

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias Biológicas Ambientales

Ciclo y temporada reproductiva del quitón *Radsia goodallii* (Mollusca: Polyplacophora) en la Isla San Cristóbal, Galápagos, Ecuador.

Camila Elisa Gallardo Durán

**Licenciatura en Biología
Concentración en Ecología Marina**

Trabajo de integración curricular presentado como requisito
para la obtención del título de
Licenciado en Biología

Quito, 23 de diciembre de 2019

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ
COLEGIO CIENCIAS BIOLÓGICAS AMBIENTALES

**HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

**Ciclo y temporada reproductiva del quitón *Radsia goodallii* (Mollusca: Polyplacophora)
en la Isla San Cristóbal, Galápagos, Ecuador.**

Camila Elisa Gallardo Durán

Calificación:

Nombre del profesor, Título académico

Margarita Brandt, Ph.D.

Firma del profesor:

Quito, 23 de diciembre de 2019

Derechos de Autor

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma del estudiante: _____

Nombres y apellidos: Camila Elisa Gallardo Durán

Código: 00123381

Cédula de identidad: 1725022337

Lugar y fecha: Quito, 23 de diciembre de 2019

DEDICATORIA

A mis padres, Por darme una vida plena, llena de naturaleza y mucho amor. Por el apoyo incondicional en mis peores momentos.

A mi abuela, por ser el pilar de mi vida. Por enseñarme valores y la importancia de la amistad. Además de ser mi abuela eres y serás por siempre mi segunda madre, gracias por sostenerme cuando nadie lo hizo. Porque, a pesar de tu edad, nunca te rindes por aprender más sobre mi generación.

Solo quiero agradecerte por enseñarme a amar.

El día de hoy podemos gritarle al mundo:

Lo Logramos.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a mi directora de proyecto. Margarita Brandt por confiar y creer siempre en mí. Por su cariño y paciencia, por enseñarme que el esfuerzo y la dedicación es el pilar más importante para lograr mis metas. También quiero agradecerle por contribuir con mi formación, en el ámbito académico y personal. Gracias por darme tu amistad.

A Omar Avila-Poveda y Yasu Abadia-Chanona, por su invaluable ayuda con el proyecto. Por ser mis guía y enseñarme lo importante que es la ciencia. Gracias por mostrarme un nuevo camino al mundo de los quitones y por transmitir ese entusiasmo y pasión por lo que hacen.

A El Colegio de Ciencias Ambientales y Biológicas, El Galápagos Science Center y el Instituto Biósfera. Por brindarme su apoyo y financiamiento para realizar el proyecto de investigación.

Al Parque Nacional Galápagos, por permitirnos realizar el proyecto de investigación, gracias por su apoyo y por otorgarnos los permisos necesarios.

A Cris, Franklin, Alberto y Sofí, por darme su amistad y permitir conocerlos. Quiero agradecerles por la dedicación y amor que pusieron en el proyecto, por su ayuda, compañía, consejos y enseñanzas.

A todos los chicos que fueron parte del taller de quitones: Cristian, Valentina, Rebeca, Alex, Sofí, Alberto, Franklin y María José gracias por su interés y apoyo.

A los asistentes de campo: Wilson, Diana, Abigail, Lari, Franklin, gracias por todo su esfuerzo y dedicación. Gracias a su ayuda este proyecto se hizo realidad.

RESUMEN

En las Galápagos existen 19 especies de quitones, siete de las cuales son endémicas y una de ellas lo suficientemente abundante para soportar una pesquería con potencial económico: la canchalagua lisa, *Radsia goodallii*. Esta especie está incluida en el calendario pesquero de la Reserva Marina Galápagos, sin embargo, no presenta regulación específica para su captura debido a la falta de conocimiento de su biología. Por medio de análisis histológico (con tinción tricrómica) e índices reproductivos (índice de madurez microscópica e índice gonadosomático “GSI”), este estudio caracterizó el ciclo reproductivo y la temporada reproductiva de una población adulta de *R. goodallii* en la Isla San Cristóbal, Galápagos. Desde febrero del 2018 hasta febrero del 2019 fueron recolectados mensualmente y al azar 30 quitones adultos (longitud mayor a 50 mm). Los quitones fueron relajados y fijados siguiendo un protocolo de cuidado animal. La población de *R. goodallii* presentó los cinco estadios de desarrollo gonádico (EDG) a lo largo del periodo de muestreo y en términos generales, mostró actividad reproductiva continua. Para ambos sexos, el índice de madurez microscópica pondera que la población se encuentra madura todo el año, con una frecuencia sincrónica de hembras y machos en el EDG maduro durante marzo (60-76%), junio-julio-agosto (45-67%), octubre (40-84%), diciembre-enero-febrero (50-81%). La intensidad reproductiva (valor de GSI) osciló entre el 3 y el 6% con estacionalidad de cinco meses entre diciembre y abril (GSI promedio de 3.5) y mostrando un pico en marzo (GSI=6.0). En síntesis, esta peculiaridad reproductiva (baja intensidad, amplia estacionalidad y alta frecuencia) definen la principal temporada reproductiva de *R. goodallii* entre diciembre y abril, por lo que se podría sugerir una veda durante estos cinco meses.

Palabras clave: *Radsia goodallii*, gónada, temporada reproductiva, ciclo reproductivo, índice gonadosomático, desove, madurez.

ABSTRACT

In the Galápagos Island there are 19 species of chitons, seven are endemic and one of them is abundant enough to support a fishery with an economic potencial: *Radsia goodallii*. This species is included in the fishing calendar of the Galápagos Marine Reserve. However, there is no specific regulation for its capture due to a lack of knowledge of its biology. Through histological analysis (with trichrome staining) and reproductive indices (microscopic maturity index and gonadosomatic index “GSI”), this study characterized the reproductive cycle and season of an adult population of *R. goodallii* on the San Cristóbal Island, Galápagos. Since february 2018 to february 2019, 30 adult chitons (length greater than 50 mm) were collected monthly and randomly. The chitons were relaxed following an animal care protocol. The population of *R. goodallii* showed the five stages of gonadic development (GDS) throughout the sampling period, and in general terms, showed continuous reproductive activity. For both sexes, the microscopic maturity index weights that the population is mature all year, with a synchronous frequency of females and males in the mature GDS during March (60-76%), June-July-August (45-67 %), October (40-84%), December-January-February (50-81%). Reproductive intensity (GSI value) ranged from 3 to 6% with a five-month seasonality between December and April (average GSI of 3.5) and showing a peak in March (GSI = 6.0). In summary, this reproductive peculiarity (low intensity, wide seasonality and high frequency) define the main reproductive season of *R. goodallii* between December and April, so we could suggest fishing restrictions during these five months.

Keywords: *Radsia goodallii*, gonad, reproductive season, reproductive cycle, gonadosomatic index, spawning, maturity.

TABLA DE CONTENIDO

Derechos de autor	3
DEDICATORIA	4
AGRADECIMIENTOS.....	5
RESUMEN	6
ABSTRACT	7
1 INTRODUCCION	¡Error! Marcador no definido.2
2 METODOLOGIA	16
2.1 Área de muestreo	16
2.2 Proceso de relajación y fijación.....	17
2.3 Morfometrías	17
2.4 Proceso de disección	18
2.5 Proceso de histología	18
2.6 Criterios y observación de los estadios de desarrollo de la gónada.....	19
2.7 Descripción de los estadios de maduración	20
2.7.1 Goniogénesis (estadio I).....	20
2.7.2 Desarrollo (estadio II).....	20
2.7.3 Madurez (estadio III).....	20
2.7.4 Desove (estadio IV)	21
2.7.5 Reposo (estadio V)	21
2.8 Ciclo reproductivo	21
2.8.1 Temporada reproductiva	22
2.9 Temperatura vs. temporada reproductiva.....	22

3 RESULTADOS.....	23
3.1 Ciclo Reproductivo	23
3.1.1 Hembras	23
3.1.2 Machos	24
3.1.3 Ambos sexos	24
3.2 Índice de madurez microscópica	25
3.3 Índice Gonadosomático (GSI).....	24
3.4 Temperatura vs. variación de la frecuencia en estadio de madurez y desove.....	25
4 DISCUSIÓN	26
5 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	32
6 ANEXO A: FIGURAS	38

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Proceso de disección y extracción de la gónada en poliplacóforos. Fuente: Abadia-Chanona *et al.* (2016).....37
- Figura 2.** Sección transversal de la gónada masculina de un quitón. El rectángulo representa un diagrama panorámico de observación para identificar cada GDS. (a) aorta; (EG) epitelio germinal; (LD) lumen parte dorsal; (LV) lumen parte ventral; (vsc) vasos sanguíneos ciliados; (vsnc) vasos sanguíneos no ciliados; (PG) pared gonadal. Fuente: Abadia-Chanona (2015).....37
- Figura 3.** Etapas de desarrollo de la gónada (GDS) en una sección transversal de la parte reproductiva de un testículo de quitón. Las flechas indican el paso de una etapa a otra. Fuente: Abadia-Chanona *et al.* (2016).....38
- Figura 4.** Etapas de desarrollo de la gónada (GDS) en una sección transversal de un ovario de un quitón. Las flechas indican el paso de una etapa a otra. Fuente: Abadia-Chanona *et al.* (2016).....38
- Figura 5.** Frecuencia mensual a lo largo de un año de las etapas de desarrollo de la gónada del quitón *R. goodallii* en la Isla San Cristóbal, Galápagos. (a) machos y hembras, (b) hembras, y (c) machos. I: Goniogénesis, II: Desarrollo, III: Madurez, IV: Desove, V: Reposo. El número encima de cada barra representa el número de total, de hembras, y, de machos que se analizaron por mes.39
- Figura 6.** Variación mensual del IMM_i para el quitón *R. goodallii* en la Isla San Cristóbal, Galápagos. I: Goniogénesis, II: Desarrollo, III: Madurez, IV: Desove, V: Reposo.....40

Figura 7. Índice gonadosomático (GSI) del quitón *R. goodallii* de la Isla San Cristóbal, Galápagos. Rango del GSI para machos y hembras. Las barras verticales indican el máximo y mínimo.....40

Figura 6. Relación de la temperatura del aire con la variación de frecuencias de organismos en el estadio de madurez del quitón *R. goodallii* en la Isla San Cristóbal, Galápagos.....41

Figura 9. Relación de la temperatura del aire con la variación de frecuencias de organismos en el estadio de desove del quitón *R. goodallii* en la Isla San Cristóbal, Galápagos41

1. INTRODUCCIÓN

Los quitones son moluscos marinos de la clase Polyplacofora. Presentan simetría bilateral no segmentada con ocho placas o valvas dorsales superpuestas que están bordeadas por un cinturón del manto con diversas ornamentaciones como espículas, espinas, setas, mechones y escamas. Sus cuerpos son alargados y aplanados dorsoventralmente, con un sistema muscular complejo con tres tipos de músculos (oblicuo, transversal y longitudinal) que les permite mantenerse sujetos al sustrato y enrollarse ventralmente (Barnes, 1987), lo cual lo hacen para protegerse de posible depredadores. La zona ventral de su cuerpo está formada por un pie muscular ancho y carnoso que le permite al animal adherirse al sustrato; además los quitones poseen una región frontal con una apertura bucal (Barnes, 1987), en donde se ubica la rádula con 17 hileras de dientes que son utilizados para raspar el sustrato e ingerirlo (Barnes, 1987). En cuanto al tamaño, por lo general, los quitones tienden a medir desde unos pocos mm hasta 10-15 cm; las especies de América Occidental alcanzan mayores tamaños, como *Cryptochiton stelleri* que mide 30 cm de longitud, y *Acanthozostera gemmata*, 15 cm (Gracia *et al.*, 2005). Los quitones habitan desde la franja mesolitoral y la zona sublitoral alta rocosa hasta profundidades de 7.000 m y pueden vivir en todo tipo de sustrato duro, entre grietas o adheridos a las rocas. Se reconocen 900 especies que se distribuyen por todos los mares del mundo (Wehrtmann y Cortés, 2009).

La primera expedición científica a las Islas Galápagos con el propósito de coleccionar datos sobre quitones fue en el siglo XIX; fueron registradas 11 especies de ocho géneros y seis familias (Smith y Ferreira, 1977). Registros actuales indican 19 especies litorales y supra litorales, de las cuales siete son endémicas y dos con interés económico (Finet *et al.*, 2016). *Radsia goodallii* y *Radsia sulcatus* son las dos especies endémicas más abundantes en comparación con otras del Archipiélago (Murillo, 2009).

Radsia goodallii es una especie que presenta una superficie dorsal completamente lisa con presencia de pequeñas nervaduras en las placas; llega a medir entre 11 y 12 cm de largo. Su distribución en el archipiélago de Galápagos es la zona intermareal de las islas Isabela, Floreana, Genovesa, Marchena, San Cristóbal, Santiago, Española y Santa Cruz (Smith y Ferreira, 1977). *Radsia sulcatus* por el contrario presenta una superficie dorsal más tallada y pronunciada en los bordes de las placas. En cuanto a su tamaño, el espécimen más grande registrado fue de 9,5 cm de largo (Smith y Ferreira, 1977). *Radsia sulcatus* se encuentra compartiendo hábitat con *R. goodallii* en el intermareal de las islas Fernandina, Baltra, San Cristóbal, Santa Cruz, Floreana y Pinzón (Smith y Ferreira, 1977).

Los quitones juegan un rol importante para la actividad pesquera de Galápagos. En el Archipiélago, *R. goodallii* y *R. sulcatus* han sido explotadas sin restricción desde la llegada de los primeros colonos a principios del siglo XIX (Smith y Ferreira, 1977). Los primeros registros oficiales de su pesca fueron por parte de los residentes locales en las cercanías de Academy Bay en la Isla Santa Cruz (Smith y Ferreira, 1977). Luego, Herrera *et al.* (2003) evidenciaron restos de valvas a lo largo de las costas de algunas islas como Santa Cruz, San Cristóbal, Isabela y Floreana, sugiriendo que éstas, seguidas por las islas Santiago y Genovesa, son las islas que más actividad tenían sobre la pesca de estos organismos. Herrera *et al.* también documentaron que el tamaño promedio de captura para ambas especies fue mayor a 8,5 cm de largo (2003). Se han encontrado individuos de *R. goodallii* de 8,22 cm en Santa Cruz y de 11,05 cm en el islote Camaño; sin embargo, el tamaño máximo colectado para *R. goodallii* ha sido de 16,5 cm de largo (Herrera *et al.*, 2003). Por otro lado, Murillo (2009) documentó que el tamaño corporal promedio de ambas especies cerca de poblados fue menor (2,6 cm y 2,9 cm para *R. goodallii* y *R. sulcatus*, respectivamente) que aquel para sitios alejados (3,5 y 2,6 cm para *R. goodallii* y *R. sulcatus*, respectivamente), lo que sugirió un impacto de la pesquería en la estructura poblacional de tamaños de estas especies de quitones.

Oficialmente, la pesca de estos quitones está permitida en Galápagos desde el 2016, según el Acuerdo Ministerial Nro 108 y la resolución Nro 62 del Artículo Tres de Pesca en Galápagos (Ministerio del Ambiente, 2016). En este acuerdo se permite la pesca, transporte y comercialización de ciertos moluscos (*Radsia* [*Chiton*] *goodallii*, *Pleuroploca princeps*, *Hexaplex princeps* y *Octopus oculifer*), peces demersales y pelágicos; sin embargo, no existen regulaciones específicas para su captura, por ejemplo, un tamaño mínimo o temporada de pesca.

Los pescadores representan aproximadamente el 11% de la población total de Galápagos (Gravez y Gelin, 2006); San Cristóbal es la que mayor productividad tiene, con un 5.4% de la población dedicada a ella (Molina *et al.*, 2004). Además, al ser especies comunes de la zona intermareal rocosa, los quitones son especialmente vulnerables por el fácil acceso para los pobladores locales. Se reconoce que la pesca de estos organismos ha pasado de ser tradicional y artesanal a tener un valor económico comercial a pequeña escala (Herrera *et al.*, 2003). Algunos restaurantes, mercados y puestos pequeños de comida venden y ofrecen quitones como plato gastronómico. En la Isla Santa Cruz, se recolectan aproximadamente 1.100 quitones por mes solo para restaurantes (Herrera *et al.*, 2003). *R. goodallii* es la especie más recolectada dentro del Archipiélago y esto se debe a la proporción de tamaño-volumen que tiene en comparación con *R. sulcatus* (Murillo, 2009).

La sustentabilidad a largo plazo de la pesquería de quitones es importante para la gente local del Archipiélago ya que forman parte de su economía. Además, los quitones juegan un papel primordial dentro de los ecosistemas marinos. Al ser herbívoros ayudan con la distribución espacial y temporal de algas, son indicadores biológicos de contaminación marina y favorecen indirectamente durante el proceso larval y de colonización a varios organismos como los percebes (Aguilera, 2011). Sin embargo, los estudios disponibles para *R. goodallii* y *R. sulcatus* se limitan a densidad poblacional, talla de captura, taxonomía, pesquería, y

caracterización poblacional (Herrera *et al.*, 2003). Existe una falta de información acerca de su biología reproductiva, desarrollo y crecimiento; aspectos sumamente importantes para garantizar la sostenibilidad de sus capturas.

El conocimiento biológico-reproductivo de los quitones de Galápagos permitiría aportar futuras medidas de manejo pesquero sustentable acordes al ciclo y a la temporada reproductiva, para comprender cuándo y con qué frecuencia se encuentran maduros o en desove. El objetivo de este estudio fue determinar mediante el estudio histológico de gónadas completas de los quitones, el ciclo y la temporada reproductiva de una población adulta de *R. goodallii* de la Isla San Cristóbal, Galápagos.

2. METODOLOGÍA

2.1 Área de muestreo

Las Islas Galápagos son un conjunto de islas con una superficie total de 8.010 km², que se encuentran situadas a 972 km de la costa ecuatoriana. Las islas más antiguas son San Cristóbal y Española formadas hace aproximadamente 5.6 millones de años. La ubicación geográfica, aspectos oceanográficos y climatológicos son factores determinantes de la diversidad de los hábitats marinos (Proaño, 2005). El Archipiélago posee cuatro biorregiones: la primera se encuentra al norte con las islas Darwin y Wolf. La segunda biorregión ubicada al noroeste se encuentra conformada por las islas Pinta, Genovesa y Marchena. Ambas biorregiones están influenciadas por la corriente cálida de Panamá. La tercera biorregión se encuentra al oeste con las islas Fernandina e Isabela; y, la cuarta biorregión está ubicada al centro-sureste. La región del oeste y sureste están influenciadas por las corrientes de Cromwell y de Humboldt, las cuales son las responsables de los afloramientos en el archipiélago (Edgar *et al.*, 2004). Los afloramientos son el surgimiento de agua fría, rica en nutrientes y son el componente principal de la oceanografía del Archipiélago. Las Islas Galápagos poseen dos temporadas, la temporada caliente que va de enero a abril en la cual el viento y las corrientes de agua fría disminuyen y la Temperatura Superficial del Mar (TSM) aumenta. Mientras que la temporada fría va de mayo a diciembre con la influencia de la corriente de Humboldt, la cual provoca una disminución en la TSM (Edgar *et al.*, 2004).

El muestreo de quitones se llevó a cabo en la zona intermareal rocosa de la Isla San Cristóbal, ubicada al sureste del Archipiélago (0°47'58.02" S; 89°23'55.15" O). La recolecta de quitones se realizó a lo largo de 159 km de la costa suroccidental, visitando nueve sitios para minimizar el impacto de la extracción de quitones (Vintimilla, 2019). Durante un año y mediante los permisos del Parque Nacional Galápagos PC-14-18 y PC-67-19, desde febrero

del 2018 hasta febrero del 2019 se recolectaron mensualmente 30 individuos de *R. goodallii* considerados adultos (longitud mayor a 5 cm) y seleccionados al azar. Este tamaño se basó en la talla mínima establecida como adulto para *Chiton articulatus*; un quitón con talla común similar a la de *R. goodallii* (Avila-Poveda y Abadia-Chanona, 2013). Cada quitón fue recolectado utilizando un cuchillo romo, el mismo fue insertado por debajo del pie, haciendo palanca para extraerlo de la roca (Abadia-Chanona, 2015). Se colocó a cada quitón en una hielera con agua de mar para relajarlos, debido a que los quitones se contraen como respuesta al estrés. Finalmente, se los transportó al laboratorio de ecología marina del “Galápagos Science center” (GSC).

2.2 Proceso de relajación y fijación

Cada quitón fue sometido a un proceso de relajación y fijación para facilitar la extracción de la gónada completa. Este proceso permite conservar al individuo en su estado original y se basó en el protocolo establecido por Avila-Poveda y Abadia-Chanona (2013). Se sometió a los quitones a intercambios graduales de agua salada y agua dulce (50:50) durante 1 hr, añadiendo 5 ml de etanol al 70%. Posteriormente, a cada organismo se le inyectó etanol al 70% por los surcos superior e inferior para fijarlo. Se realizó el mismo procedimiento pasando un día, tres veces a la semana. Posterior a esto, se los conservó hasta realizar el proceso histológico en contenedores de vidrio de 5 lt con etanol al 70%.

2.3 Morfometrías

Utilizando un calibrador $\pm 0.01\text{mm}$ se midió la longitud total del organismo incluyendo el manto (LT), el largo de la concha (LC), el ancho total con manto (AT), el ancho de la concha (AC) y el largo del pie. Se registró el peso corporal (PT), utilizando una balanza analítica $\pm 0.01\text{gr}$ (HAUS, PA313).

2.4 Proceso de disección

Para la extracción de la gónada se utilizó el protocolo establecido por Abadia-Chanona *et al.* (2016). Los pasos de extracción de la gónada se muestran en la Figura 1 y se describen a continuación. Con la ayuda de una cuchilla se extrajo el cinturón del manto (Fig. 1A); mediante la inserción de la cuchilla se separó las placas comenzando desde la primera sobrepuesta en la parte anterior hasta la posterior, separándolas completamente del músculo (Fig. 1B); luego se realizaron dos cortes longitudinales en la parte anterior a cada lado del surco de inserción de los órganos digestivos, con la finalidad de desprender músculo y exponer a la gónada (Fig. 1C); luego se separó cuidadosamente el sistema digestivo de la gónada (Fig. 1D) y se pesó la gónada (GW) $\pm 0.01g$ utilizando una balanza analítica (OHAUS PA313); finalmente la gónada fue cortada en pequeñas secciones transversales para el posterior proceso histológico (Fig. 1E).

2.5 Proceso de histología

Los cortes transversales de la gónada se colocaron en histocassets y fueron almacenadas en etanol al 70%. Luego fueron deshidratadas en concentraciones de etanol creciente (70%, 80% y 96%), cada uno durante dos cambios de 1 hr. Posteriormente, las muestras fueron aclaradas con dos baños de citrisolv, luego, fueron impregnadas en parafina para finalmente ser incluidas y generar cubos con parafina.

Una vez listos los cubos, se procedió a realizar cortes de 5 μm con un micrótopo de rotación (Leica RM2125 RTS). Previo al proceso de tinción, la placa con la muestra se colocó en el horno a una temperatura de aproximadamente de 63°C por 3 hrs, para eliminar el exceso de parafina (Abadia-Chanona, 2015). Las placas fueron teñidas con el método tricrómico de Crossmon modificado (hematoxilina de Groat, eritrosina B-naranja G y azul tripan o verde luz; Abadia-Chanona *et al.*, 2016). Estos tintes básicos, ácidos y vitales son importantes ya que muestran una gran cantidad de tejidos, por ejemplo el conectivo, gránulos de vitelo, procesos vacuolares y en el caso de la hembras, muestra el proceso de desarrollo temprano de los

gametos (ovogonias, ovocitos primarios y secundarios), donde existen más compuestos citoquímicos ácidos que van a tener gran afinidad a los tintes básicos y van a permitir una mejor observación de estructuras celulares de la gónada y características claves de los gametos en cada estadio (Abadia-Chanona *et al.*, 2018). Se colocó en el mesón 22 contenedores de vidrio previamente numerados y etiquetados con la solución indicada en cada uno: 1) citrisolv, 2) citrisolv, 3) etanol al 96% 4) etanol al 96%, 5) agua destilada, 6) hematoxilina de Groat, 7) agua de grifo, 8) eritrosina B-naranja G, 9) agua destilada, 10) agua ácida (de ácido fosfomolibdico al 1%), 11) agua destilada, 12) azul tripan, 13) agua destilada, 14) agua ácida (de ácido acético al 1%), 15) agua destilada, 16) etanol al 96%, 17) etanol al 96%, 18) etanol al 96%, 19) citrisolv, 20) citrisolv. Los tiempos en la tinción variaban según el reactivo, 10 min en citrisol, 5 min en etanol, 1,5 min en eritrosina, 3 min en hematoxilina y 45 seg en azul tripan. El agua ácida y el agua destilada solo necesitaron de segundos. Finalmente, al cambiar la canastilla de un contenedor a otro se sacudió en una esquina de manera lenta y continua para eliminar los excesos de la solución. Después del tren de tinción se selló cada laminilla con un cubreobjetos.

2.6 Criterios y observación de los estadios de desarrollo de la gónada

Se utilizó el mismo criterio del caso de estudio de *C. articulatus* en los estadios de desarrollo gonadal (GDS; Abadia-Chanona *et al.*, 2016). Se clasificó a los GDS en cinco fases (detalladas a continuación), donde se puso énfasis en la estructura anatómica general de la gónada, considerando que anatómicamente ésta se comporta como un único folículo gonadal. También se tomó en cuenta el desplazamiento y la posición de los gametos en toda la gónada, desde su formación en la parte ventral hasta su evacuación en la parte dorsal. La observación del corte transversal de la gónada fue de manera panorámica desde la parte ventral hacia la dorsal, y, de derecha a izquierda (Fig. 2; Abadia-Chanona, 2015). Esto con la finalidad de

abarcar las características anatómicas de la gónada, su formación, desarrollo, maduración, desove y reposo para así poder establecer los GDS (Figs. 3 y 4).

2.7 Descripción de los estadios de maduración

2.7.1 Goniogénesis (estadio I)

Se observa que el lumen gonadal de la parte ventral tiene presencia de ovogonias en las hembras y espermatogonia en los machos (Figs. 3 y 4). El lumen de la parte dorsal se encuentra vacío, se comienza a visualizar epitelio germinal junto a la pared gonadal. En hembras, las ovogonias están formadas completamente y comienzan a aparecer los ovocitos primarios con vacuolas y ovocitos secundarios granulados. Por el contrario, las espermatogonias, espermatocitos y espermáticas se distinguen completamente bordeando el epitelio germinal.

2.7.2 Desarrollo (estadio II)

Se observa un epitelio germinal más grueso y voluminoso. La parte ventral del lumen gonadal se encuentra lleno de ovogonias, ovocitos primarios, secundarios y ovocitos más granulados con un núcleo más definido y pequeñas prolongaciones del casco del ovocito en hembras. Mientras que, en machos, las espermatogonias, espermatocitos y espermáticas comienzan a acumularse del epitelio germinal hacia el lumen ventral (Figs. 3 y 4).

2.7.3 Madurez (estadio III)

El epitelio germinal es delgado y se visualiza vasos sanguíneos ciliados en hembras, y no ciliados en machos. El lumen ventral y dorsal están llenos de ovocitos y espermatozoides maduros ubicados muy juntos entre sí. En hembras, el ovocito maduro tiene prolongaciones del casco del ovocito, completamente formadas (Figs. 3 y 4).

2.7.4 Desove (estadio IV)

El epitelio germinal comienza a separarse. En hembras el epitelio es discontinuo y en machos es abundante y grueso. La parte ventral de la gónada está vacía y la parte dorsal tiene remanentes de ovocitos secundarios, y en algunos casos, primarios. En machos la parte dorsal

se encuentra únicamente rodeada por espermatozoides sin presencia de espermatocitos o espermatidas. La cantidad de vasos sanguíneos es más notoria en este estadio (Figs. 3 y 4).

2.7.5 Reposo (estadio V)

El lumen dorsal y ventral en hembras y machos está vacío, sin embargo, suele haber pocos remantes de ovocitos maduros o espermatozoides en machos. El epitelio germinal es escaso y discontinuo en hembras y continuo y abundante hacia la pared gonadal en machos (Figs. 3 y 4).

2.8 Ciclo reproductivo

El ciclo reproductivo (frecuencia y temporalidad) de los organismos en cada uno de los estadios de desarrollo gonádico se representó de dos maneras. Primero, a través del cálculo de las frecuencias de los organismos observados en cada uno de los estadios de desarrollo gonádico. Esto se logró multiplicando la cantidad de organismos en cada uno de los estadios de desarrollo gonádico por cien y dividiendo este número para el total de organismos en los cinco estadios. Segundo, para comprender la temporalidad de cada estadio gonádico de *R. goodallii* durante 1 año, se utilizó el índice de madurez microscópica (IMMi):

$$(IMMi) = \frac{\sum[1(E1) + 2(E2) + n(En)]}{N}$$

Donde, *E1* es el número de individuos en el estadio I, *E2* el número de individuos en el estadio II, *En* es el número de individuos en el estadio *n* (III-maduros, IV-desove, V-reposo). Finalmente, *N* es el número total de organismos colectados mensualmente. Este índice se basa en una previa observación microscópica del desarrollo sexual de la gónada, el cual permite examinar el GDS de la población estudiada, en cada mes de muestreo.

2.9 Temporada reproductiva

La temporada reproductiva es descrita como el periodo en el cual un organismo se encuentra en una etapa de madurez y desove, y se representa por el índice gonadosomático

(GSI), el cual se basa en una relación entre el peso de la gónada y el peso corporal del quitón. Se sacan medias muestrales y \pm desviaciones estándares independientes del GDS, durante todo el año, lo que da una idea de la estacionalidad reproductiva de la madurez a nivel de población:

$$IGS = \frac{PG}{PT - PG} \times 100$$

Donde PG es el peso de la gónada y PT el peso corporal total del individuo. Para los valores obtenidos del índice se asume que los valores más altos son de los individuos que tienen mayor cantidad de gametos maduros en la gónada (estadio III-maduro), mientras que los valores más pequeños indican notoriamente el vaciado total de la gónada (estadio IV-desove o V-reposo).

2.10 Temperatura vs. variación de la frecuencia en estadio de madurez y desove

Al no haber disponibles datos in situ de temperatura superficial del mar, se obtuvo datos de temperatura de aire de la estación meteorológica del GSC, para compararlos con los estadios de madurez y desove de la gónada.

3. RESULTADOS

3.1 Ciclo Reproductivo

Las observaciones microscópicas de la gónada y la diferenciación de los cinco estadios permitieron encontrar la frecuencia con la que ocurre el desarrollo de los estadios de la gónada (GDS) para ambos sexos en conjunto y por separado (Fig. 5). Como generalidad, los cinco estadios de desarrollo de la gónada (GDS) se presentaron durante el periodo completo de muestreo (Fig. 5a). El patrón de frecuencia de cada uno de los cinco GDS mostró una tendencia similar entre sexos a lo largo del muestreo, excepto con los estadios de goniogénesis (GDS-I) y reposo (GDS-V) que estuvieron presentes principalmente en las hembras (Fig. 5b). Los estadios de madurez (GDS-III) y desove (GDS-IV) se observaron durante todo el muestreo con frecuencias altas, entre 46,15% y 70%

3.1.1 Hembras

El estadio de goniogénesis se observó de febrero a marzo y de julio a noviembre. Las frecuencias fueron bajas entre 6,67% y 7,14%, excepto en febrero del 2018 con 60%. El estadio de desarrollo ocurre a lo largo de todo el año, con frecuencias entre 10 y 53,33%, con el mes de septiembre siendo el más alto. El estadio de madurez ocurrió durante todo el muestreo, excepto en febrero del 2018, con la mayor frecuencia en marzo, junio, julio y diciembre, con valores entre 56,52% y 81,82%. El estadio de desove se observó a lo largo de todo el muestreo, exceptuando por junio. La frecuencia más alta fue en noviembre con 57,1%, y la más baja en diciembre con 9,09%. Finalmente, las hembras en estadio de reposo se presentaron únicamente en febrero, marzo y julio del 2018, con frecuencias entre 6,67% y 20% (Fig. 5b).

3.1.2 Machos

En machos, el estadio de goniogénesis no se observó durante todo el muestreo. El estadio de desarrollo se observó únicamente en los meses de abril a julio, septiembre y noviembre con

frecuencias entre 16,67% y 50%. El estadio de madurez ocurrió durante todo el muestreo, con la mayor frecuencia en marzo y octubre (76,92% y 84,62%, respectivamente), y la frecuencia más baja en mayo con 18,18%. El desove se observó a lo largo de todo el muestreo con frecuencias entre 16,67% y 50%. Los meses de abril y enero presentaron las frecuencias más altas entre 50% y 55,56% y octubre con la frecuencia más baja de 15,38%. Únicamente en noviembre se observó organismos en estadio de reposo, con una frecuencia muy baja del 8,33% (Fig. 5c).

3.1.3 Índice de madurez microscópica

El IMMi a nivel poblacional (ambos sexos) indica que el quitón *R. goodallii* se encuentra durante todo el año en estadio de madurez (GDS-III, Fig. 6). Se observa que las hembras tienen periodos de desarrollo (GDS-II) en febrero. Los machos mostraron tendencia a madurez (GDS-III) durante todo el año, menos en febrero del 2018 y enero del 2019, que mostraron desove (Fig. 6).

3.2 Temporada reproductiva

3.2.1 Índice Gonadosomático (GSI)

El GSI a nivel poblacional (ambos sexos) indica que el quitón *R. goodallii* tiene un periodo reproductivo continuo durante todo el año. Febrero y abril del 2018 presentaron valores entre $2,91\% \pm 0,34$ y $3,55\% \pm 0,41$, respectivamente, y marzo presentó un pico de $6,15\% \pm 0,67$. Estos valores descendieron a partir de abril hasta alcanzar los valores más bajos en mayo y septiembre ($0,88\% \pm 0,14$ y $0,53 \pm 0,11$, respectivamente), con un ligero incremento en junio y agosto ($1,77\%$ y $2,13\%$, respectivamente). Después de septiembre, los valores se volvieron a incrementar hasta diciembre, para luego volver descender hasta alcanzar el valor de $2,63\% \pm 0,22$ en febrero del 2019.

3.3 Temperatura vs. variación de la frecuencia en estadio de madurez y desove

Los datos de temperatura de aire claramente muestran la estacionalidad del Archipiélago, con temperaturas más altas durante los primeros seis meses del año, y más bajas durante el resto (Figs. 8 y 9). El valor máximo registrado fue de 26,7°C en febrero del 2019 y el mínimo de 21,7°C en agosto. Sin embargo, esta estacionalidad no se vio relacionada de una manera consistente con los estadios de madurez y desove (los cuales fueron los más frecuentes para la población estudiada de quitones). A partir de marzo del 2019 las temperaturas descienden hasta agosto; de manera similar, la frecuencia de individuos maduros disminuye (Fig. 8), pero solo hasta mayo del 2018, a partir de lo cual estas frecuencias empiezan a aumentar. Por el contrario, durante estos mismos meses, la frecuencia de individuos en desove aumenta primero y disminuye después (Fig. 9). Por el contrario, durante la segunda mitad del año (de agosto 2018 a febrero del 2019), los estadios de madurez y desove aumentan al igual que lo hace la temperatura (Figs. 8 y 9), con un par de excepciones.

4. DISCUSIÓN

A lo mejor de nuestro conocimiento, este estudio es el primero que describe el ciclo y la temporada reproductiva del quitón *R. goodallii* en la Isla San Cristóbal, Galápagos. Se observó un ciclo reproductivo continuo durante todo el año, con una temporada de reproducción de diciembre a marzo. Generalmente, los ciclos y la temporada reproductiva varían dependiendo de la especie y la latitud. Un ejemplo es *Chiton cumingsii* que tiene dos periodos de desove en machos y uno solo en hembras, lo cual no observamos en *R. goodallii* para ambos sexos, porque podría estar ligado a las condiciones específicas de cada zona (Sotil-Caycho, 2004). Giese *et al.* (1959) reportan que algunas especies de quitones se reproducen más de una vez durante la temporada, mostrando ritmos mensuales o bimensuales.

A pesar de que *R. goodallii* mostró un ciclo continuo para los estadios de madurez y desove, los estadios de goniogénesis y de reposo fueron casi únicos en las hembras. Esto podría estar relacionado con la temperatura, porque *R. goodallii* presentó mayor frecuencia en el estadio de goniogénesis en el mes de febrero, el cual muestra una temperatura superior a 24°C. Esta temperatura es aproximada a la reportada en otros estudios, relacionados con el inicio de la gametogénesis. Sotil-Caycho (2004) reportan una temperatura entre los 19 y los 20°C, para el desarrollo gametogénico de algunos invertebrados marinos como el quitón *Chiton pelliserpentis*. Otro factor influyente pudo ser la proporción de machos vs. hembras reportadas para el mes de febrero. Strathmann y Eernisse (1987) mencionan que los machos son los que anteceden el tiempo en el que empieza la gametogénesis de las hembras. Esta proporción de 15 hembras, dos machos y la modificación de la estructura térmica de la TSM, explicaría porque posiblemente hubo un retraso en el ciclo reproductivo (Ishiyama, 1995).

Los quitones al ser organismos ectotermos, como muchos invertebrados, van a depender de las condiciones de temperatura del ambiente por lo que, la temperatura va a influir

en los ciclos reproductivos y la maduración de gametos (Giase *et al.*, 1959). Otros estudios en diferentes regiones del mundo muestran que los quitones tienen ciclos reproductivos anuales con una temporada reproductiva estacional, la cual varía según la especie y las condiciones del ambiente. La temperatura parece ser un factor que influye en el ciclo reproductivo de la población estudiada de *R. goodallii* en la Isla San Cristóbal, Galápagos. Se observó que la frecuencia de los estadios de madurez y desove no mostraron un patrón claro la primera parte del año (entre febrero y agosto 2018). Sin embargo, la segunda parte del año se observó un patrón más claro. Los meses de junio, julio, agosto y octubre para el estadio maduro presentaron frecuencias altas a temperaturas bajas. Esto pudo deberse a variables ambientales como las corrientes de Humboldt y Cromwell durante la época fría (mayo a noviembre) que son las responsables de los afloramientos en el Archipiélago y pudieron influenciar de diferente forma en los ciclos y la temporada reproductiva de esta especie (Edgar *et al.*, 2004). Sotil-Caycho (2004) reporta que el *Chiton iatricus* muestra un rápido crecimiento gonadal con la presencia de los afloramientos. Por otro parte, de diciembre a abril, es decir durante la época caliente, se presentaron altas frecuencias de individuos en estadio maduro. Esto demuestra que durante estos meses la gónada se encontraba llena de gametos maduros. Himmelman (1978) sugiere que las temperaturas crecientes están relacionadas con la producción de gametos en etapas finales, lo que explicaría el llenado de las gónadas durante estos meses.

Se observó que durante la época caliente el mes de marzo fue el que presentó el pico más alto en el índice gonadosomático. Esto pudo ser producto del desarrollo de una onda Kelvin fría (Comité ERFEN, 2018), la cual provocó una disminución de la TSM por debajo del promedio normal mensual, a final de enero del 2018. Para febrero del 2018, por la fase convectiva de la oscilación Madden-Julian, se promovió la generación de una onda Kelvin cálida, la cual modificó la estructura térmica de la TSM estos dos meses, provocando un pico máximo de madurez en el mes de marzo. Ishiyama (1995) reporta que los cambios en la TSM

generados por posibles eventos del El Niño producen variaciones en los estadios de la gónada, ocasionando el adelanto de algunos estadios.

Otra de las razones que explicarían las frecuencias altas del estadio de madurez en marzo y diciembre podría deberse a la cantidad de luz o heliofanía reportada durante estos meses. Los datos reportados por la Estación Científica Charles Darwin (2018) sobre la cantidad de luz a la que estos individuos estaban expuestos durante el día fue de un promedio de 11 horas al día por lo que, podríamos sugerir que al ser individuos ectotermos su reproducción pudo verse influenciada por una serie de parámetros, como el tiempo de exposición y la intensidad de luz, la cual es una fuente de estímulo para el proceso de maduración gonádica en los quitones.

En los meses de abril, noviembre y enero 2019 se encontró mayor frecuencia en el estadio de desove. En el mes de abril se reportó la presencia de fuerte de los vientos alisios del sureste, que provocaron una estructura diferente del frente ecuatorial, no propia de la época caliente (Comité ERFEN, 2018). Esta afectación, juntamente con el decreciendo de 1⁰C en la TSM durante marzo y abril (Instituto Oceanográfico de la Armada, 2018), pudo generar un desove facultativo, que consiste en una respuesta provocada por una combinación de factores ambientales que ocasionaron una variación estacional y si las condiciones se tornan óptimas se producirá un desove (Arellano-Martínez *et al.*, 2004). Esto se ha reportado para *Chiton articulatus* en México (Abadia-Chanona, 2015).

Posteriormente, en noviembre observamos que la TSM reflejó condiciones propias de la época, relacionada con la corriente fría de Humboldt, la cual influye en la productividad y disponibilidad de los nutrientes en las islas. En presencia de afloramientos, la cantidad de productores primarios va a ser mayor al igual que la de fitoplancton (Edgar *et al.*, 2004). Artículos como Strathman y Eernisse (1998) mencionan que los desoves pueden estar relacionados a afloramientos fitoplanctónicos, donde quitones como *Onithochiton quercinus* y

Plaxiphora paeteliana inducen el desove en presencia de fitoplancton. Álvaro-Romero *et al.* (2018) reportaron para noviembre del 2018 densidades altas de fitoplancton a lo largo de la costa Ecuatoriana y Peruana, siendo ésta producto de las agua frías ricas en nutrientes. Esto último podría estar relacionado con la alta frecuencia de desove que se obtuvo para *R. goodallii* en el mes de noviembre.

En cuanto a los datos obtenidos para enero del 2019, la alta frecuencia de desoves durante este mes sobrepasó el 50%; esto pudo deberse a que durante este mes la precipitación promedio fue de 70 mm, con lluvias moderadas, provocadas por la humedad de la tropósfera, ondas de Kelvin y la oscilación Madden-Julian (Comité Erfen, 2019) que disminuyen los niveles de salinidad del mar y estimulan la liberación de gametos (Ascencio *et al.*, 2015). Los valores de salinidad del mar dependen de la cantidad de lluvia de la zona; el promedio de salinidad en el océano varía entre 33 y 37 unidades prácticas de salinidad (UPS). Las precipitaciones reportadas para el mes de enero del 2019 mostraron lluvias entre 7 y 10 días por encima de la normal climatológica (Comité Erfen, 2019). Al comparar estos valores con las cartas de salinidad reportadas por La Comisión Climatológica del Pacífico (2019), se encontró que el nivel de salinidad estuvo al borde del promedio (34 UPC). Lo que podría ocasionar una posible liberación de gametos. El artículo de Supan y Wilson (2001) reporta la liberación de gametos con valores de 10-34 UPS de salinidad para el *Chiton virginica* al norte del Golfo de México. De igual forma Neto *et al.* (2013) mencionan que valores bajos de salinidad estimulan las paredes del folículo gonadal; provocando la liberación de gametos.

En el 2018 las hembras presentaron un patrón muy diferente en el ciclo reproductivo que en febrero del 2019. Esto podría estar relacionado a factores ambientales como el cambio de la TSM en enero del 2018 por la aparición de la onda Kelvin fría y la oscilación Madden-Julian en febrero del 2018 (Erfen, 2018), que modificó la estructura térmica de la TSM y otros factores endógenos que posiblemente regularon el reloj biológico de cada organismo. Estos

cambios en las fluctuaciones de la TSM podrían implicar la reducción o el retraso del ciclo reproductivo (Ishiyama, 1995).

Otro factor influyente pudo ser el incremento de la TSM en febrero del 2019 de 2⁰C mayor que lo reportado para 2018 (Inocar, 2018). En este sentido al ser ectotermos el calentamiento del océano induce a cambios fisiológicos en la reproducción, influenciando la liberación y producción de gametos con temperaturas crecientes (Himmelman, 1978). Esto último podría explicar por qué los estadios de madurez se reportaron con más frecuencia en febrero del 2019.

Por último, se observó que los machos presentaron mayor frecuencia que las hembras en los estadios de madurez y desove. Esto podría deberse a que los machos tienen un proceso de desarrollo más acelerado, con una baja frecuencia en el estadio de reposo. Esto nos da a entender que, los machos pueden ser los desencadenantes del inicio de madurez (Abadia-Chanona *et al.*, 2018). Himmelman (1978) corrobora esta afirmación diciendo que los machos liberan esperma antes que las hembras para estimular la madurez lo cual explicaría la competencia gamética y el por qué invierten más que las hembras en el gasto somático (Parker *et al.*, 2018).

La sustentabilidad a largo plazo de la pesquería de quitones es importante para la gente local del Archipiélago. La falta de estudios disponibles sobre la biología reproductiva ha dificultado la implementación de medidas de manejo pesquero sustentable acordes al ciclo y a la temporada reproductiva. En este estudio se describe la peculiaridad reproductiva de *R. goodallii*, indicado su amplia estacionalidad y continuidad en el estadio de madurez, la temporalidad del estadio de desove y madurez durante todo el año y un periodo reproductivo con un pico alto en el mes de marzo. Basándome en los meses que presentaron mayor frecuencia en los estadios de madurez y desove, y el pico más alto en el índice gonadosomático, se establece que *R. goodallii* tiene una temporada reproductiva entre diciembre y abril, por lo

que se podría sugerir restricciones de pesca durante estos cinco meses. Por otro lado, mediante el análisis de otra información, por ejemplo, de la caracterización del origen de la gónada, también se podría determinar a futuro la talla de madurez sexual con el fin de proporcionar medidas más específicas de captura, como por ejemplo una talla mínima. Con estas medidas se empezaría a manejar de una manera más adecuada estos recurso con el fin de garantizar su sustentabilidad y beneficio para la comunidad local.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abadia-Chanona QY (2015) Maduración gonádica, ciclo reproductivo y talla de madurez sexual del quitón *Chiton articulatus* (Mollusca: Polyplacophora) de la costa rocosa de Puerto Ángel, Oaxaca, México. Tesis de maestría, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional (CICIMAR-IPN), La Paz, 86p.
- Abadia-Chanona QY, Avila-Poveda OH, Arellano-Martínez M, Ceballos-Vázquez BP, Benítez-Villalobos F, Parker GA, & Garcia-Ibañez S (2018) Reproductive traits and relative gonad expenditure of the sexes of the free spawning *Chiton articulatus* (Mollusca: Polyplacophora). *Invertebrate reproduction & development*, 62: 268-289.
- Abadia-Chanona QY, Avila-Poveda OH, Arellano-Martínez M, & Ceballos-Vázquez BP (2016) Observation and establishment of gonad development stages in polyplacophorans (Mollusca): *Chiton (Chiton) articulatus* a case study. *Acta Zoologica*, 97: 506-521.
- Ascencio L, Enríquez M, Martínez I, y Aldana D (2016) Efecto de la temperatura y la salinidad en el ciclo reproductor de hembras y machos de *Crassostrea virginica* (Bivalvia: Ostreidae). *Revista de Biología Tropical*, 64: 449-459.
- Avila-Poveda OH, & Abadia-Chanona QY (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: e69785.
- Aguilera MA (2011) The functional roles of herbivores in the rocky intertidal systems in Chile: A review of food preferences and consumptive effects. *Revista chilena de historia natural*, 84: 241-261.
- Alvaro R et al., (2018) Evaluación Hidroacústica De Los Principales Peces Pelágicos Pequeños En El Ecuador Y Su Distribución Geoespacial, Durante Noviembre De 2018 (Inp-Srp-

Cnp 18-11-02pv). Instituto nacional de Pesca, <http://www.institutopesca.gob.ec/wp-content/uploads/2018/01/Informe-final-Crucero-Noviembre-2018.pdf> (consultado en diciembre del 2019).

Arellano-Martínez M, Ceballos-Vázquez BP, Villalejo-Fuerte M, García-Domínguez F, Elorduy-Garay JF, Esliman-Salgado A, Racotta IS (2004) Reproduction of the lion's paw scallop *Nodipecten subnodosus* Sowerby, 1835 (Bivalvia: Pectinidae) from Laguna Ojo de Liebre, B.C.S., México. *Journal of Shellfish Research*, 23(2):723-729.

Barnes RD (1978) *Invertebrate Zoology*. WB Saunders company, UK, 893 p.

Bustamante R, Wellington G, Branch G, Edgar G, Martinez P, Rivera F, Smith F y Witman F (2002) Outstanding marine features of Galápagos. En: Bensted-Smith R, A biodiversity vision for the Galápagos Islands, Charles Darwin Foundation, Puerto Ayora, p 65 - 74.

Comité ERFEN (2019) Boletín Erfen Nro. 01. Instituto Oceanográfico de la Armada, <https://www.inocar.mil.ec/web/index.php/boletines/erfen> (consultado en diciembre del 2019).

Comité ERFEN (2018) Se prevé precipitaciones de intensidad moderada a fuerte durante febrero en la region litoral. Inocar, <https://www.inocar.mil.ec/web/index.php/boletines/erfen> (consultado en diciembre del 2019).

Comité ERFEN (2019) Se prevé precipitaciones de intensidad moderada a fuerte durante febrero en la region litoral. Inocar, <https://www.inocar.mil.ec/web/index.php/boletines/erfen> (consultado en diciembre del 2019).

Comisión Permanente del Pacífico Sur (2019) Cartas de Salinidad. Comisión Permanente del Pacífico Sur, <http://cpps-int.org/index.php/inocar-salinidad> (consultado en diciembre del 2019).

- Denkinger J, & Vinueza L (2014) The Galápagos Marine Reserve. A Dynamic Social-Ecological System. Springer Science & Business Media, Quito, 303 p.
- Edgar G, Banks S, Fariña J, Calvopiña M y Martínez C (2004) Regional Biogeography of shallow reef fish and macro-invertebrate communities in the Galapagos archipelago. *Journal of Biogeography*, 31:1107–1124
- Finet Y, Tirado-Sanchez N, Chiriboga A, Ruiz D & Banks S (2016) CDF Checklist of Galápagos Marine mollusks - FCD Lista de especies de Moluscos Marinos de Galápagos. In: Bungartz F, Herrera H, Jaramillo P, Tirado N, Jiménez-Uzcátegui G, Ruiz D, Guézou A & Ziemmeck F (eds), Charles Darwin Foundation Galápagos Species Checklist - Lista de Especies de Galápagos de la Fundación Charles Darwin, Charles Darwin Foundation / Fundación Charles Darwin, Puerto Ayora, p 84
- Fundación Charles Darwin (2018) Base de datos climatológicos. Fundación Charles Darwin, <https://www.darwinfoundation.org/es/datazone/clima/puerto-ayora> (consultado en diciembre del 2019).
- Giese AC, Tucker JS, Boolootian RA (1959) Annual reproductive cycles of the chitons, *Katherina tunicata* and *Mopalia hindsii*. *Biological Bulletin*, 117:81–88.
- Gracia A, Díaz JM, & Ardila NE (2005) Quitones (Mollusca: Polyplacophora) del Mar Caribe Colombiano. *Biota Colombiana*, 6:117-125.
- Gravez V y Gelin A (2006) Situación socio económica actual del sector pesquero en las islas Galápagos, Ecuador. https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/37184989/Gravez_2006_Situacion_Sector_pesquero.pdf?responsecontentdisposition=inline%3B%20filename%3DSituacion_socio_economica_actual_del_sec.pdf (consultado en octubre del 2019).
- Herrera A, Bustamante A, y Sheherd S (2003) Fishery for endemic chitons in the Galápagos Islands. *Noticias de Galápagos*, 62: 24-28.

- Himmelman J (1978) The reproductive cycle of *Katharina tunicate* Wood and its controlling factors. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 31: 27-41.
- Ishiyama V (1995) Reproducción del *Chiton cumingsii* (Polyplacophora, Chitonidae) de la Bahía de Ancón, Lima. *Boletín de Lima*, 100: 203-210.
- Instituto Oceanográfico de la Armada (2018) Temperatura Superficial del Mar. Inocar, <https://www.inocar.mil.ec/web/index.php/productos/temperatura-superficial-del-mar> (consultado en diciembre del 2019).
- Proaño M (2005) Derrotero de la costa continental e insular del Ecuador. Inocar, Guayaquil, 56 p.
- Ministerio del Ambiente (2016) Acuerdo ministerial No. 62. <http://www.galapagos.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2019/07/00062.pdf> (consultado en noviembre del 2019).
- Molina L, Chasiluisa C, Murillo JC, Moreno J, Nicolaidis F, Barreno JC, y Bautil B (2004) Pesca blanca y pesquerías que duran todo el año, 2003. En: Evaluación de las pesquerías en la Reserva Marina de Galápagos. Informe Compendio, Fundación Charles Darwin y Dirección Parque Nacional Galápagos, Santa Cruz, p 103-139.
- Murillo, J. (2019). Population ecology of two species of chitons, *Chiton goodallii* and *Chiton sulcatus*, in the rocky coastline of San Cristóbal Island, Galápagos. *Galapagos report*, 70-75.
- Neto R, Zeni T, Ludwig S, Horodesky A, Giroto M V, Castilho-Westphal G, & Ostrensky A (2013) Influence of environmental variables on the growth and reproductive cycle of *Crassostrea* (Mollusca, Bivalvia) in Guaratuba Bay, Brazil. *Invertebrate reproduction & Development*, 57: 208-218.

- Parker GA, Ramm SA, Lehtonen J & Henshaw JM (2018) The evolution of gonad expenditure and gonadosomatic index (GSI) in male and female broadcast-spawning invertebrates. *Biological Reviews*, 93: 693-753.
- Permiso PC-14-18 del Parque Nacional Galápagos.
- Permiso PC-67-19 del Parque Nacional Galápagos.
- Proaño M (2005) Derrotero de la costa continental e insular del Ecuador. Inocar, Guayaquil, 56 p.
- Sigwart JD, Vermeij GJ & Hoyer P (2019) Why do chitons curl into a ball? *Biology Letters*, 15: 0-429.
- Sotil-Caycho GE (2004) Variación estacional de la madurez gonadal y oogéneses de *Chiton cumingsii* Frembly, 1827 de Bahía Ancón, Lima-Perú. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, 63 p.
- Supan J, & Wilson C (2001) Analyses of gonadal cycling by oyster broodstock, *Crassostrea virginica* (Gmelin), in Louisiana. *Journal of Shellfish Research*, 20: 215-220.
- Smith AG, Ferreira AJ (1977) Chiton fauna of the Galápagos Islands. *Veliger*, 20: 82-97.
- Strathmann M, y Eernisse D (1987) Reproduction and Development of Marine Invertebrates of the Northern Pacific Coast. Data and methods for the study of eggs, embryos and larvae. Chapter 10: Phylum Mollusca, Class Polyplacophora, London, University of Washington Press, p 205-219.
- Vintimilla C (2019) Caracterización de la población de canchalagua (*Radsia goodallii* y *Radsia sulcatus*) en la isla San Cristóbal, Galápagos, Ecuador, para la recomendación de medidas de manejo. Tesis de maestría, Facultad de ciencias exactas y naturales, Universidad nacional Costa Rica, Heredia, 111 p.
- Wehrtmann IS y Cortés J (2009) Chitons. Marine Biodiversity of Costa Rica, Central America. Springer, San José, 535 p.

6. ANEXO A: FIGURAS

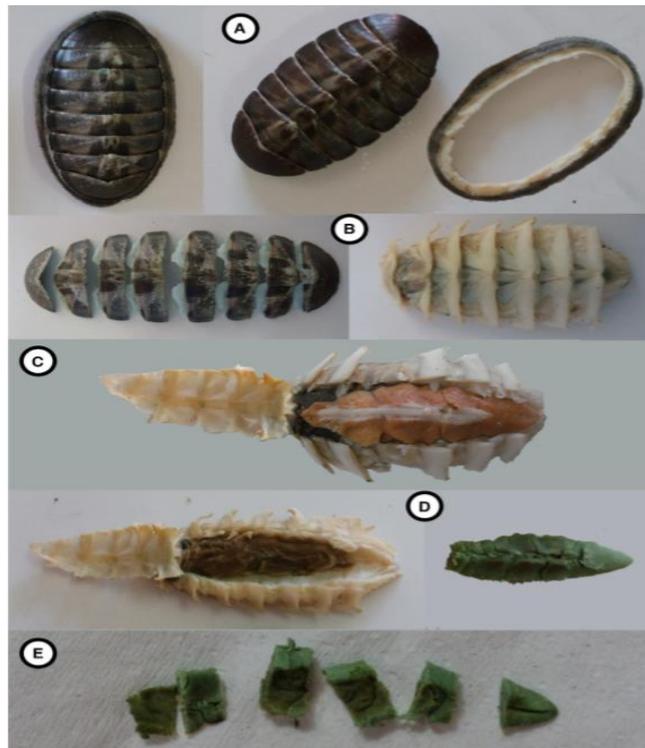


Figura 7. Proceso de disección y extracción de la gónada en poliplacóforos. Fuente: Abadia-Chanona *et al.* (2016).

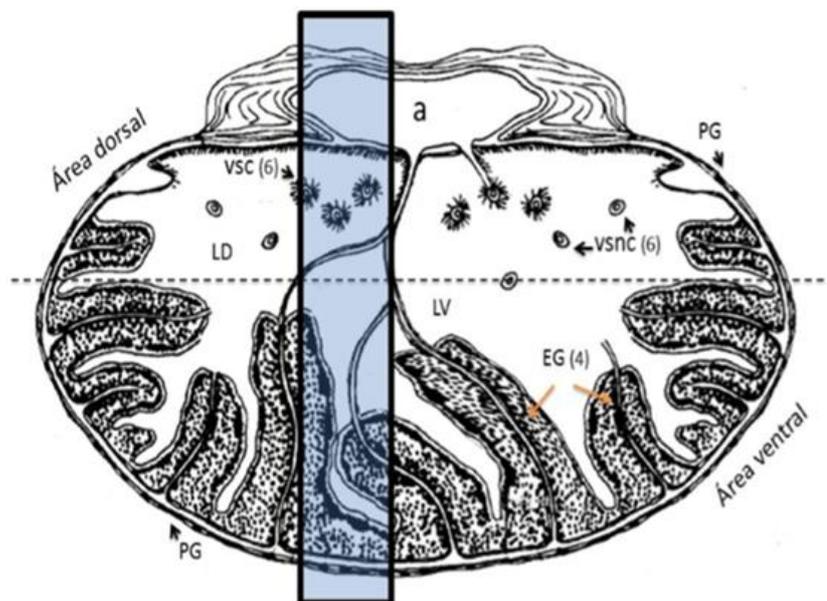


Figura 8. Sección transversal de la gónada masculina de un quitón. El rectángulo representa un diagrama panorámico de observación para identificar cada GDS. (a) aorta; (EG) epitelio germinal; (LD) lumen parte dorsal; (LV) lumen parte ventral; (vsc) vasos sanguíneos ciliados; (vsnc) vasos sanguíneos no ciliados; (PG) pared gonadal. Fuente: Abadia-Chanona (2015).

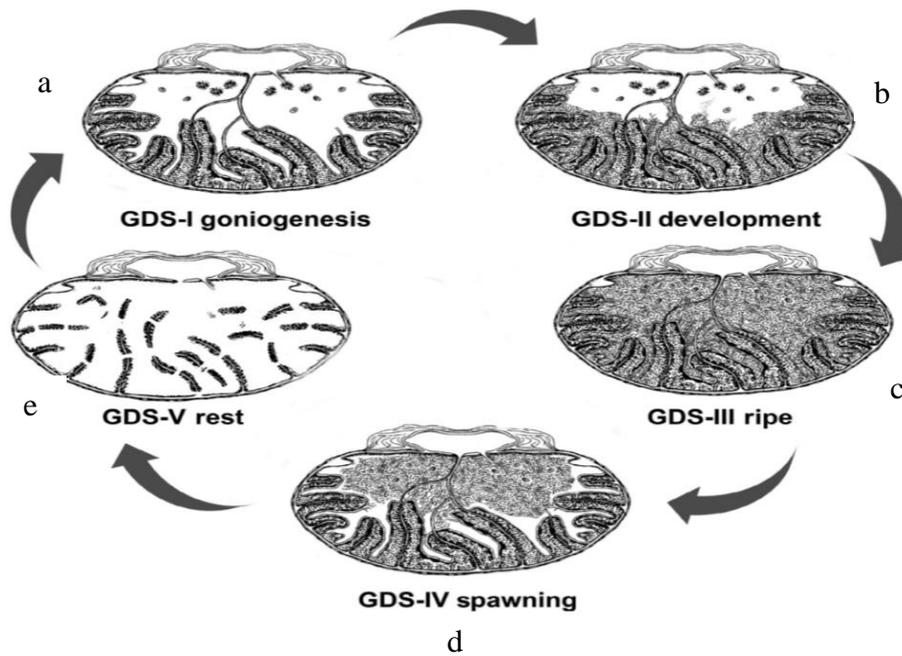


Figura 9. Etapas de desarrollo de la gónada (GDS) en una sección transversal de la parte reproductiva de un testículo de quitón. Las flechas indican el paso de una etapa a otra. Fuente: Abadia-Chanona *et al.* (2016).

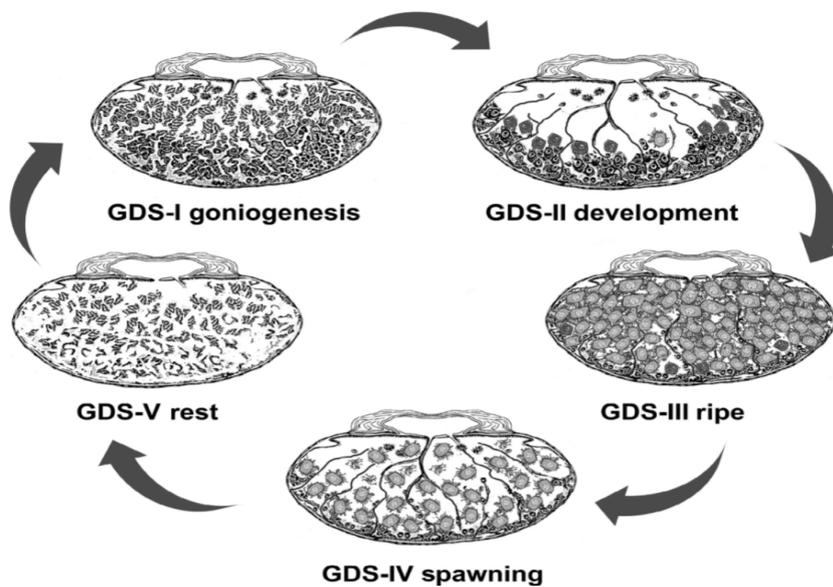


Figura 10. Etapas de desarrollo de la gónada (GDS) en una sección transversal de un ovario de un quitón. Las flechas indican el paso de una etapa a otra. Fuente: Abadia-Chanona *et al.* (2016)

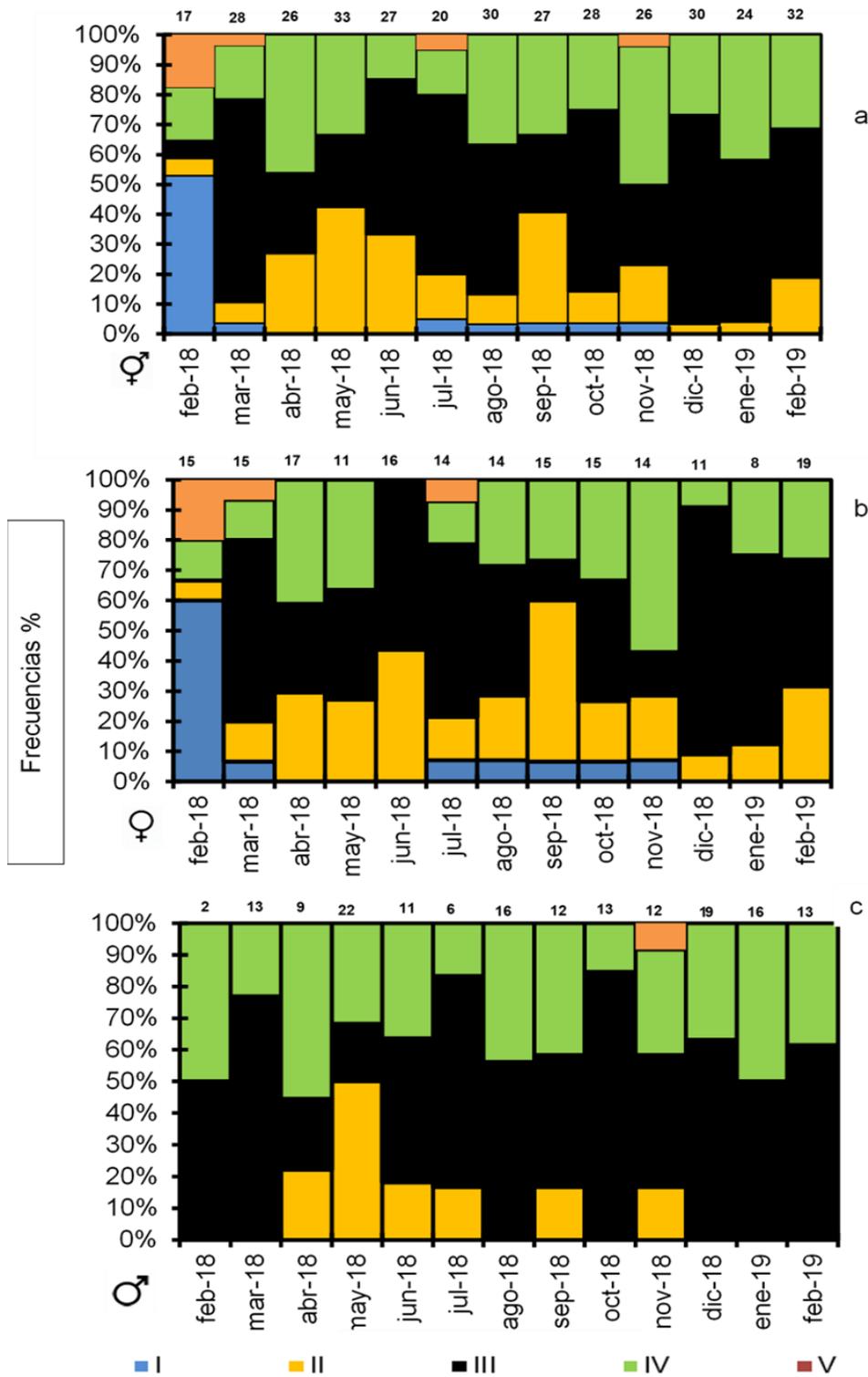


Figura 11. Frecuencia mensual a lo largo de un año de las etapas de desarrollo de la gónada del quitón *R. goodallii* en la Isla San Cristóbal, Galápagos. (a) machos y hembras, (b) hembras, y (c) machos. I: Goniogénesis, II: Desarrollo, III: Madurez, IV: Desove, V: Reposo. El número encima de cada barra representa el número de total, de hembras, y, de machos que se analizaron por mes.

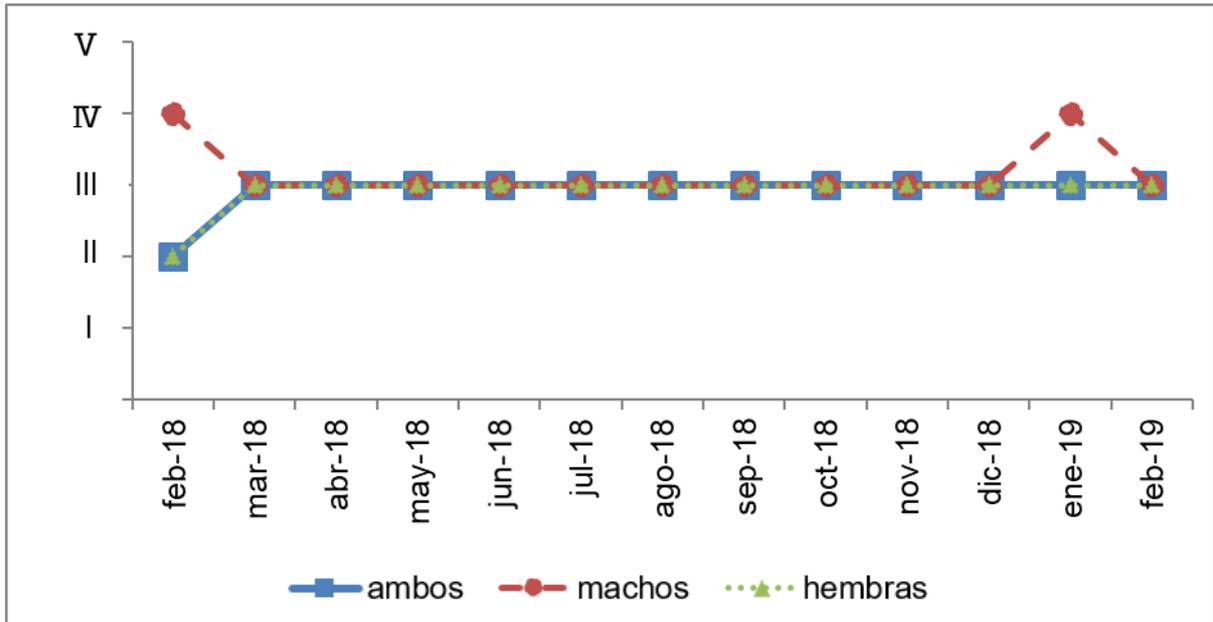


Figura 6. Variación mensual del IMMi para el quitón *R. goodallii* en la Isla San Cristóbal, Galápagos. I: Goniogénesis, II: Desarrollo, III: Madurez, IV: Desove, V: Reposo.

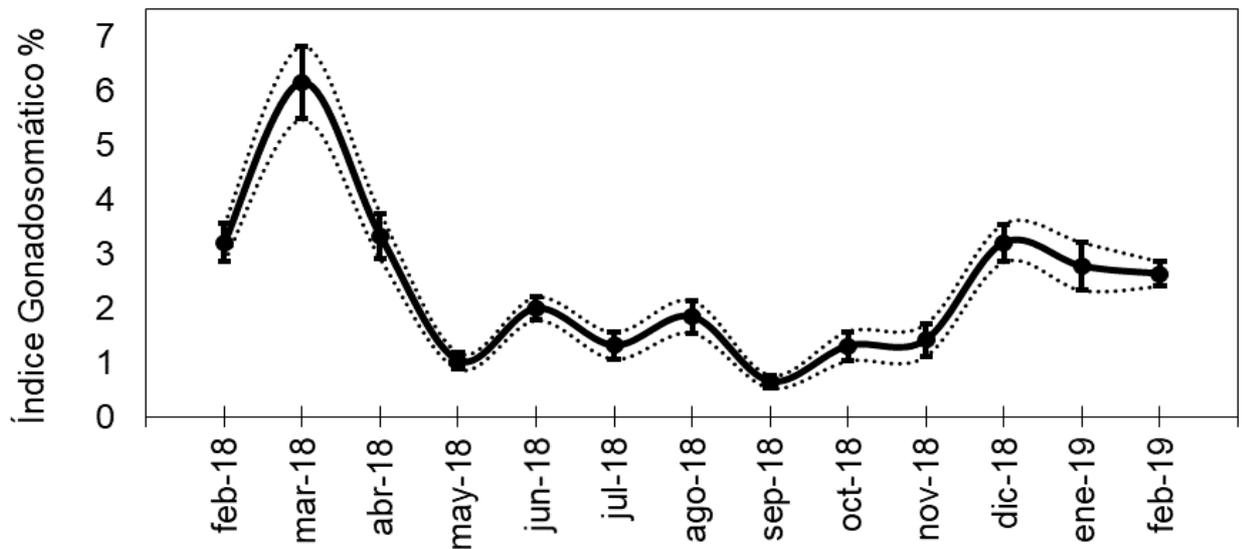


Figura 7. Índice gonadosomático (GSI) del quitón *R. goodallii* de la Isla San Cristóbal, Galápagos. Rango del GSI para machos y hembras. Las barras verticales indican el máximo y mínimo.

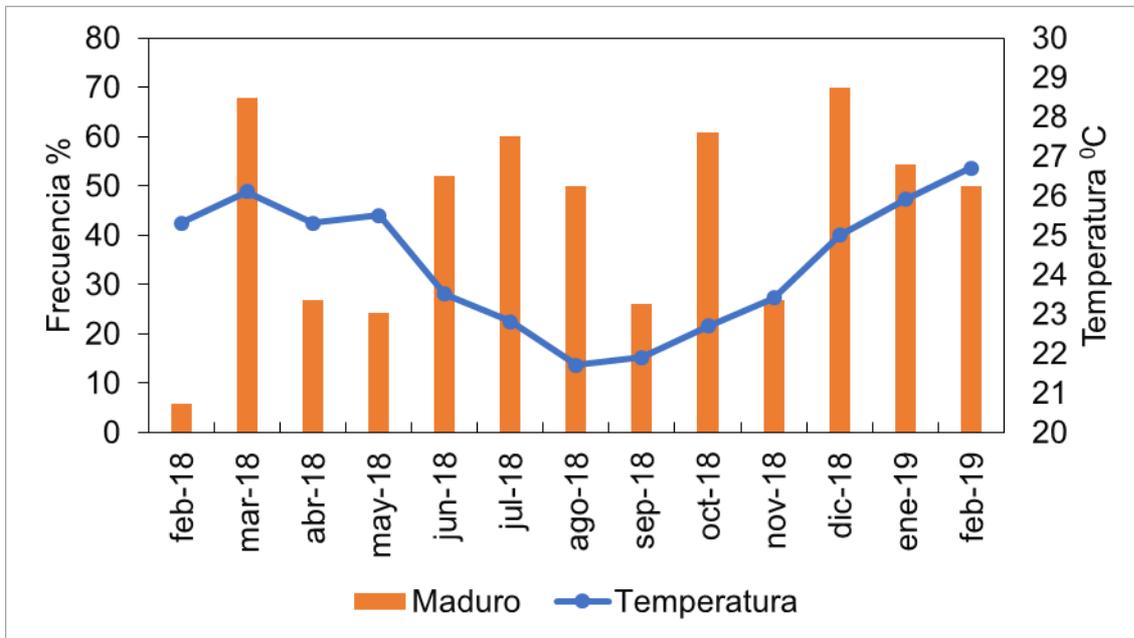


Figura 12. Relación de la temperatura del aire con la variación de frecuencias de organismos en el estado de madurez del quitón *R. goodallii* en la Isla San Cristóbal, Galápagos.

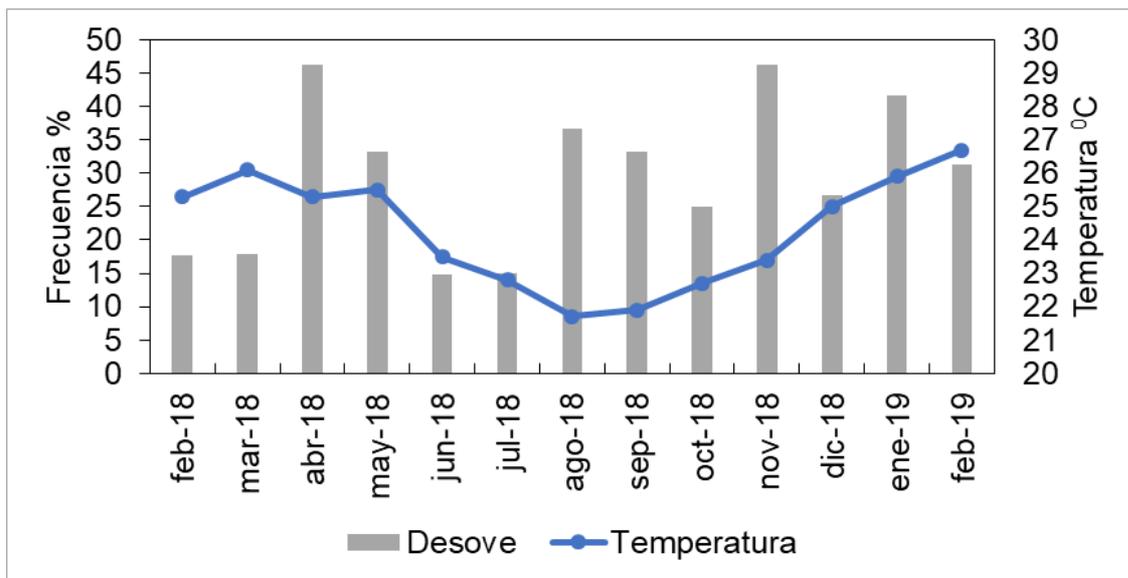


Figura 9. Relación de la temperatura del aire con la variación de frecuencias de organismos en el estado de desove del quitón *R. goodallii* en la Isla San Cristóbal, Galápagos.