



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

CICIMAR



IPN-CICIMAR

**DEPARTAMENTO DE PESQUERIAS Y BIOLOGÍA MARINA
LABORATORIO DE MORFOFISIOLOGÍA**

**“DESCRIPCION ANATOMICA E HISTOLOGICA DEL
SISTEMA REPRODUCTOR DE JUVENILES DE TIBURÓN
MARTILLO *Sphyra lewini* (Griffith y Smith, 1834)”.**

T E S I S

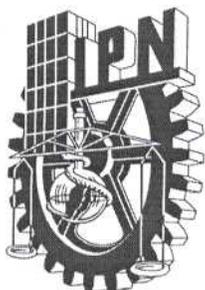
**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA
EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS**

P R E S E N T A:

BIOL. ARMANDO G. SORIA QUIROZ

LA PAZ, B.C.S.

MAYO, 2003



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
COORDINACION GENERAL DE POSGRADO E INVESTIGACION

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 29 del mes Marzo del año 2004, el (la) que suscribe ARMANDO GABRIEL SORIA QUIROZ alumno(a) del Programa de MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN MANEJO DE RECURSOS MAIRNOS con número de registro B001163 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de: DRA. ROSA ISABEL OCHOA BÁEZ y cede los derechos del trabajo titulado: "DESCRIPCIÓN ANATÓMICA E HISTOLÓGICA DEL SISTEMA REPRODUCTOR DE JUVENILES DEL TIBURÓN MARTILLO *Sphyrna lewini* (Graffith y Smith, 1834)" al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: ag_soriaquiros@hotmail.com

Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

ARMANDO GABRIEL SORIA QUIROZ

nombre y firma



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
COORDINACION GENERAL DE POSGRADO E INVESTIGACION
ACTA DE REVISION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 11:00 horas del día 22 del mes de Agosto del 2003 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis de grado titulada:

“DESCRIPCIÓN ANATÓMICA E HISTOLÓGICA DEL SISTEMA REPRODUCTOR DE JUVENILES DEL TIBURÓN MARTILLO *Sphyrna lewini* (Graffith y Smith, 1834)”

Presentada por el alumno:

SORIA
Apellido paterno

QUIROZ
materno

ARMANDO GABRIEL
nombre(s)

Con registro:

B	0	0	1	1	6	3
---	---	---	---	---	---	---

Aspirante al grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA

Director de tesis
PRIMER VOCAL

DRA. ROSA ISABEL OCHOA BAEZ

PRESIDENTE

DR. FELIPE GALVÁN MAGAÑA

SECRETARIO

MC. MARCIAL ARELLANO MARTÍNEZ

SEGUNDO VOCAL

DR. AGUSTÍN HERNÁNDEZ HERRERA

TERCER VOCAL

MC. MARCIAL TRINIDAD VILLALEJO FUERTE

EL PRESIDENTE DEL COLEGIO

DR. FRANCISCO ARREGUÍN SÁNCHEZ



I. P. N.
CICIMAR
DIRECCION

DEDICATORIA

A mi madre, sobrina, esposa e hijas.

AGRADECIMEINTOS

Hago patente mi reconocimiento por el apoyo recibido como becario del Programa de Formación de Investigadores (PIFI) del IPN y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), en las primeras etapas de mi estancia en el posgrado. Al IPN por la beca que me otorgaran en la ultima etapa para terminación de la tesis. Así mismo, deseo agradecer al Proyecto "Ecología trófica de tiburones y mantas del Golfo de California, Clave CGPI 20010831, y en particular al Dr. Felipe Galván Magaña por darme oportunidad de trabajar con la especie de tiburón martillo y por su valiosa asesoría al tema desarrollado. A la Dra. Rosa Isabel Ochoa Báez, por la dirección del trabajo y asesoría al tema desarrollado en los aspectos de la reproducción, al manejo y comprensión de la histología empleados, en este estudio. A los laboratorios de Morfofisiología y de Ictiología por el apoyo que me brindaron para el uso de materiales, reactivos, equipo de microscopia y de computo. A los revisores del trabajo: Dra. Rosa Isabel Ochoa, Dr. Felipe Galván, Dr. Agustín Hernández Herrera, M.C. Marcial Arellano, M.C. Marcial Villalejo Fuerte. Al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (IPN), por el acceso a todas instancias e infraestructura que requerí para realizar el trabajo de campo. Por ultimo quiero agradecer a todos mis compañeros, a los prestadores de servicios turísticos y a los pescadores, por su apoyo y facilidades para visitar localidades de buceo y para obtener las muestras a partir de las capturas comerciales que realizan en la región.

INDICE

RELACION DE FIGURAS.....	i
RELACION DE TABLAS.....	iii
GLOSARIO.....	iv
RESUMEN.....	vii
ABDTRACT.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. OBJETIVOS.....	6
GENERAL.....	6
ESPECIFICOS.....	6
III. ANTECEDENTES.....	7
IV. MATERIAL Y METODOS.....	9
AREA DE ESTUDIO.....	9
TRABAJO DE CAMPO.....	10
TRABAJO DE LABORATORIO.....	13

V. RESULTADOS.....	19
OBSERVACIONES DE CAMPO.....	19
ANATOMIA DEL SISTEMA REPRODUCTOR.....	21
APARATO REPRODUCTOR EN HEMBRAS.....	22
ANATOMIA MICROSCÓPICA.....	24
OVARIO.....	24
OVIDUCTO.....	38
GLANDULA OVIDUCAL.....	39
UTERO.....	40
APARATO REPRODUCTOR EN MACHOS.....	43
ANATOMIA MICROSCÓPICA.....	44
TESTÍCULOS.....	44
CONDUCTOS GENITALES EN MACHOS.....	51
VI. DISCUSIÓN.....	55
VII. CONCLUSIONES.....	61
VIII. RECOMENDACIONES.....	63
IX. LITERATURA CITADA.....	64
X. ANEXO.....	71

RELACIÓN DE FIGURAS

Figura 1.	Localidad El Sauzoso, dentro de la Bahía de La Paz. La flecha y los puntos indican el sitio donde los pescadores tienden sus redes.....	9
Figura 2.	Diferentes campos pesqueros en donde al menos una vez se obtuvo muestra de tiburón martillo <i>Sphyrna lewini</i>	10
Figura 3.	Esquemas utilizados para referenciar los cortes de los órganos.....	14
Figura 4.	Diagrama del procesamiento de muestras de <i>Sphyrna lewini</i>	16
Figura 5.	Relación entre la fecha y localidad de muestreo, agrupando por estaciones del año y número de ejemplares capturados en cuatro localidades durante invierno.....	20
Figura 6.	Clases modales de talla para juveniles <i>Sphyrna lewini</i>	21
Figura 7.	Aparato reproductor de hembra juvenil de <i>Sphyrna lewini</i>	22
Figura 8.	Comparación de tamaños de dos glándulas oviduales.....	23
Figura 9.	Estroma ovárico de hembras juveniles de <i>Sphyrna lewini</i> . Tricrómica de Mallory, 40X y Feulgen, 40X.....	24
Figura 10.	Folículo ovárico. Tricrómica de Mallory, 400X.....	25
Figura 11.	Oocitos primordiales. Tricrómica de Mallory, 400X y 1000X.....	27
Figura 12.	Oocito en fase de desarrollo primario nucleolar. Tricrómica de Mallory, 400X y 1000X.....	28
Figura 13.	Oocitos en fase de perinucleolar. Técnica tricrómica de Mallory y Feulgen 400X.....	28
Figura 14.	Oocito en núcleo migratorio. Tinción de Feulgen, 40X y 400X.....	29
Figura 15.	Oocitos en fase de núcleo migratorio. Tricrómica de Mallory, 100X y Tinción de Feulgen, 400X.....	30
Figura 16.	Oocito previtelogénicos en probable estado de inclusiones lipídicas. Tricrómica de Mallory, 40X.....	31
Figura 17.	Oocito en vitelogenesis. Tricrómica de Mallory, 40X y 1000X.....	32
Figura 18.	Estructura semejante a folículo postovulatorio. Tricrómica de Mallory, 40X..	33
Figura 19.	Comparación del número promedio de oocitos en diferentes fases de desarrollo para las dos clases modales de talla.....	34

Figura 20.	Fases de desarrollo del oocito en porcentaje para dos distintas tallas de juveniles de <i>S. lewini</i>	35
Figura 21.	Porcentaje de ocupación en la gónada de diferentes estadios de desarrollo del oocito con respecto a la longitud total de los ejemplares juveniles de <i>Sphyrna lewini</i>	36
Figura 22.	Diferencias estadísticamente significantes de la reacción PAS para la zona radiata en las fases de desarrollo tempranas del oocito.....	37
Figura 23.	Oviducto. Tinción de PAS, 400X.....	38
Figura 24.	Glándula oviducal de una hembra de 114cm Tricrómica de Mallory, 40X y 100X.....	39
Figura 25.	Conductos o acinos serosos de la glándula oviducal. Tricrómica de Mallory, 1000X.....	40
Figura 26.	Corte transversal de útero. Feulgen, 40X.....	41
Figura 27.	Porción del oviducto a la altura de la cloaca. Tinción de Feulgen, 100X.....	42
Figura 28.	Anatomía del aparato reproductor de macho juvenil de <i>Sphyrna lewini</i>	43
Figura 29.	División celular en fases iniciales de la espermatogénesis. Feulgen, 1000X.....	44
Figura 30.	Zonación diamétrica en corte transversal de testículo. Tinción de Feulgen, 40X, 400X y 1000X.....	45
Figura 31.	Folículo seminífero con espermatogonias. Mallory, 400X.....	46
Figura 32.	Espermatocitos primarios. Feulgen, 400X.....	47
Figura 33.	Transición de la fase espermatocito secundario a la fase de espermátida. Tinción de Feulgen, 400X.....	48
Figura 34.	Fases terminales de espermatogénesis para juveniles de <i>Sphyrna lewini</i> . Feulgen, 400X.....	49
Figura 35.	Comparación de las fases de desarrollo de la espermatogénesis para dos grupos modales de talla de juveniles de <i>Sphyrna lewini</i>	50
Figura 36.	Porcentaje de ocupación gonádica de cuatro estadios de desarrollo de la espermatogénesis con respecto a la longitud total de ejemplares juveniles de <i>S. lewini</i>	51
Figura 37.	Región del anterior del epidídimo. Mallory, 40X.....	52
Figura 38.	Conducto epidídimo. Feulgen, 10X y 100X.....	52

Figura 39. Corte de conducto la altura del riñón. Tinción de Mallory, 100X.....	53
Figura 40. Comparación de las especies presentes en la zona.....	73

RELACIÓN DE TABLAS

Tabla 1. Estados de madurez sexual para tiburones por método morfométrico.....	12
Tabla 2. Caracterización morfológica de las diferentes fases de desarrollo del oocito.....	26
Tabla 3. Correspondencia microscópica de características morfométricas de los órganos del sistema reproductor de <i>Sphyrna lewini</i>	54

GLOSARIO

Acidófilo. Afinidad de los compuestos de un tejido para captar colorantes ácidos (Gray, 1954).

Amniotas. Grupo que incluye a reptiles, aves y mamíferos. El principal carácter que une a los Amniotas es que poseen un huevo con tres envueltas, el corion, el alantoides y el amnios (Futuyama, 1998).

Atresia. Proceso mediante el cual se reabsorben los gametos no desovados (Grieg y Taylor, 1998).

Basofilo. Afinidad de los compuestos de un tejido para captar colorantes básicos (Gray, 1954).

Chondrichthyes. Clase de peces cartilaginosos que incluye a tiburones, rayas y quimeras (Nelson, 1994).

Desovador sincrónico. Organismo en el cual se encuentran generalmente dos poblaciones o cohortes de oocitos en desarrollo y son desovados subsecuentemente durante cada temporada de desove (Tyler y Sumpter, 1996).

Diamétrico. Un tipo de zonación de la espermatogenesis que hace referencia a un gradiente de desarrollo que corre a lo largo del diámetro testicular (Pratt, 1988),

Elasmobranquios. Cualquier especie de pez cartilaginoso ubicada taxonomicamente en la subclase Elasmobranchii de la clase Chondrichthyes, que abarca tiburones y angelitos, mantas, rayas y otros peces planos cartilaginosos (Nelson, 1994).

Espermatogenesis. Proliferación de células germinales masculinas a partir de la división mitótica de las espermatogonias y posteriores divisiones meioticas (Nagahama, 1983).

Fijación. Proceso de coagulación de los tejidos y las células donde los geles extracelulares se precipitan homogéneamente, impidiendo la movilidad de las estructuras de los tejidos. La fijación conserva la disposición anatómica y favorece la observación a través del microscopio (Martoja y Martoja-Pierson, 1970).

Foliculo. Tejido somático que rodea al oocito, compuesto principalmente por las células de la granulosa y de la teca (Tyler y Sumpter 1996).

Formalina tamponada. Formol al 10% con fosfatos (Davenport, 1960).

Gónada. Órganos sexuales primarios en los cuales se producen las células germinales (Webster y Webster, 1974).

Granulosa. Células de origen mesenquimal o epitelial, con posible función esteroideogénica (Nagahama, 1983).

Ictica. Relativo a los peces (Nelson, 1994).

Inclusión lipidica. Cuerpo de lípidos originado durante el crecimiento secundario del oocito, derivado de la vitelogenina y que posteriormente forma la gota de lípido en algunas especies de teleósteos con huevos pelágicos (Tyler y Sumpter, 1996).

Membrana basal. Red de tejido conectivo. Generalmente muy delgado, que soporta un epitelio (Webster y Webster, 1974).

Montaña submarina (seamount) Una elevación aislada grande, mayor de 1000m sobre el relieve del piso marino, de forma cónica característica (Thurman, 1975).

Morfométrico. Relativo a medidas de la forma de un individuo. Las proporciones del cuerpo. Relaciones de talla de varios caracteres morfológicos de un animal (Bookstein, 1991).

Oocito. Óvulo. Célula germinal, constituida por ooplasma rodeado por el oolema, la zona radiata, el folículo y tejido somático (Tyler y Sumpter, 1996).

Oogonia. Célula germinal primaria, situada en el epitelio germinal del ovario (Tyler y Sumpter, 1996).

Ooplasma. Citoplasma del oocito. Matriz donde se encuentran todas las inclusiones que se desarrollan durante el proceso de maduración del oocito (Balinsky, 1978).

Palangre. Arte de pesca conformado por una línea reina de la que cuelgan pequeñas líneas con anzuelo y carnada (FAO, 1975).

Pantropical. Que se distribuye en todos los trópicos (Longhurst y Pauly, 1987).

Pelágicos: Son los organismos que viven en la columna de agua propiamente dicha, sin que sea necesaria su interacción con el fondo marino, pudiéndose separar entre nectónicos, con capacidad de auto locomoción y planctónicos que son aquellos con una capacidad de movimiento muy limitada o incluso nula, por lo que resultan transportados por las corrientes y las olas (Friedrich, 1973).

Perinucleolar. Referido al estado nucleolar en donde los nucleolos se encuentran situados a la periferia del núcleo (Tyler y Sumpter, 1996).

Previtelogénico. Previa a la vitelogénesis (Tyler y Sumpter, 1996).

Reactivo de Schiff. Líquido transparente, incoloro. Es un reactivo para la determinación de aldehídos utilizado en electroforesis y microscopia. El desarrollo de un color rosa o violeta indica la presencia de aldehídos. SINONIMOS: Reactivo de aldehídos. (Davenport, 1960).

Red de enmalle: Equipo de pesca de tipo pasivo de forma rectangular, utilizado fijo al fondo o a la deriva ya sea unidas a la embarcación o libres. Esta conformada por varias

secciones de paño de red de hilo multifilamento o monofilamento unido a dos cabos o líneas de soporte denominadas "relingas" (la de flotación en su parte superior y la de hundimiento en su parte inferior). Lleva flotadores en la relinga superior y plomos en la relinga inferior, confiriéndole a la red la cualidad de mantener el paño extendido y de poderse desplazar en el agua en función del viento y de la corriente cuando se utilizan a la deriva (FAO, 1975).

Simpleza o simplera. Arte de pesca tipo palangre empleado por los pescadores de la región conformado de uno o muy pocos anzuelos (FAO, 1975).

Vitelo. Reservas del oocito formadas de lipoproteínas y fosfoproteínas, derivadas principalmente de la vitelogenina (Tyler y Sumpter, 1996).

Vitelogenesis. Periodo de crecimiento del oocito durante el cual las proteínas de origen extraovárico son acumuladas en el oocito (Tyler y Sumpter, 1996).

Zona radiata. Zona pelucida. Membrana del oocito de apariencia estriada, compuesta de una capa interna y otra externa y que se forma cuando las primeras inclusiones lipídicas aparecen en el oocito (Matsuyama *et al.*, 1991).

RESUMEN

La pesquería de tiburón en México carece de un ordenamiento que controle la explotación de las especies. Hoy en día es común observar la captura de juveniles y hembras preñadas de diferentes especies de tiburón. En la actualidad los estudios biológicos para conocer el ciclo reproductivo utilizan solo indicadores morfométricos poco precisos. El objetivo de este estudio es proporcionar las bases histológicas y la caracterización microscópica de los órganos del sistema reproductor con énfasis en las gónadas, con la finalidad de validar y dar precisión al seguimiento de maduración sexual de juveniles de *S. lewini*. El muestreo se realizó en campos pesqueros situados al sur de la península de Baja California Sur. Fueron capturados durante el invierno 81 hembras y 79 machos cuya longitud total estuvo entre 65 y 120 cm. El sistema reproductor fue fijado con formal al 10% tamponado, identificándose cada uno de los órganos. Se procesaron por métodos histológicos empleándose la inclusión en parafina, se realizaron cortes de 6 μm , tinciones de Hematoxilina-Eosina, tricrómica de Mallory, métodos histoquímicas de Feulgen y de PAS. Se describió la estructura microscópica del ovario, glándula oviducal, útero, testículo, folículos seminíferos, epidídimo, conductos deferentes, riñón y órgano epigonal. Fueron identificadas las fases del desarrollo para el oocito y por la reacción de Feulgen la espermatogénesis. Según el criterio morfométrico se encontraron dos clases modales de talla en los ejemplares recolectados. Por la composición histológica se encontraron fases avanzadas de desarrollo gonádico, oocitos con abundante vitelo acompañados de varios grupos de oocitos en crecimiento, se observó la zona radiata con reacción PAS positiva en oocitos de mayor diámetro. La estructura de los oviductos, el útero, los conductos deferentes, demostraron afinidad con la anatomía microscópica de vertebrados superiores. El órgano epigonal presentó características celulares hematopoyéticas, al igual que en otros tiburones. Los resultados permiten concluir que los juveniles de *S. lewini* ya presentan actividad gametogénica evidente. Los indicadores morfométricos como la rigidez del clasper en los machos y el diámetro del oocito en las hembras, son imprecisos pero tienen valor real en el trabajo de campo y se concluye que pueden utilizarse. Aunque, la estimación de la producción de gametos, la periodicidad y temporalidad con que son producidos solo podrá conocerse a través del estudio histológico de los órganos como el logrado para juveniles en el presente trabajo. En los machos de menor talla se observó menor presencia de espermatozoides con la reacción de Feulgen. Es recomendable continuar con estos estudios enfocados a individuos de tallas más grandes, en el conocimiento que la abundancia de la especie ha disminuido en la región.

ABSTRACT

The biological studies to determine the reproductive cycle are priorities and they have been taken only as non-accurate morphometric indicators such as the clasper thickness in males and the diameter of the oocyte in females. As a priority aspect for the fishery regulation, this study belongs to a research to know the dynamic of the reproductive cycles of the specie. The morphological bases will be provided for the microscopical characterization of the reproductive organs to follow the sexual maturity and the seasonal reproduction more accurate than the morphometric. The sampling was made in fishery fields in the south of the peninsula. 81 females and 79 males were sampled with a total length between 65 and 120 cm and caught during winter. The reproductive system was dissected and fixed with formol 10% buffered. The reproductive organs were cut applying histological techniques including paraffin using Hematoxiline-Eosine, Mallory thricromic, Feulgen and PAS staining. The Scalloped hammerhead caught has drastically decayed in this region comparing with another years. We obtained two modal classes at least of immature juveniles length according to the morphometric criteria. In the laboratory the organs of the reproductive system were identified. At a histological level all reproductive organs were analyzed. The microscopical criteria made possible the characterization of the gonadic development phases in juveniles. The first stages of the advanced juvenile phases from the gonadic development were still observed. There were no significatives differences between the modal classes of length. Structures from the ovaries reacted positive to PAS indicating the presence of carbohydrates. Some similarities at microscopical scale with the anatomical structure from mammal and teleost fishes were observed. It is recommendable to check the sexual maturity and the reproductive cycle analyzing the gonadic microscopy and the endocrinology, giving a sequence trough one or more years.

I. INTRODUCCION

Los tiburones son importantes desde diferentes puntos de vista, juegan un papel esencial para el equilibrio del ecosistema y tienen función como limpiadores de los mares al eliminar presas débiles, enfermas o en condición decadente (Ainley *et al.* 1993). Desde el punto de vista pesquero el aprovechamiento puede ser integral, las aletas de tiburón son de alta demanda en mercados orientales, la carne es bien aceptada en el mercado nacional en presentación de seco salado y cazón, mientras que su piel puede emplearse en peletería (Zavala, 1993). Del hígado de tiburón, pueden extraerse las vitaminas A, E y K, además se obtiene el escualeno que es empleado como lubricante en tecnología de alta precisión (Cardiel, 1982); las mandíbulas de ejemplares de gran tamaño son bien cotizadas como artesanía y la pesca deportiva de algunas especies ha adquirido mayor auge en años recientes (Castillo Geniz, 1992; García, 1985; Pepperell, 1992).

Otro aspecto de especial interés para la región que destaca la importancia de los tiburones, es la actividad ecoturística de bucear con algunas especies. Es cuestionable que el valor de un tiburón muerto sea mayor que el de un tiburón vivo. El tiburón martillo *S. lewini* es precisamente una de las especies de elasmobranchios importantes para el ecoturismo de Baja California Sur; forma agregaciones en las montañas submarinas del sur del Golfo de California (Klimley, 1981). Estas localidades son conocidas y visitadas por buzos de origen japonés y americano principalmente, en menor proporción por europeos; la región recibe una entrada de divisas y la creación de empleos por esta actividad.

Las especies de tiburones aun no son bien conocidas en muchos aspectos de su biología, el escaso interés para estudiarlos en México se ha debido, en parte, a que históricamente no

han sido un recurso comercial de primera importancia, como el caso de las pesquerías de camarón o sardina (Castillo Geniz y Márquez Farias, 1993). A mediados de los años noventa surgió un interés internacional por el estudio de los tiburones, ya que se han reportado colapsos poblacionales para algunas especies en diferentes partes del mundo, quizá por efecto de la sobrepesca (Fowler, 1996).

En la actualidad la captura comercial de tiburón martillo *S. lewini* es esporádica en la región, además son pocos los ejemplares vistos por buzos turistas que vienen desde sus países exclusivamente para observar a estos majestuosos animales que en años anteriores eran vistos formando agregaciones de cientos de individuos. Es probable que la abundancia poblacional del tiburón martillo *S. lewini* haya sido afectada en esta región de México.

Las autoridades de la IUCN** ubican al tiburón martillo *S. lewini* dentro de una categoría de bajo riesgo, por lo cual no califica para programas de monitoreo y conservación, aunque es considerada como vulnerable. Las mismas autoridades reconocen que la carencia de datos sobre la tendencia poblacional de esta especie hace difícil evaluar la intensidad de la captura, reconocen también algún posible efecto en el tamaño de la población y un declive de la captura (Shark Specialist Group, 2000; IUCN, 2002).

Por sus características reproductivas el tiburón martillo, al igual que otros tiburones, es vulnerable a la sobrepesca (Hoenig y Gruber, 1990). Desafortunadamente, por lo menos en la región noroeste en el extremo sur de la península de B.C.S., la reglamentación actual no

***International Union for Conservation of Nature and Natural Resources*

es respetada por los pescadores. El aprovechamiento de la captura en ocasiones se reduce al aleteo, que se continua practicando sin control alguno. Incluso ocurre en la región la captura eventual de tiburón blanco *Carcharodon carcharias*, que es una de las especies protegidas por la reglamentación vigente (Diario Oficial de la Federación, 2000).

En atención a las prioridades de la investigación sobresalen los aspectos de la reproducción, el conocimiento preciso de la biología del tiburón martillo, en los diferentes aspectos de su reproducción, aunado al monitoreo continuo del stock pesquero, ayudaran a mejorar el aprovechamiento del recurso en un marco de sustentabilidad.

Los Chondrichthyes se separaron tempranamente como una rama en la filogenia de vertebrados (Nelson, 1994), comparten con los tetrápodos por analogía algunos aspectos de la reproducción, la clase elasmobranchii presenta semejanzas con anfibios y amniotas. Su fecundidad es baja y en tiburones vivíparos la gestación se lleva a cabo en porciones especializadas del oviducto. Presentan una glándula oviducal que funciona en el recubrimiento coriónico del huevo fecundado como ocurre en aves y otros amniotas (Hamlett *et al.*, 1998).

La reproducción de estas especies es comparable a la de mamíferos mas que a la de peces óseos. Los tiburones en general se caracterizan por presentar tasas de crecimiento lentas, bajo potencial reproductivo, madurez sexual tardía y periodos largos de gestación. La gestación del tiburón martillo *Sphyrna lewini* dura aproximadamente 10 meses, las hembras tienen entre 13 y 23 crías por camada, con longitudes al momento de nacer de un promedio de 47 cm, los machos alcanzan su madurez sexual a los 175 cm en promedio y las hembras

A los 220 cm en promedio (Castro, 1993; Last y Stevens, 1994; Compagno, 1998; Torres-Huerta 1999, Anislado, 2000). En la actualidad la madurez sexual y la época de reproducción de tiburones se han determinado utilizando un criterio de tipo morfométrico.

El conocimiento de la biología reproductiva del tiburón martillo desde el punto de vista microscópico implica el seguimiento de una serie de etapas consecutivas que reflejan la fisiología y ecología relacionada con la procreación de esta especie. Es importante abordar un estudio de esta naturaleza a nivel de tejidos para conocer lo que ocurre en los órganos y en el individuo mismo. Si se dispone de muestras suficientes en tiempo y espacio, los estudios hechos a nivel microscópico en el individuo contribuyen de manera importante a conocer aspectos biológicos de la población, tales como los ciclos reproductivos y épocas de maduración.

Con miras a contribuir a la regulación pesquera, este estudio conforma la primera etapa y es parte de una investigación para conocer la dinámica del ciclo reproductivo de la especie desde el punto de vista de los cambios morfológicos a nivel microscópico. La primera etapa consiste en el reconocimiento de la anatomía de los organismos y la caracterización morfológica de los órganos y tejidos de la reproducción. En etapas posteriores se podrá dar el seguimiento a los cambios morfológicos que se presentan a lo largo del ciclo reproductivo para relacionarlo con aspectos de la fisiología de los órganos y tejidos. Es pertinente el empleo de técnicas histoquímicas y bioquímicas que proporcionan información complementaria más detallada del proceso. En la última etapa el conocimiento de la biología conduce inevitablemente al análisis de la ecología del sistema, es decir, los aspectos de la reproducción que determinan la distribución de los organismos en relación con el ambiente.

Es deseable determinar en una etapa posterior el periodo de madurez y la estacionalidad de la reproducción utilizándose el criterio microscópico. En dichos estudios es pertinente obtener muestras representativas de la población adulta de diferentes estaciones anuales. El presente estudio proporcionara las bases morfológicas para la caracterización microscópica de las gónadas y sus fases de desarrollo dentro del periodo juvenil de ejemplares de tiburón martillo *S. lewini*.

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar la estructura microscópica de las gónadas y otros órganos del aparato reproductivo de los juveniles de tiburón martillo *S. lewini*, procedentes de campos pesqueros al sur del Golfo de California.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Identificar la condición reproductiva de juveniles de tiburón martillo por medio del criterio morfométrico.
2. Caracterizar histológicamente las gónadas de juveniles con la finalidad de validar el criterio morfométrico.
3. Seguir diferencias morfológicas en órganos y tejidos del sistema reproductor de juveniles, con énfasis en las gónadas.
4. Aplicar métodos histoquímicos para identificación de compuestos asociadas con la maduración gonadal.

III ANTECEDENTES

Los estudios sobre la reproducción de tiburones datan por lo menos de principios del siglo pasado. Autores como Beard (1900), Stephan (1902), Wallace (1904), Clark (1922), Daniel (1928), describen a nivel microscópico la presencia y estructura de células ováricas y testiculares para algunas especies de tiburón. A partir de los años cincuenta y principios de los sesenta se inician los trabajos en la zona litoral y oceánica del Pacífico mexicano, principalmente para conocer la identidad, distribución, aspectos reproductivos, alimentación, migración y tasas de explotación de las diversas especies de tiburones (Castillo *et al.* 1996).

Castro (1989) y Gubanov *et al.* (1993) abordaron el estudio de la biología reproductiva de *S. tudes* determinando para esta especie una gestación de 10 meses produciendo de 5 a 12 crías. El estudio de la reproducción del tiburón martillo *S. lewini* ha sido abordado por Bass (1975), Castro (1983), Klimley (1987), Branstetter (1987), Chen *et al.* (1988); quienes determinan el crecimiento, madurez sexual y mencionan que varios aspectos de la reproducción de la especie no son bien conocidos. Holland *et al.* (1993) investigaron el movimiento de juveniles de *S. lewini* en zonas de crianza empleando técnicas de telemetría.

Como antecedentes inmediatos a nuestro estudio podemos citar a tres autores: Pratt (1988) quien ha empleado histología para señalar algunas características microscópicas del desarrollo gonadal de *S. lewini*. Lessa *et al.* (1998) estudiaron aspectos de la biología reproductiva de juveniles de *S. lewini* y *S. tudes* en Brasil con ejemplares obtenidos de la captura comercial. Torres-Huerta (1999) estudio el ciclo reproductivo de *S. lewini* empleando criterios de tipo morfométrico para la región del sur del Golfo de California.

Anislado (2000) abordó algunos aspectos de la ecología pesquera y biología reproductiva de *S. lewini* en Michoacán.

IV MATERIAL Y MÉTODOS

AREA DE ESTUDIO

La zona situada en la proximidad del campo pesquero El Sauzoso, representa una probable zona de crianza del tiburón martillo, su ubicación geográfica es dentro del cuadrante $110^{\circ}39'46''$ Longitud Oeste $24^{\circ}21'39''$ Latitud Norte – $110^{\circ}22'03''$ Longitud Oeste $24^{\circ}08'22''$ Latitud Norte (Fig. 1).

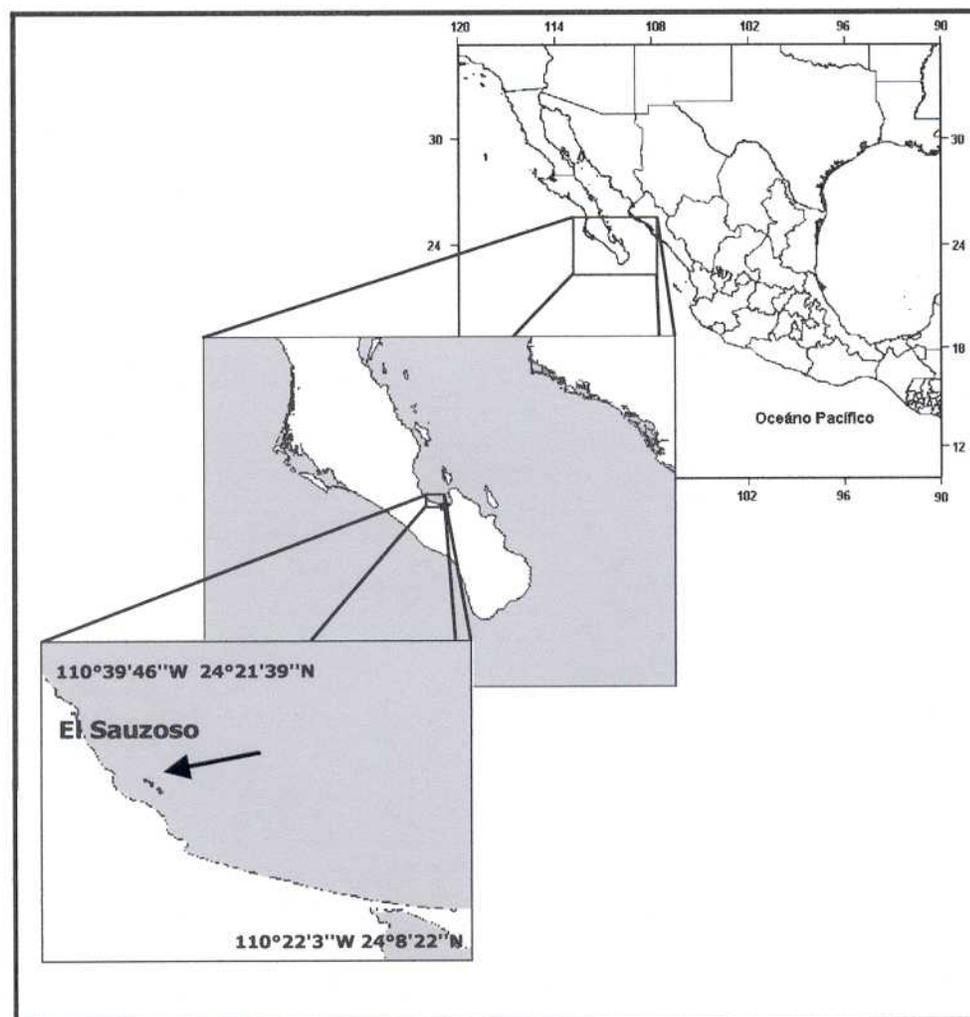


Figura 1. Localidad El Sauzoso, dentro de la Bahía de La Paz. La flecha y los puntos indican el sitio donde los pescadores tienden sus redes.

El estudio comprende la región sur de la península de Baja California. Algunas muestras provienen de recolectas de diferentes campos pesqueros para tiburón situados tanto en la parte occidental de la Península como hacia la parte del Golfo de California. Los campos de pesca de tiburón donde hubo al menos una muestra de *S. lewini* durante el periodo de estudio fueron: El Pardito, El portugués, El Huizache, El Sauzoso, San Isidro, Punta Arenas, Ensenada de Muertos, San José del Cabo y Punta Belcher (Fig. 2).

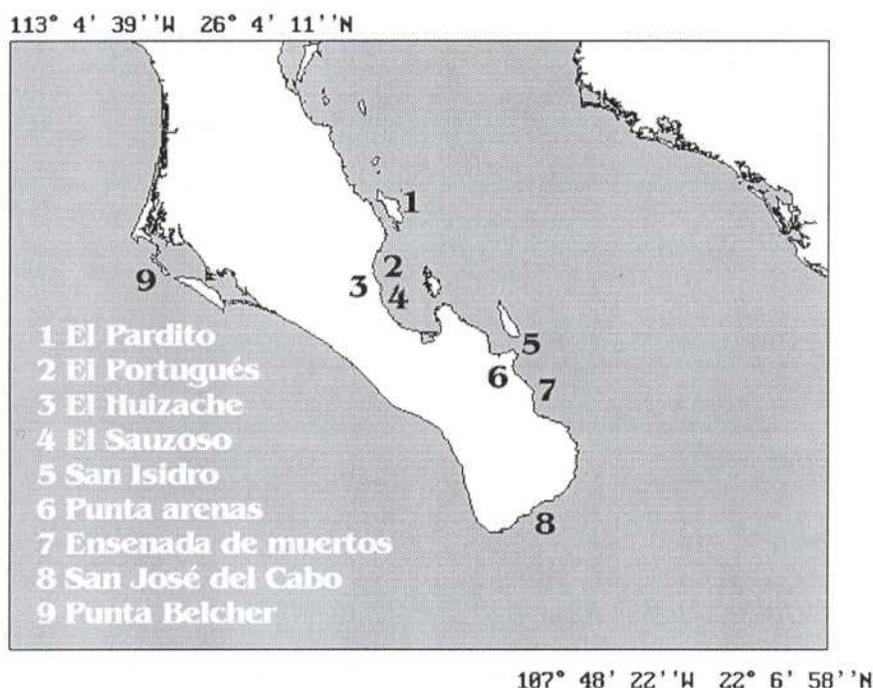


Figura 2. Diferentes campos pesqueros en donde al menos una vez se obtuvo muestra de tiburón martillo *S. lewini*.

TRABAJO DE CAMPO

Previo al trabajo de campo para la toma de muestras de tiburón, se hizo una revisión y ensayo sobre la anatomía interna de tiburones para ubicar con precisión los diferentes órganos del sistema reproductor de estos animales. Las diferentes especies de tiburón se

ajustan a un esquema universal en la conformación de su aparato reproductor, el cual presenta estructuras pareadas y simétricas y corre anteroposteriormente a lo largo del cuerpo del animal.

Durante un periodo que abarca julio de 2000 a marzo de 2002 se llevaron a cabo visitas semanales y alternadas a diferentes campos pesqueros donde se sabe que hay captura de elasmobranquios. En muchas ocasiones sucedió que la especie de interés para el presente estudio no estuvo presente en la captura del día.

No obstante de un esfuerzo intenso para la recolecta de *S. lewini*, la mayor dificultad encontrada fue la carencia de la especie en la captura. Los pescadores ribereños emplean artes de pesca como redes, palangres y simplezas. En años anteriores el tiburón martillo ha formado parte de la composición de la captura regular en la región, sin embargo casi no se capturaron ejemplares adultos de esta especie durante el periodo de recolecta de muestras para este estudio.

En el campo pesquero se solicitó el permiso del pescador para obtener las muestras, en ocasiones la tarea de efectuar la medición y disección del animal se facilitó dependiendo del pescador. En algunas ocasiones la operación se dificultó cuando los pescadores apresuraban o ellos mismos cortaban las estructuras, en estas circunstancias se complicó el obtener los órganos requeridos y para registrar los datos de las muestras. En términos generales el muestreo del aparato reproductor fue satisfactorio.

La muestra consistió de la obtención de la estructura reproductiva y determinación de la madurez sexual. Los ejemplares fueron diseccionados en la línea media del vientre. Se obtuvieron los órganos reproductores con extremo cuidado, ya que se encuentran colocados hacia la parte dorsal de la cavidad abdominal; los oviductos junto con los riñones están pegados a la columna vertebral en los ejemplares juveniles. Se registró la longitud total de cada individuo, la longitud del clasper de los machos y se determinó el estado de madurez empleando criterios morfométricos de acuerdo con Holden (1974), modificado por Mendizabal y Oriza, 1995 (Tabla 1).

Tabla 1. - Estados de madurez sexual para tiburones por método morfométrico.

	Machos	Hembras
Inmaduro (I)	<ul style="list-style-type: none"> - Clasper cortos y suaves. - Testículos delgados subcilíndricos e incoloros, sin vascularización - Conductos deferentes rectos 	<ul style="list-style-type: none"> - Ovario pequeño liso e incoloro, con oviductos delgados y rectos
En Desarrollo (II)	<ul style="list-style-type: none"> - Clasper cortos y suaves. - Testículos con vascularización incipiente. - Conductos deferentes rectos. 	<ul style="list-style-type: none"> - Ovario con muchos folículos sin desarrollar (granulado a simple vista) color pálido. - Glándula oviducal y útero no diferenciado del oviducto.
Premaduro (III)	<ul style="list-style-type: none"> - Clasper elongados y rígidos por calcificación. - Testículos desarrollados, conductos deferentes en espiral color crema y vascularización visible. 	<ul style="list-style-type: none"> - Ovario con folículos amarillentos hasta de cinco mm de diámetro. - Útero y glándula oviducal en forma de corazón, diferenciados por el diámetro mayor del oviducto.
Maduros (IV)	<ul style="list-style-type: none"> - Clasper elongados y rígidos por calcificación. - Testículos engrosados, conductos deferentes en espiral, color crema y vesícula seminal turgente con esperma y una alta vascularización. - Saco sifonal con semen denso y blanquecino. 	<ul style="list-style-type: none"> - Útero largo y flácido, glándula oviducal grande en forma de corazón. - ovario con óvulos desarrollados color amarillento - Óvulos de 3 a 5 cm de diámetro
Preñada (V)		<ul style="list-style-type: none"> - Embriones en el útero. Cuando son abortivas: cordones umbilicales y restos de placenta o útero flácido y desgarres internos, cloaca altamente vascularizada.

El sistema reproductor se fijó con formalina tamponada, en algunos casos se utilizó líquido de Bouin o líquido de Zenker con el objeto de comparar la calidad de fijación al emplear un fijador u otro. Usualmente los pescadores tienden redes de enmalle al fondo durante la mañana y recogen la captura a la mañana siguiente, los tiburones son capturados en ese transcurso y muchos de ellos mueren antes de que el pescador los recobre; no obstante algunos llegaron al campamento pesquero aun mostrando signos vitales. Cuando se trata de estudios histológicos el tiempo prolongado *post mortem* antes de la fijación es poco deseable ya que se afecta la calidad de la muestra. Las estructuras celulares pueden deteriorarse rápidamente después de la muerte del animal, por lo que la fijación debe ser inmediata. Una vez fijadas las muestras se trasladaron al laboratorio.

TRABAJO DE LABORATORIO

Debido a que el fijador sufre una dilución con los líquidos de la muestra perdiendo su potencia para fijar la muestra, es recomendable efectuar el recambio de formalina dentro de las primeras 48 horas. En el laboratorio se llevó a cabo el recambio de formalina tamponada en todas las muestras.

Se procesaron los órganos reproductores empleando la técnica histológica por inclusión en parafina y diferentes tinciones topográficas e histoquímicas (Martoja y Martoja-Pierson, 1970). Para llevar a cabo este proceso primero se elaboraron esquemas generales para referenciar la parte de las estructuras del sistema reproductor que se someterían al análisis histológico (Fig. 3).

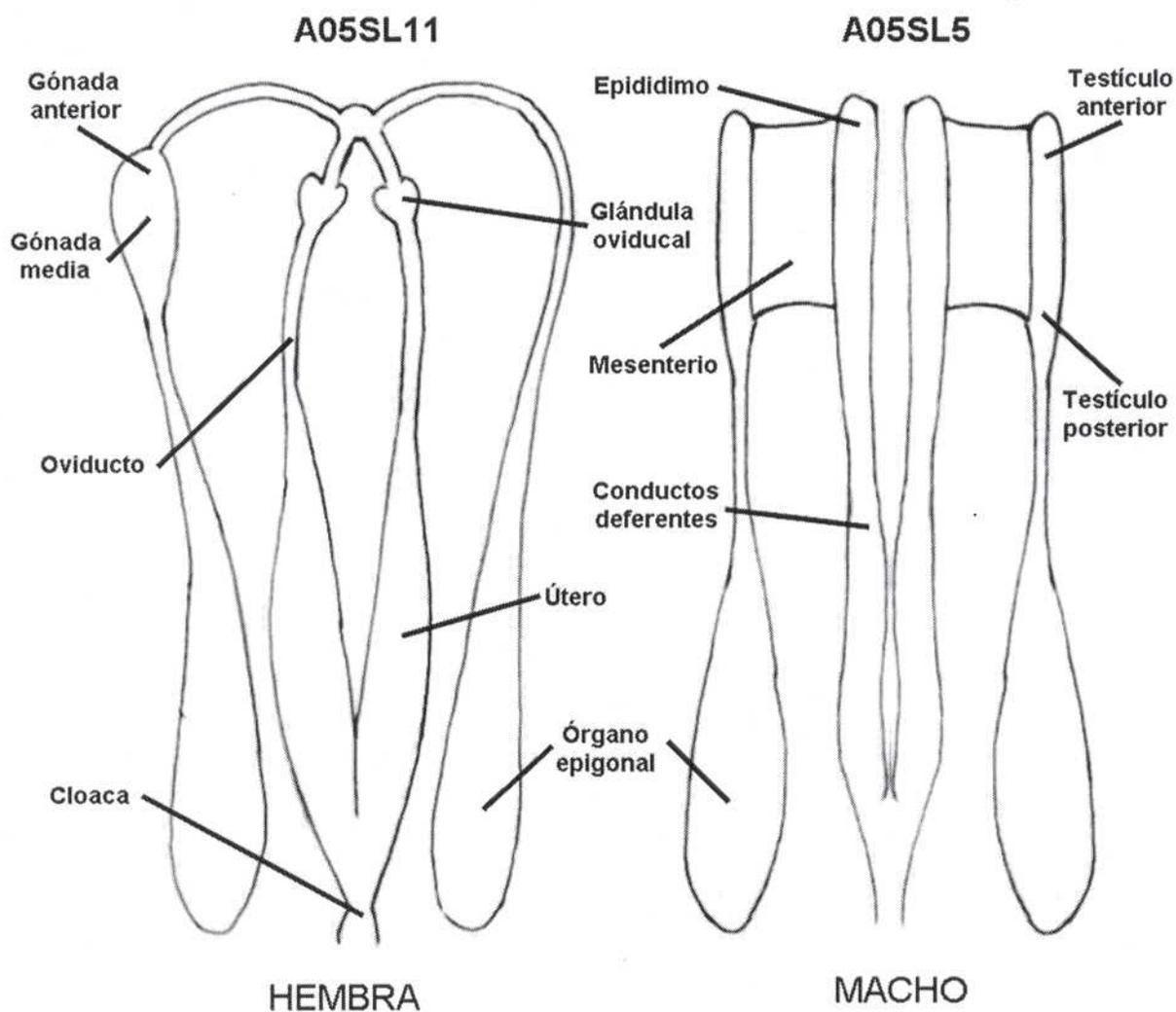


Figura 3. Esquemas utilizados para referenciar los cortes de los órganos. Ejemplos: Derecha: macho A05SL5 para referencia de cortes del testículo anterior, testículo posterior, conductos deferentes y órgano epigonal. Izquierda: hembra A05SL11 referenciando cortes de gónada anterior y media, glándula oviducal, y oviducto.

Se etiquetaron todas y cada una de las submuestras de los órganos para seguir el proceso de la técnica histológica. Con base en los esquemas se seccionaron las porciones de Cada estructura reproductiva. Cada pieza se coloco dentro de la bolsa de tul acompañada por la etiqueta con la clave del ejemplar. Todas las piezas de tejido fueron lavadas abundantemente con agua para eliminar la formalina.

El proceso de la técnica histológica continuo con la deshidratación e impregnación de los tejidos en parafina. Este proceso duro 10 horas y se llevó a cabo automáticamente en el Histokinette. Los tejidos pasan por un gradiente de alcoholes en orden de concentración ascendente, desde 70° hasta llegar a alcohol absoluto. Durante este proceso los tejidos pasan por la fase de aclaración que consiste en hacer pasar los tejidos por una sustancia miscible en parafina, en este caso se empleo un compuesto comercial llamado Americlear (Baxter Healthcare Corporation). El ultimo paso del proceso en el Histokinette es la impregnación en parafina.

Luego de incluir el tejido en bloques de parafina se procedió con el corte por medio del micrótomo. Para obtener cortes adecuados fue necesario afilar perfectamente la cuchilla, el filo incluso se revisaba al microscopio para encontrar mellas en la cuchilla. Los cortes, de un espesor de entre 5 y 7 μm , fueron depositados en el baño de flotación a temperatura adecuada y después fueron recuperados con portaobjetos.

En la figura 4 se muestra el diagrama del procesamiento de muestras de *S. lewini*.

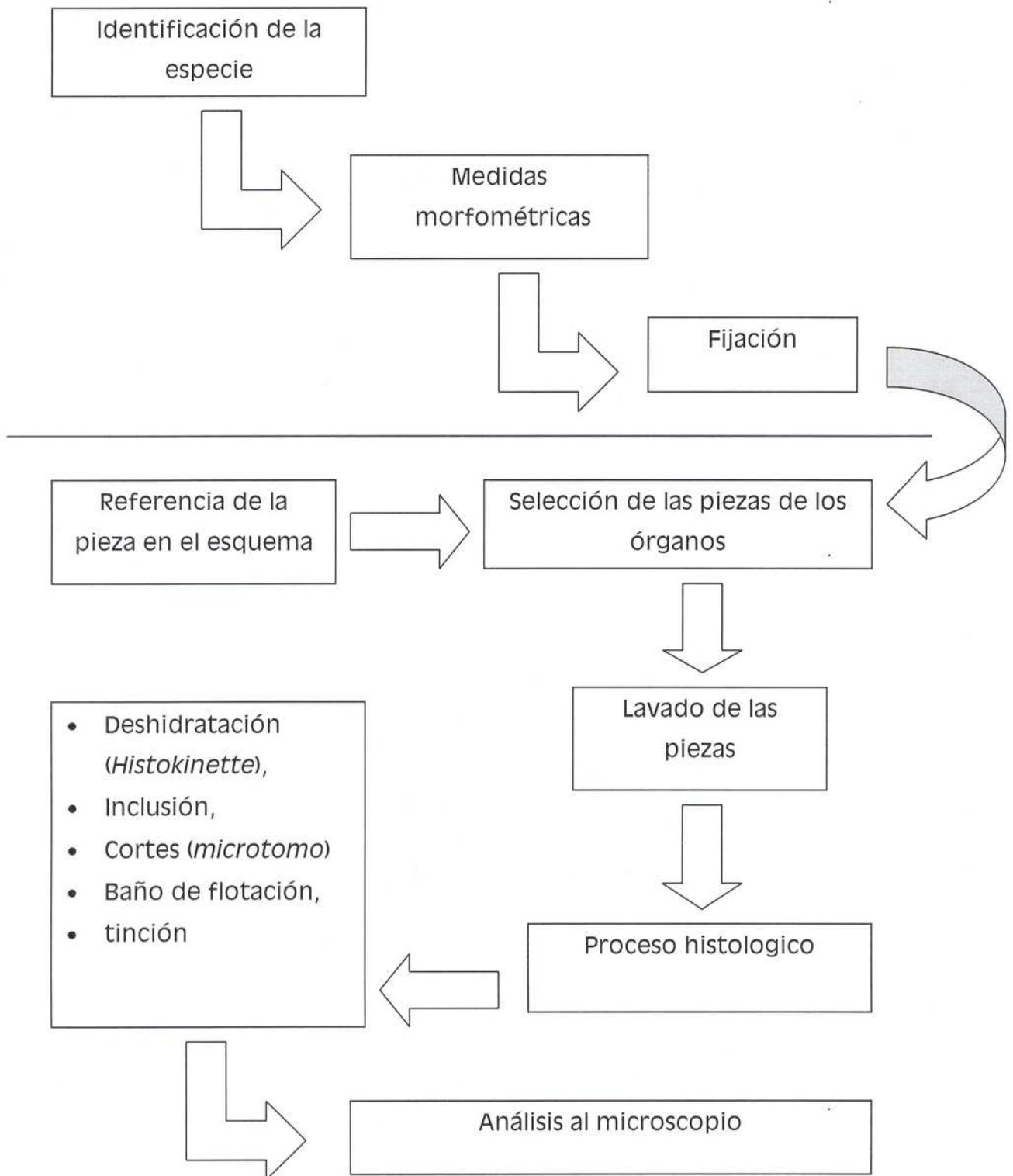


Figura 4. Diagrama del procesamiento de muestras de *S. lewini*.

Antes de llevar a cabo la tinción los tejidos, estos fueron introducidos en la estufa a 60°C durante 2 horas para eliminar el exceso de parafina. Los cortes se pasaron por americlear para terminar de eliminar la parafina. El siguiente paso del proceso es la rehidratación; para lo cual los portaobjetos pasaron por el gradiente de alcoholes, en orden de concentración decreciente desde alcohol absoluto hasta llegar a agua destilada.

Se llevaron a cabo diferentes tinciones, tales como la tinción Hematoxilina-Eosina (Humason, 1979), Tricrómica de Mallory, Reacción de Feulgen (Gray, 1954) y Reacción de PAS (Hayhoe y Quaglino, 1988). Las dos primeras son tinciones topográficas útiles para observar la estructura microscópica por efecto de contraste de los colorantes; las dos últimas son tinciones histoquímicas. La reacción ácido periódico-Schiff (PAS) es una técnica común para mostrar polisacáridos, particularmente glucógeno, el ácido periódico reacciona con el grupo 1,2-glicol de los azúcares para formar aldehídos. El reactivo de Schiff entonces reacciona con los aldehídos para formar un pigmento magenta insoluble. Debido a que la reacción de PAS tiñe diferentes carbohidratos complejos, la localización específica de glucógeno requiere de la substracción enzimática de glucógeno de una sección adyacente con amilasa, dicha metodología no fue empleada en este estudio, únicamente se limitó a ubicar presencia de carbohidratos de algún tipo. La reacción de Feulgen, es usada para hidrolizar parcialmente el ADN promoviendo la formación de aldehídos libres. Esos aldehídos reaccionan con el reactivo de Schiff (fucsina aclarada) para formar un precipitado magenta insoluble en cantidades proporcionales a la cantidad de ADN presente (Gray, 1954).

Se identificó la estructura microscópica en cada órgano del sistema reproductor de hembras y machos. Se efectuó la caracterización de los estados de desarrollo gonádico auxiliándose de las reacciones histoquímicas en los tejidos. La medición de las estructuras celulares y escalas se realizó mediante el uso de un ocular con regla y el software SCION IMAGE. Se determinó y comparó el porcentaje de fases de desarrollo gonádico de los ejemplares juveniles para confrontarlo contra la longitud total del individuo. Se emplearon histogramas y pruebas estadísticas de Chi cuadrada y análisis de variancia para encontrar la proporción de sexos dentro del periodo juvenil y posibles diferencias morfológicas con respecto a los rangos de tallas.

V RESULTADOS

OBSERVACIONES EN CAMPO

En la zona de estudio la pesquería de tiburón martillo incide sobre todas las tallas, se capturan machos y hembras adultos, en ocasiones las hembras están preñadas; además con frecuencia se capturan ejemplares juveniles que ocupan zonas costeras y someras, para ser comercializados en calidad de cazón. En las visitas a los campos tiburoneros de la región se observó baja frecuencia en la captura de tiburón martillo. En forma paralela a este estudio se entrevistaron guías de buceo y se efectuaron visitas a los sitios de buceo recreativo. Esta actividad paralela corroboró lo anterior ya que también en esos sitios se observó una disminución en el número de ejemplares avistados de la especie.

Se recolectaron 161 ejemplares juveniles de *Sphyrna lewini*: 82 hembras y 79 machos cuya longitud total estuvo entre 65 y 165 cm. Los únicos ejemplares adultos fueron capturados durante el verano en las localidades San Isidro y Punta arenas (Fig. 5a). No en todos los campos tiburoneros de la región ocurrió la captura de "cornuda barroza" *Sphyrna lewini*, incluso la "cornuda prieta" *Sphyrna zygaena* estuvo presente con mayor frecuencia en las capturas.

Las muestras de ejemplares juveniles de *Sphyrna lewini* fueron abundantes en la estación de invierno en aquellos campos pesqueros donde años tras año se capturan ejemplares juveniles de esta especie, en zonas cercanas a la costa. De las cuatro localidades en que se recolectó *Sphyrna lewini* durante el invierno únicamente en El Sauzoso se obtuvo la mayor cantidad de muestras (Fig. 5b)

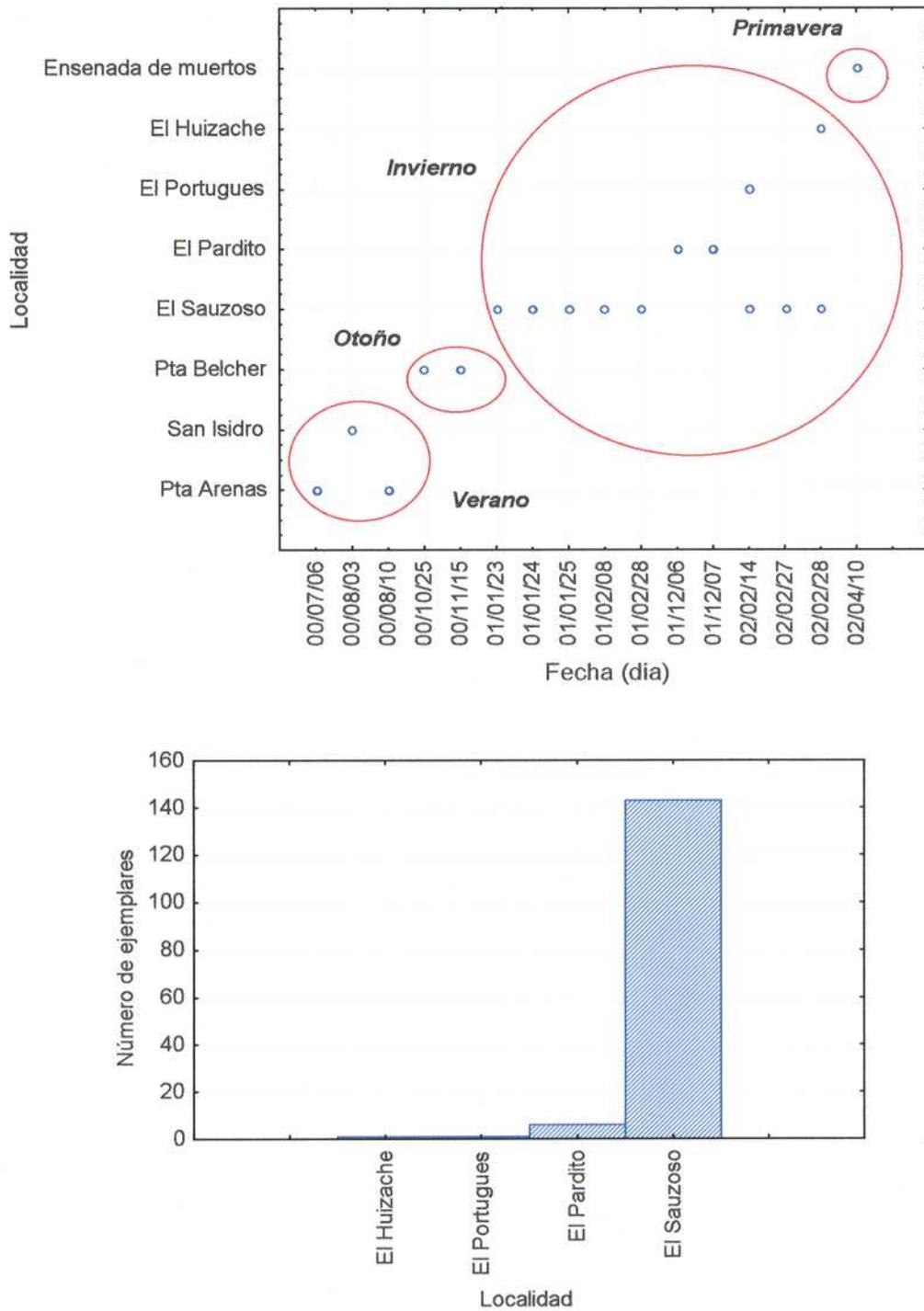


Figura 5. Arriba) Relación entre la fecha y localidad de muestreo, agrupado por estaciones del año. Abajo) Número de ejemplares capturados en cuatro localidades durante invierno.

Se encontraron al menos 2 clases o grupos modales de talla para los ejemplares juveniles de tiburón martillo capturados en invierno con una proporción de sexos 1:1, estadísticamente significativa con la prueba Chi cuadrada ($X^2 = 0.055$, alfa 0.05) (Fig. 6).

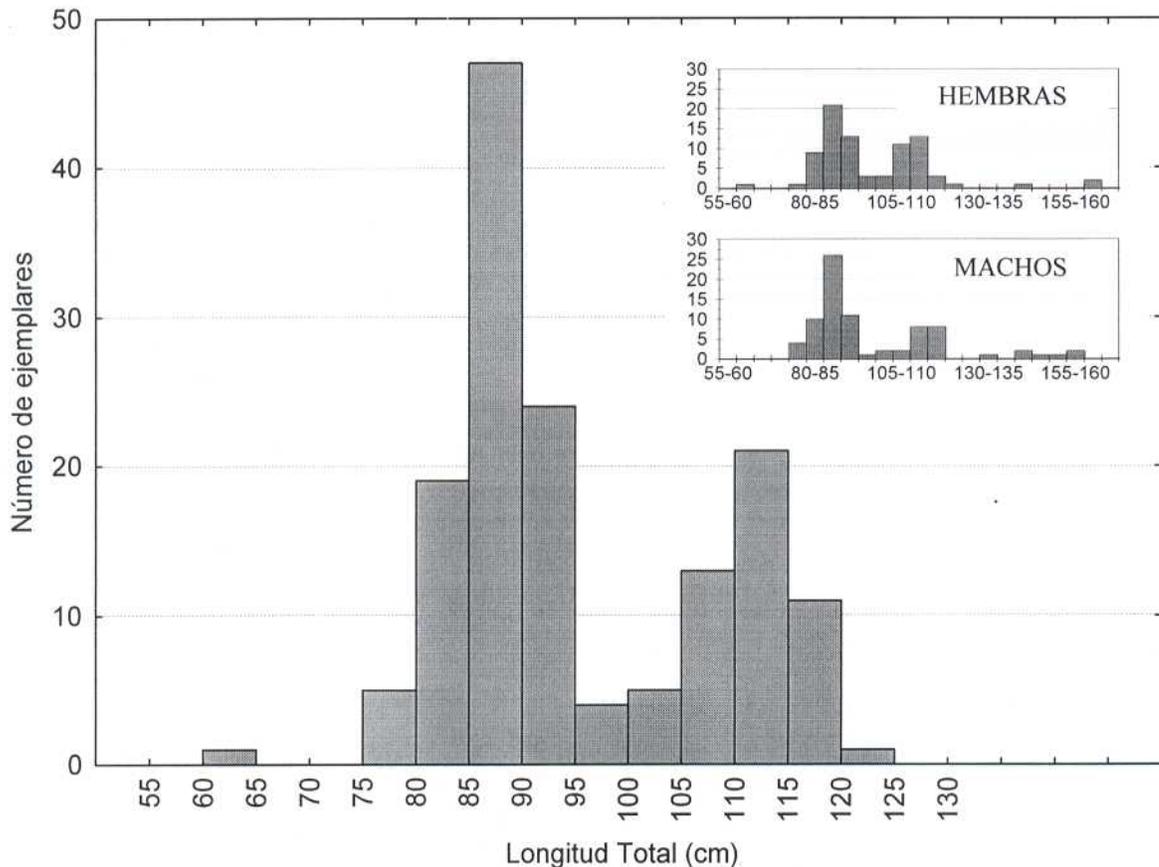


Figura 6. Distribución de Frecuencia de tallas para juveniles de *S. lewini*.

GENERALIDADES DE LA ANATOMÍA DEL APARATO REPRODUCTOR

La anatomía del aparato reproductor de *S. lewini* se ajusta al modelo universal que se observa en la mayoría de los tiburones: corre anteroposteriormente y se sitúa en la porción dorsal de la cavidad abdominal pegado a la columna vertebral. El órgano epigonal es pareado y de consistencia comparable al hígado de res, ha servido como una buena referencia para situar el aparato reproductor. Al seguir al órgano epigonal hacia la porción anterior de la cavidad abdominal se encuentran las gónadas. En *S. lewini*, como en la mayoría de las especies de tiburón, el órgano epigonal no cubre totalmente la gónada.

ANATOMIA DEL APARATO REPRODUCTOR EN HEMBRAS

En el aparato reproductor de las hembras los ovarios, cuya forma es oval y aplanada, están situados en la parte anterior del órgano epigonal (Fig. 7). Únicamente el ovario derecho es funcional. El mesenterio une al órgano epigonal con el oviducto a todo lo largo de la estructura reproductiva (Fig. 7-7).

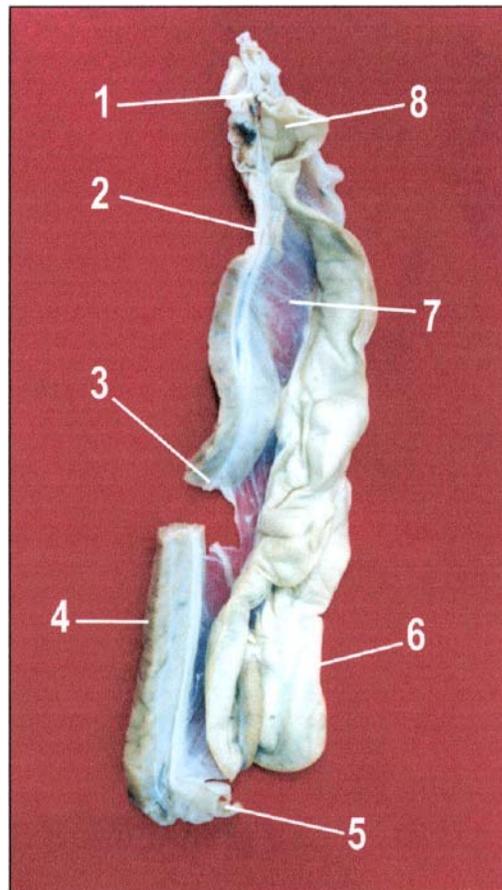


Figura 7. Aparato reproductor de hembra juvenil de *Sphyrna lewini*. 1) Glándula oviducal; 2) oviducto; 3) útero; 4) Riñón; 5) Cloaca; 6) Órgano epigonal; 7) mesenterio; 8) ovario.

A partir del "ostium" situado hacia la parte anterior se bifurca un par de oviductos. El ostium es una estructura con forma de embudo, recibe al oocito y lo transporta a través del oviducto hacia la glándula oviducal, donde se llevará a cabo la fecundación y el encapsulamiento del huevo. La glándula oviducal esta presente hacia la región anterior del tracto reproductivo de las hembras. Por tratarse de una especie cuyo modo de reproducción es vivíparo, el tamaño y forma de la glándula oviducal corresponde al tamaño y complejidad de la cápsula que se produce. El tamaño de la glándula oviducal oscila alrededor de 3-5 cm de diámetro en hembras adultas y de unos pocos milímetros (5 mm) en hembras juveniles, tiene siempre forma de corazón (Fig. 8). Una vez que el huevo ha sido fecundado en la glándula oviducal continua su camino hacia la parte posterior del oviducto que se diferencia como útero. Ahí se llevará a cabo la gestación del embrión. La porción posterior del oviducto a la altura del útero se encuentra toda embebida en la parte ventral del riñón. El juvenil ya completado como neonato presenta los cuernos de la cabeza doblados y queda listo para ser expulsado a través de la cloaca.

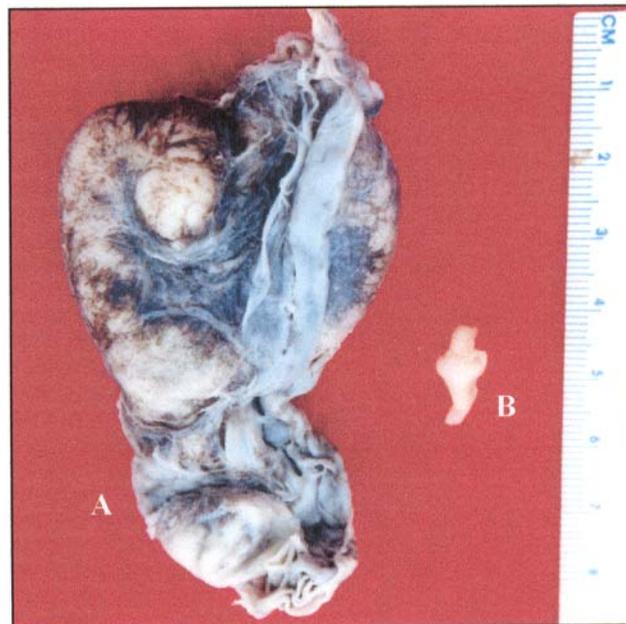


Figura 8. Comparación de tamaños de dos glándulas oviducuales de *Sphyma lewini*. A) ejemplar adulto de 293 cm B) ejemplar juvenil de 103 cm de longitud total.

ANATOMÍA MICROSCÓPICA

Ovario

En la microestructura del ovario se observaron tres componentes principales: el estroma, la cápsula conjuntiva y los folículos (Fig. 9).

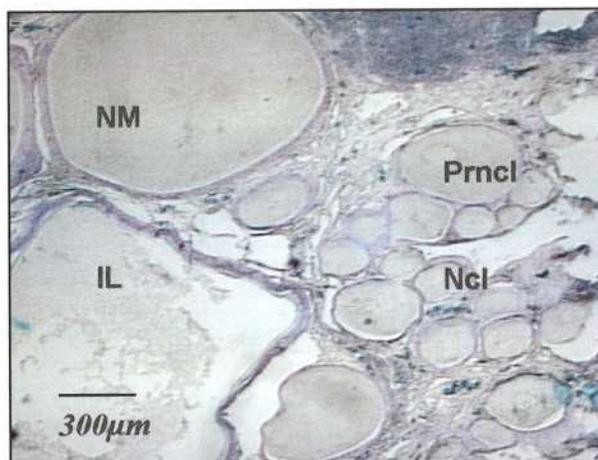
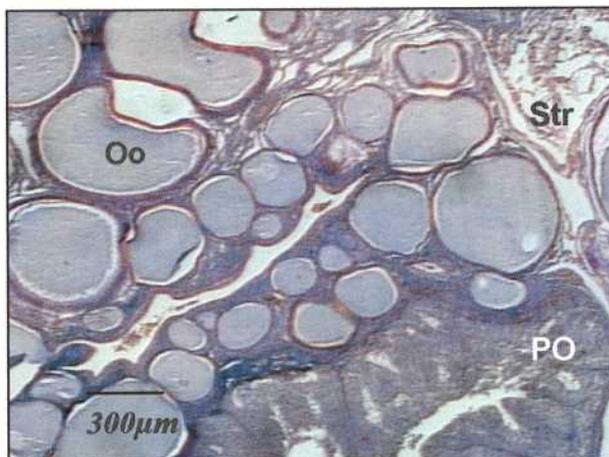


Figura 9. Estroma ovárico de hembras juveniles de *Sphyrna lewini*. Hembra de 105 cm. Arriba) Se observa el estroma (Str) formado por tejido conjuntivo laxo y fibroso. Oocitos en estados iniciales (Oo) y un post ovulatorio (PO). Tinción tricrómica de Mallory 40X. Abajo) Hembra de 91cm, se observa un oocito entrando a la fase de inclusiones lipídicas (IL), un oocito en fase de núcleo migratorio (NM), perinucleolares (Prncl) y nucleolares (Ncl) Tinción de Feulgen 40X.

El estroma del ovario visto al microscopio presentó folículos bien diferenciados, los cuales están conformados por el oocito rodeado por la zona radiata o pelúcida, células de la granulosa y a su vez rodeadas por las llamadas células de la teca (Fig. 10).

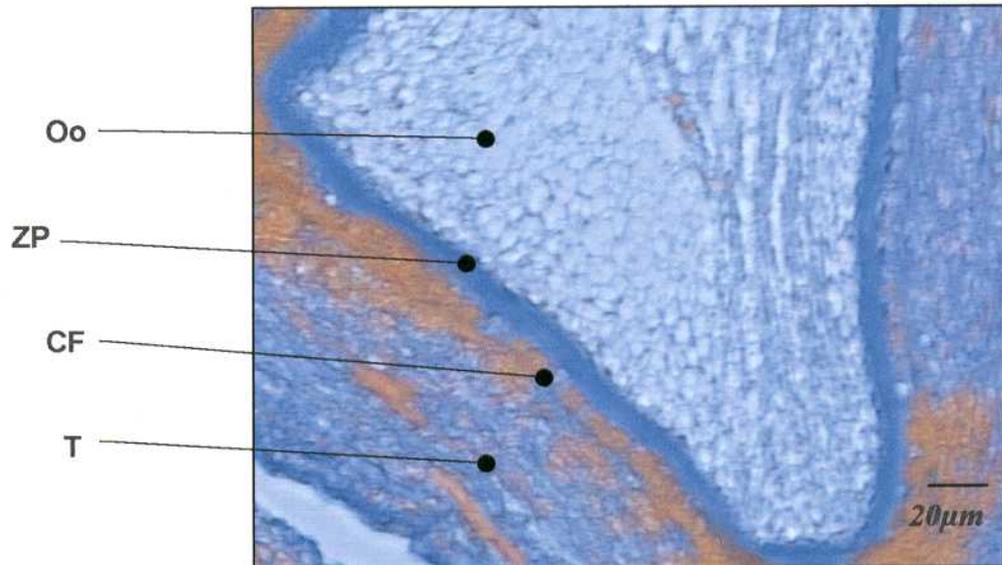


Figura 10. Folículo ovárico. Oocito (Oo), Zona radiata (ZP), células foliculares o de la granulosa (CF), células de la teca (T). Técnica tricrómica de Mallory 400X.

Durante las primeras fases de desarrollo del oocito observamos que las células foliculares son planas en una sola capa (Fig. 11) y se hacen columnares conforme avanza el desarrollo. El folículo crece, la forma de las células de la granulosa cambia, las células de la teca pasan de ser unilaminares a multilaminares (Fig. 14) y el oocito acumula vitelo, aparecen previamente a la acumulación del vitelo las llamadas inclusiones lipídicas.

Se caracterizaron al menos 7 fases de desarrollo del oocito a nivel microscópico (Tabla 2). Aún en los ejemplares juveniles de menor talla se observan las fases de desarrollo mas avanzados correspondientes a los vitelogenicos y a folículos postovulatorios.

Tabla 2. Caracterización morfológica de las diferentes fases de desarrollo del oocito.

PRIMORDIALES (PR)	Diámetro del oocito de 49 a 110 μm , teca de 1 a 2 μm , granulosa plana con células foliculares grandes y escasas, Zona radiata PAS negativa, diámetro nuclear de 26 a 42 μm , 11 nucleolos.
NUCLEOLARES (NCL)	Diámetro del oocito 70 a 220 μm , teca de 1 a 6 μm , granulosa plana continua de 1 a 4 μm , Zona radiata de 1 a 4 μm algunas PAS positiva, diámetro nuclear de 34 a 70 μm , entre 7 y 15 nucleolos unidos, regularmente no periféricos.
PERINUCLEOLARES (PRNCL)	Diámetro del oocito 210 a 330 μm , teca de 6 a 7 μm , granulosa plana continua de 3 a 4 μm , Zona radiata PAS positiva, diámetro del núcleo 60 a 100 μm , 7 a 12 nucleolos periféricos.
NÚCLEO MIGRATORIO (NM)	Diámetro del oocito 250 a 940 μm , teca de 10 a 30 μm , granulosa plana o cubica de 2 a 10 μm , Zona radiata de 4 μm PAS positiva, diámetro del núcleo 80 a 110 μm , presenta grumos de cromatina condensada, a veces 1 o varios nucleolos, núcleo orillado. Presenta inclusiones de lípidos.
INCLUSIONES LIPÍDICAS (IL)	Diámetro del oocito de 990 a 1500 μm , forma circular o ameboide, teca de 50 a 70 μm , granulosa columnar de 14 a 18 μm , Zona radiata de 4 a 6 μm PAS positiva, sin núcleo, con inclusiones de lípidos.
VITELOGENICOS (VT)	Diámetro alrededor de 1800 μm , ameboide, teca 60 μm , granulosa columnar de 18 μm , Zona radiata de 4 a 6 μm PAS positiva, sin núcleo, sin inclusiones lipídicas, con gránulos de vitelo.
POSTOVULATORIOS (PO)	Estructura invaginada, sin oocito, granulosa de 20 μm .

En los ovarios de hembras juveniles aun reproductivamente inactivas es posible observar oocitos de diferente tamaño y forma, correspondiendo a las diferentes fases de desarrollo. Los oocitos en las primeras etapas son esféricos, en fases posteriores cambian a formas irregulares ameboides. Los primordiales se caracterizan por estar rodeados de escasas células semi aplanadas. La zona radiata es angosta negativa a la reacción PAS (Fig. 11).

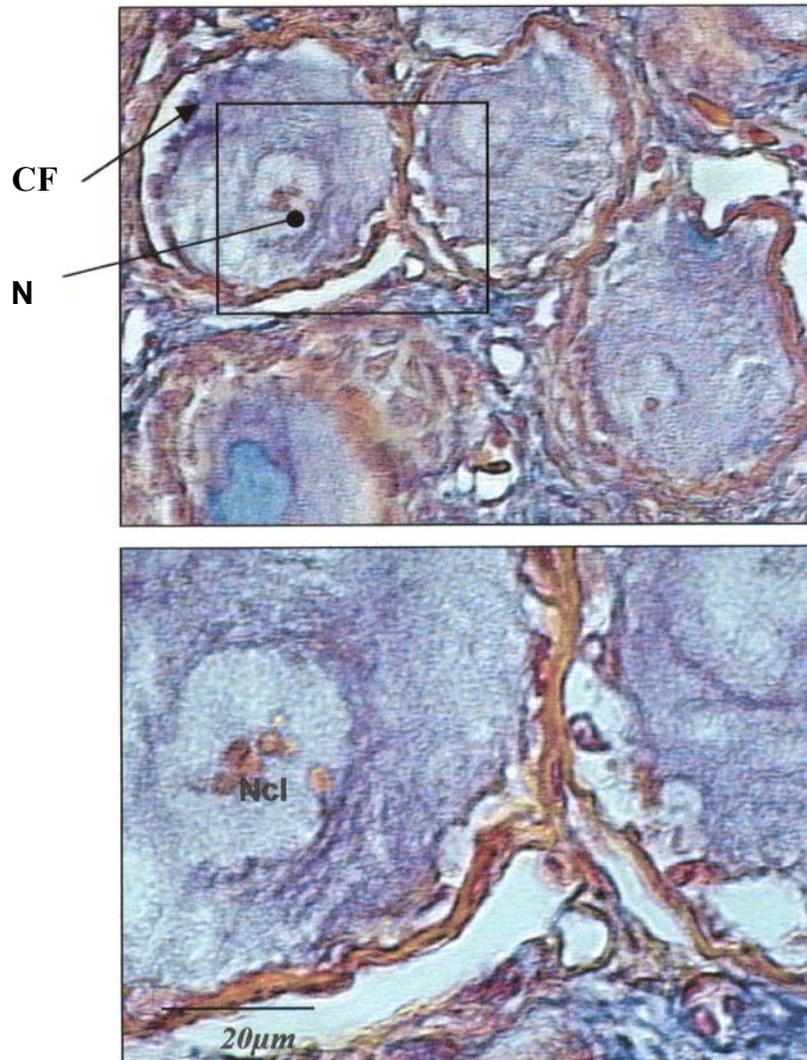


Figura 11. Oocitos primordiales. Abajo un aumento del recuadro de arriba. Núcleo (N), nucleolos (Ncl), granulosa (CF). Tricrómica de Mallory 400X, 1000X.

La disposición de la granulosa durante la fase nucleolar es continua y plana, los nucleolos se encuentran regularmente situados al centro y no en la periferia del núcleo como ocurre en los perinucleolares (Fig. 12 Y 13). El diámetro del oocito y núcleo de los nucleolares es mayor que en los primordiales. El oocito en la figura 11 mide aproximadamente un diámetro de 120 μm y su núcleo 45 μm . La zona radiata es poco evidente.

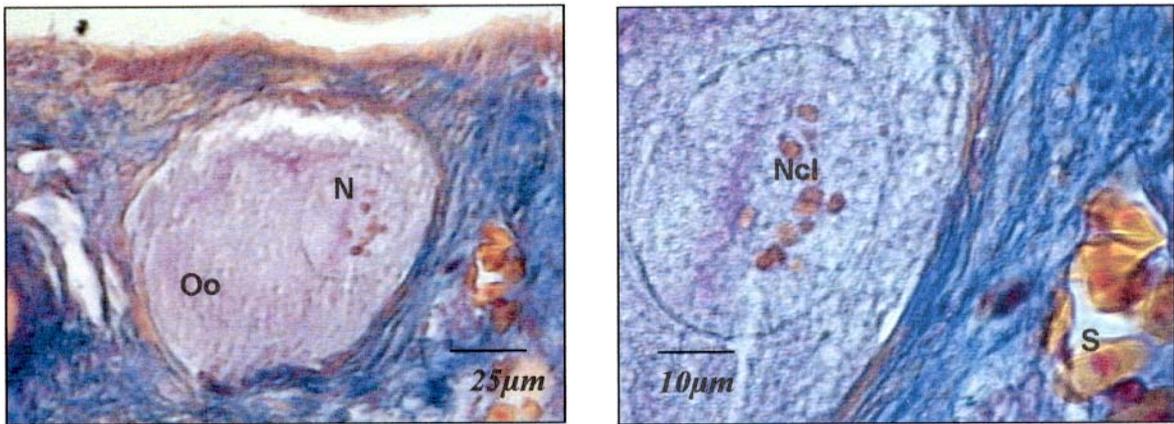


Figura 12. Oocito en fase de desarrollo primario nucleolar. El recuadro de la derecha es un aumento del recuadro de la izquierda. Ooplasma (Oo), Núcleo (N), nucleolos (Ncl), sangre (S). Tricrómica de Mallory 400X y 1000X.

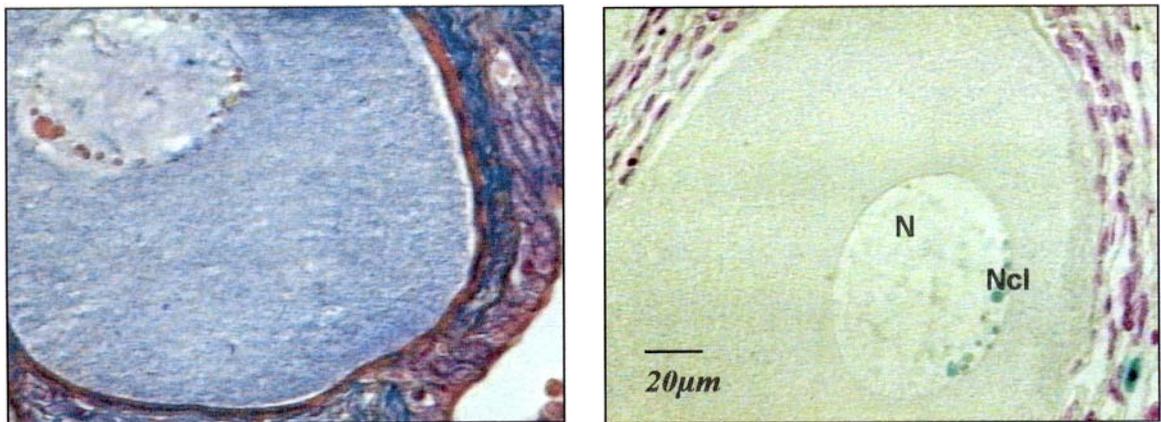


Figura 13. Oocitos en fase de perinucleolar, se observan los nucleolos hacia la periferia del núcleo, núcleo (N), Nucleolo (Ncl), ooplasma (Oo). Izquierda tricrómica de Mallory, derecha Técnica de Feulgen 400X.

En las primeras etapas de desarrollo se observan folículos unilaminares y hacia la fase de núcleo migratorio a partir de aproximadamente 250 μm de diámetro se añaden varias capas de teca para formar estructuras notablemente multilaminares, los nucleolos desaparecen y la cromatina se condensa (Fig.14 y 15).

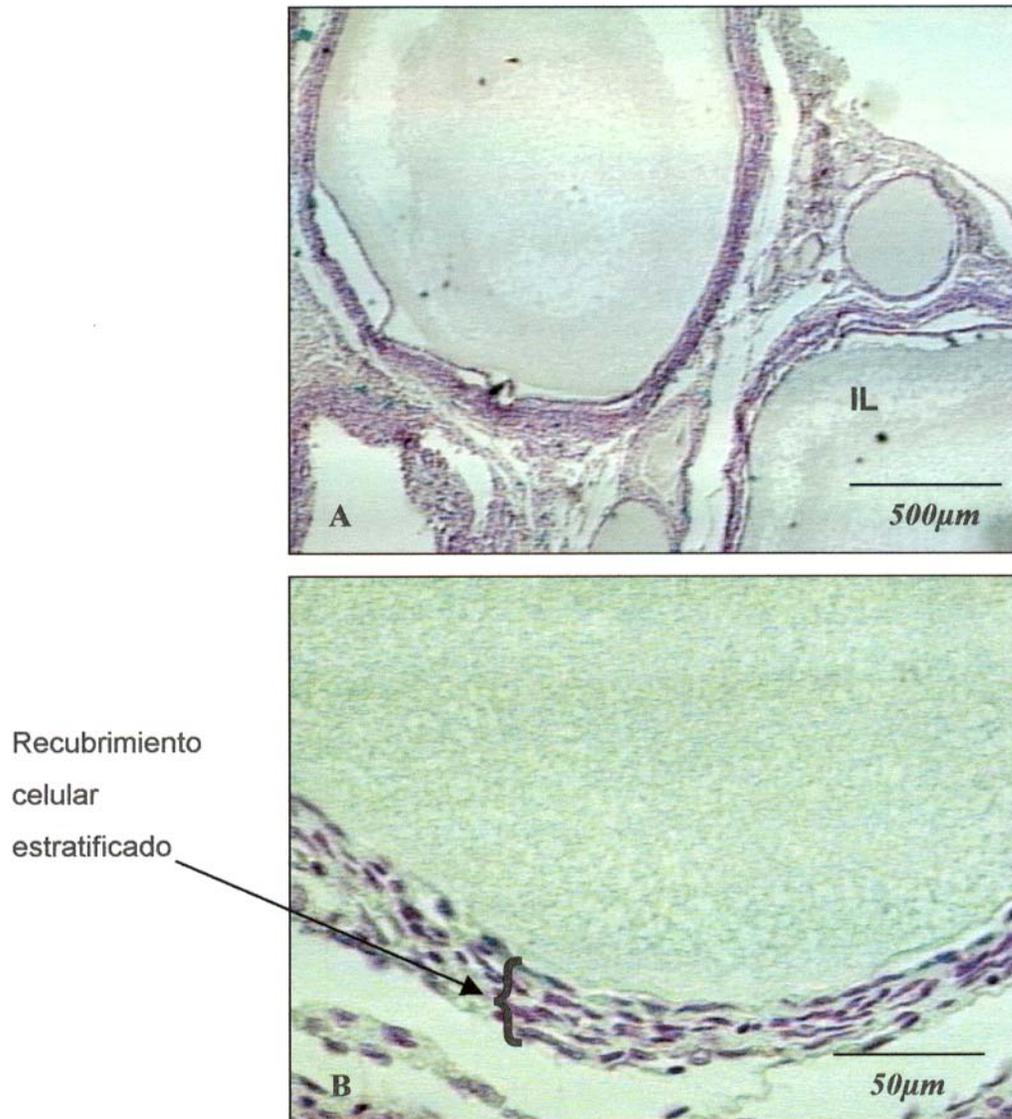


Figura 14. Oocito en maduración. Inclusiones lipídicas finas (IL) y la granulosa comienza a volverse cilíndrica. A) Tinción de Feulgen. 40X y B) Tinción de Feulgen 400X.

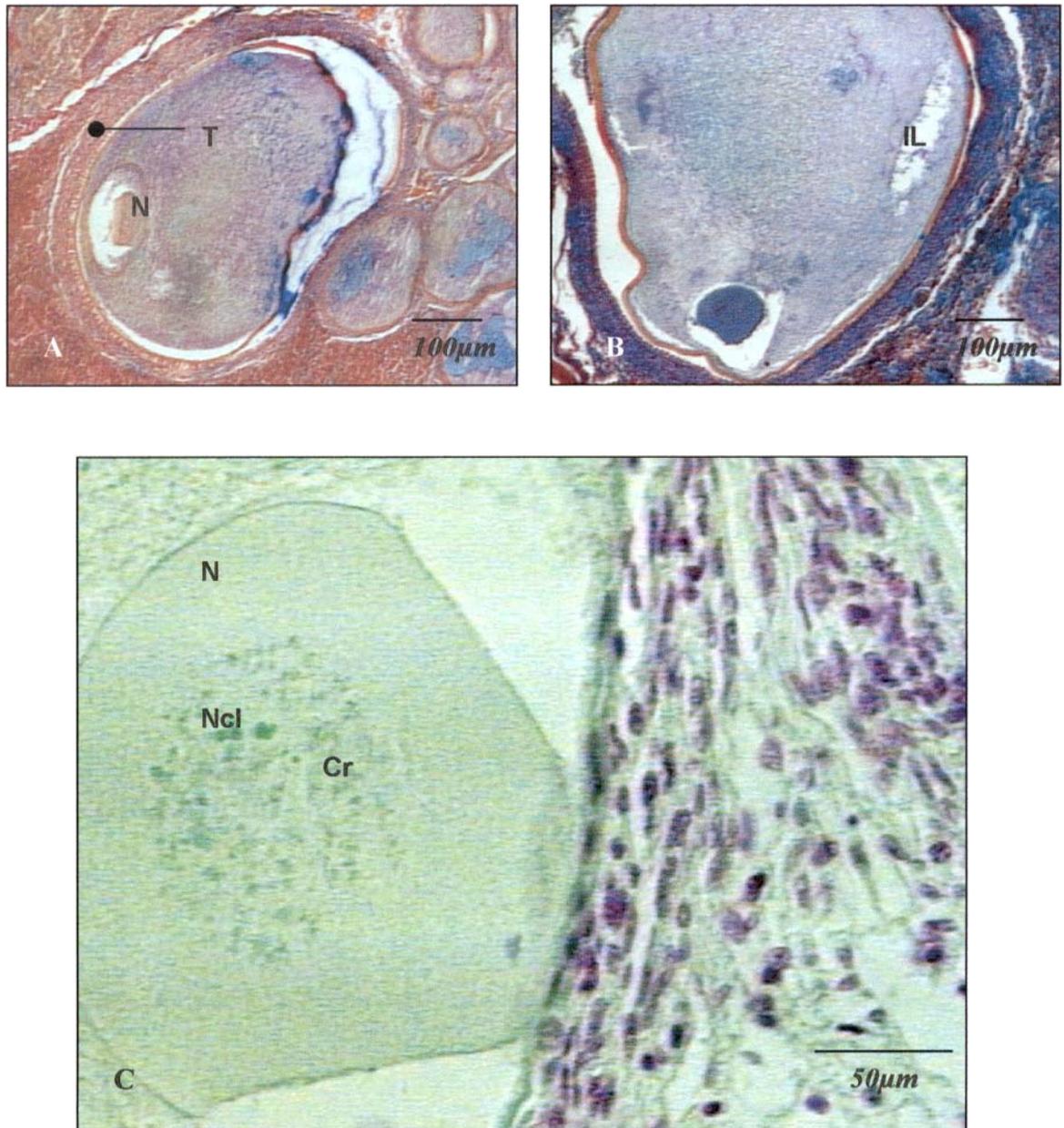


Figura 15. Oocitos en fase de núcleo migratorio. En A y B se observan las condiciones de núcleo migratorio, el núcleo (N) se encuentra a la orilla del oocito, el recubrimiento de la teca (T) es multilaminar, muy engrosado en comparación con fases previas y la presencia de inclusiones de lípidos (IL). Tricrómica de Mallory 100X. En C acercamiento al núcleo en fase migratoria. Se observa la cromatina (Cr) condensada y escasos nucleolos (Ncl) Tinción de Feulgen 400X.

Los folículos ováricos aumentan de tamaño con el desarrollo, pasan de tener un perímetro de alrededor de 700 μm a uno de 5000 μm aproximadamente y sufren un cambio en la forma, pasan de ser casi redondos a adoptar formas ameboides (Fig. 16). La etapa de desarrollo denominada inclusiones lipídicas o previtelogénica tiene un grosor notable de las células de la teca de aproximadamente 30-60 μm .

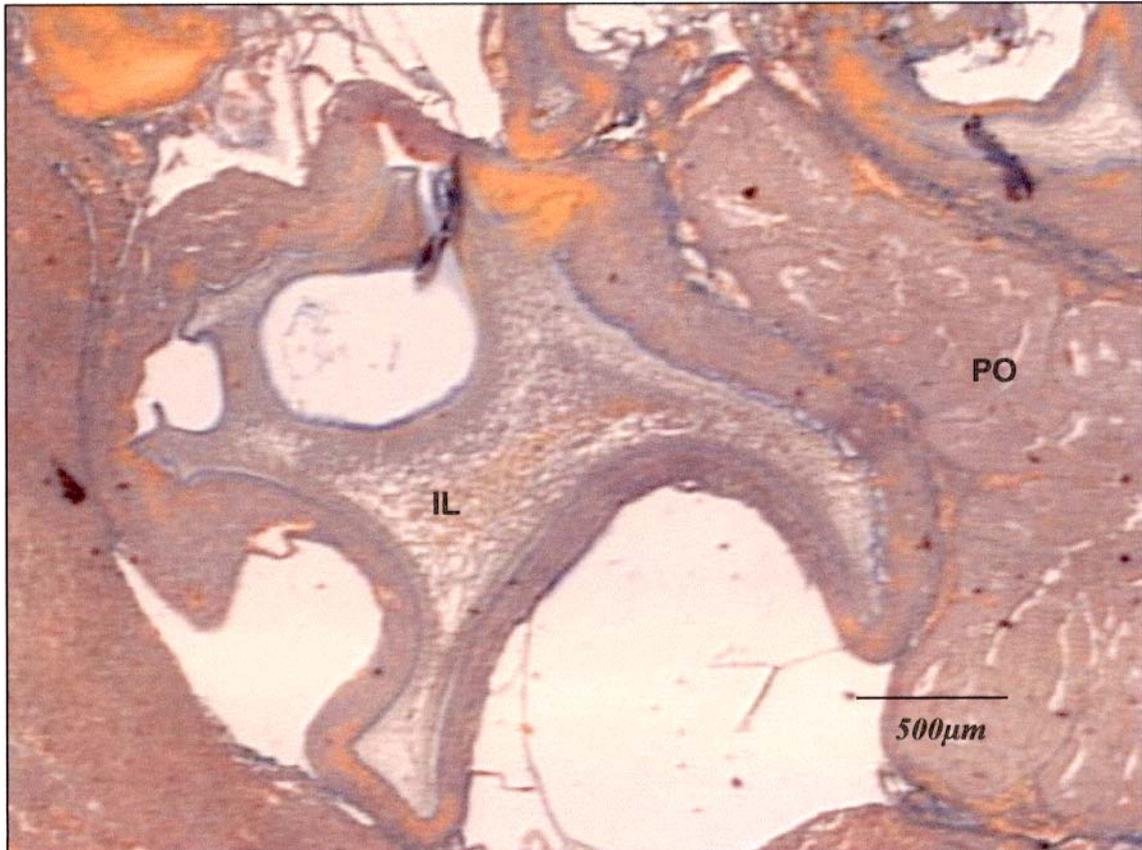


Figura 16. Oocito en probable estado de inclusiones lipídicas (IL). Obsérvese la forma ameboida del folículo. Al lado estructura en probable estado de folículo postovulatorio (PO) Tricrómica de Mallory 40X.

En el periodo juvenil se observaron oocitos con vitelo, estos folículos son aun mayores en tamaño que los de la fase previa de inclusiones lipídicas. Su perímetro aproximado es de mas de 6000 μm , su diámetro de 1800 μm , y las células de la granulosa para esta fase de desarrollo ya son columnares con una altura promedio de 18 μm (Fig. 17)

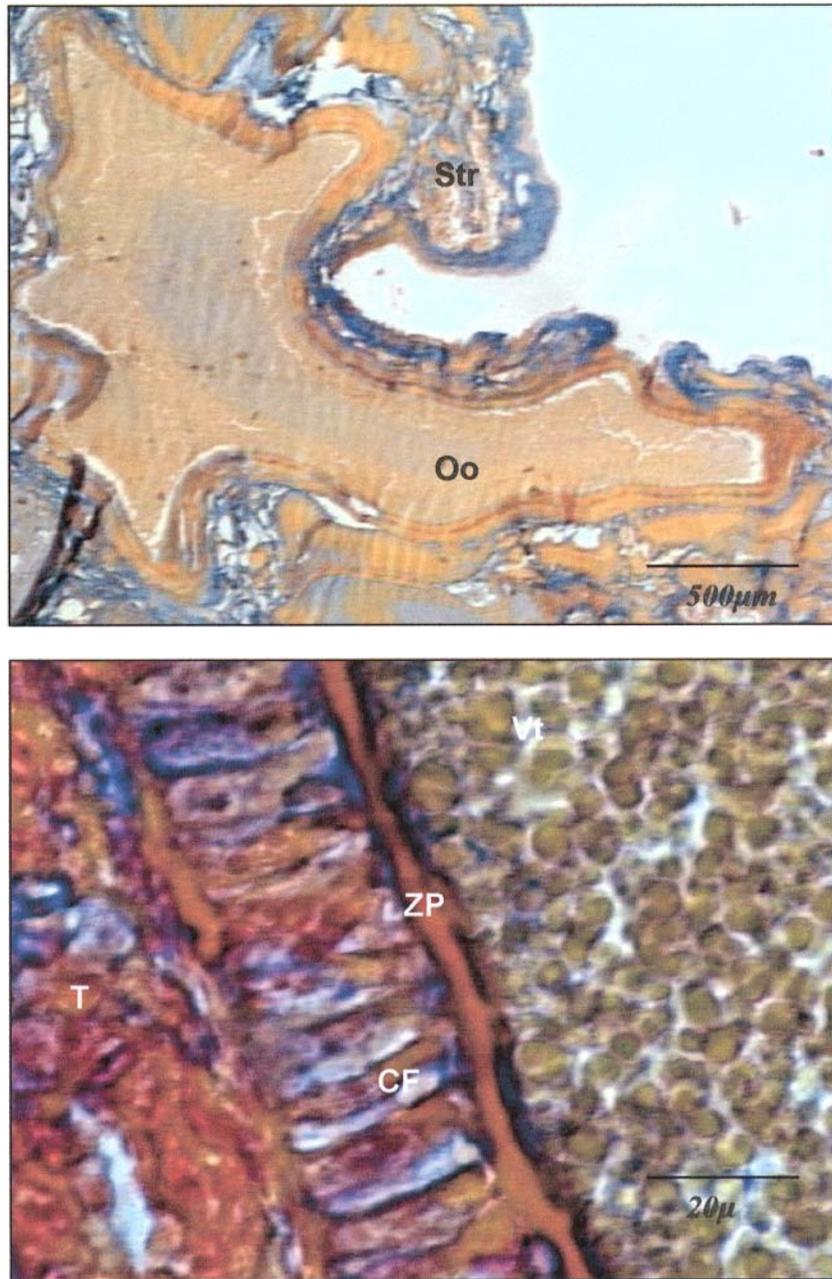


Figura 17. Oocito en vitelogénesis. Arriba) Las células de la teca alrededor del oocito se han estratificado y se aprecian muy engrosadas. Estroma ovárico (Str), oocito (Oo). Tricromica de Mallory 40X. Abajo) Granulosa alargada y notablemente cilíndrica. Se observan los gránulos de vitelo y la zona radiata PAS positiva. Gránulos de vitelo (Vt), teca (T), Zona radiata (ZP), Células de la granulosa (CF). Tricromica de Mallory 1000X.

En los ovarios de juveniles de tiburón martillo también se encontraron estructuras semejantes a folículos postovulatorios (Fig. 18). Estas estructuras también llamadas *corpus luteum* son células derivadas de la granulosa que inicialmente rodean una cavidad pero que posteriormente llenan toda la estructura, se invaginan (Hisaw y Hisaw, 1959).

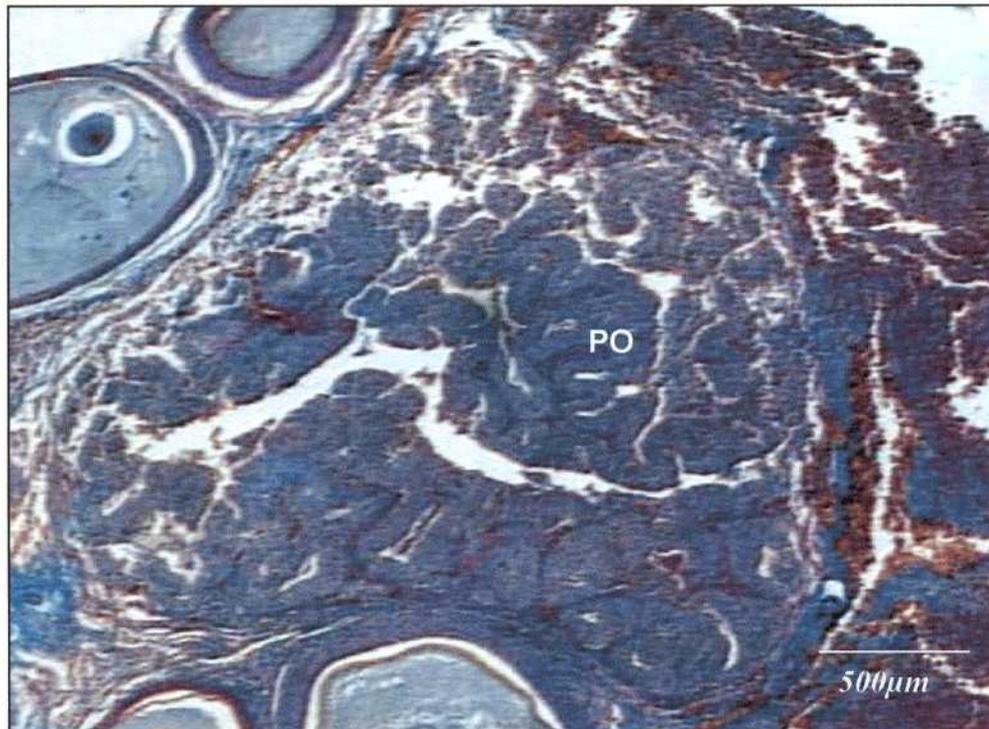


Figura 18. Estructura semejante a folículo postovulatorio (PO). Tricrómica de Mallory. 40X.

Se hicieron pruebas estadísticas de ANOVA para comparar las dos clases modales de talla en relación al número promedio de oocitos de cada fase de desarrollo. No se encontraron diferencias significantes ($p=0.7$) entre los dos grupos modales, el grupo 1 que corresponde a ejemplares de menor talla y el grupo 2 de ejemplares de mayor talla. Todas las fases de desarrollo del oocito se encontraron en ambos grupos (Fig. 19).

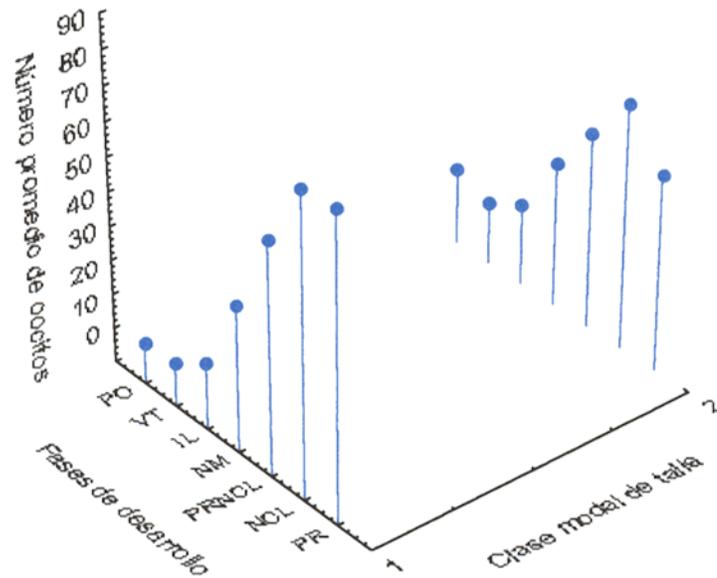


Figura 19. Comparación del número promedio de oocitos en diferentes fases de desarrollo para las dos clases modales de talla. (1) ejemplares de menor talla, (2) ejemplares de mayor talla, (Pr) primordiales, (NC) nucleolares, (PRNCL) perinucleolares, (NM) núcleo migratorio, (IL) inclusiones lipídicas o previtelogénicos, (Vt) vitelogénicos, (PO) postovulatorios.

De igual forma se observa en la figura 19 que es mayor el número promedio de oocitos por gónada de fases tempranas de desarrollo, tales como los primordiales o los nucleolares, y se presenta menor cantidad de oocitos en fases más avanzadas como los previtelogénicos y vitelogénicos. La figura 20 muestra dicha tendencia expresado en porcentajes referidos al número de oocitos presentes en la gónada.

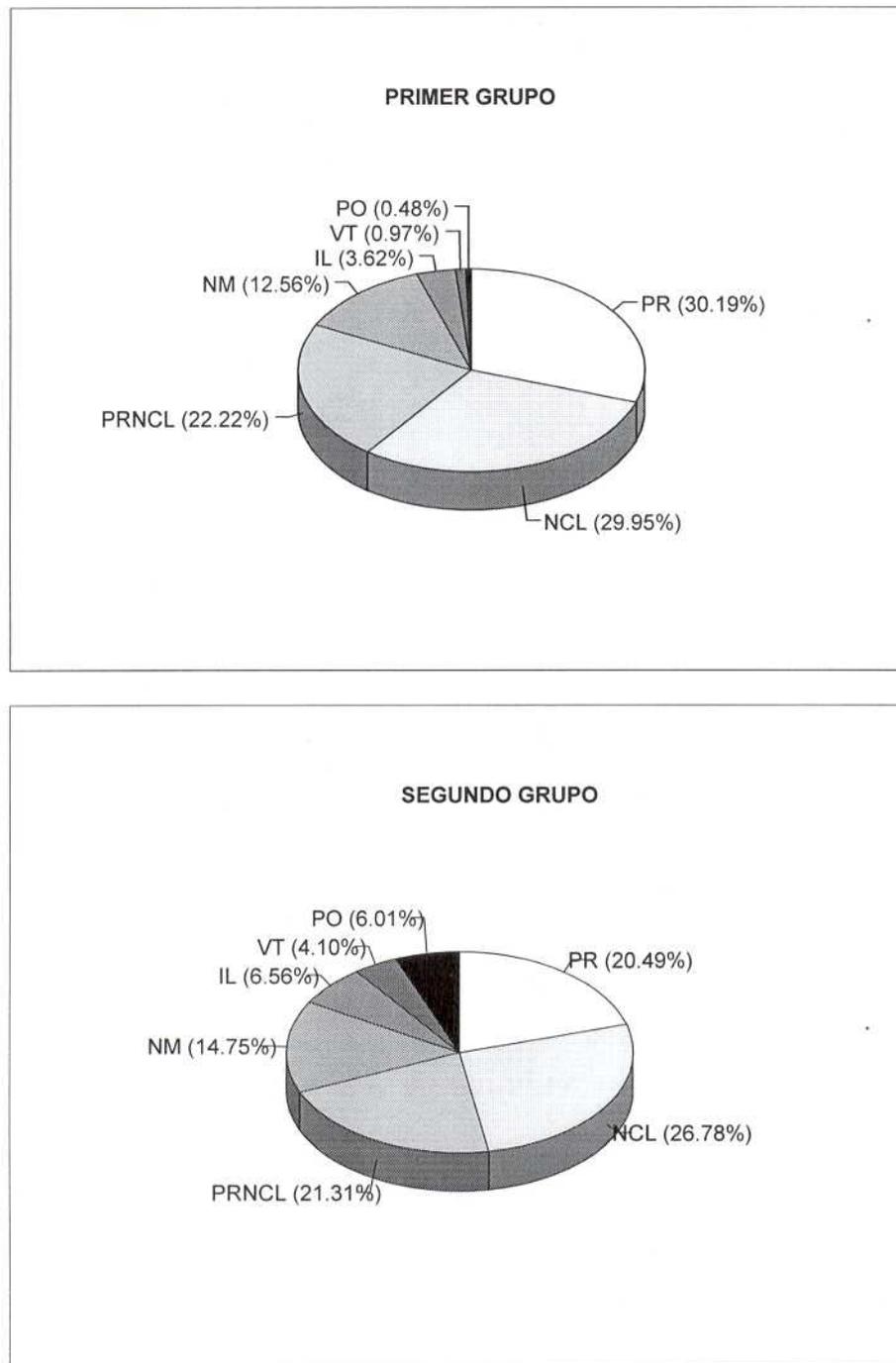


Figura 20. Fases de desarrollo del oocito en porcentaje para dos clases de) tallas de juveniles de *S. lewini*. Primordiales (PR); nucleolares (NCL), perinucleolares (PRNCL), núcleo migratorio (NM), Inclusiones lipídicas (IL), vitelogénicos (VT), post ovulatorios (PO).

Se definieron algunos estadios de desarrollo gonadico para encontrar su porcentaje de ocupación en la gónada (Fig. 21). El criterio arbitrario para definir los estadios de desarrollo es como sigue: ESTADIO I oocitos desde fases germinales hasta nucleolares con zona radiata PAS positiva (incluye oocitos primordiales y algunos nucleolares), ESTADIO II nucleolares con zona radiata PAS positiva hasta engrosamiento de la teca (incluye algunos nucleolares y perinuclolares), ESTADIO III engrosamiento de la teca hasta previtelogénicos (incluye fases de núcleo migratorio y previtelogénicos), ESTADIO IV vitelogénicos en adelante. Se observa que todos los estadios están presentes en la gónada; un mayor porcentaje de ocupación lo tuvo el ESTADIO III correspondiente a oocitos en fase de núcleo migratorio con inclusiones lipídicas, previos a la vitelogénesis.

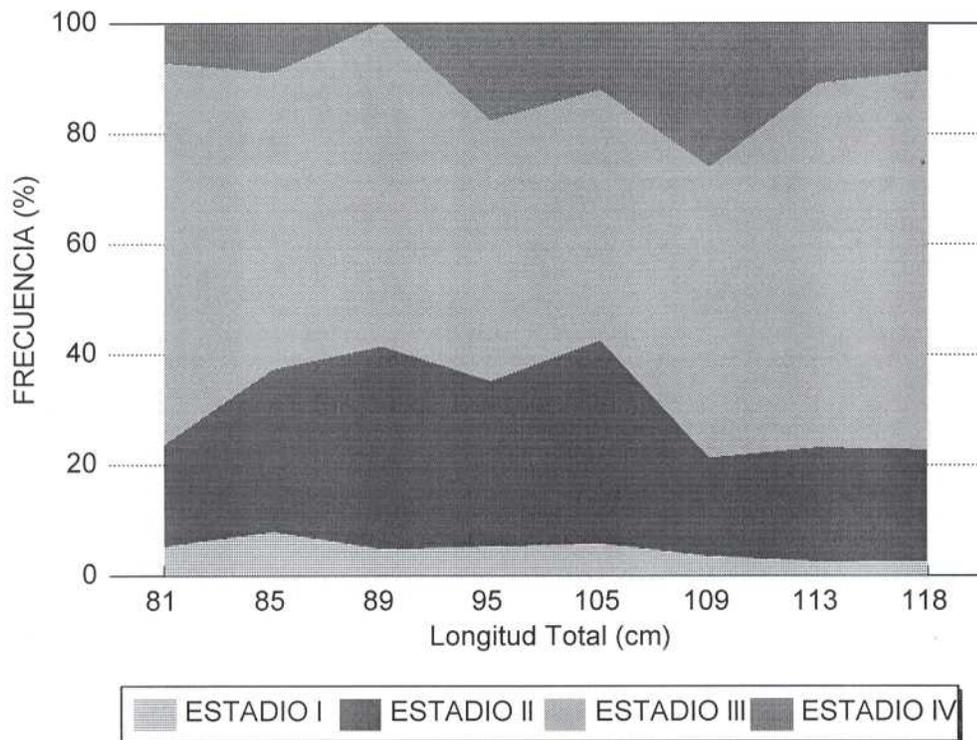


Figura 21. Porcentaje de ocupación en la gónada de diferentes estadios de desarrollo, con respecto a la longitud total de los ejemplares juveniles de *Sphyrna lewini*.

Al aplicar la técnica de PAS en los ovarios de juveniles de *S. lewini* lo primero que salta a la vista es la reacción PAS positiva para la zona radiata del folículo. Se observó poca o ninguna reacción PAS positiva en la zona radiata o pelúcida de oocitos de diámetro pequeño (50-200 μ m), primordiales y algunos nucleolares; se observó reacción PAS positiva muy evidente en la zona radiata de oocitos de tamaño mayor a los nucleolar, mostrando diferencias estadísticamente significantes, $p = 0.0000$ (Fig. 22). En determinados estados de desarrollo el vitelo da la reacción PAS positiva. Tras la fase de inclusiones lipídicas los oocitos van acumulando paulatinamente el vitelo y desarrollando células de la granulosa y de la teca. La granulosa es escamosa en fases iniciales pero alcanza una altura de 16 μ m en oocitos maduros, con vitelo; pasan de ser planas a notablemente cilíndricas durante el desarrollo.

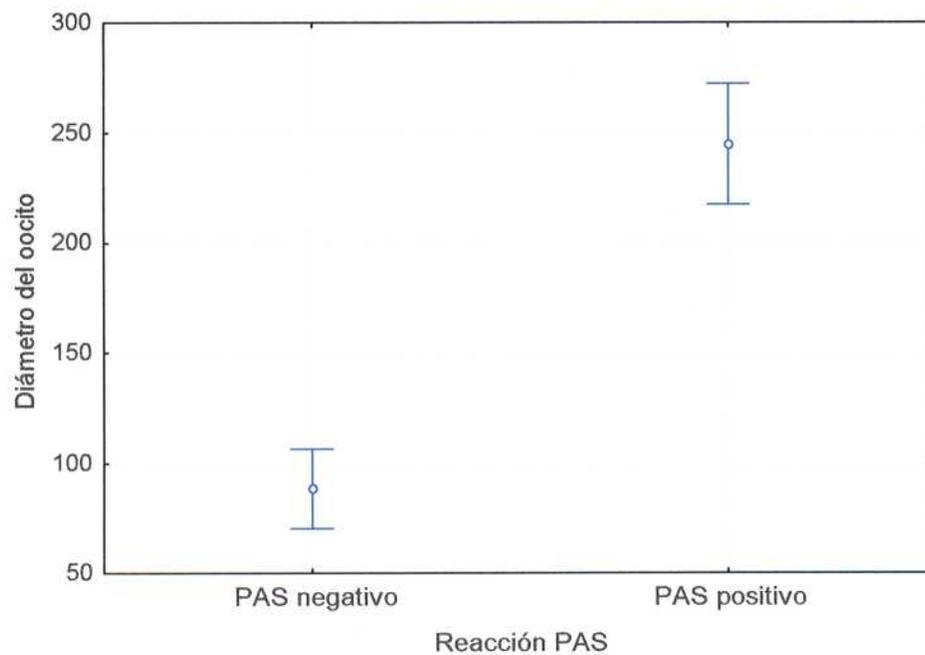


Figura 22. Reacción PAS de la zona pelúcida con respecto al diámetro de oocitos en fases tempranas de desarrollo. Nivel de significancia alfa (p) 0.05. Diferencias estadísticamente significantes de la reacción PAS para la zona radiata en las fases de desarrollo tempranas del oocito. Las líneas verticales denotan intervalo de confianza de 0.95.

En folículos con oocitos vitelogénicos la zona radiata es evidentemente PAS positiva al igual que los gránulos de vitelo en el oocito, es decir contienen compuestos de naturaleza polisacárido, comparable a lo observado en mamíferos. La estructura semejante a un folículo postovulatorio encontrada en el ovario de tiburón martillo contiene en su lumen un recubrimiento PAS positivo.

El oviducto

El oviducto es un conducto que presenta un diámetro de alrededor de 1.5mm. En cortes longitudinales esta estructura presenta múltiples repliegues de la pared interna. Debido a dichos repliegues es posible observar al microscópico por efecto del corte dos o mas conductos que corren paralelos, cada uno con su propio recubrimiento epitelial. El epitelio que reviste el interior es cilíndrico con células de aproximadamente 20 μm de alto. Toda la estructura esta recubierta por tejido conjuntivo y en forma paralela a la luz del conducto corren capilares sanguíneos (Fig. 23). En cortes transversales se observa el lumen del conducto y en la vecindad de este puede estar presente la zona glandular correspondiente al riñón dependiendo a que altura ha sido efectuado el corte.

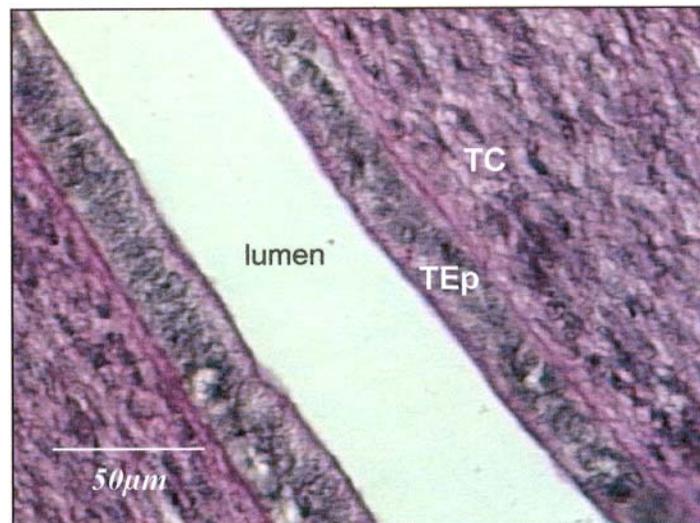


Figura 23. Oviducto. Se observa el recubrimiento interno epitelial cilíndrico simple. Tejido conjuntivo (TC), epitelio (TEp). Tinción de PAS 400X

Glándula oviducal

La glándula oviducal esta recubierta por tejido conectivo como lo evidencia la tinción tricrómica de Mallory. Es posible observar una región glandular con gran cantidad de adenomeros (Fig. 24). Con la técnica de Feulgen se hacen evidentes las células del tejido conectivo, los fibroblastos que lo conforman y una gran cantidad de adipositos que se observan como espacios vacíos debido a que los lípidos han sido eliminados durante el proceso histológico. Se observa poca o ninguna reacción PAS en el tejido conectivo.

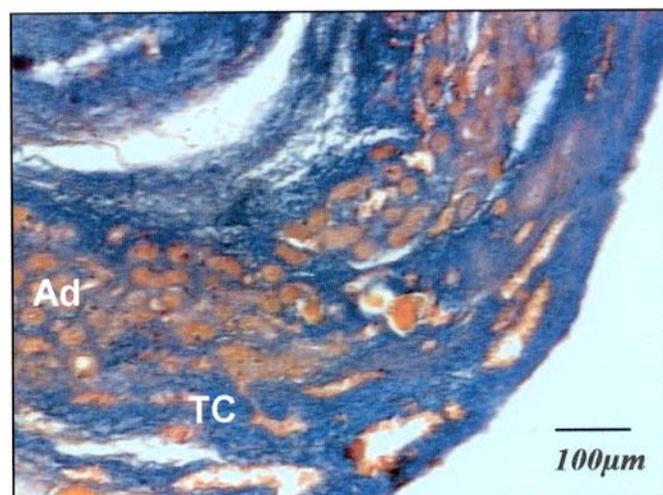
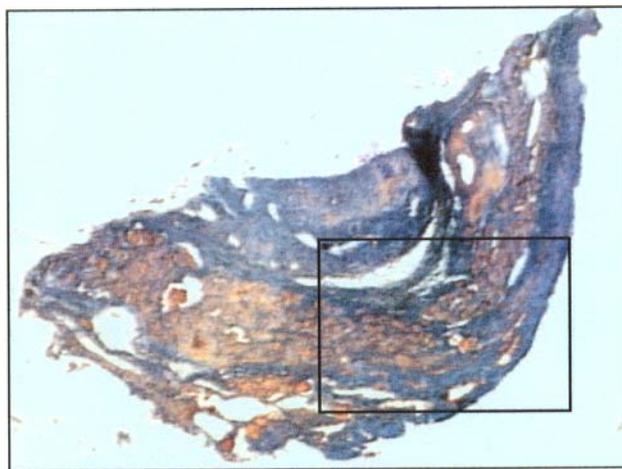


Figura 24. Glándula oviducal de una hembra de 114 cm, se observa gran cantidad de tejido conectivo (TC) y una zona alveolar de adenomeros (Ad). El recuadro esta aumentado en la imagen de abajo. 40X y 100X Tricrómica de Mallory.

parenquima, sin embargo hay reacción PAS positiva en los conductos o acinos de las glándulas y en algunas sustancias, como se observa en la figura 25.

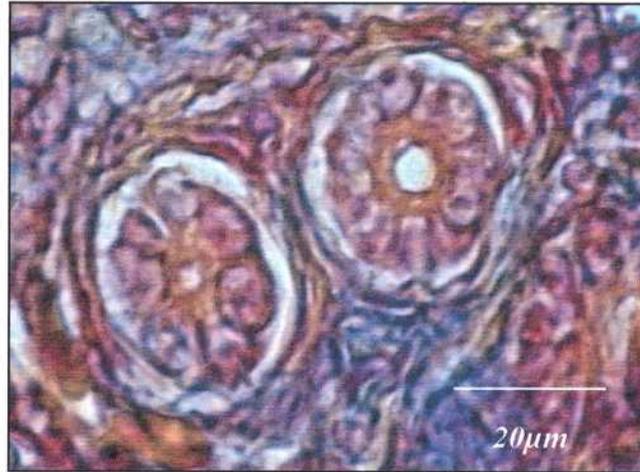


Figura 25. Conductos o acinos serosos de la glándula oviducal. 1000X Tricrómica de Mallory

Útero

El útero en los ejemplares juveniles de *Sphyrna lewini* es una continuación del oviducto, el cual queda embebido dentro del riñón hacia la parte posterior. Durante este periodo de vida es difícil discernir a simple vista el sitio exacto donde comienza propiamente el útero. Microscópicamente aún se observa poco diferenciado, en un corte transversal muestra una serie de repliegues de la pared interna y un recubrimiento epitelial cilíndrico interno.

Un corte del útero efectuado en forma transversal sobre la parte posterior del oviducto revela un repliegue de la superficie interna denotando cierta diferenciación uterina y una similitud notable con trompas uterinas de mamíferos. El diámetro de la estructura es de aproximadamente 1.5 mm y se observa un recubrimiento epitelial cilíndrico simple con altura de aproximadamente 20 μm . Por debajo del epitelio se observa a mayor aumento

una membrana basal que separa al epitelio del tejido conectivo, también se observan fibroblastos componentes del tejido conectivo y algunas células sanguíneas denotando presencia de capilares (Fig. 26).

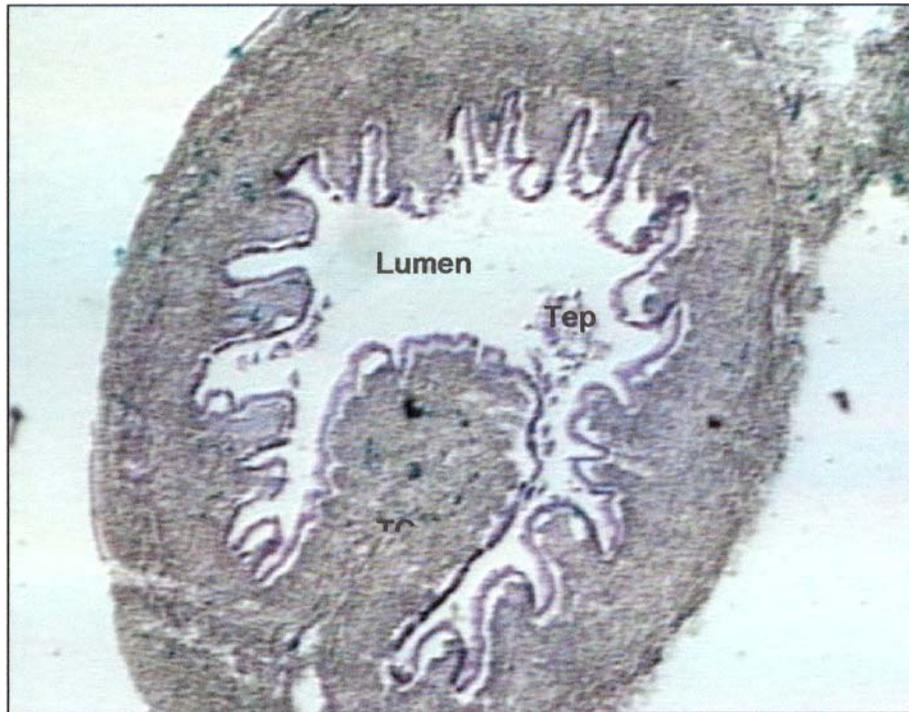


Figura 26. Corte transversal del útero de una hembra de 96 cm. Epitelio (Tep). tejido conjuntivo (TC). Tinción de Feulgen. 40X.

En un corte transversal de la cloaca de una hembra de 114 cm se observan los dos sacos uterinos con un lumen de un diámetro aproximado de 3 mm. Se observa el recubrimiento epitelial columnar y por debajo de este una capa de tejido conectivo laxo y en la proximidad la zona glandular del riñon el cual muestra una gran cantidad de túbulos colectores y muy

pocos espacios entre estos. Los núcleos de los fibroblastos son observados con mayor facilidad al aplicar la tinción de Feulgen, se observan también numerosas células sanguíneas alrededor del lumen lo que indica mucha irrigación en el tejido (Fig. 27).

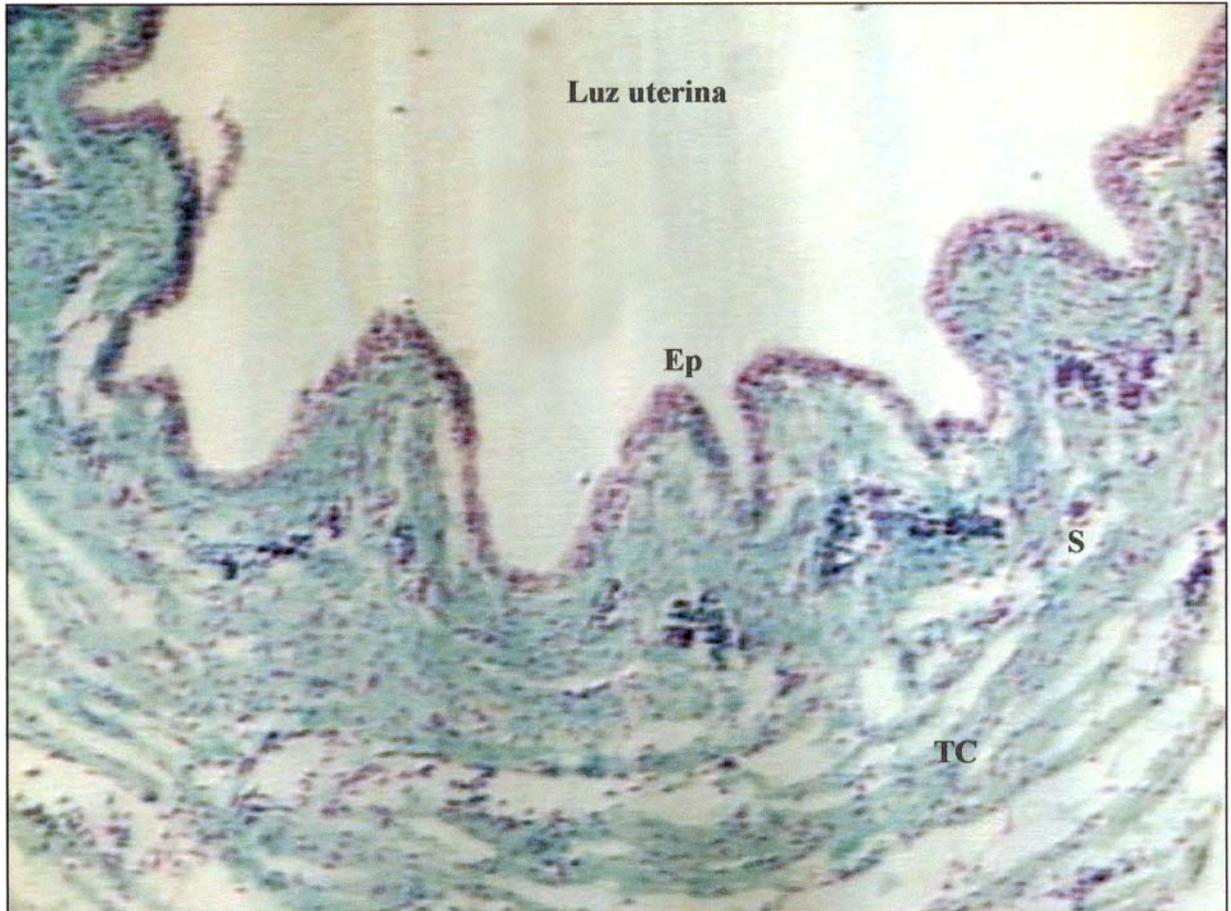


Figura 27. Cloaca. Porción final del oviducto a la altura de la cloaca. Tinción de Feulgen, 100X.

Tejido conjuntivo (TC), epitelio (Ep), sangre (S).

ANATOMIA DEL APARATO REPRODUCTOR DE MACHOS

La estructura anatómica del aparato reproductor de los machos es comparable al de las hembras. Los órganos reproductores están unidos a todo lo largo por el mesenterio. Por un lado, el órgano epigonal se continua hacia la parte anterior para llegar a las gónadas y por otro lado un par de conductos genitales que se encuentran embebidos en el riñón hacia la porción posterior. En la parte anterior del mesenterio están los conductos eferentes a través de los cuales corren los espermatozoides desde el testículo al epidídimo. Ambos testículos son funcionales (Fig.28).

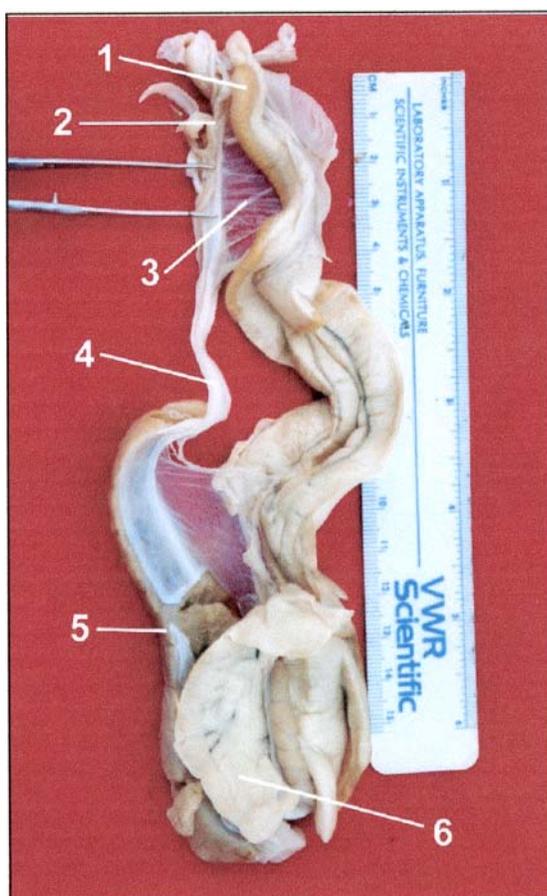


Figura 28. Anatomía del aparato reproductor de macho juvenil de tiburón martillo *Sphyma lewini*. 1) Testículo, 2) epidídimo, 3) conductos eferentes y mesenterio, 4) conductos deferentes, 5) riñón, 6) órgano epigonal.

ANATOMIA MICROSCOPICA

Testículos

Al efectuar un corte transversal de testículo se observa un gradiente con diferentes fases de desarrollo de la espermatogénesis. En la región germinal es posible observar espermatoblastos. El termino espermatoblasto se refiere a una sola célula de Sertoli asociada con unas pocas células germinales. De forma que muchos espermatoblastos unidos conforman una estructura esférica limitada por una membrana basal conocida como espermatocisto (Callard, 1991).

Al inicio del desarrollo se observan células germinales y de Sertoli, los folículos presentan una sola capa celular (Fig. 30A). Inmediatamente después, siguiendo el gradiente de desarrollo se encuentran espermatogonias en proceso intenso de mitosis, los folículos pasan a ser de varias capas como resultado de la proliferación celular (Fig. 29).

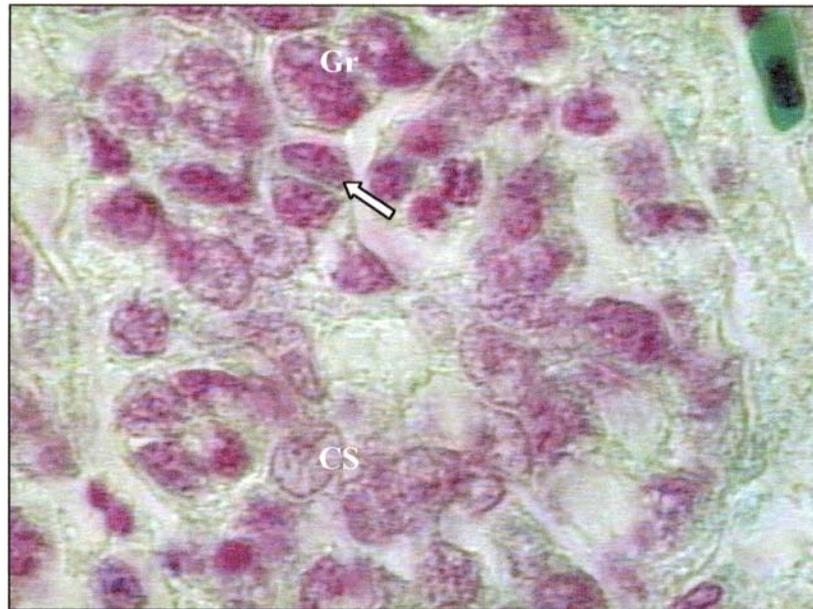


Figura 29. División celular en fases iniciales de la espermatogénesis. Células germinales (Gr), Células de Sertoli (CS). La flecha muestra célula en división. 1000X. Tinción de Feulgen.

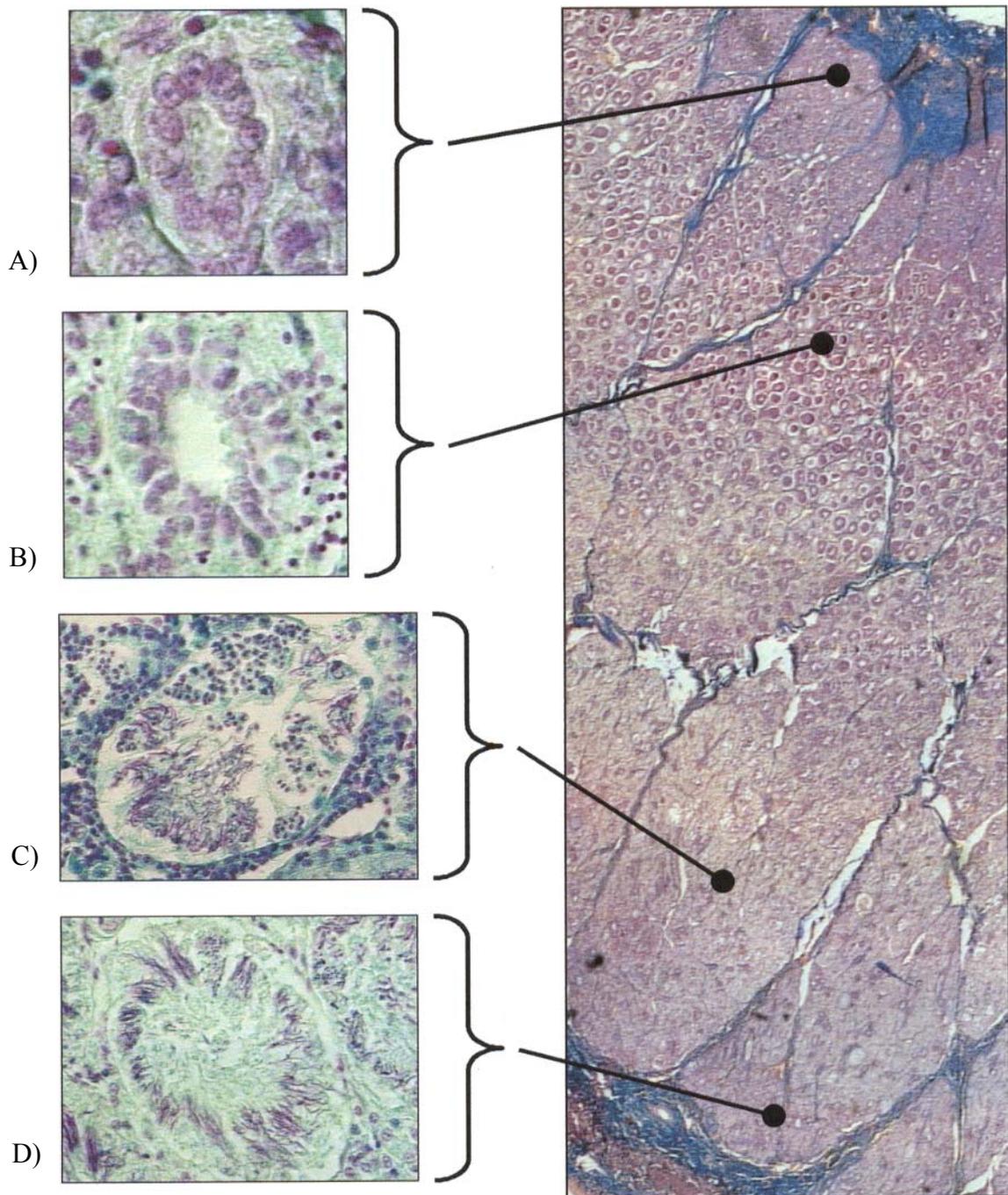


Figura 30. Zonación diámetro en corte transversal de testículo. A) Una sola capa de células germinales y de Sertoli, B) espermatogonios en fase proliferativa, C) transición de fase espermatocito secundario a espermatida D) arreglo de espermatozoides. 40X, 400X y 1000X. Tinción de Feulgen.

Los espermatogonios primarios son células redondas con núcleos esféricos ricos en cromatina, misma que se observa en forma de granos finos. Las células de Sertoli al inicio del desarrollo se observan situadas hacia el lumen central del folículo, sin embargo pronto comienzan una migración hacia la periferia. Las células de Sertoli pueden ser reconocidas por su núcleo pálido, pobre en cromatina y nucleolos notablemente densos y visibles (Fig. 29). El núcleo de los espermatogonios secundarios tiene forma mas escamosa. Los folículos poseen varias capas de células y poseen también un lumen central, el cual esta ocupado por una sustancia hialina, dando a la estructura una forma de dona (Fig. 30b y 31).

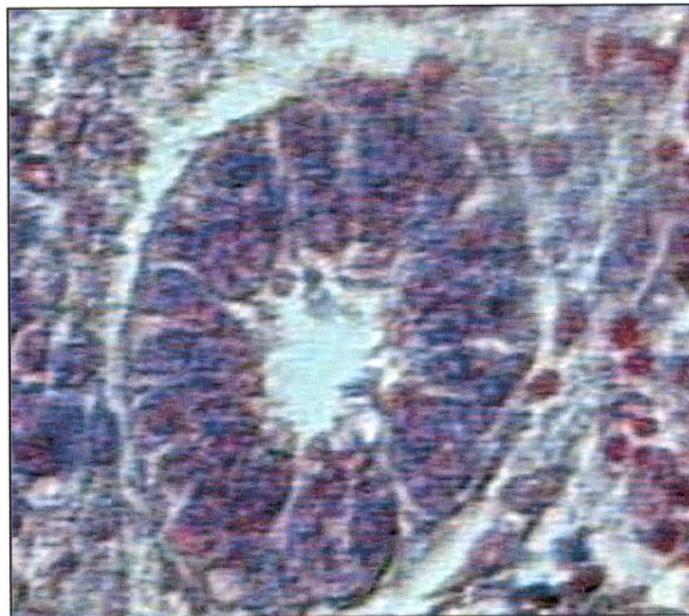


Figura 31. Folículo seminífero con espermatogonias. Se observa una forma de dona por efecto de la presencia de una sustancia hialina hacia el lumen del folículo. 400X Tricrómica de Mallory.

La meiosis da lugar a una proliferación de espermatogonios secundarios que se diferencian y crecen para dar paso a los espermatocitos primarios con características aun diploides, estos espermatocitos se reconocen por presentar núcleos con cromosomas condensados con diámetros entre 4 y 7 μ m, en diferentes fases de la meiosis y células de Sertoli ocupando posiciones periféricas del folículo (Fig. 32).

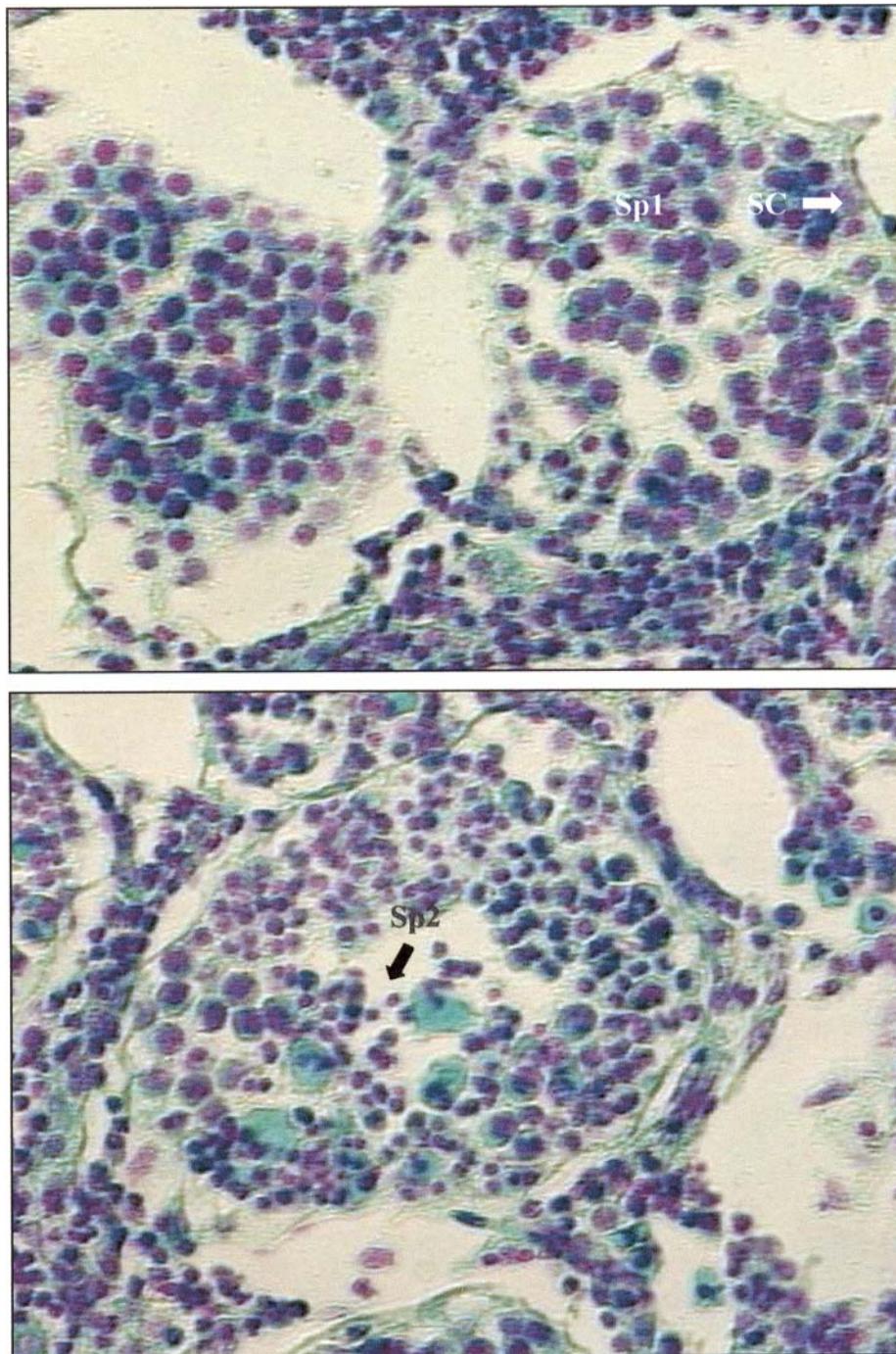


Figura 32. Espermatocitos primarios en fases meioticas. Los núcleos mas pequeños corresponden a espermatocitos secundarios. Espermatocito primario (Sp1), espermatocito secundario (Sp2), células de Sertoli (SC). 400X, tinción de Feulgen.

Tras una primera división meiótica, los espermatocitos primarios dan lugar a la formación de los espermatocitos secundarios pasando a ser haploides.

Los espermatocitos secundarios están contenidos en folículos de entre 90 y 130 μm , se caracterizan por presentar núcleos con cromatina condensada de alrededor de 3 μm de diámetro, se distinguen por ser de menor tamaño que los de espermatocitos primarios.

Hacia la segunda división meiótica los espermatocitos secundarios dan lugar a las espermátidas, estas últimas son de formas alargadas de un tamaño de alrededor de 7 μm (Fig. 30c y 33).

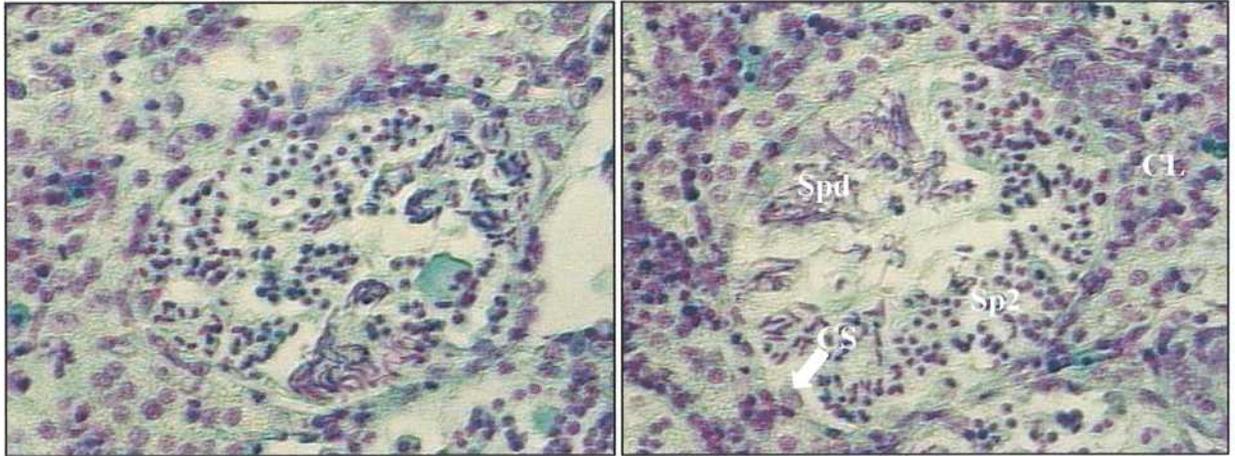


Figura 33. Transición de la fase espermatocito secundario a la fase de espermátida. espermatocito secundario (Sp2), espermátida (Spd), células de Sertoli (CS), células de Leydig (CL). 400X, tinción de Feulgen.

Las células de Sertoli son utilizadas para la nutrición, se encuentran hacia la periferia del folículo y en ellas se embeben las espermátidas por sus ápices a la vez de que se juntan unas con otras. Posteriormente durante el proceso de espermiogénesis las espermátidas se alargan y se aproximan mas entre sí para formar agregados muy densos de espermatozoides (Fig. 33 y 34). Las células de Leydig, asociadas con la producción de testosterona, se encuentran por fuera del folículo seminífero formando agrupaciones.

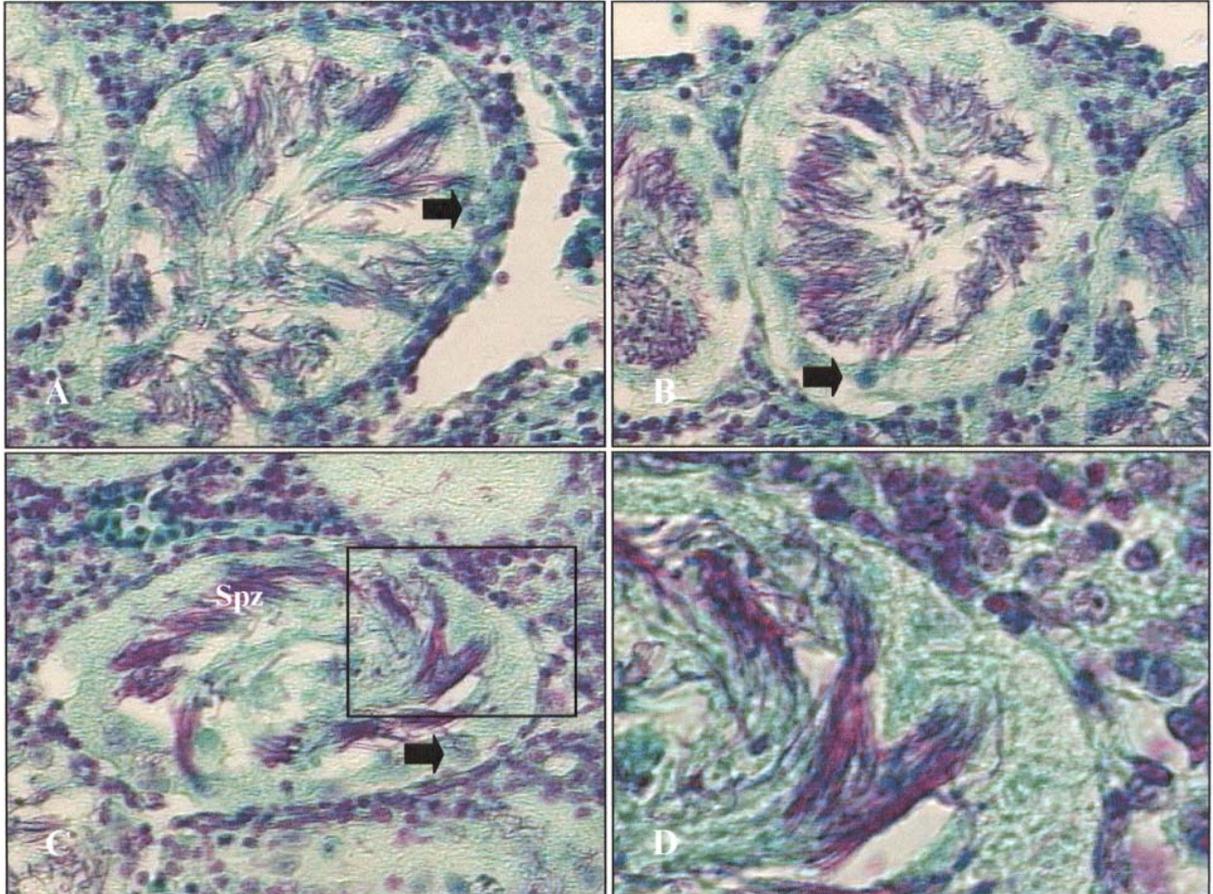


Figura 34. Fases terminales de espermatogenesis para juveniles de *Sphyma lewini*. A), B) y C) arreglo espermático coincidiendo con células de Sertoli. D) aumento del recuadro en C). Las flechas señalan células de Sertoli, espermatozoides (Spz). 400X, tinción de Feulgen.

Dentro de la primera clase modal en ejemplares de alrededor de 85 cm fue posible encontrar la fase mas avanzada de espermatogenesis correspondiente a espermatozoides en proceso de formación de bultos espermáticos.

De acuerdo con los dos grupos modales de juveniles se llevaron a cabo comparaciones de los porcentajes de ocupación de las fases de desarrollo de la espermatogenesis, y se observó en el primer grupo, que corresponde a individuos de menor talla dentro

del periodo juvenil, que hay un mayor porcentaje de espermatogonias y un menor porcentaje de espermatozoides; en tanto que en los individuos del grupo dos, que corresponden a juveniles de mayor talla, hay un menor porcentaje de espermatogonias (spmg) y un mayor porcentaje de espermatozoides (spmzde) (Fig. 35)

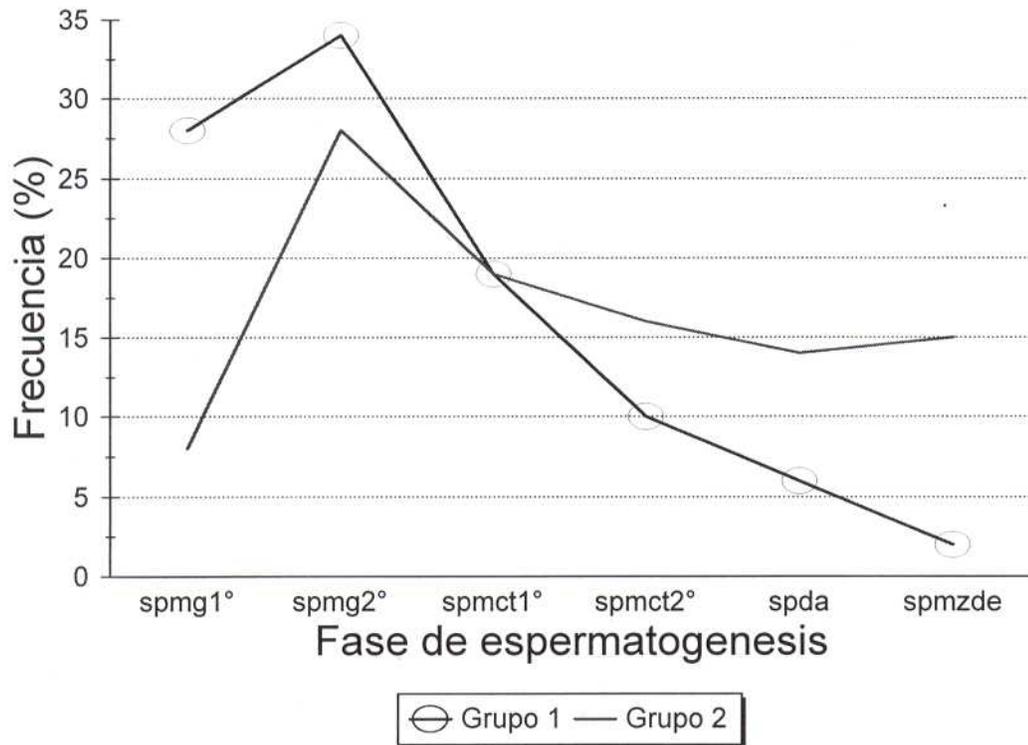


Fig. 35 Comparación de las fases de desarrollo de la espermatogénesis para dos grupos modales de talla de juveniles de *Sphyrna lewini*. Espermatogonio primario (Spmg1°), espermatogonio secundario (spmg2°), espermatocito primario (spmct1°), espermatocito secundario (spmct2°), espermátida (spda), espermatozoide (spmzde).

En la figura 36 se presentan los porcentajes de ocupación en la gónada respecto de la composición de tallas para cuatro estadios diferentes que corresponden al siguiente criterio: ESTADIO I fases iniciales de desarrollo antes de espermatocito primario. ESTADIO II espermatocitos primarios y secundarios, ESTADIO III espermátidas incluyendo las transiciones de espermatocitos secundarios a espermátidas. ESTADIO IV espermatozoides.

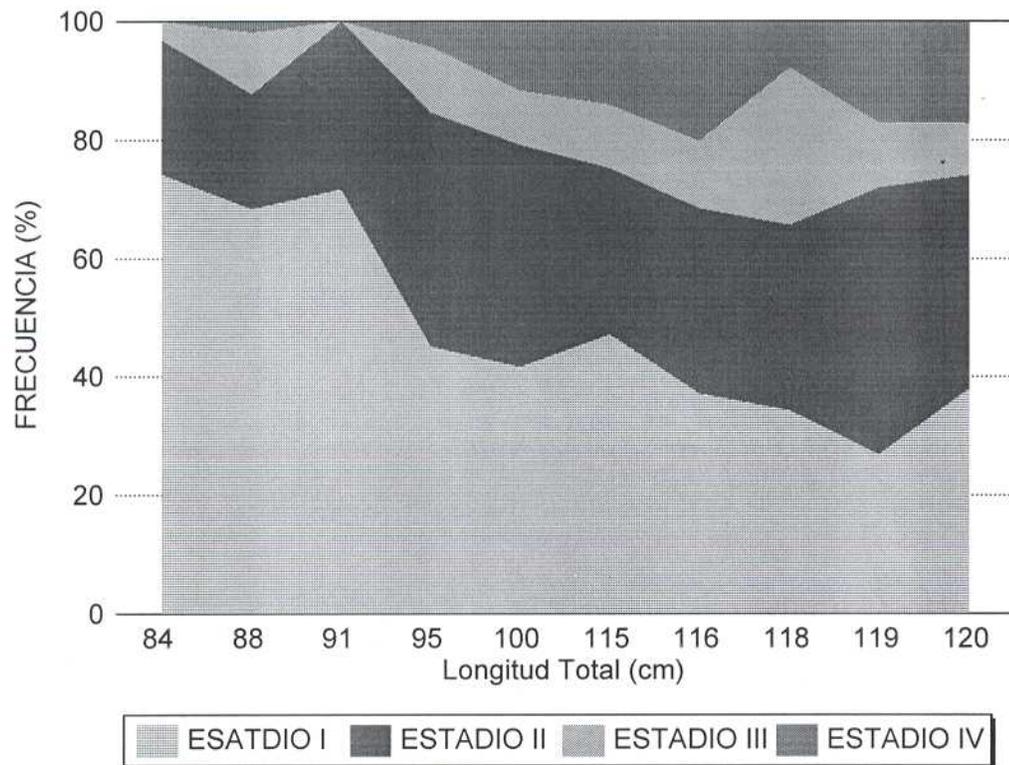


Figura 36. Porcentaje de ocupación gonádica de cuatro estadios de desarrollo de la espermatogénesis con respecto a la longitud total de ejemplares juveniles de *S. lewini*.

Conductos genitales de machos juveniles

Los conductos eferentes que pasan a través del mesenterio conectan con la parte anterior del epididimo y por medio de ellos llegan los espermatozoides desde los testículos al epididimo. Su estructura histológica es similar a la observada en mamíferos. Se caracterizan por presentar ondulaciones en el epitelio interno debido a la alternancia de células cilíndricas con cubicas constituyendo un epitelio de tipo pseudoestratificado. Los conductos eferentes próximos al epididimo se conocen como conductos de transición y se reconocen por la disposición mas uniforme del epitelio formado únicamente por células cilíndricas. (Fig. 37)

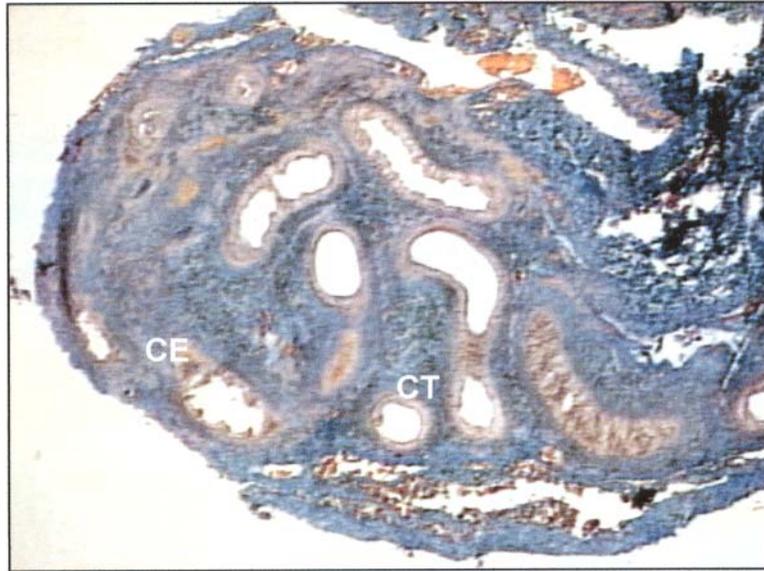


Figura 37. Región anterior del epidídimo. Conductos eferentes (CE), conductos de transición (CT). Tinción tricrómica de Mallory, 40X.

En el caso del conducto epidídimo el epitelio es simple y pseudoestratificado conformado por células columnares y células redondas basales. En ningún caso fueron observados espermatozoides en el lumen de estos conductos (Fig. 38).

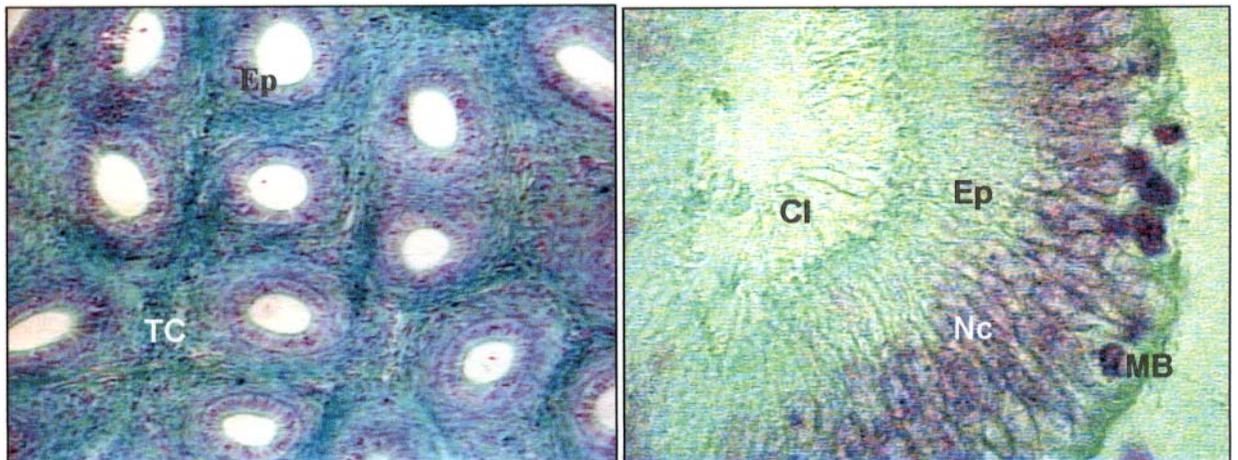


Figura 38. Conducto epidídimo. Tejido conjuntivo (TC), epitelio interno cilíndrico (Ep), cilios (Cl), núcleos (Nc), membrana basal (MB). 10X y 100X. Tinción de Feulgen.

En un corte transversal a la altura del riñón se observan los conductos deferentes que conectan al epidídimo con la región posterior del conducto genital, presentan un epitelio columnar pseudoestratificado y un diámetro de 1500 μm , y posiblemente bordeado por una capa de tejido muscular y tejido conectivo (Fig. 39).

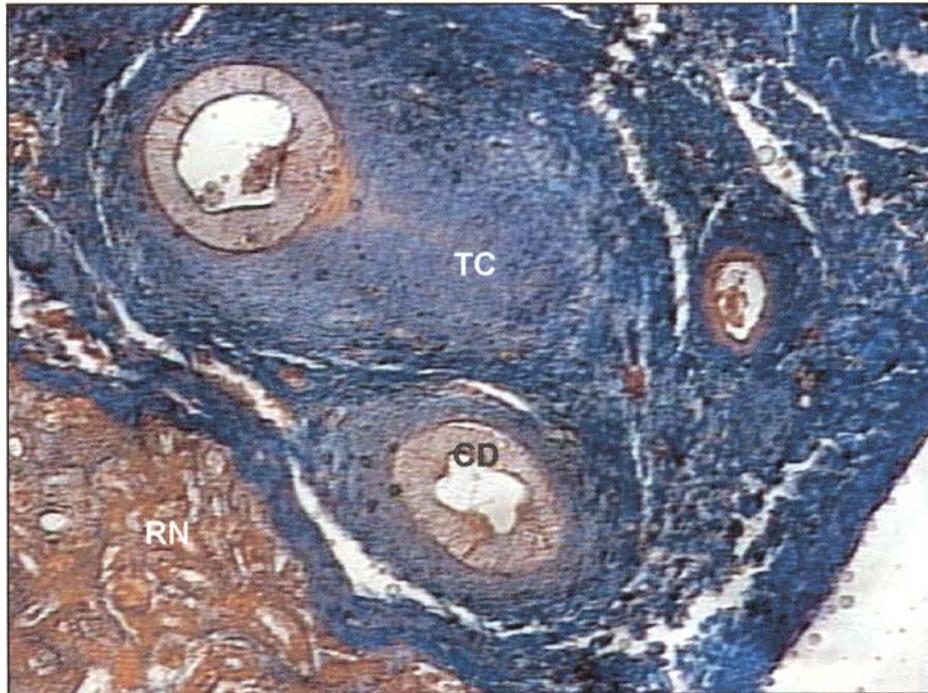


Figura 39. Corte del conducto deferente a la altura del riñón. Conductos deferentes (CD), tejido conjuntivo (TC), riñón (RN). 100X, Tricrómica de Mallory.

Tabla 3. Correspondencia microscópica de características morfométricas de los órganos del sistema reproductor de *Sphyrna lewini*

CARACTERISTICAS MORFOMETRICAS	CARACTERISTICAS MICROSCOPICAS
ÚTERO. Conductos de 2 mm de diámetro. Es la continuación del oviducto en su porción posterior. Adyacentes al riñón.	Epitelio uterino cilíndrico simple de entre 22 – 24µm. Se observan repliegues de la pared uterina.
OVARIO. 4 cm promedio de alto vs 1.5 cm de ancho. Los mas avanzados presentan oocitos visibles de hasta 1 mm.	Diferentes fases de desarrollo presentes en todos los ovarios a partir de los 90 cm de longitud total (dentro primera clase modal). Mayor número de fases iniciales.
GLANDULA OVIDUCAL. Pequeñas estructuras de 9 mm de alto por 7 mm de ancho de forma de corazón.	Recubierta de tejido conectivo. Revestida de epitelio pseudoestratificado. Diferentes regiones. Conductos glandulares de 26 µm.
TESTICULOS. Cilíndricos y delgados. Diámetro promedio de 6 mm. Hasta 2.5 cm de longitud.	Zonación diamétrica. Presentes todas las fases de desarrollo espermatogenico, a partir de los 85 cm de longitud total (dentro de la primera clase modal).
EPIDIDIMO. Rectos, conectados a los testículos por el mesenterio.	Sin espermatozoides. Revestido en la luz interna con epitelio pseudoestratificado y tejido conectivo.
CONDUCTOS DEFERENTES. Rectos o poco rizados. Diámetro aproximado de 1.5 mm	Epitelio pseudoestratificado, tejido conectivo. Comparable al de los mamíferos.

VI DISCUSIÓN

Tanto machos como hembras poseen el llamado órgano epigonal al que se le atribuye una función hematopoyética (Jezior y Hamlett, 1995). En *S. lewini* el órgano epigonal recubre parcialmente la gónada, pero en el tiburón mako (*/surus oxyrinchus*) el órgano epigonal rodea completamente las gónadas, por lo que no es posible observarlas a primera vista. Al igual que en otros tiburones vivíparos, en *S. lewini* únicamente el ovario derecho es funcional (Schlernitzauer y Gilbert, 1966; Chen *et al.* 1988).

En las diferentes especies de tiburón el número y tamaño de los folículos en desarrollo depende del estadio del ciclo reproductivo y el modo de reproducción, en las especies vivíparas el desarrollo del folículo es más diverso que en las ovíparas, esta diversidad en el desarrollo tiene que ver con la ovulación previa y la preñez (Hamlett y Koob, 1996).

El crecimiento folicular durante la preñez es típico de tiburones que tienen gestación de alrededor de un año como en el caso de *S. lewini*. Al microscopio observamos en el ovario cambios en la estructura celular de los oocitos y en la pared folicular que nos ha permitido determinar algunas fases de desarrollo y maduración del oocito.

Los folículos se desarrollan en sincronía (concierto), proliferando células de la granulosa y de la teca y acumulando vitelo. Uno de los indicadores más notables es el cambio de forma que sufren estas células durante el desarrollo, presentan una transformación de formas escamosas hasta cilíndricas hacia la fase previtelogénica. Las células de la granulosa en folículos de pequeño tamaño forman una sola capa teniendo forma escamosa o cuboidal, cambian con el crecimiento, comienzan a aparecer inclusiones lipídicas y con el desarrollo se alargan. Las inclusiones lipídicas probablemente son la fuente de precursores para la

síntesis de esteroides o quizá indican que las células de la granulosa producen, secretan y abastecen al oocito con gránulos de vitelo (Tsang y Callard, 1983).

Se ha observado un cambio drástico en la teca al formarse varias capas y modificar notablemente la forma del folículo justo antes del inicio de la migración nuclear y después de que los nucleolos se han dispuesto a la periferia del núcleo. La teca sufre cambios con el crecimiento del oocito, la vascularización se incrementa, surgen capas de distintos tipos celulares, ocurre la elaboración de inclusiones lipídicas y la transformación de la morfología celular acompañando el desarrollo folicular (Koob y Callard, 1991).

De acuerdo con Dood *et al.* (1983) es posible encontrar folículos en estado de atresia en los ovarios de hembras reproductivamente activas. Las atresias son folículos en estado degenerativo que contienen los mismos elementos celulares del folículo, incluyendo vitelo, lo cual depende del momento en que se ha disparado el proceso. No fueron encontradas atresias en ejemplares juveniles de *S. lewini*.

Las estructuras encontradas en el ovario de tiburón martillo reconocidas como postovulatorios pudieran corresponder a una porción del oviducto equivalente a la trompa de falopio que es observada en mamíferos.

Desde el periodo juvenil todas las fases de desarrollo están presentes aunque en diferente porcentaje, denotando cierta sincronía en el desarrollo y la posibilidad de optimizar la fecundación mediante fertilizaciones continuas de las diferentes cohortes. Si bien, el desarrollo del folículo puede tomar varios meses, la fecundidad se optimiza en esta forma (Chen *et al.* 1988).

Las glándulas oviducuales de hembras juveniles observadas al microscopio son estructuras que ya presentan conductos glandulares, sin embargo, las glándulas oviducuales en hembras adultas son estructuras mucho mas complejas con patrones de zonación mejor definidos (Pratt, 1979).

De igual forma al comparar glándulas oviducuales de juveniles con las que corresponden a hembras adultas observamos una notable diferencia de tamaño. Hamlett *et al.* (1988) señalan que hay una correlación entre el incremento en el tamaño de la glándula oviducal y el ciclo reproductivo alcanzando su máxima, justa antes de la ovulación. En las hembras juveniles las glándulas oviducuales son casi del diámetro del oviducto y es difícil pensar que por esas pequeñas estructuras puedan atravesar oocitos maduros de algunos centímetros de diámetro.

El seguimiento de los cambios morfológicos que ocurren al nivel de útero es útil para la determinación del estado de madurez del ejemplar. Un seguimiento de este tipo no fue posible efectuarlo en el presente trabajo debido a que únicamente se cuenta con ejemplares juveniles. Es necesario dar un seguimiento del cambio morfológico en el útero a través de diferentes clases de talla, pasando por ejemplares maduros y a través de diferentes épocas del año, para determinar los cambios microscópicos en la morfología uterina durante la época de reproducción.

La mayoría de estudios donde se ha abordado la determinación de la madurez sexual en tiburones se han efectuado empleando criterios morfométricos, los cuales ofrecen la ventaja de ser prácticos y mas económicos. Una hembra en estado maduro puede ser determinada fácilmente porque tiene embriones en el útero o un útero distendido, tiene cicatrices producto del cortejo, el ovario tiene oocitos de algunos centímetros de diámetro con una

tonalidad amarillenta, semejantes a yemas de huevo de gallina, incluso al manipularlos es muy fácil reventarlos.

Por lo anterior se puede decir que si lo que el estudio pretende es determinar la madurez sexual de una hembra, bastaría con observar su gónada a simple vista, para tal fin el criterio morfométrico resultaría suficiente, sobre todo si consideramos que los estudios microscópicos son costosos, laboriosos y llevan mayor tiempo para tener resultados. En los machos la situación es diferente; en este caso, la revisión microscópica puede arrojar resultados mucho mas precisos y menos subjetivos que el criterio morfométrico.

En *S. lewini* al efectuar un corte transversal del testículo encontramos una zonación de tipo diamétrico, la cual es propia de tiburones carcharhinidos, squalomorphos y galeomorphos (Pratt, 1988). En los folículos seminíferos se observaron arreglos de espermatozoides y los resultados sugieren cambios acelerados en las fases de desarrollo de la espermatogénesis.

Asumimos que aun no ocurre la reproducción en los machos juveniles porque tuvieron gonopterigios no calcificados y porque no se encontraron espermatozoides en los conductos genitales. La presencia de etapas avanzadas de la espermatogénesis desde el periodo juvenil hace suponer que los tiburones serán aptos para la reproducción tan pronto como físicamente puedan efectuar la copula, siendo entonces uno de los mayores impedimentos la calcificación del clasper.

Por estas razones se considera que el criterio morfométrico resulta útil para determinar el estado de madurez en machos, no obstante, el criterio microscópico es mas confiable. La madurez sexual de los machos deberá aceptarse solamente por la presencia de espermatozoides en los conductos genitales y relacionar esto con la rigidez del clasper. Han sido abordados por algunos autores los aspectos de carácter etológico cuando *S. lewini* se

agrega en los montes submarinos quizá con propósitos de reproducción (Klimley, 1981). Tales comportamientos pueden dar indicios de la necesidad de alcanzar determinadas tallas como un requisito para entrar en competencia con otros machos por fecundar a la hembra.

En este estudio con la ayuda de diferentes tinciones tanto de tipo topográfico (tinción hematoxilina eosina, tinción tricrómica de Mallory), como de tipo histoquímico (tinción de Feulgen y tinción de PAS), han tenido gran valor para obtener la información lograda.

La tinción tricrómica de Mallory nos ha permitido observar las fibras de colágeno que son los elementos mas frecuentemente hallados en el tejido conjuntivo. Estas fibras tienen una función básica de soporte y son sintetizadas por múltiples elementos celulares del organismo, entre los que destacan los fibroblastos que fueron observados en estructuras tales como la glándula oviducal.

En la reacción de Feulgen el ácido utilizado hidroliza parcialmente el ADN, promoviendo la formación de grupos aldehídos que entonces reaccionan con el reactivo de Schiff para formar un precipitado magenta insoluble en cantidades proporcionales a la cantidad de ADN presente. Con el empleo de esta tinción ha sido posible observar con suficiente claridad procesos como la división celular que ocurre en los espermatogonios durante las fases iniciales de la espermatogénesis.

La reacción PAS positiva observada en el vitelo en determinados estadios de desarrollo del oocito, se explica porque, de acuerdo con los estudios hechos para conocer la composición química del vitelo, la urea está presente, aunque la mayor proporción del contenido orgánico lo tienen las glicoproteínas y son varias proteínas distintas las que constituyen dicha fracción. Los lípidos y algunos minerales conforman la proporción restante de contenido

orgánico del vitelo. Incluso, en un estudio reciente para huevos de *S.canicula*, se aisló una variedad de oligosacáridos que derivan de glicoproteínas por procesos enzimáticos (Plancke *et al.*, 1966).

Aun cuando se esperaba encontrar reacción PAS positiva en los conductos espermáticos en el presente estudio no fue observada esta reacción. En un análisis histoquímico para conocer sobre el almacenamiento espermático del pez scorpaenido *Helicolenus dactylopterus dactylopterus* la reacción PAS dio positiva para el epitelio de los conductos espermáticos lo que apuntaba a la secreción de polisacáridos con la posible función de agregación espermática (Muñoz *et al.* 2002).

Uno de los objetivos del presente estudio tiene que ver con el registro de la especie en la localidad durante el tiempo de estudio, los datos encontrados son significativos debido a que la presencia de la especie no fue recurrente. La captura de ejemplares adultos de esta especie en los campos pesqueros de la región fue escasa. Se llevaron a cabo visitas frecuentes a los montes submarinos en donde se agrega *S. lewini*, concluimos que también ahí la especie fue notablemente escasa.

De acuerdo a los autores el tiburón martillo *S. lewini* esta presente en la región durante la época de verano (Galván-Magaña *et al.*, 1989) por su preferencia a las aguas cálidas. Durante las visitas a los campos tiburoneros de la región que se llevaron a cabo continuamente a lo largo del año, casi no fue posible obtener muestras de tiburón martillo en verano por no estar presente en las capturas.

VII CONCLUSIONES

1. Mediante el criterio morfométrico se concluyó que todos los ejemplares juveniles se encuentran en etapas inmaduras y premaduras.
2. El criterio morfométrico empleado para determinar madurez sexual puede seguirse utilizando en campo, es adecuado, mas económico y practico que el microscópico.
3. En el caso de machos, el criterio morfométrico debe corroborarse analizando la presencia de espermatozoides en los conductos genitales, incluyendo ejemplares de mayor tamaño de la especie en un seguimiento continuo a lo largo de uno o mas años.
4. El análisis microscópico, utilizado en este estudio para la determinación de la madurez gonádica, ha permitido caracterizar las fases de desarrollo de los gametos.
5. La caracterización histológica de las estructuras del ovario y testículo de juveniles demostró que el desarrollo gametogénico se encuentra avanzado; en tanto que, al criterio morfométrico se observa que los juveniles aun no son aptos físicamente para la reproducción.
6. Por la comparación de las dos clases de talla de ejemplares juveniles se asumió que el proceso de la espermatogenesis es mas rápido que la oogénesis, razón por la cual se concluyo que los machos maduran en tallas menores en comparación con las hembras.
7. Los métodos histoquímicos permitieron poner en evidencia el desarrollo espermatogénico, en las gónadas y la ausencia de gametos en los conductos.

8. La presencia de carbohidratos en determinadas estructuras del aparato reproductor coincide con lo descrito para vertebrados superiores. Existen semejanzas en la anatomía microscópica de los órganos reproductores de *S. lewini* con la de vertebrados superiores, especialmente en los conductos y en las gónadas.

VIII RECOMENDACIONES

1. Continuar utilizando el criterio morfométrico en el trabajo de campo para determinar en forma preliminar la madurez sexual y temporada reproductiva de elasmobranquios.
2. Dirigir los muestreos a adultos de tallas mayores de 120 cm y corroborar la madurez sexual empleando la histología de los órganos reproductores y la endocrinología.
3. Continuar efectuando estudios de tipo microscópico para determinar aspectos de la reproducción tales como la periodicidad y la estimación de la producción de gametos.
4. Intensificar el muestreo en machos, dado que los primeros maduran a tallas menores.
5. Hacer uso de técnicas histológicas complementarias como las tinciones histoquímicas de Feulgen y PAS.
6. Declarar zona de crianza de algunas especies de tiburón la Bahía de La Paz, dado que se ha corroborado que dentro de la bahía se capturan ejemplares juveniles de tiburón martillo aprovechando las corridas de invierno.
7. Modificar las artes de pesca a fin de evitar la captura de ejemplares juveniles y hembras preñadas.
8. Monitorear a las especies importantes para la recreación y educar a los turistas para que no molesten a los tiburones o las mantas en las zonas de avistamiento.

IX LITERATURA CITADA

- Ainley, D.G., R.P. Henderson, H.R. Huber, R.J. Boekelheide, S.G. Allen, T.L. McElroy. (1985). Dynamics of white shark/pinniped interactions in the Gulf of Farallones. Mem. Sth. Calif. Acad. Sci., 9, Pp. 109-122.
- Anislado Tolentino, V. (2000). Ecología pesquera del tiburón martillo *Sphyrna lewini* (Griffith y Smith, 1834) en el litoral del estado de Michoacán, México. Tesis UNAM México, Pp. 305.
- Applegate P. S., L. Espinosa-Arrubarrena. , L. Menchaca-López, y F. Sotelo-Macias. (1979). Tiburones Mexicanos. Dir. Gral. de Ciencia y Tecnología del Mar. SEP. México, Pp. 146.
- Balinsky, B. I. (1978). Introducción a la embriología. Ed. Omega. Barcelona, Pp. 644.
- Bass A. J., J. D'Aubrey y N. Kistnasamy. (1975). Sharks of the East Coast of Southern Africa. 111.- The Families Carcharhinidae (Excluding *Mustelus* and *Carcharhinus* and Sphyrnidae). *Invest. Rep. Oceanogr. Res. Inst.* 38: 1-100.
- Beard, J. (1900). The morphological continuity of the germ cells in *Raja batis*. *Anat. Anz.* 18, 465-478.
- Bookstein, F.L. (1991). Morphometric tools for landmark data Cambridge Univ. Press, Pp. 435.
- Branstetter S. D. (1987). Age, Growth and Reproductive Biology of Silky Shark, *Carcharhinus falciformis*, and Scalloped hammerhead, *Sphyrna lewini*, from Northwestern Gulf of Mexico. *Env. Biol. Fish.* 19 (3): 161-173
- Callard, G.V. (1991). Reproduction in male elasmobranchs. In Comparative Physiology, vol. 10. Ed. R.K.H. Kinne, Pp.104-154.
- Cardiel, H. (1982). El tiburón: alimento para todos. Técnica Pesquera, Febrero 1982, México, Pp. 13-17.

Castillo Geniz J. L. (1992). Diagnostico de la Pesquería del Tiburón en México. INP. Sria. Pesca. ISBN 968-257-X 1a. Ed. México. Pp. 298.

Castillo Geniz J. L., A. Cid del Prado, C. Robinson, y V. Anislado. (1996). Estado Actual del Conocimiento Científico y Tecnológico de los Tiburones como Recurso Natural Renovable de México. SEMARNAP/ INP/ ICMYL Fac. de Ciencias. UNAM. Informe interno para el Grupo de Trabajo No.4. La Pesquería de Tiburón, Norma Oficial Mexicana para la Regulación de la Pesca de Tiburón. No impaginado.

Castillo Geniz, J.L. y J.F. Márquez Farias. (1993). La pesquería de tiburón en México: una revisión histórica del Golfo de México. Conferencia Internacional sobre conservación y administración de las poblaciones de tiburones del Golfo de México y el Caribe. Dirección Análisis de Pesquerías, INP, México, Pp. 180.

Castro, J. I. (1983). The Sharks of North American Waters. Texas A & M. University Press, College Station, Texas. Pp. 179.

Castro, J. I. (1989). Investigations in the reproductive biology of sharks. DISS.-ABST.-PT.-B-SCI.-ENG. 1989 vol. 49, no. 12, Pp.129.

Castro, J.I., (1993). The shark nursery of Bulls Bay, South Carolina, with a review of the shark nurseries of the southeastern coast of the United States. Environ. Biol. Fish. 38:37-48

Clark, R.S. (1922). Rays and skates (Raiae). No.1. Egg capsules and young. J. Mar. Biol. Assoc.U.K. 12. 577-643.

Chen, C.T., T.C. Leu, S.J. Young (1988) Notes on reproduction in the scalloped hammerhead, *Sphyrna lewini*, in northeastern Taiwan waters. Fish. Bull. 86: 389-393.

Compagno, L.J.V., (1984). Sharks of the world. An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date. Part 2. Carcharhiniformes. FAO species catalogue. Vol. 4. FAO Fish. Synop. (125, Vol. 4, Part 2), Pp. 655

Compagno, L.J.V., (1998). Sphyrnidae. Hammerhead and bonnethead sharks. In K.E. Carpenter and V.H. Niem (eds.) FAO identification guide for fishery purposes. The Living Marine Resources of the Western Central Pacific. FAO, Rome. p. 1361-1366.

Daniel, J. F. (1928). The Elasmobranch Fishes. Univ. of California Press, Berkeley.

Davenport, H.A. (1960). Histological and histochemical techniques. W.B. Saunders Company, London. Pp. 401.

Dodd, J.M., M.H.I. Dodd, y R.T. Duggan (1983). Control of reproduction in elasmobranch fishes Control Processes in Fish Physiology. Ed. J.C.Rankin,T.J.Pitcher y R.T.Duggan. London: Croom Helm.

FAO. (1975). Modern Fishing gear of the world 2 FAO. Pp. 603.

Fowler S. (1996). Status of the Basking Shark (*Cetorhinus maximus*). *Shark News*. 6: 4-6

Friedrich, H. (1973). Marine Biology. Univ. Washington Press. Pp. 474.

Futuyama, D.J. (1998). Evolutionary Biology 3° ed. Sinauer Associates Inc. Pp. 663.

Galvan Magaña, F., H.J. Nienhuis y A.P. Klimley (1989) Seasonal abundance and feeding habits of sharks of the lower Gulf of California, Mexico. *California Fish and Game* 75(2) 74-84.

García, H. (1985). El tiburón y la pesca deportiva. Técnica Pesquera, Agosto 1985, México, Pp. 304.

Gilbert R.C. (1967). A Revision of Hammerhead Sharks (Family Sphyrnidae). *Procc. US. Nat. Mus.* (119) (3539): 1-88.

Gray, P. (1954). The Microtomist's Formulary and Guide. Robert E. Krieger Publishing Co. Pp. 234.

Gubanov, E.P., I.G. Timokhin, N.A. Ivanin. (1993). Resources of tunas and related species in the world ocean and problems of their rational utilization. V.N. Yakovlev, E.V. Romanov, N.A. Lebedeva, Y.K. Trushyn, I.G. Timokhin, B.G. Trotsenko, V.V. Korkosh eds. KERCH UKRAINE YUGNIRO 1993 Pp. 119-121.

Hamlett, W.C. y T.J. Koob (1996) Microscopic structure of the gravid uterus in *Raja erinacea* AES June. Nueva Orleans Louisiana.

-
- Hamlett, W.C., D.P. Knight, T. Koob, M. Jezior, T. Luong, T. Rozychi, N. Brunette y M. Hysell. (1998). Survey of oviducal gland structures and function in elasmobranchs. *J. Exp. Zool.* 282: 399-420.
- Hisaw, F.L. Jr., y F.L. Hisaw (1959). Corpora lutea of Elasmobranch fishes. *Anat. Rec.* 135:269-277.
- Hoening, J.M. y S.H. Gruber. (1990). Life history patterns in the elasmobranchs: implications for fisheries management. *Elasmobranchs as living resources: advances in the biology, ecology, systematic and the status of fisheries* (H.L. Pratt, Jr., S.H. Gruber, T. Taniuchi, Eds.) US Dep. Comer., NOAA Tech. Rep. NMFS 90, Pp. 455-472.
- Holland K. N., B. M. Wetherbee, J. D. Peterson, y C. G. Lowe. (1993). Movements and Distribution of Hammerhead Shark Pups on Their Natal Grounds. *COPEIA*. (2): 495-502.
- Humason, G. L. (1979). *Animal Tissue Techniques*. Fourth edition. San Francisco: W. H. Freeman and Company. Pp. 165.
- IUCN (2002). 2002 IUCN Red List of Threatened Species 2002. Musick, J. y Fowler, S. 2002 Shark Red List Authority. (Internet 13 June 2003).
- Jezior, M y W.C. Hamlett (1995). Ultrastructural organization of the ovarian follicle in the yellow spotted ray, *Urolophus jamaicensis*. *Notre Dame Sci. Q.* 34(5) p.9.
- Klimley, A.P. (1981). Grouping behavior in the scalloped hammerhead. *Oceanus* 24(4) winter 81/82 Woods Hole Oceanographic Institution. Pp. 65-71.
- Klimley A.P. (1987). The Determinants of Sexual Segregation in the Scalloped Hammerhead Shark, *Sphyrna lewini*. *Env. Biol. Fish.* 18 (1): 27-40.
- Klimley A. P., y D. R. Nelson. (1984). Diel Movement Patterns of Scalloped Hammerhead (*S. lewini*) in Relation to El Bajo Espiritu Santo; a Refuging Central position Social System. *Behav. Ecol. Sociobiol.*(15):45-54.
- Koob, T.J. y I.P. Callard (1991). Reproduction in female elasmobranchs. In *Comparative Physiology*, 10. R.H. Kinne, 155-209.

Kromer, J.L. (1994). Rio Grande de Buba: Bio-ecologie et parametres environnementaux. UICN/Ministere des peches de Guinee-Bissau. 119 p., plus annexes.

Last, P.R. y J.D. Stevens, (1994). Sharks and rays of Australia. CSIRO, Australia. 513 p

Lessa, R., R.C. Menni, F. Lucena. (1998). Biological observations on *Sphyrna lewini* and *S. tudes* (Chondrichthyes, Sphyrnidae) from Northern Brazil. Vie-Milieu 1998 vol. 48, no. 3, Pp. 203-213.

Longhurst, A.R. y D. Pauly. (1987). Ecology of tropical oceans. Academic Press. Pp. 407.

Martoja, R. y M. Martoja-Pierson (1970). Técnicas de histología animal. Toray-Masson. Barcelona. Pp. 350.

Matsuyama, M., Y. Nahagama y S. Matsursa. (1991). Observations on ovarian follicle ultrastructure in the marine teleost, *Pagrus major*, during vitellogenesis and oocyte maturation. Aquaculture 92: 67-82.

McEachran, J.D. y C. Capape (1984). Rhinopteridae. p. 208-209. In P.J.P. Whitehead, M.L. Bauchot, J.C. Hureau, J. Nielsen and E. Tortonese (Eds.) Fishes of the northeastern Atlantic and the Mediterranean. UNESCO, Paris. Vol. 1.

Mendizabal y D. Oriza (1995). Biología Reproductiva, Crecimiento, Mortalidad y Diagnostico de *Alopias vulpinus* (Tiburón zorro) y *Carcharhinus limbatus* (Tiburón volador); de la Boca del Golfo de California al Golfo de Tehuantepec, Periodo 1986-1987. Tesis de Maestría en Ciencias. Biología. Fac, de Ciencias. UNAM.

Mooney-Seus, M.L. y G.S. Stone. (1997). The forgotten giants: giant ocean fishes of the Atlantic and the Pacific. Ocean Wildlife Campaign, Washington, USA. New England Aquarium, Boston. 64 p.

Muñoz, M., Y. Koya, M. Casadevall (2002). Histochemical analysis of sperm storage in *Helicolenus dactylopterus dactylopterus* (Teleostei : Scorpaenidae) J. Exp. Zool., 292 (2): 156-164 FEB 1 2002.

Myers, R.F., (1999). Micronesian reef fishes: a comprehensive guide to the coral reef fishes of Micronesia, 3rd revised and expanded edition. Coral Graphics, Barrigada, Guam. 330 p.

Nagahama, Y. (1983). The functional morphology of teleost gonads, Pp.. 223-276. En: W.S Hoar y D.J. Randall (Eds.). Fish Physiology. Vol. IX A. Reproduction, Endocrine Tissues and Hormones. Academic Press, Inc.

Nelson, J. S. (1994). Fishes of the World, Wiley, New York. Pp. 600.

Norma Oficial Mexicana NOM-029-PESC-2000, Pesca responsable de tiburón y especies afines. Especificaciones para su aprovechamiento, SAGARPA. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 12 de julio de 2002.

Parsons, G:R. y H.J. Grier (1992) Seasonal changes in shark testicular structure and spermatogenesis J. Exp. Zool. 261.173-184.

Pepperell, J.G. (1992). Sharks: biology and fisheries. Proceedings of an International Conference on shark biology conservation, Taronga Zoo, Sydney Australia, Feb-March 1991,Pp.349.

Plancke, Y., F. Delplace, J.M. Wieruszeski, E. Maes y G. Strecker. (1966). Isolation and structures of glycoprotein derived free oligosaccharides from unfertilized eggs of *Scyliorhinus canicula*. Eur. J. Biochem. 235: 199-206.

Pratt H.L. (1979). Reproduction in the blue shark, *Prionace glauca*. Fish. Bull. 77:445-470.

Pratt H.L. (1988). Elasmobranch gonad structure: a descriptive survey. Copeia 1988. 719-729.

Shark Specialist Group (2000). IUCN Shark Specialist Group Red List Assessments, 2000 (unpublished report).

Schlernitzauer, D.A., y P.W. Gilbert. (1966) Placentation and associated aspects of gestation in the bonnethead shark, *Sphyrna tiburo*. J. Morphology 120: 219-32.

Smith, C.L., (1997). National Audubon Society field guide to tropical marine fishes of the Caribbean, the Gulf of Mexico, Florida, the Bahamas, and Bermuda. Alfred A. Knopf, Inc., New York. 720 p.

Springer, S. (1990). Sphyrnidae. p. 109-110. In J.C. Quero, J.C. Hureau, C. Karrer, A. Post and I. Saldanha (eds.) Checklist of the fishes of the eastern tropical Atlantic (CLOFETA). JNICT, Lisbon; SEI, Paris; and UNESCO, Paris. Vol. 1.

Stephan, M. P. (1902). L'evolution de la cellule de Sertoli des selaciens apres la spermatogenese. C. R. *Seances Soc. Biol. Ses Fil.* 54, 775-776.

Torres Huerta, A.M. (1999). Observaciones sobre la biología reproductiva de la cornuda barrosa *Sphyrna lewini* (Griffith y Smith, 1834) (PISCES: SPHYRNYDAE) en aguas del Noroeste de México. Tesis Profesional. UNAM-ENEPI. 68p.

Thurman, H. (1975). Introductory oceanography. Charles E. Merrill Pub. Co. Bell & Howell Co. Pp. 441.

Tsang, P. y I.P. Callard (1983), In vitro steroid production by ovarian granulosa cells of *Squalus acanthias*. Biol. Bull. 23 : 78-79.

Tyler, C.R. y J.P. Sumpter. (1996). Oocyte growth and development in the teleosts. Rev. Fish Biol. Fish. 6: 287-318.

Wallace, W. (1904). Observations on ovarian ova and follicles in certain teleost and Elasmobranch fishes. Q. J. Microsc. Sci. 47: 161-213.

Webster, D. y M. Webster. (1974). Comparative vertebrate morphology. Academic Press. London. 517 p.

Zavala González, G. (1993). La pesca de tiburón en el estado de Vera cruz. Oceanología, No.1, Unidad de educación en ciencia y tecnología del mar, Mexico, Pp. 91-108.

ANEXO

SISTEMATICA Y DIAGNOSIS DE LA ESPECIE

En este trabajo se utilizó la clasificación sistemática propuesta por Compagno (1984):

Clase: Elasmobranchii

Orden: Carcharhiniformes (Compagno, 1973)

Familia Sphyrnidae (Linnaeus, 1758)

Genero: *Sphyrna* (Rafinesque, 1810)

Especie: *S. lewini*. (Griffith y Smith, 1834.)

La siguiente descripción resume las características para *S. lewini* por Gilbert (1967), Applegate *et al.* (1979), Gilbert (1981) y Compagno, (1984):

Cabeza moderadamente expandida, ancho de 24.0 al 30.2% de la longitud total (casi 26%).

El margen anterior posee ondulaciones poco profundas que forman tres lóbulos, la parte media del margen anterior de la cabeza no presenta ranura narinal. Dientes triangulares, de base ondulada, bordes lisos, excepto en ejemplares de mas de 170 cm, donde existe una cierta aserración irregular. Formula dental 15/15 ó 16-0/16-1, sin los dientes sinficiales. Primera aleta dorsal recta no inclinada hacia atrás, el margen libre nunca llega al origen de las pélvicas. La segunda aleta dorsal es de menor tamaño que la anal, base de la aleta anal mas larga en comparación a la base de la segunda dorsal, pedúnculo caudal con fosa precaudal en forma de media luna en la parte dorsal. Las puntas de las aletas pectorales y de la dorsal son negras, dorso grisáceo y blanco amarillento en la región ventral y flancos oscurecidos.

Aspectos biológicos: *S. lewini* probablemente es el tiburón martillo más abundante, considerado como un tiburón pelágico-costero, se localiza en las cercanías de las playas, deltas de ríos, y estuarios, e incluso llegan a incursionar dentro de los ríos. Se ha encontrado hasta los 275 m de profundidad. Las crías y juveniles se encuentran en aguas someras de las costas. Esta especie puede formar cardúmenes (de 30 a 200 individuos) o puede vivir solitariamente. Existen localidades donde las poblaciones son migratorias y en otras son poblaciones residentes (Anislado, 2000).

Las tallas reportadas para el nacimiento varían de 45 a 50 cm de longitud total, mientras que la talla máxima reportada para la especie es de 4.30 m de longitud total, con peso de 152 Kg a una edad de 35 años (Smith, 1997).

Son tiburones vivíparos placentarios. Los machos maduran a los 175 cm y las hembras en promedio a los 220 cm. El número de crías varía de 13 a 23, aunque se ha reportado un número de hasta 40 (Anislado, 2000). Las crías nacen en zonas de crianza caracterizadas por ser aguas someras protegidas por bahías, ensenadas o bajos.

Especies de aspecto similar: *Sphyrna zygaena* a diferencia de *S. lewini* presenta variantes en los lóbulos de la cabeza, el margen libre de la aleta segunda dorsal con respecto al origen de la caudal, el tamaño de la base de la anal, además del color de la piel. *S. mokarran* se distingue de esta por la forma recta del martillo, la aleta dorsal más recta y mayor longitud total.

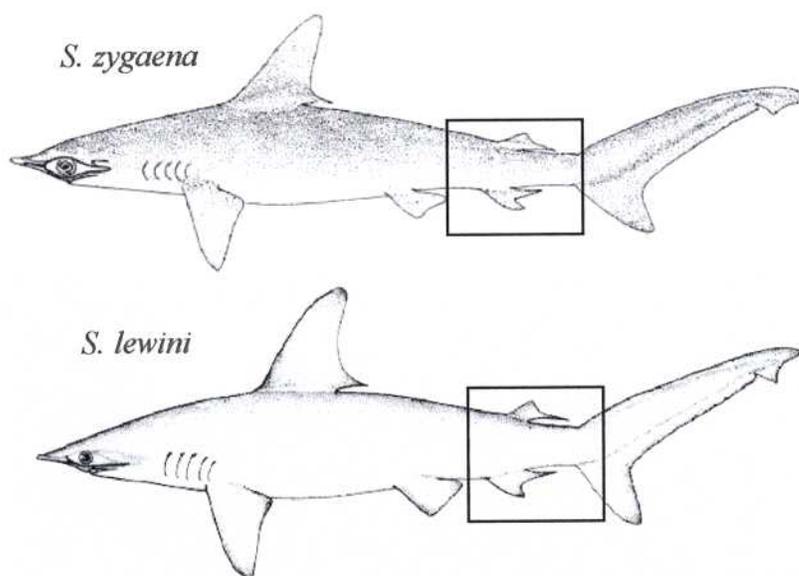
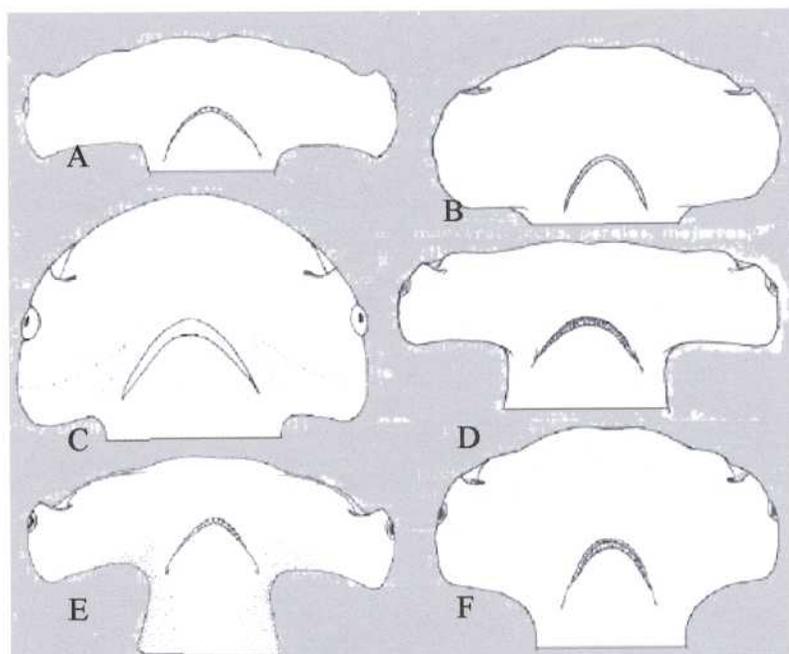


Figura 40. Comparación de las especies presentes en la zona de estudio. (Arriba) en vista ventral de la cabeza A) *Sphyrna lewini*, B) *S. media*, C) *S. tiburo*, D) *S. mokarran*, E) *S. zygaena*, F) *S. corona*. (Abajo) Diferencia a nivel de las aletas entre *S. zygaena* y *S. lewini* (Modificado de Compagno, 1984)

Distribución: Pantropical, subtropical de aguas costeras templadas y tropicales (Compagno, 1998). Atlántico Oeste: de Nueva Jersey a Brasil, incluyendo el Golfo de México y el Caribe. Atlántico Este: Mediterráneo (McEachran y Capape, 1984) a Namibia (Springer, 1990). Indo-Pacífico: Mar Rojo, Este de África y a través del océano Índico; Japón a Nueva Caledonia, Hawai y Tahití. Pacífico Oriental: Sur de California, Baja California, Golfo de California al Ecuador.

Nombres comunes de *S. lewini*:

Español: Tiburón martillo, Cornuda, Cornuda baya, Cornuda barrosa y Tiburón cruz.

Inglés: Scalloped hammerhead shark.

Francés: Requin-marteau, halicorne.

Alemán: Bogenstim-hammerhai.

Italiano: Pesce stampella.

Japonés: Aka-Shumokuzame.