios, ello coincide con lo descrito, pues los espermatocitos secundarios se encuentran en grupos con una tinción fuertemente basófila.

En vista del reconocimiento de todas las fases de la ovogénesis, Abadía-Chanona *et al.* (2016), proponen que, una gónada sin formar gametocitos, generalmente ocurre durante los estadios subjuvenil o juvenil. Por ello, en base a la forma gametogónica descrita, se afirma que las tres especies de quitones se encuentran en etapa adulta. Por otro lado, la presencia de espermatozoides en el lumen encuentra respaldo en el estudio de Güller *et al.* (2015), en el cual menciona que, la gónada de especímenes masculinos exhibe espermatozoides maduros, lo cual caracteriza un avanzado desarrollo gonadal que confirma la condición de adulto.

Se concluye que, en las tres especies de quitones se evidenciaron las cinco fases celulares de la ovogénesis: ovogonias, ovocitos primarios, ovocitos secundarios, ovocitos con folículos y ovocitos maduros. Del mismo modo, se identificaron las cinco fases celulares de la espermatogénesis: espermatogonias, espermatocitos primarios, espermatocitos secundarios, espermatidas y espermatozoides. Ello debido a la forma, tamaño y coloración característica de cada grupo celular.

Author contributions: CRediT (Contributor Roles Taxonomy)

MDR = Miguel Dávila-Robles

LMY = Luz Meza-Yance

JRN = Jeanfranco Rivas-Narrea

Conceptualization: MDR, LMY, JRN

Data curation: MDR, LMY, JRN

Formal Analysis: MDR, LMY, JRN

Funding acquisition: MDR, LMY, JRN

Investigation: MDR, LMY, JRN

Methodology: MDR, LMY, JRN

Project administration: MDR

Resources: MDR, LMY, JRN

Software: MDR, LMY, JRN

Supervision: MDR

Validation: MDR, LMY, JRN

Visualization: MDR, LMY, JRN

Writing – original draft: MDR, LMY, JRN

Writing – review & editing: MDR, LMY, JRN

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al estudiante de Biología, Gonzalo Mejía Sánchez, por su destacada colaboración en la toma y edición de fotografías de los poliplacóforos estudiados y a la Universidad Ricardo Palma, Lima, Perú por la oportunidad de investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abadía, Q. (2015). *Maduración Gonádica, Ciclo Reproductivo y Talla de Madurez Sexual del Quitón Chiton (Chiton) Articulatus (Mollusca: Polyplacophora) de la Costa Rocosa de Puerto Ángel, Oaxaca, México* [Tesis de tipo de Maestría en manejo de Recursos Marinos, Instituto Politécnico Nacional]. Repositorio institucional del Instituto Politécnico Nacional. <https://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/123456789/22331/1/abadiach1.pdf>
- Abadia-Chanona, Q., Avila-Poveda, O., Arellano-Martinez, M., & Ceballos-Vazquez, B. (2016). Observation and establishment of gonad development stages in polyplacophorans (Mollusca): *Chiton (Chiton) articulatus* a case study. *Acta Zoologica (Stockholm)*, 97, 506–521.
- Avila-Poveda, O., & Abadia-Chanona, Q. (2013). Emergence, development, and maturity of the gonad of two species of chitons “Sea Cockroach” (Mollusca: Polyplacophora) through the Early Life Stages. *PLoS ONE*, 8, 0069785.
- Brito, M., Camus, P., Torres, F., Sellanes, J., & Ibáñez, C. (2020). First comparative assessment of the reproductive cycle of three species of *Chiton* on a temperate rocky shore of the southeastern Pacific. *Invertebrate Biology*, 139, e12302.
- Buckland-Nicks, J., & Reunov, A. (2009). Ultrastructure of hull formation during oogenesis in *Rhyssoplax tulipa* (= *Chiton tulipa*) (Chitonidae: Chitoninae). *Invertebrate Reproduction and Development*, 53, 165-174.
- Carbajal-Enzian, P., Santamaría, J., & Danny Baldarrago. (2018). *Guía ilustrada para el reconocimiento de poliplacóforos, gasterópodos y cefalópodos con valor comercial en el Perú*. Instituto del Mar del Perú (Imarpe).
- Gaymer, C., Guisado, C., Brokordt, K., & Himmelman, J. (2004). Gonad structure and gamete morphology of the eastern south pacific chiton *Acanthopleura echinata* Barnes, 1824. *The veliger*, 47, 141-152.
- Glynn, P. (1970). On the Ecology of the Caribbean Chitons *Acanthopleura granulata* Gmelin and *Chiton tuberculatus* Linne: density, mortality, feeding, reproduction, and growth. *Smithsonian Contributions to Zoology*, 66, 00810282.
- Güller, M., Liuzzi, M., & Zelaya, D. (2015). A new species of *Leptochiton* (Polyplacophora: Leptochitonidae) from the southwestern atlantic. *Malacología*, 58, 147-155.
- Haszprunar, G. (2020). Mollusca (Mollusca). *eLs*, Vol 1, 565-571.
- Lyons, W., & Moretzsohn, F. (2006). Polyplacophora (Mollusca) of the Gulf of Mexico. En D.L. and D.K. Camp (Eds.), *Gulf of Mexico—Origins, Waters, and Biota. Biodiversity*. (pp. 569-578) Texas A&M University.
- Osorio, C. (2002). *Moluscos marinos en Chile. Especies de importancia económica: guía para su identificación*. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias.
- Paredes, B. (2018). *Biodiversidad de Macrobentos En Las Zonas De Cerro Negro Y Junco Marino, La Libertad* [Tesis para obtener el título de Biólogo Pesquero, Universidad Nacional de Trujillo]. Repositorio del Instituto del Mar del Perú. <https://repositorio.imarpe.gob.pe/bitstream/20.500.12958/3235/3/Paredes%20Avila.pdf>
- Reyes, A. (2000). *Sistemática De Los Quitones (Mollusca: Polyplacophora) De La Colección Nacional De Moluscos Del Instituto De Biología UNAM* [Tesis para obtener el título de Biólogo, Universidad Nacional Autónoma de México]. Repositorio institucional de la Universidad Nacional Autónoma de México. <http://132.248.9.195/pd2000/284676/284676.pdf>
- Sanhueza, V., & Ibáñez, C. (2016). *Chiton granosus* Fremby, 1827 (Mollusca: Polyplacophora): antecedentes de la especie. *Amici Molluscarum*, 24, 23-28.
- Schwabe, E. (2005). A catalogue of Recent and fossil chitons (Mollusca: Polyplacophora). *Novapex: trimestriel de la Société belge de malacology Addenda*, 6, 89-105.
- Sotil, G. (2004). *Variación estacional de la madurez gonadal y oogénesis de Chiton cumingsii Fremby, 1827 de Bahía Ancón, Lima-Perú* [Tesis para obtener el título de Biólogo, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. Repositorio institucional de tesis y trabajos de titulación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. <https://hdl.handle.net/20.500.12672/1408>

- Suarez, J. (2019). *Evaluación de las comunidades de Chitones (Clase Polyplacophora) en las Zonas Rocosas intermareales de Salinas, Ballenita y Ayangué* [Tesis para obtener el título de Biólogo Marino, Universidad Estatal Península de Santa Elena]. Repositorio institucional de la Universidad Estatal de Santa Elena. <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/5253/1/UPSE-TBM-2020-0005.pdf>
- Valencia-Cayetano, C. (2020). *Estructura Poblacional y Captura por Unidad de Esfuerzo a Partir de la Pesca Artesanal de la Cucaracha de Mar Chiton Articulatus (Mollusca: Polyplacophora) En Acapulco, México: Un Estudio De Caso* [Tesis de Maestría inédita] Universidad Autónoma de Guerrero.
- Vélez-Arellano, M. (2012). *Ciclo reproductivo del quitón Chiton virgulatus, Sowerby, 1840 en dos localidades de La Bahía de La Paz, B. C. S., México* [Tesis para obtener el título de maestría en ciencias en manejo de recursos marinos]. Repositorio digital del Instituto Politécnico Nacional. <http://repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/13123>
- Vélez-Arellano, N., Shibayama, M., Ortíz-Ordoñez, E., Silva-Olivares, A., Arellano-Martínez, M., & García-Domínguez, F. (2014). Histological Description of Oogenesis in *Chiton virgulatus* (Mollusca: Polyplacophora). *International Journal of Morphology*, 32, 608-613.
- Vélez-Arellano, N., García-Domínguez, F., Holguín-Quiñones, O., & Obeso-Nieblas, M. (2020). Reproductive aspects of *Chiton virgulatus* in Bahía de La Paz, Gulf of California, Mexico. Aspectos reproductivos de *Chiton virgulatus* en Bahía de La Paz, Golfo de California, México. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 55, 1-10.
- Zagal, C., & Hermosilla, C. (2001). *Guía de Invertebrados Marinos del Litoral Valdiviano*. Quebecor World Chile. https://pregrado.bio.uc.cl/wp-content/uploads/2022/11/ZagalHermosilla_2001.pdf

Received February 1, 2024.

Accepted March 8, 2024.