# Ultraestructura del Ovocito Maduro y en Reabsorción de Spondylus limbatus G. B. Sowerby II, 1847 (= S. calcifer) (Bivalvia: Spondylidae)

Ultrastructure of the Mature and in Resorption Oocytes of Spondylus limbatus G. B. Sowerby II, 1847 (= S. calcifer) (Bivalvia: Spondylidae)

Marian Alejandra Camacho-Mondragón<sup>1</sup>; Marcial Villalejo-Fuerte<sup>2</sup>; Bertha Patricia Ceballos-Vázquez<sup>2</sup>; Edgar Oliver López-Villegas<sup>3</sup>; Esther Uría-Galicia<sup>3</sup>; Nurenskaya Vélez-Arellano<sup>4</sup> & Marcial Arellano-Martínez<sup>2</sup>

CAMACHO-MONDRAGÓN, M.A.; VILLALEJO-FUERTE, M.; CEBALLOS-VÁZQUEZ, B. P.; LÓPEZ-VILLEGAS, E. O.; URÍA-GALICIA, E.; VÉLEZ-ARELLANO, N. & ARELLANO-MARTÍNEZ, M. Ultraestructura del ovocito maduro y en reabsorción de Spondylus limbatus G. B. Sowerby II, 1847 (= S. calcifer) (Bivalvia: Spondylidae). Int. J. Morphol., 37(2):694-700, 2019.

**RESUMEN:** *Spondylus limbatus* es una especie bajo protección especial en México, de la que existe poca información biológica y nada sobre estudios histológicos o de ultraestructura del ovario. El objetivo de esta investigación fue caracterizar la morfología ultraestructural de los gametos femeninos maduros y en degeneración. La gónada femenina de *S. limbatus* en estado de madurez presentó ovocitos postvitelogénicos de 60-70 µm de diámetro, que presentan el aspecto característico de células metabólicamente activas y altamente sintetizadoras. La membrana citoplasmática posee especializaciones destinadas a aumentar la superficie de absorción de la célula, las microvellosidades; el citoplasma presenta numerosos sistemas membranosos relacionados con la síntesis de material de reserva y secreción; y el patrón de organización nuclear altamente lobulado, y por consiguiente con una gran superficie que asegura el intercambio núcleo-citoplasma, se incorpora de forma estructural al proceso de vitelogénesis. Finalmente, se describen los cambios ultraestructurales resultantes de la lisis de los ovocitos: colapso de las membranas nuclear y citoplásmica, y presencia de células hemocíticas macrófagas.

PALABRAS CLAVE: Reproducción; Gónada; Microscopía electrónica; Vitelo.

#### INTRODUCCIÓN

Las descripciones ultraestructurales del ovario, del proceso de ovogénesis y de la degeneración ovocitaria en bivalvos han aumentado, evidentemente, a partir de finales de la década de los 80's, enfocándose casi exclusivamente en especies que tienen interés para su comercialización y consumo: *Mytilus edulis* (Pipe, 1987), *Pinna nobilis* (de Gaulejac *et al.*, 1995), *Crassostrea virginica* (Eckelbarger & Davis, 1996), *Cyclina sinensis* (Chung *et al.*, 2007), *Spisula sachalinensis* (Chung *et al.*, 2008a), *Sinonovacula constricta* (Chung *et al.*, 2008b) y *Chamelea gallina* (Erkan, 2009).

Sin embargo, a pesar de que *Spondylus limbatus* es de gran importancia comercial en el Pacífico americano, y está bajo protección especial en México desde el año 2002 de acuerdo a los términos de la ley NOM-059 (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2010), hasta el momento no existe ningún estudio histológico o citológico de la gónada femenina de esta especie ni de ningún otro miembro de la familia Spondylidae.

Los estudios de ultraestructura ovocitaria en bivalvos generan conocimientos fundamentales acerca de los gametos, incluyendo morfología y tamaño. Asimismo, se abordan básicamente las variaciones que ocurren en cada especie, en particular la función de las células foliculares en la maduración gametogénica y los cambios que ocurren durante la degeneración ovocitaria (atresia) que se presenta dentro de alguna de las fases del ciclo gonádico de estos organismos (Beninger & Le Pennec, 1997).

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Instituto Nacional de Pesca y Acuacultura, Centro Regional de Investigación Acuícola y Pesquera, Carretera a Pichilingue Km 1 s/n Col. El Esterito. La Paz, México.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. Av. Instituto Politécnico Nacional s/n, Col. Playa Palo de Santa Rita. C.P. 23096. La Paz, Baja California Sur, México.

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Unidad Profesional Lázaro Cárdenas. Prolongación Manuel Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Santo Tomás C.P. 11340 Delegación Miguel Hidalgo, Distrito Federal, México.

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. Av. Instituto Politécnico Nacional 195 Col. Playa Palo de Santa Rita Sur. La Paz, México.

De la misma forma, los estudios de ultraestructura ovocitaria en bivalvos permiten llevar a cabo seguimientos específicos, con una gran capacidad de resolución, de las diversas alteraciones que pueden presentar los gametos de ejemplares sometidos a condiciones anómalas como la presencia de parásitos o procesos de contaminación medioambientales (Durfort *et al.*, 1982). De lo anterior, deriva la importancia de contar con descripciones previas de organismos provenientes de entornos saludables que funcionen como línea base para futuras comparaciones.

Por lo tanto, esta investigación tiene como objetivo caracterizar la morfología ultraestructural de los gametos femeninos maduros y en degeneración de *Spondylus limbatus*.

#### **MATERIAL Y MÉTODO**

En el Parque Nacional Bahía de Loreto, Golfo de California, México, se recolectaron durante la época reproductiva hembras adultas (>116 mm de altura de la concha, Villalejo-Fuerte et al. (2002), extraídas de Spondylus limbatus. Las gónadas de estos organismos fueron extraídas y se obtuvieron porciones de aproximadamente 5 mm, que fueron fijadas con glutaraldehido al 2,5 % (Electron Microscopy Sciences) en agua de mar filtrada (pH = 8) durante seis horas; transcurrido este tiempo se realizaron cinco lavados de diez minutos cada uno con solución amortiguadora de Sorensen. La post-fijación se realizó con tetraóxido de osmio al 1 % durante una hora y las muestras se lavaron con la solución amortiguadora de la misma forma. La deshidratación se realizó con una serie de soluciones de etanol de concentración ascendente (30 grados a absoluto). La infiltración de los tejidos se llevó a cabo con una solución de óxido de

propileno y resina epóxica durante tres horas, para posteriormente incluirse con resina EPON 812. Se obtuvieron cortes ultra finos de 70 nm con ayuda de un ultramicrotomo, los cuales fueron contrastados con acetato de uranilo y citrato de plomo. Finalmente, los cortes fueron examinados en un microscopio electrónico de transmisión Modelo JEM-1010 (60ky) y se obtuvieron micrografías de distintas porciones de la gónada.

Para caracterizar la morfología de los gametos femeninos maduros se obtuvieron medidas del diámetro total, del núcleo y del nucléolo y se seleccionaron distintas porciones celulares (núcleo, citoplasma y membrana citoplásmica) para analizar las estructuras específicas de cada región. En el caso de los ovocitos en degeneración, se observaron las características de la pérdida de la integridad celular en las mismas regiones que los ovocitos maduros viables.

#### RESULTADOS

**Posición y morfología del ovario.** *Spondylus limbatus* es una especie gonocórica que presenta un ovario discreto bien definido, que al madurar adquiere un color rojo intenso y se extiende hacia la glándula digestiva cerca del músculo aductor. Microscópicamente, la gónada está compuesta de numerosos folículos dentro de los que se desarrollan los gametos.

**Ovocitos maduros:** Los ovocitos maduros de *S. limbatus* (60-70  $\mu$ m de diámetro) son gametos que han completado el proceso de vitelogénesis y que frecuentemente se observan en el centro del acino como si tuvieran una forma polihédrica, causada por la fijación y por la compresión de numerosos gametos acumulados en la gónada madura (Fig. 1A-B).



Fig. 1. Ovocito maduro de *Spondylus limbatus*. Cg: gránulos corticales; Gv: vesícula germinal; Yg: gránulos de vitelo; VL: Cubierta vitelina; Mv: Microvellosidades; FoC: células foliculares; c: citoplasma; cabeza de flecha: nucléolo.



Fig. 2. Ovocito maduro de *Spondylus limbatus*. A: lobulaciones de la membrana nuclear (flechas punteadas). B: acercamiento que muestra los numerosos poros de la doble membrana nuclear (flechas sólidas). C: citoplasma; Gv: vesícula germinal, n: nucléolo, Mi: mitocondria.



Fig. 3. Ovocito maduros de *Spondylus limbatus* con lamelas anuladas paralelas y cercanas a la vesícula germinal del ovocito, su aspecto es similar a la membrana nuclear de la cual probablemente derivan. al: lamelas anuladas; C: citoplasma. Gv: vesícula germinal.

El núcleo (~30  $\mu$ m) presenta en su interior una vesícula germinal formada de cromatina laxa y un nucléolo (~5  $\mu$ m). La membrana nuclear forma numerosas lobulaciones sobre si misma, muestra abundantes poros y acúmulos de material electrondenso (Fig. 2). Al mismo tiempo, la doble membrana nuclear da lugar a sistemas de lamelas anuladas (Fig. 3), derivación relativamente frecuente en ovocitos maduros.

El citoplasma presenta electrodensidad intermedia debido a la abundancia de ribosomas. Sin embargo, se observan espacios o canalículos dentro el retículo endoplasmático rugoso, los cuales aparecen como un sistema o red de conexión a través de toda la célula (Figs. 4 A-C). Las vesículas del retículo endoplasmático rugoso pueden dar lugar a sistemas de lamelas anuladas (Figs. 4B-C). Entre este complejo sistema trabecular aparecen numerosas mitocondrias de morfología típica distribuidas por todo el citoplasma (Fig. 4D). Asimismo, se observan numerosas plaquetas vitelinas electrondensas y abundantes gotas lipídicas, apreciables por su menor densidad electrónica (Fig. 4C).



Fig. 4. Ovocitos maduros de *Spondylus limbatus*. A: Disposición en canalículos (flechas) del retículo endoplásmico rugoso en el citoplasma. B: Lamelas anuladas (flecha) en la periferia del citoplasma. C: Citoplasma con presencia de gránulos de vitelo, gotas lipídicas y lamelas anuladas. D: Agrupación de mitocondrias con la estructura típica de crestas. al: lamelas anuladas; l: gota lipídica; Mi: mitocondria; Yg: gránulos de vitelo.



Fig. 5. Ovocitos maduros de *Spondylus limbatus*. A: Microvellosidades embebidas en la cubierta vitelina. B: Acercamiento de una microvellosidad en forma de copa que muestra su origen a partir del desdoblamiento de la membrana citoplásmica. VL: Cubierta vitelina, Cg: gránulos corticales; Mv: microvellosidades.

La membrana citoplásmica de los ovocitos maduros se desdobla hacia afuera para formar numerosas microvellosidades, las cuales en varios casos adquieren la forma de copa (Fig. 5A-B). Estas estructuras se encuentran embebidas en una matriz extracelular, que se extiende alrededor de todo el ovocito, llamada cubierta vitelina (~2 μm), muy evidente en esta especie, la cual es una capa ligeramente fibrosa con acúmulos electrondensos alrededor de las microvellosidades (Fig. 5B). Advacente a la cubierta vitelina se observa la presencia de células foliculares en contacto con gametos maduros, a través de las microvellosidades (Fig. 1B).

**Ovocito** maduro en reabsorción. En los gametos femeninos maduros de S. limbatus se presenta un proceso conocido como degeneración o atresia ovocitaria, el cual involucra inicialmente la vacuolación del citoplasma ocasionado por la distensión del retículo endoplásmico rugoso (Fig. 6A). El núcleo y la membrana citoplásmica presentan un deterioro en las etapas iniciales para finalmente colapsarse y dispersar las microvellosidades (Fig. 6B). Finalmente, la cubierta vitelina se desintegra y esto libera el contenido del citoplasma y del núcleo en el lumen del acino. Células hemocíticas macrófagas son observadas frecuentemente entre los restos de los ovocitos atrésicos en el acino. Estas células exhiben numerosos gránulos densos heterogéneos similares a fagosomas y varias vacuolas en el citoplasma (Fig. 6C-D).



Fig. 6. Ovocitos en degeneración de *Spondylus limbatus*. A: Vacuolación del citoplasma. B: Colapso del citoplasma y desprendimiento de las microvellosidades. C-D: Células hemocíticas macrófagas presentes entre los restos de ovocitos atrésicos. VL: Cubierta vitelina; Mv: microvellosidades. C: citoplasma.

## DISCUSIÓN

Las características ultraestructurales generales de los ovocitos maduros y en degeneración observadas en *Spondylus limbatus* han sido descritas previamente para otros bivalvos como *Mytilus edulis* (Pipe), *Pinna nobilis* (de Gaulejac *et al.*) y *Neotrigonia margaritacea* (Glavinic *et al.*, 2012). Sin embargo, existen ligeras diferencias con las especies taxonómicamente más cercanas como *Pecten maximus* (Dorange & Le Pennec, 1989) y *Patinopecten yessoensis* (Chung *et al.*, 2005). Estas diferencias se refieren al tamaño de la cubierta vitelina y a la presencia de células foliculares en contacto con ovocitos maduros.

Respecto a la cubierta vitelina, esta es una especialización de la matriz extracelular característica de los ovocitos maduros, el grosor de la cubierta vitelina varía de acuerdo a la especie, en *S. limbatus* mide (~2  $\mu$ m), mientras que en *Pecten maximus* la cubierta vitelina es más gruesa (5-6  $\mu$ m), a pesar de que el tamaño de los ovocitos postvitelogénicos es de 60-70  $\mu$ m (Chung *et al.*, 2005), similar a *S. limbatus*.

Por otra parte, la relación que pueden presentar las células foliculares con los gametos femeninos, difiere de acuerdo a las especies. En *Mytilus edulis* (Pipe) y *P. maximus* (Dorange & Le Pennec), los ovocitos jóvenes están completamente rodeados de "células foliculares". Estas células se desprenden de la zona apical de los gametos femeninos cuando los ovocitos desarrollan un pedúnculo. Mientras que en P. yessoensis y Crenomytilus grayana, el papel trófico de las "células foliculares" predomina cuando los ovocitos maduros están libres en el lumen folicular. En esta etapa, los ovocitos se encuentran completamente rodeados por células nutritivas, las cuales transfieren metabolitos por pinocitosis (Chung, 2007); adicionalmente, participan en la digestión, a través de un sistema lisosomal, durante la reabsorción de los ovocitos residuales (Chung). En S. limbatus, los ovocitos maduros se encuentran comunicados con las células foliculares por medio de las microvellosidades a lo largo de la cubierta vitelina, posiblemente de la misma manera como sucede en especies como Sinonovacula constricta (Chung et al., 2008b), Meretrix lusoria (Chung), M. edulis (Pipe) donde las células foliculares desempeñan un papel en la formación de las microvellosidades. En S. limbatus la membrana citoplasmática presentó abundantes microvellosidades embebidas en la cubierta vitelina; a través de esta capa la célula puede ingresar al citoplasma el material extracelular necesario para la síntesis del vitelo. Esto sugiere que las microvellosidades, son especializaciones de la membrana citoplasmática destinadas a aumentar la superficie de absorción de la célula.

El citoplasma presentó abundantes plaquetas vitelinas en distinto grado de formación, las cuales pueden originarse a través de la endocitosis o bien, a partir de la síntesis y modificaciones posteriores de algunos orgánulos citoplasmáticos tal como ocurre en *Cyclina sinensis* (Chung *et al.*, 2007). La presencia de modificaciones de la envoltura nuclear y el patrón de organización nuclear altamente lobulado, y por consiguiente una gran superficie que asegura el intercambio núcleo-citoplasma, sugieren su incorporación de forma estructural posiblemente relacionadas con el proceso de formación del vitelo.

Por otro lado, en los ovocitos maduros de S. limbatus se observa una compleja morfología de la membrana nuclear que da lugar a lobulaciones de la doble membrana, formando sistemas de espacios membranosos que se separan del núcleo y se incorporan al citoplasma. Al mismo tiempo se observa la acumulación de material electrondenso en la superficie de la membrana nuclear externa. La aparición de acúmulos electrondensos producidos por emisiones del núcleo a través de los poros nucleares y evaginaciones de la membrana nuclear fue descrita por primera vez por Anderson & Beams (1956) en ovocitos de insectos. Posteriormente, se han encontrado estas estructuras en ovocitos de muchas especies, incluyendo a los bivalvos Mytilus edulis (Durfort, 1973) y Tapes decussatus (Bozzo et al., 1996). Estos acúmulos a menudo se asocian a grupos de pequeñas mitocondrias (tal

como se observó para *S. limbatus*), por lo que se les denomina cemento mitocondrial, y se piensa que participan activamente en la formación de las plaquetas vitelinas. La gran plasticidad de la superficie del núcleo, permite que este ocupe una extensión considerable de la célula y, como es habitual en los ovocitos, da origen a agrupaciones de lamelas anuladas, las cuales en este caso pueden formarse también a partir del retículo endoplasmático rugoso.

Las lamelas anuladas son formaciones relativamente frecuentes en el citoplasma de los ovocitos maduros y su origen puede ser a partir del retículo endoplasmático rugoso, como sucede en el poliplacóforo *Trachydermon cinereus* (Durfort, 1976), o de la membrana nuclear como se ha observado en el bivalvo *M. edulis* (Durfort, 1973). En los ovocitos de *S. limbatus*, el origen pareciera ser doble de acuerdo a las imágenes descritas. En cuanto a su función, una de las hipótesis plausibles es que se trate de una reserva de la membrana nuclear para las posteriores divisiones celulares o como un medio de incrementar el área de síntesis de proteínas (Pipe).

La atresia es el proceso por el cual los ovocitos se degeneran progresivamente y son reabsorbidos. Puede ocurrir como un proceso fisiológico natural o como resultado de condiciones naturales desfavorables (Jobling et al., 2002); el proceso de degeneración ovocitaria descrito aquí para S. limbatus es un fenómeno comúnmente observado en moluscos (Pipe) una vez que ha concluido el desove. Las modificaciones celulares observadas en el presente estudio son muy similares a las reportadas previamente en bivalvos (Pipe). Las células observadas entre los restos de los ovocitos atrésicos corresponden a hemocitos macrófagos, de acuerdo a lo descrito por Dorange & Le Pennec para P. maximus. Estas células probablemente desempeñen un papel en la reabsorción de material lisado favorecido por la presencia en su interior de diferentes enzimas lisosomales capaces de digestión. Por lo tanto, es posible que los nutrientes puedan ser transferidos a los nuevos gametos por medio de la hemolinfa o del tejido conjuntivo intersticial (Dorange & Le Pennec).

Dado lo anterior, podemos decir que los ovocitos maduros de *S. limbatus* presentan el aspecto característico de células metabólicamente activas y altamente sintetizadoras, pero que al no ser liberados durante el desove, pueden ser reabsorbidos como resultado de un proceso fisiológico que permite aprovechar los nutrientes acumulados durante el proceso de gametogénesis. Esta descripción ultraestructural sirve como línea base para futuras comparaciones con organismos expuestos a condiciones desfavorables.

CAMACHO-MONDRAGÓN, M. A.; VILLALEJO-FUERTE, M.; CEBALLOS-VÁZQUEZ, B. P.; LÓPEZ-VILLEGAS, E. O.; URÍA-GALICIA, E.; VÉLEZ-ARELLANO, N. & ARELLANO-MARTÍNEZ, M. Ultrastructure of the mature and in resorption oocytes of *Spondylus limbatus* G. B. Sowerby II, 1847 (= *S. calcifer*) (Bivalvia: Spondylidae). *Int. J. Morphol.*, *37*(2):694-700, 2019.

SUMMARY: Spondylus limbatus is a species under special protection in Mexico, of which there is little or no information in the literature of biological, histological or ultrastructural studies of the ovary. The objective of this research was to characterize the ultrastructural morphology of mature and degenerating female gametes. The female gonad of S. limbatus in mature state presented post-vitellogenic oocytes 60-70 µm in diameter, which have characteristics of metabolically active and highly synthesizing cells. The cytoplasmic membrane has specializations designed to increase the absorption surface of the cell, the microvilli; the cytoplasm presents numerous membranous systems related to synthesis of reserve and secretion material as well as the highly lobed nuclear organization pattern; a large surface that ensures core-cytoplasm exchange, is structurally incorporated into the vitellogenesis process. Finally, ultrastructural changes resulting from the lysis of the oocytes are described: collapse of nuclear and cytoplasmic membranes, and the presence of macrophage hemocytic cells.

KEY WORDS. Reproduction; Gonad; Electron microscopy; Vitelo.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Anderson, E. & Beams, H. W. Evidence from electron micrographs for the passage of material through pores of the nuclear membrane. J. Biophys. Biochem. Cytol., 2(4 Suppl.):439-44, 1956.
- Beninger, P. G. & Le Pennec, M. Reproductive characteristics of a primitive bivalve from a deep-sea reducing environment:giant gametes and their significance in *Acharax alinae* (Cryptodonta:Solemyidae). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 157:195-206, 1997.
- Bozzo, M. G.; Poquet, M. & Durfort, M. Ultraestructura de los oocitos maduros de *Tapes decussatus* (Bivalvia). Estudio preliminar. *Iberus*, 14:179-88, 1996.
- Chung, E. Y. Oogenesis and sexual maturation in *Meretrix lusoria* (Röding 1798) (Bivalvia: Veneridae) in western Korea. J. Shellfish Res., 26(1):71-80, 2007.
- Chung, E. Y.; Ko, C. H.; Kang, H. W.; Choi, K. H. & Jun, J. C. Ultrastructure of oocytes during oogenesis and oocyte degeneration associated with follicle cells in female *Sinonovacula constricta* (Bivalvia: Pharidae) in western Korea. *Anim. Cell. Syst.*, 12(4):313-9, 2008b.
- Chung, E. Y.; Koh, C. H. & Park, G. M. Oogenesis, oocyte degeneration and sexual maturation in female *Cyclina sinensis* (Gmelin, 1971) (Bivalvia: Veneridae) in Korea. *Integr. Biosci.*, 11(2):191-8, 2007.
- Chung, E. Y.; Park, Y. J.; Lee, J. Y. & Ryu, D. K. Germ cell differentiation and sexual maturation of the hanging cultured female scallop Patinopecten yessoensis on the east coast of Korea. J. Shellfish Res., 24(4):913-21, 2005.
- Chung, E.; Lee, K. & Lee, J. Ultrastructural study of the process of oocyte degeneration and function of the follicle cells in female *Spisula sachalinensis* on the East Sea of Korea. *Korean J. Malacol.*, 24:33-40, 2008a.

- de Gaulejac, B.; Henry, M. & Vicente, N. An ultrastructural study of gametogenesis of the marine *bivalve pinna nobilis* (Linnaeus 1758) I. Oogenesis. J. Molluscan Stud., 61(3):375-92, 1995.
- Dorange, G. & Le Pennec, M. Utrastructural study of oogenesis and oocytic degeneration in *Pecten maximus* from the Bay of St. Brieuc. *Mar. Biol.*, *103*(*3*):339-48, 1989.
- Durfort, M. Relation entre les lamelles annelées et le réticulum endoplasmique granulaire dans les ovocytes de *Trachydermon cinereus* Thiele (Mollusque, Polyplacophore). Ann. Sci. Nat. Zool., 18:449-57, 1976.
- Durfort, M. Sur la formation des lamelles annelées dans les ovocytes de Mytilus edulis. R. Acad. Sci. Paris, 276:3176-80, 1973.
- Durfort, M.; Bargalló, R.; Bozzo, M. G.; Fontarnau, R. & López-Camps, J. Alterations des ovocytes de *Mytilus edulis*, L. (Mollusca, Bivalvia) dues a l'infestation de la moule par *Mytilicola intestinalis* Steuer (Crustacea, Copepoda). *Malacologia*, 22:55-9, 1982.
- Eckelbarger, K. J. & Davis, C. V. Ultrastructure of the gonad and gametogenesis in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*. I. Ovary and oogenesis. *Mar. Biol.*, 127(1):79-87, 1996.
- Erkan, M. Ultrastructure of ovary and oogenesis in *Chamelea gallina* (Linné, 1758) (Bivalvia, Veneridae). *Invertebr. Reprod. Dev.*, 53(4):201-9, 2009.
- Glavinic, A.; Benkendorff, K. & Rouse, G.W. Oogenesis and ultrastructure of the ovary in *Neotrigonia margaritacea* (Lamarck 1804) (Bivalvia, Mollusca). *Invertebr. Reprod. Dev.*, 56:111-23, 2012.
- Jobling, S.; Beresford, N.; Nolan, M.; Rodgers-Gray, T.; Brighty, G. C.; Sumpter, J. P. & Tyler, C. R. Altered sexual maturation and gamete production in wild roach (*Rutilus rutilus*) living in rivers that receive treated sewage effluents. *Biol. Reprod.*, 66(2):272-81, 2002.
- Pipe, R. K. Oogenesis in the marine mussel *Mytilus edulis*: an ultrastructural study. *Mar. Biol.*, 95(3):405-14, 1987.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). NOM-059-SEMARNAT-2010: Protección Ambiental-Especies Nativas de México de Flora y Fauna Silvestres-Categorías de Riesgo y Especificaciones para su Inclusión, Exclusión o Cambio-Lista de Especies en Riesgo. Ciudad de México, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2010.
- Villalejo-Fuerte, M.; Arellano-Martínez, M.; Ceballos-Vázquez, B. P. & García-Domínguez, F. Reproductive cycle of Spondylus calcifer (Carpenter, 1857 (Bivalvia: Spondylidae) in the "Bahia de Loreto" National Park, Gulf of California, Mexico. J. Shellfish Res., 21:103-8, 2002.

Corresponding autor: Marcial Arellano Martínez Laboratorio de Intervertebrados Marinos CICIMAR La Paz, Baja California Sur MÉXICO

Email: marellam@ipn.mx

Received: 10-10-2018 Accepted: 24-01-2019